

POSTAVENÍ ELIMINAČNÍ VOLTAMETRIE V ELEKTROANALYTICKÝCH METODÁCH

LIBUŠE TRNKOVÁ

Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Kamenice 5, 625 00 Brno
libuse@chemi.muni.cz

Došlo 15.8.18, přijato 8.10.18.

Klíčová slova: eliminační voltametrie s lineárním skenem (EVLS), proudové složky, eliminační funkce, adsorbovaná elektroaktivní částice, *p-cp* eliminační signál, aplikace EVLS

Obsah

1. Úvod
2. Podstata eliminační voltametrie s lineárním skenem (EVLS) a eliminační funkce
3. EVLS adsorbované elektroaktivní částice
4. Význam *p-cp* eliminačního signálu
5. Aplikace EVLS
 - 5.1. Elektroanalýza toxických látek na rtuťových a amalgámových elektrodách
 - 5.2. Elektroanalýza biologicky významných látek na rtuťových a amalgámových elektrodách
 - 5.3. Elektroanalýza purinových derivátů na grafitových elektrodách
 - 5.4. EVLS ve studiu interakcí a komplexotvorných rovnováh
 - 5.5. EVLS ve studiu elektrodepozitních a samospořádaných vrstev
 - 5.6. Možnosti implementace EVLS do elektrochemických analyzátorů
 - 5.7. Aplikační diagram EVLS
 - 5.8. Perspektiva EVLS
6. Závěr

1. Úvod

Na přelomu století a tedy i tisíciletí se v elektroanalytických metodách začala objevovat nová metoda – eliminační voltametrie. Protože využívá voltametrických záznamů, registrovaných při lineární polarizaci elektrody, byla metoda nazvána eliminační voltametrie

s lineárním skenem (EVLS). Ve velmi krátké době po zveřejnění teoretické práce¹, byla EVLS experimentálně ověřována² a z konfrontací experimentálních dat s teoretickými eliminačními modely vyplynul další její rozvoj. Mnohokrát vznikala otázka, proč nebyla uvedena EVLS dříve, zejména v dobách největšího rozvoje elektroanalýzy na rtuťových elektrodách. Odpověď je prostá. Eliminační metoda pracuje s poměrně velkým počtem dvojic potenciálu a proudu získaných při různých polarizačních rychlostech a bez digitalizace by tato metoda byla velmi pracná a neúměrně zdoluhavá. Pokročilá výpočetní technika, která se osvědčila jako nejen velmi rychlý, přesný a účinný řídicí prvek experimentu, ale i jako důležitá součást snímání a zpracování dat, vyvolala nápad eliminovat některé složky voltametrických proudů a podívat se na proudo- napěťové záznamy pod jiným zorným úhlem než pod jakým to dovolují pulzní metody.

2. Podstata eliminační voltametrie (EVLS) a eliminační funkce

V polarografickém/voltametrickém experimentu je proud (I) registrovaný v závislosti na vkládaném napětí proudem celkovým, jež je složený z dílčích proudů (I_j) s různou závislostí na čase (eliminační polarografie – EP)^{3,4} nebo s různou závislostí na polarizační rychlosti (eliminační voltametrie s lineárním skenem – EVLS)^{2,5,6}. EP pracuje s časovým exponentem (pro dílčí nabíjecí, difuzní a kinetickou proudovou složku v pořadí $-1/3$, $1/6$ a $2/3$) a k eliminaci vybraných dílčích proudů kombinuje derivace, jednoduché a dvojnásobné integrály. EVLS využívá exponentu x u rychlosti polarizace (scan rate v) a eliminační procedura funguje pomocí určitých lineárních kombinací celkových voltametrických proudů měřených při různých rychlostech polarizace – eliminačních funkcí. Pro případ nabíjecí proudové složky I_c exponent x může odpovídat jedničce, pro difuzní proudovou složku I_d jedné polovině (Randles-Ševčíkova rovnice). Kinetická proudová složka I_k , kde řídicím krokem je předřazená chemická reakce, je na rychlosti polarizace v podstatě nezávislá. I když jsou nejčastěji respektovány tyto tři dílčí proudy, celkový počet uvažovaných proudových složek není omezen. Spojením dvou základních podmínek pro aplikaci eliminační procedury (a) kdy celkový proud je pojímán jako suma proudových složek a (b) kdy každá proudová složka je vyjádřena součinem funkce potenciálu $Y_j(E)$ a funkce polarizační rychlosti $W_j(v)$, můžeme celkový voltametrický proud popsat rovnicí (I).

$$I = I_c + I_d + I_k + I_1 + I_2 + \dots = Y_c(E)v^1 + Y_d(E)v^{1/2} + Y_k(E)v^0 + Y_1(E)v^{x(1)} + Y_2(E)v^{x(2)} + \dots \quad (1)$$

V obecnějším pojetí může být rovnice (1) rozšířena o další složky proudu a při znalosti exponentu x provedena další eliminace. Je třeba si uvědomit, že pro n registrovaných voltametrických proudů lze provést eliminaci až $n-1$ dílčích proudů.

Vlastní eliminační procedura spočívá na důmyslném principu normování. V EVLS to znamená, že jedna rychlost polarizace je zvolena jako referenční a jí odpovídající celkový proud je pak proudem referenčním. Obvykle jedna rychlost polarizace bývá menší než je referenční v_{ref} (např. poloviční) a druhá větší než v_{ref} (např. dvojnásobná). Podle požadavku, kterou proudovou složku chceme eliminovat a kterou zachovat, vypočítáme koeficienty eliminační funkce. Normováním se nám n rovnic o n neznámých zjednoduší, protože počítáme s poměrnými hodnotami vůči referenční rychlosti polarizace (referenčnímu proudu). Kinetická složka proudu má díky nulovému exponentu nejjednodušší vyjádření, u kapacitního (nabíjecího) proudu se jedná o přímou úměru, v difuzní složce proudu se objevuje odmocnina poměrné hodnoty vůči referenčnímu proudu.

$$I_{v/v_{ref}} = \left(\frac{v}{v_{ref}} \right) I_c + \sqrt{\left(\frac{v}{v_{ref}} \right)} I_d + I_k + \dots \quad (2)$$

Podrobným výpočtům různých eliminačních funkcí s rozdílnými poměry rychlostí polarizace byla věnována pozornost v dalších publikacích⁷⁻¹³. Nejpoužívanější eliminační funkce, současně eliminující nabíjecí a kinetický proud a zachovávající proud difuzní, byla označena jako E4 a pro celočíselný poměr (integer) 2 odpovídá vztahu:

$$f(I) = -11,657 I_{1/2} + 17,485 I_{ref} - 5,8284 I_2 \quad (3)$$

Číselné hodnoty odpovídají hodnotám eliminačních koeficientů pro poloviční a dvojnásobnou rychlost polarizace než v_{ref} , kterým odpovídají proudy $I_{1/2}$, I_{ref} , I_2 . Pro každý potenciálový krok (step) je aplikována rovnice (3) a výsledkem je eliminační křivka $f(I)$. Z logiky věci vyplývá, že požadovaný stejný počet dvojic $E-I$ zajistíme volbou stejného potenciálového kroku, který v podmínkách LSV nebo CV experimentu můžeme předem nastavit. Pokud by byl poměr rychlostí polarizace (a tím i poměr celkových voltametrických proudů) jiný (ne integer 2) nebo by byl jiný požadavek na eliminaci (např. eliminace difuzního a kinetického proudu a zachování nabíjecího proudu), pak budou eliminační koeficienty pochopitelně rozdílné od hodnot uvedených v rovnici (3). K výpočtu eliminačních koeficientů pro různé rychlosti polarizace lze použít kromě běžně známého interaktivního programového prostředí MATLAB (matrix laboratory) i námi vyvinutý softwarový balík 'eL-Chem Viewer', který je založený na grafickém programovacím jazyku LabView a který je na internetu volně přístupný⁸. Je určen k analýze voltametrických a ampérometrických dat, k jejich zpracování po akvizici pomocí (semi) derivačních, (semi)integrálních a eliminačních postupů.

3. EVLS adsorbované elektroaktivní částice

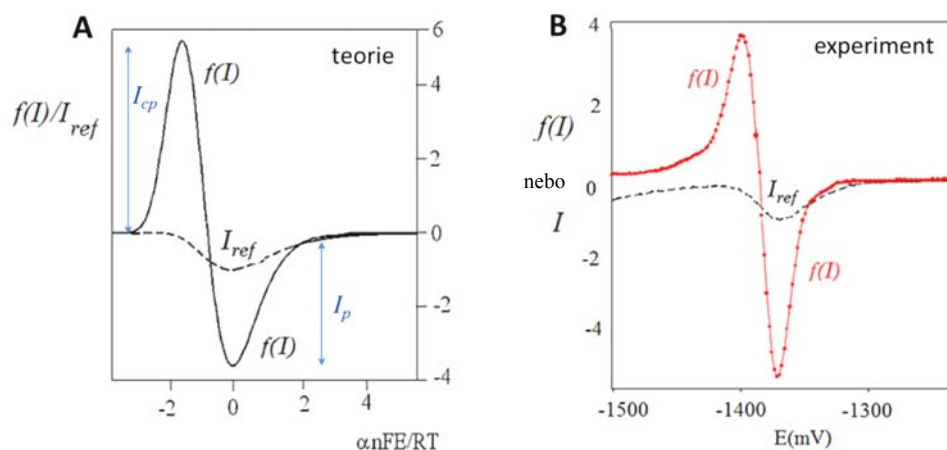
Rozvoj každé metody je neefektivnější v případě, kdy je teorie porovnávána s experimentem. V počátcích verifikace teoretických základů EVLS bylo zajímavé zjištění, že pro některé depolarizátory (např. nukleobáze v oligonukleotidech) na rtuťových elektrodách dávala eliminační funkce E4 (rovnice (3)) zajímavý, zcela reprodukovatelný signál ve tvaru píku, který plynule přechází do protipíku¹⁴⁻¹⁷ (obr. 1). Získal označení p - cp signál (odvozeno od peak-counterpeak).

4. Význam p - cp eliminačního signálu

Začalo se uvažovat o tom, že tento eliminační p - cp signál může být charakteristický pro látky, které jsou na elektrodě adsorbovány a přenos náboje se u nich děje v adsorbovaném stavu. Skutečně, řešením eliminační funkce (3) s implementací vztahu pro ireverzibilní elektrodový proces¹⁸ byl tvar píku-protipíku pro elektroaktivní adsorbovanou částici teoreticky potvrzen (obr. 1A)^{6,16}. Díky tomuto specifickému signálu si EVLS získala v elektroanalýze významnější postavení, neboť se zjistilo, že pomocí eliminační funkce E4, současně eliminující kapacitní a kinetickou složku voltametrického proudu pro elektroaktivní adsorbované analyty:

- Lze úspěšně separovat redukční či oxidační signály; důkazem je separace redukčních signálů krátkých oligonukleotidů s cytosinem a adeninem, a také oxidačních signálů dvou forem oligonukleotidů s guaninem^{14-17,19-24}; ve prospěch EVLS hovoří i ten fakt, že ani diferenční pulzní voltametrie separaci potenciálově blízkých píků (méně než 40 mV) nezvládla¹⁴;
- není třeba používat opravu na základní proudovou linii (baseline correction), protože odečet rozpětí pik-protipík je jednoznačný^{14-16,25,26};
- Lze velmi rychle a pouze na základě několika LSV nebo CV křivek zjistit, zda přenos náboje probíhá či neprobíhá v adsorbovaném stavu^{5,6,53,54};
- Lze indikovat chemickou reakci předcházející elektronovému přenosu (CE mechanismus) pro zcela adsorbovanou elektroaktivní částici²⁷.

Poslední výhoda eliminační procedury, tj. schopnost odhalit předřazenou chemickou reakci pro adsorbovaný analyt spočívá v kvantifikaci poměru výšky píku k hodnotě vzdálenosti pik-protipík, tj., $I_p/(I_p+I_{cp})$ (viz obr. 1). Tento poměr byl pro přenos náboje v adsorbovaném stavu bez předřazené chemické reakce teoreticky určen a odpovídá hodnotě 0,409. Také zde experiment vyvolal nesoulad s teoretickou hodnotou a začalo se uvažovat o tom, že před vlastní redukcí nebo oxidací nukleobáze v oligonukleotidovém řetězci může být komplikace – chemická reakce. Vyšší hodnota poměru (např. v obr. 1B odpovídá hodnotě 0,57), opravdu indikuje přítomnost předřazené chemické reakce 1. řádu před přenosem náboje (výsledky připravované do tisku). Dá se předpokládat, že v závislosti na pH může docházet k předřazeným chemic-



Obr. 1. Teoretická (A) a experimentální (B) eliminační transformace proudu-napětí (LSV) křivky pro ireverzibilní redukci adsorbované elektroaktivní částice podle rovnice (3), kdy je eliminován kapacitní a kinetický proud a zachován proud difuzní. I_{ref} odpovídá referenčnímu voltametričkému proudu, $f(I)$ průběhu eliminační funkce, I_p označuje výšku piku a I_{cp} protipíku. Poměr $I_p/(I_p+I_{cp})$ pro adsorbovanou částici odpovídá teoretické hodnotě 0,409 (cit. ^{6,16}). Experimentální výsledek aplikace eliminační funkce (3) je prezentován na příkladu redukce adeninu v homo-oligonukleotidovém řetězci (nonamer dA9) na rtuťové elektrodě¹⁴. Použité rychlosti polarizace byly 100, 200 a 400 mV s^{-1} , zobrazena je referenční voltametričká křivka snímaná při 200 mV s^{-1} s potenciálovým krokem 2 mV. Koncentrace adeninového nonameru byla 25,6 $\mu\text{g ml}^{-1}$, prostředí 0,2M acetátového pufru s pH hodnotou 5,3. Doba adsorpce 120 s, potenciál adsorpce -0,1V

kým reakcím (např. protonizace, deprotonizace, reakce se složkami pufru či základního elektrolytu, chemické reakce na povrchu elektrody). V tomto směru výzkumu bude EVLS nápomocná při řešení mechanismů elektrodových procesů zcela adsorbovaných depolarizátorů. Pro depolarizátor, který není na povrchu elektrody předem adsorbovaný, byla povaha proudu testována pomocí průběhů eliminačních funkcí (závislost eliminačního koeficientu β_{EVLS} na rychlostním koeficientu x) (obr. 1 a text v publikaci⁶). Škála rychlostního koeficientu není omezena, ale naopak přesahuje běžné domény řízené difuzí, kapacitou a nebo kinetikou do oblasti superkapacity, kde je exponent větší jak 1, a do superkinetiky, kde je exponent menší než 0.

Využití EVLS má určité výhody, které nejsou v této době ještě doceněné. Je jisté, že každá metoda má svoje úskalí. Je na ni třeba pohlížet jako na matematickou transformaci voltametričkých dat, které je dosaženo pomocí voltametričkových proudů měřených při různých rychlostech polarizace se stejnými vstupními podmínkami. Eliminační procedura nejlépe pracuje v případě studia elektrodových procesů na rtuťových elektrodách. Je to proto, že obnovovaný povrch elektrody není ovlivněn předchozími elektrodovými procesy, přičemž i geometrie tříelektrodového uspořádání pro snímání I - E křivek při různých rychlostech polarizace může být striktně zachována. Při výměně pevné nebo modifikované elektrody daného elektrodového setu tomu tak často není. Dalším omezením může být i to, že eliminační model předpokládá lineární kombinaci dílčích proudů, které se vzájemně neovlivňují. Avšak na druhé straně, pokud v závislosti na experimentálních podmínkách využijeme několik typů eliminačních funkcí, můžeme

právě díky EVLS vzájemnou interakci proudových složek odhalit. Jako u každého přístupu se najde omezení. EVLS sice neodpoví na otázku, co se na povrchu elektrody přesně odehrává, ale upozorní na určitý, zatím neznámý, proces. Následně porovnání rozdílných závislostí některých eliminačních funkcí naznačí, zda se tento proces zařazuje do dějů řízených kinetikou, adsorpcí či difuzí. Pomáhá odhalit nebo upřesnit mechanismus elektrodových procesů, o čemž svědčí studie nejen na rtuťových elektrodách, ale i na amalgámových a grafitových elektrodách, jak je následně prezentováno.

5. Aplikace EVLS

5.1. Elektroanalýza toxických látek na rtuťových a amalgámových elektrodách

Studovanými analyty, zajímavými z hlediska ochrany životního prostředí (ŽP), byly např. herbicid triasulfuron (na m-AgSAE – meniskem modifikované stříbrné amalgámové elektrodě)²⁸, pesticid tebukonazol spolu s jeho interakcí se zinkem za vzniku stabilních komplexů (na Hg elektrodě)²⁹, genotoxické nitrosloučeniny, jako jsou 2-nitronaftalen, 6-nitrochinolin a 5-nitrobenzimidazol (na čistých stříbrných a grafitově-stříbrných kompozitních elektrodách)³⁰, dále 5-nitronidazol (na m-AgSAE a na p-AgSAE – leštěné stříbrné amalgámové elektrodě)³¹. Na obou naposledy jmenovaných elektrodách byl pomocí EVLS studován reakční mechanismus pesticidu amitrazu³². Amalgám, jako vhodný elektrodový materiál, byl použit i pro sledo-

vání voltametrického chování 1- a 2-nitronaftalenů (NN) v kyselém a alkalickém vodně-methanolickém prostředí. Eliminační procedura pomohla nejen k výpočtu koeficientu přenosu náboje α , ale i k potvrzení kineticky kontrolované čtyřelektronové redukce NN probíhající v adsorbovaném stavu analytu³³. Ke sledování fungicidu tebuknazolu se autoři vrátili a s aplikací EVLS studovali jeho voltametrické chování na CuSAE – měděné pevné amalgámové elektrodě³⁴. V leštění a ve rtuťově meniskové modifikaci (p-CuSAE, m-CuSAE) byly elektrody použity i pro stanovení pesticidu thiramu³⁵. O toxicitě antrachinonu, který může vyvolat rakovinu, je vedena diskuse a UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí na PřF UK v Praze ho zkoumala na stříbrných amalgámových elektrodách pomocí cyklické a eliminační voltametrie³⁶. Na závěr výčtu aplikací EVLS v elektroanalýze xenobiotik je třeba zmínit práci studující elektrochemickou redukci herbicidu metribuzinu (4-amino-6-terc.butyl-3-(methylthio)-1,2,4-triazin-5(4H)on) na rtuťové elektrodě. Autoři úspěšně využili EVLS k objasnění elektrodového redukčního procesu metribuzinu³⁷. Redukci podléhá jeho protonizovaná forma, která je zcela adsorbována na povrchu elektrody a redukční proces v kyselém i v neutrálním vodném prostředí zahrnuje několik následných kroků. Bylo prokázáno, že stanovení metribuzinu a vzniklého deaminovaného metribuzinu ve směsi je úspěšnější pomocí eliminační voltametrie než pomocí diferenční pulzní voltametrie. Autoři to vysvětlují tím, že použitá EVLS funkce (zachování difúzní složky proudu a eliminace ostatních proudových složek) byla schopna minimalizovat účinek povrchově aktivních látek vyskytujících se v matici přírodních vzorků, které jsou velmi často konkurenčně adsorbovány na povrchu elektrody a tím mohou inhibovat měřený voltametrický signál³⁷. Rozdíl v adsorpci analytu na kompozitní elektrodě připravené z grafitového prášku a epoxydové pryskyřice v závislosti na pH odhalila EVLS i pro fenylglyoxylovou kyselinu (PGOA) jako jednoho z metabolitů styrenu, který je vylučován močí³⁸.

5.2. Elektroanalýza biologicky významných látek na rtuťových a amalgámových elektrodách

Elektroanalýza na pevných amalgámových elektrodách byla doprovázena EVLS i v případě látek fyziologického a medicínského významu, jako je kyselina listová či kyselina folinová (leukovorin – stabilní redukováný metabolit kyseliny listové), které hrají významnou roli v metabolismu riboflavinu a hydroxokobalaminu (OH-Cbl – vitamin B12). Proč toto propojení? Kyselina listová spolu s vitamínem B12 je zcela nezbytná pro tvorbu nukleových kyselin; ve všech procesech buněčného dělení se účastní přenosu jednonukleotidových radikálů, a proto je důležitá i ve tkáních s vysokou mitotickou aktivitou. Detekční limity analytů stanovené nejen na rtuťové elektrodě (HMDE), ale i na stříbrných amalgámových elektrodách (m-AgSAE a p-AgSAE) se pohybovaly v oblasti nanomolárních koncentrací. Na všech třech elektrodách byl prováděn podrobný voltametrický výzkum redoxních procesů

riboflavinu (RF) a pomocí EVLS byly potvrzeny elektronové přenosy v adsorbovaných stavech (pík-protipíkové signály). Eliminační přístup dovolil kvantifikovat koeficienty přenosu náboje α a potvrdit, že adsorpční proces byl za daných podmínek relativně pomalý^{39–42}.

Úspěšnou separaci voltametrických signálů a další vzhled do mechanismu elektrodových procesů zajistila EVLS v mnoha elektroanalytických studiích biologicky významných látek (nukleových kyselin, oligodeoxynukleotidů – ODN, purinů, pyrimidinů, proteinů, oligopeptidů). První její aplikace, které se týkaly DNA a jejich složek, daly podnět jednak k objasnění signálu eliminační funkce E4 (eliminace kapacitního a kinetického proudu a zachování proudu difúzního) ve tvaru píku-protipíku^{5,16,22} a jednak k možnosti stanovit koeficient přenosu náboje α ^{1,16,43}, pokud je znám počet elektronů vstupujících do nejpomalejšího kroku reakce. Distorzní charakter E4 *p-cp* (pík-protipík) signálu zaručoval zvýšení proudových odezev zhruba o jeden řád a lepší separaci potenciálově blízkých redukčních či oxidačních signálů (často méně jak 40 mV). V případě redukčních procesů adeninu a cytosinu v DNA a v ODN na rtuťových elektrodách se zprvu předpokládalo, že se jedná o redukci cytosinových (C) a adeninových zbytků (A), kterou jsme schopni separovat^{14,15,44}, ale poslední výzkumy naznačují, že se jedná o různé konformace krátkých ODN řetězců. Kromě homo-ODN (cit.¹⁴) byly zkoumány hetero-ODN (nonamery) s různou sekvencí A a C bez guaninu (G)^{15,25,26,45}, ale i heptamerové DNA fragmenty s G. Jeden z těchto heptamerů d(GCGAAGC) vykazuje ve vodných roztocích velmi stabilní vlásenkovou strukturu („hairpin“, mající kmen – „stem“ a smyčku – „loop“). Je pod výzkumným hledáčkem proto, že může hrát důležitou roli při expanzi tripletových repeticí, které mají spojitost s nemocemi, jako je X syndrom, Huntingtonova nemoc a Friedreichova ataxie. Cyklická voltametrie tohoto heptameru na rtuťových elektrodách poskytovala redukční signály A a C a oxidační signály již v negativních potenciálech zredukovaných guaninových zbytků (7,8-dihydroguaninů)¹⁷. Redoxní procesy guaninových reziduí vyvolaly spousty nových otázek, které se týkaly: (i) katodického, tj. redukčního procesu G probíhajícího při negativních hodnotách potenciálů a spojeného s procesem vylučování vodíku, (ii) anodického, tj. oxidačního procesu G_{red} , který pro DNA fragmenty představuje charakteristický dvojpík – GI a GII (zajímavé, že odpovídající RNA fragment vykazuje pouze jeden pík) a (iii) vliv změny centrálního tripletu d(GCXXXGC) a vliv změny základního elektrolytu (mravenčan amonný nebo chlorid hořečnatý) na elektrochemické chování heptameru^{46–49}. Původ anodického dvojpíku ($G_{red}ODP$ – double peak of reduced guanines) jako reverzního oxidačního procesu G_{red} byl také pomocí EVLS odhalen a bylo dokázáno, že heptamer se zredukovanými G figuruje na rtuťové elektrodě ve dvou adsorbovaných stavech. Různá orientace G_{red} reziduí je výsledkem repulzivní energie podmíněné záporně nabitou elektrodou (potenciál negativnější než -1 V) a zrušením π -elektronové interakce⁵⁰. Redoxní signály G, jako odraz strukturálních změn podle počtu centrálních G

(od 0 do 15) v ODN řetězci, s využitím cyklické a eliminační voltametrie byly sledovány na rtuťových a grafitových elektrodách a společně s CD spektry a s gelovou elektroforézou na polyakrylamidovém gelu (PAGE) bylo dokázáno, že při vyšším počtu G než 5 začne ODN vytvářet G-quadruplexy⁵¹. Elektrochemické, tedy i EVLS studie fragmentů DNA nebo RNA byly často doplňovány výsledky CD a NMR spekter (konformace) a UV-Vis spekter (teplota tání – T_m – melting point)⁴⁹. Tak tomu bylo i v případě studia tří miRNA (mikroRNA – krátké, zhruba dvacetimerní fragmenty RNA), které mají vztah k rakovině prostaty, hlavy a krku⁵².

5.3. Elektroanalýza purinových derivátů na grafitových elektrodách

Zvýšená proudová citlivost a znatelně lepší schopnost separace potenciálově blízkých voltametričtých píků při využití EVLS může být doplněna o další výhodu, neboť specifický *p-cp* signál získaný při aplikaci eliminační funkce E4 (rovnice (3)) pro adsorbovanou elektroaktivní částici nevyžaduje opravu na základní proudovou linii (baseline correction). Tato skutečnost dala podnět ke spojení eliminační a adsorpční akumulární techniky (adsorptive stripping – AdS)^{23,25,26,44,53–55}. Adsorpční schopnost purinových derivátů na rtuťových i pevných elektrodách se podařilo zvyšovat pomocí *in situ* vytvořených, ve vodném prostředí málo rozpustných komplexů purinů s jednomocnou mědí. Experiment byl uspořádán tak, že purinový derivát byl voltametričticky na elektrodě sledován v prostředí dvojmocné mědi a její jednomocnoství bylo dosaženo elektroredukcí při příslušné hodnotě mírně negativního potenciálu. Objektem elektroanalýzy nebyly jen purinové nukleobáze^{56–58}, ale i další biologicky zajímavé purinové deriváty, jako jsou aminopuriny, xanthiny, methylované adeniny a methylované guaniny^{19,21,24,59–62}. Většina elektroanalýz purinů byla provedena na pentelkové grafitové elektrodě (PeGE) firmy Tombow nebo Koh-i-nor s označením polymer. Ukázalo se, že pentelková elektroda je pro purinové deriváty zvláště vhodným a velmi levným grafitovým senzorem s možností jednorázového použití⁶³. Experimenty, monitorující a analyzující laterální povrch grafitových tuh (SEM – scanning electron microscopy, XPS – energy-dispersive X-ray spectroscopy a Raman spectroscopy) prokázaly nízký stupeň povrchové oxidace, přítomnost SiO a vysoký podíl sp^3 hybridizovaného uhlíku. Elektrochemie ukázala nízkou hodnotu kapacity elektrické dvojvrstvy a naopak vysokou hodnotu rychlosti přenosu elektronu. Kromě známých kalibračních a testovacích elektrochemických sond (hexaaminorutheniový komplex, ferro/ferri kyanidový komplex, askorbát a dopamin) byl na PeGE voltametričticky sledován adenin a xanthin⁶³. Výzkum v tomto směru pokračuje a je veden jednak s cílem mimikovat povrch pentelkových tuh a zjistit původ interakcí purinových struktur s tímto povrchem a jednak s cílem určit stechiometrii, stabilitu a strukturu Cu(I)-purinových komplexů. Odhad stechiometrie komplexu 6-benzylaminopurinu (BAP)

s jednomocnou mědí společně s návrhem mechanismu celkové elektrodové reakce řešeným za pomoci EVLS byl publikován v práci¹⁹. Tvorba málo rozpustných měďných komplexů dala podnět k elektroanalytické studii adeninu na PeGE modifikované nanočásticemi mědi (CuNPs)⁶⁴. Z hlediska strukturních proměn purinů v závislosti na pH (protonizace a deprotonizace, tautomerizace) a na komplexujících iontech (sledovaná iontová síla roztoku)^{65,66} byla zahájena pilotní studie různě substituovaných, především methylovaných adeninů, guaninů a xanthinů; v případě BAP se jednalo o methoxy- a chloroderiváty^{20,59,60,67}.

5.4. EVLS ve studiu interakcí a komplexotvorných rovnováh

Významná část studií, kde se objevuje aplikace EVLS, je spojena se sledováním komplexotvorných rovnováh zaměřených více či méně na stabilitu, stechiometrii a strukturu komplexů. Různých rychlostí polarizace rtuťové elektrody společně s EVLS procedurou bylo využito k odhalení labilních a stabilních měďnatých a zinečnatých komplexů fytochelatinu nebo metalothioneinů, separovaných z králičích jater – Cd₇MT v přítomnosti Cd(II) a Cd₅Zn₂MT v přítomnosti Zn(II). Eliminační procedura potvrdila, že přenosy elektronů S-tetra-koordináčních komplexů probíhají v adsorbovaném stavu⁶⁸. Jedna z prvních studií komplexních rovnováh s využitím EVLS byla publikovaná v roce 2003 a zabývala se redoxním a adsorpčním chováním komplexů Cr(III) a Cr(VI) s kyselinou diethylentriaminpentaoctovou (DTPA) na rtuťové elektrodě⁶⁹. Bylo zjištěno, že zatímco elektroredukce DTPA-Cr(III) komplexu na DTPA-Cr(II) komplex je řízena spíše difuzí než adsorpcí, tak Cr(III), generovaný *in situ* na Hg elektrodě z Cr(IV), tvoří s DTPA elektroaktivní a na elektrodovém povrchu silně adsorbovaný komplex. EVLS prokázala, že na povrchu elektrody jsou obě komponenty komplexu, jak DTPA, tak i Cr(III), adsorbovány a že přítomnost dusičnanů na komplexotvorné a na adsorpční procesy v podstatě nemá velký vliv⁶⁹. Cyklická voltametrie a následně i eliminační voltametrie byla využita k charakterizaci Cu(II)-komplexů s opticky aktivními deriváty aminonaftolu (Betti báze), konkrétně s 1-(α -aminobenzyl)-2-naftolem a 1-(α -pyrolidinylbenzyl)-2-naftolem. Kromě infračervených, hmotnostních spekter a spekter cirkulárního dichroismu, byly sledovány kvasi-reverzibilní Cu(II)/Cu(I) redukční procesy s racemickou směsí různých Betti bází⁷⁰. Eliminační voltametrie se také stala součástí elektroanalytických studií: (i) vazebných a adsorpčních aktivit Hg(II) komplexů selenoaminokyselin (selenomethioninu a selenocystinu), odhalující jejich rozdílné adsorpce na zlaté elektrodě⁷¹, (ii) interakcí alkaloidu ellipticinu (slibná protinádorová látka) s DNA využívající změn redukčních signálů adeninu a cytosinu⁷² a (iii) redukčních procesů azidothymidinu (AZT) na rtuti v přítomnosti chromosomální DNA a vybraných krátkých ODN, dávající možnost levné, rychlé a citlivé detekce tohoto antivirotika (proti viru HIV)⁷³.

5.5. Eliminační procedura ve studiu elektrodepozitních a samouspořádaných vrstev

Na rozdíl od LSV či CV metod může eliminační voltametrie citlivě odrazet změny na elektrodovém povrchu a studovat chování elektrodepozitních kovových vrstev na grafitových elektrodách^{9,10,74}. Příkladem jsou studie mechanismu elektrodepozice niklu na parafinem impregnované grafitové elektrodě (PIGE) z chloridových a síranových elektrolytů^{9,10,74}. Eliminační postup s využitím lineární kombinace celkových proudů měřených při různých rychlostech umožnil odhalit procesy, které nejsou detegovatelné obvyklými elektrochemickými metodami. Zatímco v chloridovém elektrolytu je počátečním stupněm redukce Ni^{2+} , v síranovém elektrolytu je to redukce protonů; zatímco v chloridovém elektrolytu je druh nesoucí náboj NiCl^+ , v síranových roztocích je to NiOH^+ . Je známo, že z vodných kyselých roztoků do elektrodepozice kovů zasahuje kineticky řízený proces vývoje vodíku. Pokud použijeme EVLS funkce k eliminaci kinetické složky proudu, je možné studovat další procesy probíhající na elektrodě^{9,10,74}. Kinetikou řízený proces pomocí EVLS byl na PIGE identifikován také při redukcí kademnatých iontů. EVLS odhalila v redukčním procesu Cd(II) podstatné rozdíly nejen z hlediska rozdílného elektrodového povrchu (rtuť a naopak tomu grafit s různou drsností jeho povrchu), ale i z hlediska prostředí různých elektrolytů (dusičnanů, síranů a chloridů). Citlivost EVLS k morfologii povrchu¹¹ a použití EVLS v kombinaci s pokročilými metodami, jako jsou např. elektrochemické křemenné mikrováhy (EQCM – electrochemical quartz crystal microbalance)¹² může slibovat úspěšný doplněk elektroanalýz na elektrodových površích modifikovaných nanomateriály nebo samouspořádanými vrstvami (SAMs – self-assembled monolayers) (cit.^{75,76}). Pionýrská práce v tomto směru vznikla nedávno u slovenských kolegů v Košicích. Pomocí EQCM a voltametrie byly sledovány SAMs tvořené 1-hexadecyl thiolem (1-HDT) na zlaté elektrodě za různých experimentálních podmínek. Výsledky EVLS odhalily kineticky řízený proces vzniku vrstev tohoto alifatického thiolu, který byl následován elektrodovou reakcí (tvorba dithiolu) probíhající v adsorbovaném stavu. Studie prezentuje EVLS jako nový, zdokonalený a významný přístup ke studiu a k charakterizaci tvorby SAMs nejen na Au elektrodě, ale i na Au/Cr elektrodě^{75,76}.

5.6. Možnosti implementace EVLS do elektrochemických analyzátorů

Po celou dobu rozvoje a aplikace EVLS je vyvíjena snaha tuto metodu implementovat do elektrochemických analyzátorů^{7,77} a využívat celou řadu rozličných poměrů celkových voltametrických proudů (nejen integer 2 jako celočíselný poměr, ale i poměr neceločíselný), což dokresluje příspěvek z roku 2010 (cit.⁷⁷). Návrh se týká šesti základních typů eliminačních funkcí, které mohou být rozšiřovány o další typy, navíc s různými poměry celkových voltametrických proudů. Implementace může být

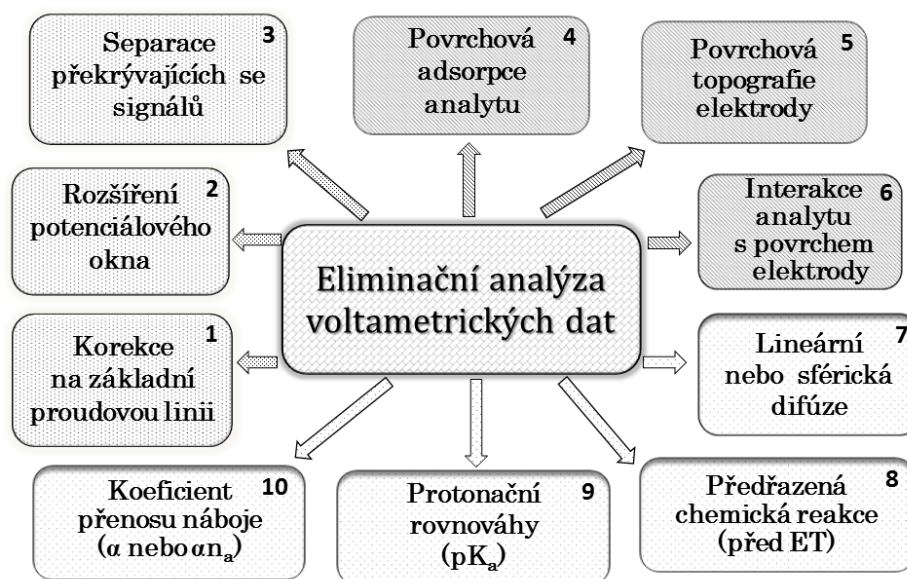
výhodná z hlediska velmi rychlých rychlostí polarizace, např. u mikroelektrod. U miniaturizované elektrody, kde se sférická difuze chová jako kinetická složka proudu, byl první EVLS krok k mikroelektrodám účinn¹³.

5.7. Aplikační diagram EVLS

Kde se dá úspěšně EVLS využívat a jaké jsou možnosti této metody, shrnuje následující diagram (obr. 2) – Eliminační analýza voltametrických dat. Graficky a číselně odlišené bloky ukazují tři oblasti výzkumu, ve kterých může být aplikace EVLS užitečná. Dává možnost citlivější elektroanalýzy^{78,79} (segmenty 1–3), spočívající: 1) v novém způsobu odečtu voltametrických signálů adsorbované elektroaktivní částice (*p-cp* signál)^{5,14–17,19–24,38–42,53,54,69} 2) ve zvýšené separaci překrývajících se signálů^{14–17,25,26,44,45} a 3) v možnosti rozšíření potenciálového okna pracovní elektrody pomocí EVLS funkce, eliminující kinetickou složku proudu^{6,43,53,54}. Tato schopnost EVLS, na rozdíl od běžně používaných voltametrických metod, je velice přínosná, neboť mohou být odhaleny signály elektrodových procesů, které jsou zcela skryty v enormních proudech základních elektrolytů (např. vylučování vodíku – hydrogen evolution reaction – HER). Pravá strana diagramu (segmenty s označením 4, 5 a 6) upozorňuje na dosah EVLS analýzy při sledování povrchových jevů, tj.: 4) na adsorpci analytu (*p-cp* signál v EVLS E4)^{5,16,21,53,54}, 5) na morfologii povrchu elektrody¹¹ a 6) na interakci analytu s povrchem elektrody^{75,76}, včetně změn během tvorby elektrodepozitních vrstev^{9,10,74}. Poslední dva jmenované efekty se projeví na eliminačních záznamech EVLS funkcí zachovávající kapacitní proudovou složku. Dolní, zbývající část (segmenty 7, 8, 9 a 10) sleduje aplikace přispívající ke studiu mechanismů elektrodových procesů, kdy kromě odhalení již zmíněné předřazené chemické reakce (segment 8) můžeme pomocí eliminační funkce E4 exaktněji odečítat signály v závislosti na pH a tím přesněji stanovit hodnotu pK_a analyzované látky (segment 9)⁶⁷. Stanovení hodnoty koeficientu přenosu náboje α , popř. součinu αn_a , kde n_a je počet elektronů účastnících se nejpomalejšího kroku v elektrodovém procesu (segment 10) je založeno na porovnání hodnot potenciálů eliminačních píků u dvou rozdílných eliminačních funkcí^{1,5,6,16,33,39–43}. Nejčastějším příkladem bývá výpočet hodnoty αn_a z rozdílu potenciálů eliminační funkce E1 (eliminace I_k a zachování I_d s distorzi I_c) a eliminační funkce E4 (eliminace I_k a I_c se zachováním I_d).

Diagram ukazuje nové možné dimenze vycházející z běžných voltametrických metod, které sledují aspekty analytické i fyzikálně chemické¹⁸. Nároky na instrumentaci pro účely EVLS, tj. digitální výstup s hodnotami potenciál-proudových dvojic a správně fungující potenciostat, jsou v dnešní době bez problémů splnitelné.

Jak již bylo uvedeno, procedura EVLS zvyšuje citlivost voltametrických metod, zejména pokud je experiment spojen s adsorpční rozpouštěcí (adsorptive stripping) technikou. Zatímco u rtuťových elektrod byly většinou meze detekce (LOD – limit of detection) zkoumaného ana-



Obr. 2. Diagram EVLS aplikací, které zasahují do třech oblastí (blok segmentů 1–3, blok segmentů 4–6 a blok segmentů 7–10). Segmenty 1, 2 a 3 reprezentují přínos EVLS ke zvýšení citlivosti voltametrických metod a k posílení schopnosti separace LSV nebo CV signálů. Segmenty 4, 5 a 6 ukazují na možnost využití EVLS analýzy ke zkoumání jevů, ovlivněných morfologií povrchu pracovní elektrody. Segmenty 7, 8, 9 a 10 představují pomoc v oblasti studia elektrodových procesů z hlediska jejich mechanismů

lytu 7–10 krát nižší než u LSV či CV, na pevných elektrodách byly hodnoty LOD ovlivněné vyšším šumem a nižší reprodukovatelností voltametrických signálů a odpovídaly zhruba trojnásobné hodnotě meze detekce stanovené na rtuť. Podobně tomu bylo i s limitami stanovitelnosti (LOQ – limit of quantification), na rtuťových elektrodách byly třikrát menší než na grafitových elektrodách. Z dosavadních výsledků vyplývá, že pro uváděné rychlosti polarizace (desítky až stovky mV s^{-1}) a v oblasti nízkých koncentrací analytu (nM a mM) je lineární dynamický rozsah zaručen, tedy citlivost EVLS je v závislosti na koncentraci analytu konstantní. Pro rozptyl bodů EVLS signál-koncentrace byl proveden odhad s chybou 2–3 % (rtuť) a 5–7 % (pevná elektroda).

5.8. Perspektiva eliminační voltametrie

A kam EVLS kráčí? Směřuje k možnostem blíže charakterizovat interakce analytu s povrchem nemodifikovaných a modifikovaných elektrod a přispívat k řešení mechanismu studovaných elektrodových procesů. Jejím cílem bude nejen stanovení co nejmenšího množství zkoumaného analytu v daném roztoku, ale také získání informací o elektrodových procesech, jako je např. počet přenesených elektronů, protonů, reverzibilita či ireverzibilita elektrodové reakce, adsorpce analytu, jeho interakce s povrchem elektrody (adsorpci/desorpci na elektrodě) či s jinou přítomnou částicí ve zkoumaném prostředí, často související se stabilitou produktů a meziproductů. Ze zá-

vislosti EVLS dat na různých experimentálních podmínkách bude metoda moci charakterizovat mechanismus elektrodového procesu, včetně předřazených chemických reakcí, sledovat a kvantifikovat kinetiku jednotlivých reakčních kroků, identifikovat elektrochemicky generované radikálové částice, nebo dokonce připravit a charakterizovat nové, dosud neznámé sloučeniny. Nabízí možnost experimentálně studovat změny struktur analytu na povrchu elektrody, inter- a intra-molekulární elektronové interakce jednotlivých reakčních center v molekule, kvantifikovat vliv substituce a geometrie molekuly na její elektrochemické vlastnosti nebo dokonce analyticky monitorovat průběh nějakého složitějšího děje (syntézy, fyziologické procesy).

6. Závěr

Eliminační voltametrie s lineárním skenem (EVLS) byla založena, verifikována, rozvíjena a úspěšně aplikována při elektroanalýze různých analytů a také při studiu jejich elektrodových procesů. EVLS umožňuje zlepšení voltametrických výsledků, a to eliminací či zachováním zvolených partikulárních proudů, z nichž je složen celkový voltametrický proud. Obecná myšlenka metody je založena na aplikaci určitých eliminačních funkcí vytvořených lineární kombinací celkových voltametrických proudů měřených při různých rychlostech polarizace elektrody. Proces eliminace poskytuje další informace o elektro-

chemických mechanismech studovaných systémů a o povrchových změnách elektrochemických senzorů.

LITERATURA

1. Dracka O.: J. Electroanal. Chem. 402, 19 (1996).
2. Trnkova L., Dracka O.: J. Electroanal. Chem. 413, 123 (1996).
3. Dracka O.: J. Electroanal. Chem. 296, 405 (1990).
4. Trnkova L., Dracka O.: J. Electroanal. Chem. 348, 265 (1993).
5. Trnková L.: Chem. Listy 95, 518 (2001).
6. Trnkova L.: J. Electroanal. Chem. 582, 258 (2005).
7. Serrano N., Klosova K., Trnkova L.: Electroanalysis 22, 2071 (2010).
8. Hrbac J., Halouzka V., Trnkova L., Vacek J.: Sensors 14, 13943 (2014).
9. Orinakova R., Streckova M., Trnkova L., Rozik R., Galova M.: J. Electroanal. Chem. 594, 152 (2006).
10. Orinakova R., Trnkova L., Galova M., Supicova M.: Electrochim. Acta 49, 3587 (2004).
11. Rozik R., Trnkova L.: J. Electroanal. Chem. 593, 247 (2006).
12. Rozikova M., Janderka P., Trnkova L.: Collect. Czech. Chem. Commun. 76, 997 (2011).
13. Trnkova L., Novotny L., Serrano N., Klosova K., Polaskova P.: Electroanalysis 22, 1873 (2010).
14. Trnkova L., Jelen F., Postbieglova I.: Electroanalysis 15, 1529 (2003).
15. Trnkova L., Jelen F., Postbieglova I.: Electroanalysis 18, 662 (2006).
16. Trnkova L., Kizek R., Dracka O.: Electroanalysis 12, 905 (2000).
17. Trnkova L., Postbieglova I., Holik M.: Bioelectrochemistry 63, 25 (2004).
18. Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2. vyd., J. Wiley, New York 2001.
19. Serrano N., Alberich A., Trnkova L.: Electroanalysis 24, 955 (2012).
20. Serrano N., Holubova S., Trnkova L.: Electroanalysis 23, 2217 (2011).
21. Sharma V. K., Jelen F., Trnkova L.: Sensors 15, 1564 (2015).
22. Trnkova L.: Talanta 56, 887 (2002).
23. Trnkova L., Jelen F., Hason S., Adam V., Kizek R.: Sensors IEEE 2010, 856.
24. Trnkova L., Zerzankova L., Dycka F., Mikelova R., Jelen F.: Sensors 8, 429 (2008).
25. Mikelova R., Trnkova L., Jelen F., Adam V., Kizek R.: Electroanalysis 19, 348 (2007).
26. Mikelova R., Trnkova L., Jelen F., Hubalek J., Adam V., Kizek R.: Sensors IEEE 2006, 1175.
27. Trnkova L., v: *59th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, September 7.-12.2009* Sevilla, Spain Book of Abstracts, str. 56.
28. Bandzuchova L., Selesovska R., Navratil T., Chylkova J.: Electrochim. Acta 113, 1 (2013).
29. Jakl M., Norkova R., Navratil T., Dyrtrtova J. J., Balik J., v: *XXXII. Moderní Elektrochemické Metody (XXXII. Modern Electrochemical Methods), May 2012*, Jetřichovice, Czech Republic, Sborník příspěvků, str. 50.
30. Navratil T., Berek J., Fasinova-Sebkova, S.: Electroanalysis 21, 309 (2009).
31. Novakova K., Hrdlicka V., Navratil T., Vyskocil V., Berek J.: Monatsh. Chem. 146, 761 (2015).
32. Novakova K., Hrdlicka V., Navratil T., Harvila M., Zima J., Berek J.: Monatsh. Chem. 147, 181 (2016).
33. Peckova K., Berek J., Navratil T., Yosypchuk B., Zima J.: Anal. Lett. 42, 2339 (2009).
34. Novakova K., Navratil T., Jaklova-Dyrtrtova J., Chylkova J.: Int. J. Electrochem. Sci. 8, 1 (2013).
35. Novakova K., Navratil T., Dyrtrtova J. J., Chylkova J.: J. Solid State Electrochem. 17, 1517 (2013).
36. Skalova S., Navratil T., Berek J., Vyskocil V.: Monatsh. Chem. 148, 577 (2017).
37. Skopalova J., Navratil, T.: Chem. Anal. (Warsaw, Pol.) 52, 961 (2007).
38. Navratil T., Senholdova Z., Shanmugam K., Berek J.: Electroanalysis 18, 201 (2006).
39. Bandzuchova L., Selesovska R., Navratil T., Chylkova J., Novotny L.: Electrochim. Acta 75, 316 (2012).
40. Bandzuchova L., Selesovska R., Navratil T., Chylkova J.: Electroanalysis 25, 213 (2013).
41. Bandzuchova L., Selesovska R., Navratil T., Chylkova J.: Electrochim. Acta 56, 2411 (2011).
42. Selesovska R., Bandzuchova L., Navratil T., Chylkova J.: Electrochim. Acta 60, 375 (2012).
43. Trnkova L., Friml J., Dracka O.: Bioelectrochemistry 54, 131 (2001).
44. Trnkova L., Jelen F., Petrlova J., Adam V., Potesil D., Kizek R.: Sensors 5, 448 (2005).
45. Mikelova R., Trnkova L., Jelen F.: Electroanalysis 19, 1807 (2007).
46. Triskova I., Fiala R., Trnkova L.: Electroanalysis 28, 2841 (2016).
47. Triskova I., Gurecky L., Trnkova L.: Monatsh. Chem. 147, 857 (2016).
48. Trísková I., Trnková L.: Chem. Listy 110, 222 (2016).
49. Pilarova I., Kejnovska I., Vorlickova M., Trnkova L.: Electroanalysis 26, 2118 (2014).
50. Vecerova A., Triskova I., Trnkova L.: J. Electroanal. Chem. 821, 104 (2018).
51. Vidlakova P., Pivonkova H., Kejnovska I., Trnkova L., Vorlickova M., Fojta M., Havran L.: Anal. Bioanal. Chem. 407, 5817 (2015).
52. Hudcova K., Trnkova L., Kejnovska I., Vorlickova M., Gumulec J., Kizek R., Masarik M.: Eur. Biophys. J. 44, 131 (2015).
53. Trnkova L., v knize: *Utilizing of Bio-Electrochemical and Mathematical Methods in Biological Research*, (Adam V., Kizek R., ed.), kap. 4, str. 51, Research Signpost 2007.
54. Trnkova L., Jelen F., Ozsoz M., v knize: *Electrochemical DNA Biosensors* (Ozsoz M., ed.), kap. 11, str.

355. Pan Stanford, 2012.
55. Pilarova I., Balcarova Z., Trnkova L.: *XXXIII Modern Electrochemical Methods, May 2013*, Jetřichovice - Czech Republic (Navratil T., Fojta M., ed.) str. 149 (2013).
56. Fadrna R., Yosypchuk B., Fojta M., Navratil T., Novotny L.: *Anal. Lett.* 37, 399 (2004).
57. Jelen F., Kourilova A., Hason S., Kizek R., Trnkova L.: *Electroanalysis* 21, 439 (2009).
58. Jelen F., Trnkova L., Hason S., Kudrnova H., Vetterl V., Kourilova A.: *10th Workshop of Physical Chemists and Electrochemists, May 2010*, Brno, Czech Republic, Book of Abstracts, str. 128.
59. Navratil R., Jelen F., Kayran Y. U., Trnkova L.: *Electroanalysis* 26, 952 (2014).
60. Navratil R., Jelen F., Trnkova L., v: *XXXIII Modern Electrochemical Methods, May 2013*, Jetřichovice - Czech Republic (Navratil T., Fojta M., ed.) str. 118 (2013).
61. Navratil R., Motlova D., Jelen F., Trnkova L., v: *XXXIV Modern Electrochemical Methods, May 2014*, Jetřichovice, Czech Republic, Sborník příspěvků, str. 99.
62. Navratil R., Pilarova I., Jelen F., Trnkova L.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 8, 4397 (2013).
63. Navratil R., Kotzianova A., Halouzka V., Opletal T., Triskova I., Trnkova L., Hrbac.: *J. Electroanal. Chem.* 783, 152 (2016).
64. Sharma V. K., Trnkova, L.: *Electroanalysis* 28, 2834 (2016).
65. Pilarova I., Balcarova Z., Serrano N., Trnkova L., v: *XXXI. Moderní Elektrochemické Metody (XXXI. Modern Electrochemical Methods), May 2011*, Jetřichovice, Czech Republic, Sborník příspěvků, str. 118.
66. Pilarova I., Trnkova L., v: *XXXII. Moderní Elektrochemické Metody (XXXII. Modern Electrochemical Methods), May 2012*, Jetřichovice, Czech Republic, Sborník příspěvků, str. 112.
67. Pilarova I., Lubal P., Trnkova L.: *Electroanalysis* 24, 349 (2012).
68. Sestakova I., Navratil T.: *Bioinorg. Chem. Appl.* 3, 43 (2005).
69. Sander S., Navratil T., Novotny L.: *Electroanalysis* 15, 1513 (2003).
70. Bhatt, S., Trivedi B.: *Polyhedron* 35, 15 (2012).
71. Gilsanz C., Gusmao R., Chekmeneva E., Serrano N., Diaz-Cruz J.M., Arino C., Esteban M.: *Electrochim. Acta* 56, 5988 (2011).
72. Tmejova, K., Krejčova L., Hynek D., Adam V., Babula P., Trnkova L., Stiborova M., Eckschlager T., Kizek R.: *Anticancer Agents Med. Chem.* 14, 331 (2014).
73. Trnkova L., Kizek R., Vacek J.: *Bioelectrochemistry* 63, 31 (2004).
74. Streckova M., Orinakova R., Rozik R., Trnkova L., Galova M.: *Helv. Chim. Acta* 89, 622 (2006).
75. Novakova Z., Orinakova R., Fedorkova A. S., Orinak A.: *J. Solid State Electrochem.* 18, 2289 (2014).
76. Novakova Z., Orinakova R., Orinak A., Hvizdos P., Fedorkova A. S.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 9, 3846 (2014).
77. Barath P., Zak J., Trnkova L., Hubalek J., Adam V., Kizek R., v: *10th Workshop of Physical Chemists and Electrochemists, May 2010*, Brno, Czech Republic, Book of Abstracts, str. 35.
78. Adam V., Hubalek J., Kizek R.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 8, 4363 (2013).
79. Trnkova L., Kizek R., Adam V., Eckshlager T., Hubalek J., v: *Sensing in Electroanalysis* (Vyřas K., Kalcher K., ed.), University Pardubice 5, 243 (2010).

L. Trnková (*Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic*): **Role of Elimination Voltammetry in Electroanalytical Methods**

The role of the elimination voltammetry with linear scan (EVLS) in electroanalytical chemistry is reviewed. An overview of the EVLS development is demonstrated as a result of comparing the EVLS theory with experiment. The review presents studies in which EVLS has been used. Advantages and disadvantages of EVLS, as one of the methods of the transformation of voltammetric data, are presented.

Keywords: elimination voltammetry with linear scan (EVLS), current components, elimination function, adsorbed electroactive species, *p-cp* elimination signal, EVLS application