

## VÝZKUM A VÝVOJ ELEKTROMIGRAČNÍCH METOD V ČESKOSLOVENSKU, ČESKU A SLOVENSKU OD JEJICH POČÁTKŮ AŽ PO SOUČASNOST

*Článek je věnován významnému životnímu jubileu profesora Jiřího Zimy, CSc., bývalého děkana Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy a současného rektora této Univerzity.\**

**VÁCLAV KAŠIČKA**

*Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo náměstí 542/2, 160 00 Praha 6, Česká republika  
vaclav.kasicka@uochb.cas.cz*

Došlo 8.1.26, přijato 20.1.26.

Článek pojednává o výzkumu a vývoji elektromigračních metod (EMM) v Československu, Česku a Slovensku od jejich počátků až po současnost. Po krátkém úvodu o EMM obecně jsou nejprve popsány počátky EMM ve světě a jsou představeny první elektroforetické experimenty v Československu na konci 40. let a v 50. letech 20. století. Dále je v přibližně chronologickém pořadí prezentován výzkum a vývoj EMM v jednotlivých výzkumných skupinách na fakultách českých a slovenských univerzit a na ústavech Československé, České a Slovenské akademie věd. Nejvýznamnější výsledky dosažené těmito skupinami jsou uvedeny s odkazy na původní články v prestižních mezinárodních časopisech. Jsou zvažovány všechny aspekty EMM, základní teoretický výzkum, konstrukce nových přístrojů a detektorů a vývoj nových metodik. Je ukázáno reprezentativní využití EMM pro rychlé a vysoce účinné separace, vysoce citlivé analýzy, semipreparativní izolace a fyzikálně-chemické charakterizace široké škály (bio)molekul a (bio)částic. Všechny uvedené výsledky potvrzují, že čeští a slovenští specialisté významně přispěli k velkému pokroku EMM v jejich počátcích i v poslední době.

**Klíčová slova:** elektroforéza, izotachoforéza, izoelektrická fokusace, afinitní elektroforéza, elektrokinetická chromatografie, elektrochromatografie

### Obsah

1. Úvod
2. Počátky elektromigračních metod ve světě a v Československu
3. Výzkum a vývoj elektromigračních metod na jednotlivých pracovištích
  - 3.1. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze (PřF UK)
  - 3.2. Ústav analytické chemie ČSAV/AV ČR v Brně (ÚACH)
  - 3.3. Přírodovědecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě
  - 3.4. Ústav organické chemie a biochemie ČSAV/AV ČR v Praze (ÚOCHB)
  - 3.5. Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
  - 3.6. Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
  - 3.7. Fakulta chemické a potravinářské technologie Slovenské technické univerzity v Bratislavě
  - 3.8. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
  - 3.9. Fyziologický ústav ČSAV/AV ČR v Praze
  - 3.10. Fakulta životního prostředí Univerzity Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem
  - 3.11. Přírodovědecká fakulta Masarykovy Univerzity v Brně
  - 3.12. 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze
  - 3.13. Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě
  - 3.14. Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové
  - 3.15. Fakulta chemicko-technologická Univerzity Pardubice
  - 3.16. Agronomická fakulta Mendelovy univerzity v Brně
4. Závěr

\* Článek vznikl na pozvání redakčního kruhu a jeho výjimečně větší stránkový rozsah byl vzhledem k jedinečnosti představeného tématu a jeho podrobnému zpracování umožněn.

## 1. Úvod

Elektromigrační metody jsou významné separační techniky založené na dvou elektrokinetických jevech, elektroforéze a elektroosmóze. Podle separačního principu lze elektromigrační metody rozdělit do dvou skupin. První z nich tvoří čtyři „čistě“ elektroforetické metody, zahrnující zónovou elektroforézu (ZE), izotachoforézu (ITP), izoelektrickou fokusaci (IEF) a afinitní elektroforézu (AE), a do druhé skupiny patří dvě kombinované elektrochromatografické metody – elektrokinetická chromatografie (EKC) a elektrochromatografie (EC)<sup>1</sup>. Elektroforetické dělení ionogenních látek a povrchově nabitých koloidních (bio)částic je založeno na jejich různých elektroforetických pohyblivostech, tj. rychlostech pohybu v elektrickém poli o jednotkové intenzitě. Rozdílné pohyblivosti různých látek a (bio)částic vyplývají z jejich různých elektrických nábojů, rozměrů a tvarů. Kombinované elektrochromatografické metody využívají k dělení látek zejména jejich různě silné interakce se stacionárními či pseudostacionárními fázemi na stěnách či uvnitř separačního prostoru, přičemž hybnou silou mobilní fáze je elektroosmotický tok (EOF). Kromě interakcí s (pseudo)stacionárními fázemi mohou k dělení ionogenních látek přispívat i jejich rozdílné elektroforetické pohyblivosti. Oba tyto typy elektromigračních metod vynikají vysokou separační účinností a rozlišovací schopností. Jsou využívány pro analytické a preparativní separace širokého spektra (bio)molekul a (bio)částic, počínaje malými ionty kovů a anorganických i organických kyselin a bází, aminokyselin a aminů, přes středně velké oligo- a polypeptidy, oligo- a polynukleotidy a oligo- a polysacharidy až po velké (bio)makromolekuly proteinů, nukleových kyselin, polysacharidů a syntetických polymerů. Elektroforeticky lze dělit i (bio)částice, např. viry, bakterie, buňky a buněčné organely a přírodní či syntetické nano- a mikročástice. Jakožto separační procesy, patří elektromigrační techniky společně s chromatografickými metodami k významným chemickým disciplínám. Je to dáno tím, že přírodní látky i syntetické sloučeniny a (bio)částice se obvykle vyskytují ve více či méně komplexních směsích, ze kterých je třeba je nejdříve oddělit, aby mohly být zkoumány jejich chemické a fyzikální vlastnosti a biologické aktivity. Čeští chemici si této skutečnosti byli vědomi a začali tyto metody zkoumat a vyvíjet již na konci 40. let minulého století. Výzkum a vývoj elektromigračních metod i příbuzných chromatografických metod má tak u nás dlouhou tradici a významný přínos českých i slovenských specialistů k rozvoji těchto metod je mezinárodně uznáván a oceňován<sup>2–5</sup>.

## 2. Počátky elektromigračních metod ve světě a v Československu

Elektroforézu a elektroosmózu poprvé pozoroval Ferdinand Reuss již na počátku 19. století<sup>6</sup>. První teorii popisující principy elektroforetického pohybu a dělení malých iontů v diskontinuálním elektrolytovém systému

vytvořil na konci téhož století Friedrich Kohlrausch<sup>7</sup>, který odvodil tzv. regulační funkci. Podle ní se ionty oddělují podle svých iontových pohyblivostí a jejich koncentrace v zónách v ustáleném stavu v daném elektrolytovém systému je konstantní a nezávislá na jejich původní koncentraci. První prakticky významné využití elektroforézy jako analytické separační metody však předvedl švédský chemik Arne Tiselius až ve 30. letech minulého století. Separacním prostorem jeho aparatury byla křemenná U-trubice naplněná volným roztokem pufru a detekce byla založena na měření změny indexu lomu<sup>8</sup>. Tuto sestavu využil pro dělení bílkovin krevního séra do čtyř základních skupin (albuminy a  $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -globuliny) metodou zvanou elektroforéza pohyblivého rozhraní (moving boundary electrophoresis). Za tyto průlomové objevy byl v roce 1948 odměněn Nobelovou cenou za chemii. V následujících letech byly vyvíjeny další elektroforetické a elektrochromatografické metody a byly zkoumány možnosti jejich využití k oddělení látek a (bio)částic pro analytické i preparativní účely. Zde si zaslouží uvést metodu ZE ve volném roztoku v rotující skleněné trubičce o vnitřním průměru 3 mm, kterou již v 50. letech minulého století vyvinul Tiseliusův žák a spolupracovník, Stellan Hjertén na Univerzitě v Uppsale<sup>9</sup>. Konstrukci této aparatury i teoretické základy ZE a dosažené výsledky však popsal v rozsáhlé téměř stostránkové publikaci až v roce 1967 (cit.<sup>10</sup>).

Velmi dobrým základem pro výzkum a vývoj elektromigračních metod v Československu byl základní výzkum v oblasti obecné elektrochemie, který již ve 20. letech minulého století prováděl na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze Jaroslav Heyrovský<sup>11</sup>. Ten byl později, v roce 1959, vyznamenán Nobelovou cenou za „objev a rozpracování analytické polarografické metody“. Podle autorovi dostupných pramenů začal výzkum elektromigračních metod v Československu v tehdejší Ústředním ústavu chemickém, dnešním Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR (ÚOCHB), shodou okolností autorově současném pracovišti. První elektroforetické experimenty tam provedli A. H. Gordon, B. Keil a K. Šebesta již v letech 1947–1949. Byli si vědomi rušivých vlivů termokonvekce v důsledku různých teplot ve středu a na okrajích separačního prostoru a sedimentace makromolekul bílkovin ve volném roztoku v relativně širokých ramenech svisle orientované U-trubice o vnitřním průměru 1 cm v Tiseliově elektroforéze pohyblivého rozhraní, a proto začali dělit modelové bílkoviny (ferritin, hemoglobin a bílkoviny vaječného bílku) v agarovém gelu umístěném na chlazené skleněné desce v laboratorním zařízení pro plošnou gelovou elektroforézu. Agarový gel vykazoval stabilizační antikonektivní efekt a částečně též síťový efekt a umožnil semipreparativní oddělení ferritinu a hemoglobinu a částečné dělení bílkovin vaječného bílku. Výsledky těchto experimentů zveřejnili v roce 1949 v prestižním časopise Nature<sup>12</sup> a o rok později podrobně popsali v časopise Collection<sup>13</sup>. Vedoucím Ústředního ústavu chemického byl František Šorm, který podporoval zavádění tehdy nových chromatografických a elektroforetických metod do (bio)chemického výzkumu.

V roce 1953 byl Ústřední ústav chemický přeměněn na Ústav organické chemie (v roce 1960 rozšířený o biochemii a přejmenovaný na výše uvedený ÚOCHB) tehdy založené Československé akademie věd. František Šorm se stal jeho ředitelem a výzkum separačních metod v tomto ústavu podporoval i nadále. V 50. letech byly v tomto ústavu i na jiných pracovištích v Československu i ve světě vyvíjeny různé aparatury pro papírovou elektroforézu. V ÚOCHB to byla nechlazená nízkovoltová tzv. sestupná papírová elektroforéza sestavená Otakarem Mikešem<sup>14</sup>. Byla široce využívána zejména pro výzkum peptidů a bílkovin. Vzorek obsahující hydrolyzované bílkoviny nebo (poly)peptidy byl nanesen do střední linie svle orientovaného pufrem nasátého speciálního filtračního papíru zavěšeného mezi dvěma elektrodovými kvyetami, do kterých bylo prostřednictvím platinových elektrod přiváděno separační napětí. Výsledný pohyb peptidů byl kombinací jejich elektroforetické migrace, elektroosmotického toku pufří uvnitř pórů papírového nosiče směrem k horní záporně nabitě elektrodě (katodě) a vztlání pufří z obou elektrodových kvyet směrem do středu papíru. Při tomto uspořádání docházelo k zaostřování zón separovaných peptidů. Po ukončení experimentu neutrální peptidy zůstávaly uprostřed papíru ve směsné zóně v místě jejich počátečního nanesení, zatímco bazické, kladně nabitě peptidy vytvářely zóny v horní katodické oblasti papíru, a kyselé, záporně nabitě peptidy se nacházely v zónách v dolní anodické oblasti papíru.

Světově prioritní dvoudimenzionální (2D) dělení směsi peptidů metodami diagonální papírové elektroforézy a diagonální papírové chromatografie, vyvinutými Otakarem Mikešem a Václavem Holeyšovským, bylo využito zejména pro určování míst disulfidových můstků v primárních strukturách bílkovin<sup>15</sup>. Lepší rozlišení a rychlejší separace aminokyselin, peptidů a bílkovin byly dosaženy v chlazené vysokovoltové papírové elektroforéze s pevným kovovým a elektricky izolovaným tepelným výměníkem, kterou vyvinuli Zdeněk Prusík a Bořivoj Keil<sup>16</sup>. Oba tyto typy papírové elektroforézy byly hojně využívány pro analytické i semipreparativní separace aminokyselin a peptidů při studiu primární struktury bílkovin, tj. při určování pořadí aminokyselin v jejich peptidových řetězcích, včetně pozic intra- i inter-řetězcových disulfidových spojení.

Vývoj instrumentace a teoretické studie papírové elektroforézy pokračovaly i v 60. a 70. letech minulého století. Vladimír Jokl z Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové zkoumal separaci iontů kovů papírovou elektroforézou v pufrech obsahujících organické ligandy, např. ethylendiaminotetraoctovou kyselinu (EDTA)<sup>17</sup>. Tyto ligandy tvořily s ionty kovů různé pevné komplexy a díky tomu bylo možné dělit i ionty kovů se stejnými nebo velmi blízkými pohyblivostmi, např. kationty kovů vzácných zemin, zejména lanthanoidů. Z těchto měření V. Jokl odvodil empirické rovnice pro určování iontových pohyblivostí zkoumaných komplexů. Jiří Vacík na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze využíval papírovou elektroforézu k teoretickým studiím.

Ve spolupráci se Zdeňkem Fidlerem řešil rovnici kontinuity pro nelineární distribuční funkci v papírové elektroforéze s protiproudem nosného elektrolytu pomocí analogových počítačů<sup>18</sup>.

Novým silným impulsem pro rozvoj elektromigračních metod v Československu na přelomu šedesátých a sedmdesátých let minulého století byly úspěšné separace malých iontů metodou vytěšňovací elektroforézy (displacement electrophoresis) v tenké skleněné trubičce, které v roce 1967 provedli a popsali Arche J. P. Martin (nositel Nobelovy ceny za chemii v roce 1952 za vynález rozdělovací chromatografie) a jeho tehdejší doktorand, Frans M. Everaerts<sup>19</sup>. Tato metoda, později zvaná izotachoforéza (ITP) (podle stejné migrační rychlosti separovaných zón v ustáleném ITP stavu)<sup>20</sup>, probíhala ve volném roztoku v tenkých skleněných trubičkách/kapilárách o vnitřním/vnější průměru 0,5/0,8 mm, ve kterých byl EOF potlačen zvýšením viskozity vedoucího elektrolytu přidávkou hydroxyethylcelulosity.

Díky koncentračnímu a samo-zaostřujícímu účinku diskontinuálního elektrolytového systému řízenému Kohlrauschovou regulační funkcí<sup>7</sup> byly bezprostředně sousedící zóny kationtů nebo aniontů velmi ostře odděleny a jejich délka byla přímo úměrná množství kationtů nebo aniontů zavedených do rozhraní mezi vedoucím a koncovým elektrolytem. Kapilární ITP (CITP) byla tehdy považována za velmi perspektivní analytickou a preparativní metodu. Brzy po vývoji laboratorních CITP zařízení, již v roce 1970, se na trhu objevil první komerční CITP analyzátor (Tachophor); vyráběla ho švédská firma LKB. Separacím prostorem byla teflonová kapilára o vnitřním/vnější průměru 0,5/0,8 mm a délce 23–80 cm. Separace byla zpočátku sledována univerzálním ale málo citlivým teplotním (termočláňkovým) detektorem, který byl brzy nahrazen jiným univerzálním, mnohem citlivějším kontaktním detektorem elektrické vodivosti roztoku v krátkém úseku kapiláry tvořícím tzv. „on-column“ detekční celou (celou na koloně). Pokročilejší verze tohoto přístroje byla vybavena i specifickým „on-column“ UV-absorpčním detektorem při vlnových délkách 206, 254 a 280 nm. Kvůli omezeným devizovým prostředkům českých a slovenských výzkumných pracovišť nebylo možné tento přístroj zakoupit. Proto, dříve než mohli metodu CITP začít studovat a dále ji rozvíjet, byli čeští a slovenští odborníci nuceni si přístroje pro tuto metodu nejprve sami v laboratorních podmínkách, tzv. „na koleně“, vyrobit. Zpočátku to představovalo určitou překážku, ale později se to ukázalo jako výhoda. Při konstrukci řady unikátních zařízení pro CITP s parametry srovnatelnými s komerčním Tachophorem získali čeští a slovenští výzkumníci cenné praktické zkušenosti a brzy patřili k předním mezinárodně uznávaným odborníkům nejen při vývoji CITP, ale později i při vývoji dalších CE metod. Československo patřilo společně s Nizozemskem, Švédskem a Japonskem v oblasti vývoje CITP ke světové špičce a československá ITP škola byla a je ve světě uznávána<sup>3</sup>.

### 3. Vývoj elektromigračních metod na jednotlivých pracovištích

#### 3.1. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze (PřF UK)

Prvním československým pracovištěm, které začalo zkoumat teorii ITP a vyvíjet CITP instrumentaci a metodiku, byla skupina Jiřího Vacíka na Katedře fyzikální chemie PřF UK, a to již v letech 1968–1969. Stalo se tak díky spolupráci J. Vacíka a jeho zručného mechanika i elektrotechnika Jiřího Zusky s „otcem“ CITP Fransem Everaertsem a jeho asistentem Theo Verheggenem z Technické Univerzity v Eindhoven. Tito nizozemští kolegové občas i tzv. „v kapse“ přivezli pokročilé elektronické součástky (integrované obvody, operační zesilovače), které nebyly v ČSSR dostupné, a umožnili tak konstrukci důležitých součástí CITP přístrojů, jakými byly vysokonapěťový zdroj konstantního proudu nebo miniaturní vysoce citlivý „on-column“ detektor elektrické vodivosti. V prvním laboratorním CITP zařízení vzniklém z této spolupráce experimentovali s protiproudem vedoucího elektrolytu, který účinně prodlužoval separační dráhu CITP separace organických i anorganických kationtů nebo aniontů v relativně krátké teflonové kapiláře. Výsledky publikovali v několika společných člancích, v prvním z nich již v roce 1970 (cit.<sup>21</sup>).

V dalších letech bylo toto zařízení zdokonalováno a bylo vybaveno prvním kapacitně vázaným bezkontaktním vodivostním detektorem vyvinutým tehdejším vědeckým aspirantem (v dnešní terminologii doktorandem) Bohuslavem Gašem<sup>22</sup>. Tento detektor byl později zdokonalen a upraven pro využití v CZE (cit.<sup>23</sup>). Byl vyráběn společností ADMET založenou Jiřím Zuskou a dodnes je využíván v mnoha laboratorních i komerčních CE přístrojích. V 80. letech 20. století J. Vacík pokračoval v teoretických studiích elektromigračních metod. Ve spolupráci s bratry Vlastimilem a Zdeňkem Fidlerovými publikoval výsledky řešení rovnice kontinuity získané simulací na hybridních počítačích<sup>24</sup>. I přes některá zjednodušení (studovaný systém obsahoval pouze čtyři silné elektrolyty) výsledky názorně ukazovaly dynamiku separačního procesu včetně úpravy koncentrace analytů v ustáleném ITP stavu ve shodě s Kohlrauschovou regulační funkcí. Ve studiu teoretických základů elektromigračních procesů na tomto pracovišti v dalších letech velmi úspěšně pokračoval Bohuslav Gaš, pozdější prorektor UK a děkan PřF UK. Vytvořil nový teoretický model elektroforézy popsáný sérií diferenciálních rovnic a našel způsoby jejich numerického řešení<sup>25</sup>. Společně s V. Hruškou podrobně popsal význam Kohlrauschovy regulační funkce a jiných konzervativních funkcí v ZE a ITP (cit.<sup>26</sup>).

Společně se svými studenty (Vlastimilem Hruškou, Michalem Jarošem, Pavlem Dubským) a spolupracovníky (Evou Tesařovou, Ivou Zuskovou, Kateřinou Včelákovou-Ušelovou, Martinou Riesovou, Janou Svobodovou a další-

mi) vyvinuli a experimentálně ověřili pokročilé programy pro simulaci elektromigračních procesů, PeakMaster<sup>27</sup> a Simul<sup>28</sup>. Nejnovější verze těchto programů, PeakMaster 6 (cit.<sup>29</sup>) a Simul 6 (cit.<sup>30</sup>), jsou volně dostupné na webu: <https://echmet.natur.cuni.cz/#portfolio>. Tyto programy jsou velmi cennými nástroji pro simulaci a optimalizaci experimentálních podmínek všech hlavních CE metod, CZE, CITP, ACE a CEKC. Program PeakMaster umožňuje výpočet pozice a tvaru piků jednotlivých analytů i systémových piků v přítomnosti současně probíhající acidobazických a komplexačních rovnováh. Program provádí výpočty a ukazuje vlastnosti BGE a zobrazuje elektroforegramy resp. elektrokinetické chromatogramy během několika vteřin.

Program Simul 6 je založen na modelu zahrnujícím rovnici kontinuity pro pohyb elektrolytů v kapalném prostředí, acidobazické rovnováhy slabých elektrolytů a podmínku elektroneutrálnosti. Může zahrnovat multivalentní elektrolyty i amfolyty a poskytuje kompletní obraz o dynamice elektromigrace a difuze v metodách CZE, CITP a CIEF. Umožňuje sledovat dynamiku separačních procesů včetně jejich přechodových (transientních) stavů, testování vlastností elektrolytových systémů a „in-silico“ optimalizaci experimentálních podmínek. Tím podstatně zkracuje vývoj vhodných podmínek pro praktické CE separace a analýzy (bio)molekul. S využitím těchto programů byly objeveny a experimentálně ověřeny některé speciální jevy, např. předpověď pozice a tvaru systémových piků na elektroforegramu<sup>31</sup> a výskyt oscilujících elektrolytů<sup>32</sup>.

V poslední době byly v této skupině vyvinuty nové programy pro výpočet termodynamických aciditních konstant slabých a amfoterních elektrolytů ze závislosti jejich efektivních elektroforetických pohyblivostí na pH (cit.<sup>33</sup>) a nový matematický model elektromigrace v mikrokanálcích při lokálním nesplnění podmínky elektroneutrálnosti<sup>34</sup>.

CE metody byly rozvíjeny rovněž na Katedře analytické chemie této fakulty. Ivan Jelínek a Jiří Snopek ve skupině Evy Smolkové-Keulemansové poprvé využili cyklodextriny jako stereoselektivní přísady do vedoucího elektrolytu CITP a v letech 1987–1992 se jim podařilo oddělit poziční izomery a enantiomery několika chirálních sloučenin a léčiv<sup>35–37</sup>. Další pracovníci této katedry, Věra Pacáková, Karel Štulík, Pavel Coufal a Tomáš Křížek, vyvinuli nové CE metody a využili je pro separace a analýzy různých organických i anorganických iontů a pro studium jejich nekovalentních interakcí s různými ligandy a receptory<sup>38–40</sup>.

Nové elektroforetické metody byly na PřF UK vyvíjeny také na Katedře biochemie. Václav Hořejší a Marie Tichá tam zavedli metodu afinitní elektroforézy v polyakrylamidových nebo agarosových gelech a využili ji ke studiu interakcí glykoproteinů s lektiny a dalšími ligandy<sup>41,42</sup>.

### 3.2. Ústav analytické chemie ČSAV/AV ČR v Brně (ÚACH nyní UIACH)

Na tomto pracovišti, konkrétně ve skupině Petra Bočka, začal vývoj CITP v první polovině 70. let. P. Boček a Mirko Deml vyrobili speciální ITP aparaturu, ve které separačním prostorem nebyla kapilára, ale žlábek (drážka) s pravoúhlým průřezem o hloubce 0,2 mm a šířce 1 mm vyfrézovaný v polyakrylamidovém bloku umístěném na hliníkovém výměníku tepla chlazeném cirkulující kapalinou<sup>43</sup>. Rychlé CITP separace v časech většinou do pěti minut byly sledovány univerzálním detektorem gradientu elektrického potenciálu na krátkém úseku kapiláry (0,5–1,0 mm)<sup>44</sup>. P. Boček a jeho kolegové vyvinuli řadu speciálních modifikací ITP, např. kontinuální dávkování vzorku<sup>45</sup> a koncentrační kaskádu vedoucího elektrolytu<sup>46</sup>, které umožnily zavádění větších objemů vzorků do separačního prostoru. Principiálně významné byly teoretické práce popisující využití hydroxoniových kationtů jako koncových iontů kationických ITP elektrolytových systémů<sup>47</sup> a objasňující výskyt systémových zón v CZE (cit.<sup>48</sup>).

Členové Bočkovy skupiny významně přispěli k rozvoji CITP a později i dalších CE metod. Petr Gebauer vytvořil diagram existence CITP zón<sup>49</sup>, zavedl tzv. diagram tvaru píků, který umožnil najít vhodné podmínky pro symetrické píky v CZE (cit.<sup>50</sup>), a vysvětlil schizofrenní chování („cik-cak“ píky) některých analytů<sup>51</sup>. Vladislav Dolník a spol. zavedli předseparaci velkého objemu vzorku pro stopovou CITP analýzu<sup>52</sup>. Jan Pospíchal a spol. předvedli možnost modifikace pH v separačním systému přidávkem elektrolytu z jiné elektrodové nádoby změnou poměru elektrických proudů ze dvou elektrodových nádobek<sup>53</sup>. Karel Klepárník a spol. vyvinuli CE separace fragmentů DNA v krátkých křemenných kapilárách v silně alkalických (pH > 12) základních elektrolytech<sup>54</sup> a významně přispěli k vývoji rozhraní pro spojení CE separací s ESI-MS detekcí<sup>55,56</sup>. Radim Vespalec se věnoval hlavně vývoji CE metod pro enantiosektivní separace chirálních látek<sup>57</sup> a pro separaci a analýzu karboranů<sup>58</sup>.

Ludmila Krivánková, ředitelka ústavu v letech 2007–2017, a její spolupracovníci vytvořili klasifikaci kationických a anionických ITP elektrolytových systémů, podle které lze rozlišit stabilní pufrované systémy, stabilní nepufrované systémy a nestabilní nepufrované systémy<sup>59</sup>. Významně též přispěli k vývoji kombinovaných 2D-CITP-CZE metod<sup>60,61</sup> a k využití přechodné (transient) ITP (tITP) ke zkoncentrování analytů o nízkých koncentracích před jejich následnou CZE analýzou<sup>62</sup>.

František Foret, současný ředitel ústavu, významně přispěl k vývoji instrumentace, metodiky i využití CE metod. Již v roce 1986 zkonstruoval kombinovaný UV-absorpční a bezkontaktní vodivostní detektor<sup>63</sup>. V 90. letech během téměř desetiletého postdoktorského pobytu v Barnett Institute of Northeastern University v Bostonu ve skupině B. Karger vyvinul online spojení CZE, CITP-CZE a mikročipové CE (MCE) separace bílkovin s jejich detekcí a identifikací hmotnostní spektrome-

trií s elektrosprejovou ionizací (ESI-MS)<sup>64,65</sup>. Po návratu do ÚIACH v roce 2002 zde založil novou výzkumnou skupinu „Bioanalytická instrumentace“ a pokračoval ve vývoji rozhraní pro spojení CE a MCE s ESI-MS detekcí<sup>66,67</sup> a v jejich využití pro analýzu biomolekul. V poslední době vyvinul novou metodu – epitachoforézu<sup>68</sup>. Ta je založena na elektromigraci ionogenních látek v ITP elektrolytovém systému v kruhovém separačním prostoru s anodou pro anionty (nebo s katodou pro kationty) v jejím středu a s katodou pro anionty (nebo anodou pro kationty) na vnějším obvodu kruhu a je využívána pro semipreparativní izolaci nukleových kyselin a bílkovin.

Pavel Kubáň, současný vedoucí dřívější Bočkovy skupiny, a jeho spolupracovníci vyvinuli novou metodu pro přípravu vzorku, elektroextrakci s pomocí kapalné membrány, a využili ji pro extrakci kationtů těžkých kovů a jiných iontů z komplexních směsí s následnou CZE analýzou extrahovaných iontů<sup>69</sup>. V dalších pracích spojili mikroextrakci v kapalné fázi z dutých vláken a CZE analýzu lidských biologických tekutin<sup>70</sup> a zkombinovali odběr vzorků sušených krevních skvrn s automatizovanou CE analýzou klinických vzorků<sup>71</sup>. Bratr Pavla, Petr Kubáň, se zabývá vývojem miniaturizovaných přenosných CE zařízení s bezkontaktní vodivostní nebo fluorescenční detekcí a jejich využitím pro místní stanovení malých organických a anorganických iontů v různých biologických tekutinách<sup>72,73</sup>.

Významný příspěvek pracovníků ÚIACH, tzv. „brněnské elektroforetické školy“ (cit.<sup>4</sup>) k vývoji a využití CE metod potvrzují nejen početné vědecké články, ale i knihy popisující teoretické základy, instrumentaci, metodiku a využití CITP (cit.<sup>74</sup>) a CZE a dalších CE metod<sup>75</sup>. V neposlední řadě je třeba zmínit, že P. Boček působil a F. Foret stále působí jako zástupce šéfredaktora časopisu Electrophoresis – významného mezinárodního časopisu věnovaného elektromigračním metodám. Kromě toho F. Foret a jeho spolupracovníci organizují sérii symposií International Interdisciplinary Meeting, CECE YYYY (<https://www.ce-ce.org/>), kde zkratka CECE pochází z původního názvu těchto setkání, Central European Capillary Electrophoresis.

Na rozvoji CE metod se v ÚIACH významně podíleli i pracovníci skupin Karla Šlaisa, Michala Rotha a Josefa Chmelíka. K. Šlais syntetizoval nízkomolekulární pI markery pro kalibraci pH gradientu v kapilárním i plošném gelovém formátu IEF (cit.<sup>76</sup>) a vyvinul elektrofokovací v pH gradientech generovaných ITP v kapilárách s kuželovitým průřezem<sup>77</sup> a preparativní separaci amfoterních analytů pomocí divergentního toku IEF (cit.<sup>78</sup>). M. Roth a spol. přispěli k vývoji křemenných kapilár upravených superkritickou vodou se dvěma sekcemi s různými vnitřními průměry a drsností vnitřních stěn<sup>79,80</sup>. Tyto kapiláry byly použity např. pro předkoncentraci a separaci bakterií<sup>81</sup> a pro identifikaci alergenů mléčných bílkovin<sup>82</sup>. J. Chmelík přispěl k rozvoji CIEF s EOF mobilizací fokusovaných zón bílkovin<sup>83</sup> a k vývoji kombinované metody IEF-frafracionace tokem v poli<sup>84</sup>.

### 3.3. Přírodovědecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě

Vývoj CITP na Katedře analytické chemie této fakulty zahájil v první polovině 70. let Samo Stankoviánsky. V dalších letech v něm intenzivně pokračoval jeho žák Dušan Kaniánsky, který vedl tuto katedru v letech 1990–1997 a od roku 2003 až do svého náhlého úmrtí v roce 2010. Do vývoje CITP zapojil většinu pracovníků této katedry. Nejprve zhotovili jednoduchou CITP aparaturu s kontaktním vodivostním detektorem<sup>85</sup>. Následně se však rozhodli pro jinou koncepci CITP instrumentace a vyvinuli funkční model tzv. dvoukolonového elektroforetického analyzátoru sestávajícího z předseparační širší kapiláry o vnitřním průměru 0,8 mm a z on-line připojené tenčí analytické kapiláry o vnitřním průměru 0,3 mm. Obě svisle orientované kapiláry byly vyrobeny z kopolymeru složeného z fluorovaného ethylenu a propylenu (FEP). Tento přístroj poskytoval 2D separační systém, ve kterém bylo možné spojovat různé CE metody, nejčastěji CITP v předseparační kapiláře a CZE v analytické kapiláře<sup>86</sup>, ale bylo možné provádět i 2D separace založené na dvou různých CITP nebo CZE elektrolytových systémech. Jednalo se o tzv. hydrodynamicky uzavřený systém s elektricky propustnou ale hydrodynamicky nepropustnou porézní membránou mezi analytickou kapilárou a spodní elektrodovou nádobkou<sup>87</sup>. Relativně malý elektroosmotický tok v této speciální kapiláře bylo třeba potlačovat přidávkou derivátů celulosy. Spojení dvou kapilár o různém průměru umožňovalo analýzu vzorků s velkým koncentračním rozsahem jednotlivých analytů, a to až v poměru 1:10 000.

Velkým úspěchem tohoto pracoviště bylo, že tento laboratorní přístroj se stal základem pro komerční CITP a CE analyzátor vyráběný od roku 1984 v detašovaném pracovišti košického Ústavu radioekologie a využitia jadrovej techniky ve Spišské Nové Vsi. Toto pracoviště se v roce 1992 přeměnilo na společnost Villa-Labeco, která zdokonalené verze tohoto přístroje vyrábí dodnes, viz <https://www.villalabeco.sk/>. Zasloužil se o to zejména Marián Koval. Pro tento přístroj byl později vyvinut detektor spektrofotometrický<sup>88</sup> a radiometrický<sup>89</sup> a lze ho připojit i k MS detektoru<sup>66</sup>. Koncept dvoukolonového uspořádání s přepínáním separačních kanálků byl využit i v později vyvinutých mikročipových CITP a CZE analyzátoch<sup>90</sup>.

Kapilární i mikročipový systém se spojenými kolonami byl využit pro mnoho analýz praktických vzorků většinou nízkomolekulárních ionogenních látek v nejrůznějších matricích anorganického i organického původu. Na jejich vývoji se podílela velká řada pracovníků katedry, z nichž alespoň někteří jsou dále jmenovitě uvedeni. Imre Zelenský a Viera Zelenská vypracovali postupy pro kombinované CITP-CZE stanovení anorganických aniontů v říčních vodách<sup>91</sup> a vysoce citlivé CITP stanovení chromanových aniontů v pitné vodě s mezí detekce na úrovni ppb (cit.<sup>92</sup>). Vlasta Madajová a Eva Šimuničová využily 2D-CITP pro stanovení benzoové kyseliny v potravinách<sup>93</sup> a metodou preparativní CITP izolovaly několik glykoforem proteinu

erythropoietinu<sup>94</sup>. Milan Hutta vyvinul CITP stanovení mastných kyselin v pitné vodě<sup>95</sup> a využil off-line spojení HPLC a CITP pro stopovou analýzu ionogenních látek v komplexních matricích<sup>96</sup>. Jozef Marák se podílel na vývoji počítačem asistovaného systému pro volbu elektrolytových systémů a výběr tzv. spacerů („oddělovačů“ vybraných analytů od ostatních složek vzorku) pro 2D-CITP separace komplexních směsí kationtů i aniontů<sup>97</sup> a preparativní CITP využil pro předseparaci komplexních směsí kationtů a aniontů před jejich následnou off-line MS identifikací<sup>98</sup>. Andrea Staňová off-line spojila preparativní CITP metodu pro přípravu vzorku s následnou CZE-ESI-MS analýzou terapeutických peptidů v lidské moči<sup>99</sup>.

Marián Masár a Robert Bodór se podíleli zejména na vývoji a využití nové generace CE zařízení v mikročipovém formátu. Prováděli CITP, CZE a CITP-CZE separace analytů v uzavřených systémech v planárních mikročipech s online spojenými separačními kanálky<sup>100</sup>, které byly obdobou klasických kapilárních systémů se spojenými kolonami<sup>86</sup>. Tyto nové MCE sestavy s vodivostním, spektrofotometrickým nebo MS detektorem byly využity např. pro analýzu aniontů organických i anorganických kyselin v říčních vodách<sup>101</sup> a ve víně<sup>102</sup> a pro stanovení kationtů kovů a amonného iontu v pitných vodách<sup>103</sup>.

### 3.4. Ústav organické chemie a biochemie ČSAV/AV ČR v Praze (ÚOCHB)

Kromě výše uvedené vysokonapěťové papírové elektroforézy<sup>16</sup> Zdeněk Prusík ve spolupráci s pracovníky vývojových dílen ÚOCHB vyvinul v 70. letech unikátní zařízení pro kontinuální průtokovou zónovou elektroforézu ve volném roztoku (free-flow zone electrophoresis, FFZE)<sup>104</sup>. Podrobně je toto zařízení popsáno v nedávném článku věnovaném výzkumu a vývoji elektromigračních metod v ÚOCHB (cit.<sup>105</sup>). Na konci 70. a počátku 80. let Z. Prusík a tehdejší (v současné terminologii) doktorand V. Kašička vyvinuli laboratorní zařízení pro CITP. Separace probíhala v tenké teflonové kapiláře o vnitřním/vnějších průměru 0,4/0,7 mm a délce 25–40 cm a byla sledována univerzálním detektorem gradientu elektrického potenciálu a specifickým UV-absorpčním detektorem při vlnových délkách 206, 254 nebo 280 nm. Tento přístroj byl následně rozšířen o online připojený sorpční element obsahující transferin imobilizovaný na pevném sorbentu. Toto uspořádání představovalo mezinárodně prioritní propojení extrakce tuhou fází s CE metodou. Bylo využito pro zachycení a zkoncentrování monoklonálních protilátek (mAb) proti transferinu z ascitické tekutiny s následnou elektrodosorpcí mAb za mírných podmínek zachovávajících jejich vazebnou aktivitu. Díky koncentračnímu ITP efektu byly elektrodosorbované látky zkoncentrovány do vysokých koncentrací v malém objemu ITP zóny<sup>106</sup>. V dalších letech byl tento přístroj využíván pro kontrolu čistoty syntetických biologicky aktivních peptidů po jejich předchozí purifikaci chromatografickými metodami<sup>107</sup>.

V roce 1985–1986 Z. Prusík a V. Kašička ve spolupráci s pracovníky vývojových dílen ÚOCHB vyvinuli

univerzální CE analyzátor nové generace, ve kterém bylo možné v křemenné kapiláře o vnitřním/vnějších průměru 50–100/150–375  $\mu\text{m}$  a délce 20–80 cm provádět všechny CE metody. Separace byla sledována on-column UV-absorpčním detektorem při vlnových délkách 206, 254 nebo 280 nm (cit.<sup>108</sup>). V tomto zařízení byly vyvíjeny vhodné podmínky i pro preparativní separace výše uvedené metodou FFZE. Na základě modelu korelace mezi CZE a FFZE byly analytické CZE separace peptidů převáděny na jejich preparativní FFZE purifikace s preparativní kapacitou 30–50  $\text{mg h}^{-1}$  (cit.<sup>109</sup>). Pokročilejší verze tohoto zařízení byla vybavena regulací rychlosti EOF vnějším příčným elektrickým polem, což umožnilo optimalizovat separační účinnost a dobu analýzy<sup>110</sup>. V poslední době byly vyvinuty dvě verze rozhraní pro online spojení laboratorního CE modulu s MS detekcí s elektrosprejovou ionizací analytů (CE-ESI-MS)<sup>111</sup>.

Kromě nové instrumentace V. Kašička a jeho studenti a spolupracovníci (Dušan Koval, Petra Sázelová, Veronika Šolinová, Sille Ehala-Štěpánová, Renáta Konášová) vyvinuli řadu nových CE metod pro separaci, analýzu a fyzikálně-chemickou charakterizaci achirálních i chirálních (bio)molekul. Metoda CZE byla využita pro stanovení konstant acidity (pKa), aktuálních a limitních iontových pohyblivostí a iontových poloměrů nukleotidů<sup>112</sup> a peptidů<sup>113</sup>. Metodou ACE byly studovány nekovalentní interakce molekul<sup>114</sup> a byly separovány enantiomery různých organických molekul a léčiv<sup>115–117</sup>. Od roku 1997 je V. Kašička předsedou Odborné skupiny chromatografie a elektroforézy České společnosti chemické a od roku 2009 je jedním z editorů časopisů *Journal of Separation Science* a *Separation Science Plus*.

### 3.5. Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Zdeněk Stránský na Katedře analytické chemie začal s vývojem instrumentace pro CITP v první polovině 80. let. Vyvinul laboratorní zařízení, na jehož základě byl od roku 1986 v JZD Odra Krmelín vyráběn komerční ITP analyzátor Agrofor. Jak jeho název napovídá, byl využíván zejména v zemědělských a potravinářských analytických laboratořích pro stanovení iontů nízkomolekulárních látek v různých matricích, např. organických a anorganických kyselin v silážích. V roce 1990 byla výroba tohoto zařízení, přejmenovaného na Ionosep, převedena do společnosti Recman, viz <https://www.recman.cz/ionosep/>.

Z. Stránský vyvinul několik CITP metod, např. pro analýzu kationických herbicidů a insekticidů ve vodách a půdách<sup>118</sup> a stanovení metabolitů léčiva trimecainu v krevní plazmě<sup>119</sup>. Ve spolupráci se svými studenty a pozdějšími spolupracovníky, Jurajem Ševčíkem, Karlem Lemrem, Petrem Bednářem, Petrem Bartákem, Janem Petrem a Vítězslavem Maierem, vypracovali řadu důležitých CE metod s UV-absorpční a ESI-MS detekcí pro separaci, analýzu a charakterizaci různých achirálních i chirálních organických sloučenin a léčiv<sup>120,121</sup>, přírodních látek<sup>122</sup>, bílkovin<sup>123</sup> a mikroorganismů<sup>124</sup>.

### 3.6. Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

Rovněž již v 80. letech byla CITP využívána i v Ústavu lékařské chemie této fakulty. Zde Vilím Šimánek a jeho spolupracovníci Ivo Válka a Daniela Walterová vyvinuli CITP metody pro stanovení biologicky aktivních látek, např. papaverinu a jiných alkaloidů, v léčebných preparátech<sup>125,126</sup>.

### 3.7. Fakulta chemické a potravinářské technologie Slovenské technické univerzity v Bratislavě

Jozef Polonský a jeho spolupracovnice, Lubica Re-pášová, Jolana Karovičová, Jana Sádecká a Tatiana Buzinkaiová, využili jeden z prvních CITP analyzátorů vyrobených ve výše uvedeném závodě ve Spišské Nové Vsi a vyvinuli řadu CITP metod pro stanovení nízkomolekulárních kationických i anionických látek v různých matricích. V první z nich publikované již v roce 1984 se jednalo o analýzu organických kyselin vzniklých oxidací hydrolytických produktů monosacharidů<sup>127</sup>. Další práce se týkaly stanovení organických i anorganických kyselin<sup>128,129</sup> a barviv<sup>130</sup> v potravinách a nápojích a léčiv v krevním séru<sup>131</sup>.

### 3.8. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

František Kvasnička na Katedře konzervace potravin Fakulty potravinářské a biochemické technologie vypracoval řadu 1D CITP (cit.<sup>132</sup>) a kombinovaných 2D CITP-CZE metod<sup>133</sup> pro separace a analýzy širokého spektra nízkomolekulárních ionogenních látek zahrnujících organické kyseliny<sup>134</sup>, anorganické kationity i anionty<sup>135</sup>, aminokyseliny<sup>136</sup>, biogenní aminy<sup>137</sup>, vitaminy<sup>138</sup>, cukry<sup>139</sup> a sladidla<sup>132</sup> v komplexních matricích potravin, potraviných doplňků a krmiv<sup>135,136</sup> a nápojů<sup>140</sup>. Tyto metody často slouží ke kontrole autenticity potravin a nápojů<sup>141</sup>.

Vladimír Král, David Sýkora, Pavel Řezanka a Kamil Záruba na Katedře analytické chemie Fakulty chemického inženýrství připravili nové speciální mono- a multimodální stacionární a pseudostacionární fáze na bázi porfyrinů, cyklodextrinů, prostých a cyklodextriny modifikovaných zlatých nanočástic a cysteinem modifikovaných stříbrných nanočástic pro metody OT-CEC a CEC (cit.<sup>142,143</sup>). Tyto fáze byly využity pro separace a analýzy různých sloučenin, např. aminokyselin, peptidů, polyaromatických uhlovodíků<sup>144</sup> a enantiomerů derivátů Trögerovýchází<sup>145</sup>.

### 3.9. Fyziologický ústav ČSAV/AV ČR v Praze

Vývoj CE metod na tomto pracovišti zahájil Zdeněk Deyl a spol. na konci 80. let (cit.<sup>146</sup>). V 90. letech, již s využitím CE analyzátoru firmy Beckman-Coulter, společně s tehdejšími doktorandem a pozdějším spolupracovníkem Ivanem Mikšíkem vyvinul řadu CE metod pro analýzu aminokyselin, peptidů, bílkovin, nukleotidů a steroidů. Metodou CZE s fyzikálním gelem propletených lineár-

ních polyakrylamidových řetězců se jim podařilo oddělit různě dlouhé fragmenty kolagenu<sup>147</sup>. Zkoumali rovněž potranslační modifikace (glykosylace a glykace) krevních bílkovin v kapilárách s různými povlaky, např. s kopolymery kapalných krystalů<sup>148</sup>, a aditivy, např. heptansulfonovou kyselinou<sup>149</sup> zvyšujícími selektivitu CE separací peptidů a bílkovin. Kromě výzkumných aktivit Z. Deyl byl v letech 1991–1997 předsedou Odborné skupiny chromatografie a elektroforézy České společnosti chemické a byl editorem několika monografií o elektromigračních i chromatografických metodách<sup>150–153</sup> a mnoha speciálních tematických a sympoziálních čísel časopisů *Journal of Chromatography A* a *Journal of Chromatography B*. I. Mikšík byl koeditorem výše uvedené knihy<sup>152</sup> a editorem bibliografické sekce *Journal of Chromatography A*.

### 3.10. Fakulta životního prostředí Univerzity Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem

Pavel Janoš vyvinul CZE a CITP metody pro analýzu anorganických iontů, např. CITP stanovení kationtů prvků vzácných zemin v různých technických materiálech<sup>154</sup> a CZE metodu pro separaci a analýzu lanthanoidů a aktinoidů<sup>155</sup>.

### 3.11. Přírodovědecká fakulta Masarykovy Univerzity v Brně

Zdeněk Glatz a jeho spolupracovníci a studenti (Marta Zeisbergerová-Pelcová, Roman Řemínek, Lenka Michalcová, Hana Nevědalová, Hana Mlčochová, Taťána Brzezická, a další) na Katedře biochemie vypracovali řadu CE metod pro analýzu a charakterizaci enzymů a jejich substrátů a inhibitorů<sup>156,157</sup>. Enzymy byly imobilizovány na vnitřní stěně kapiláry nebo byly smíchávány se substráty a inhibitory uvnitř kapiláry technikou zvanou elektroforetický zprostředkovaná mikroanalýza (EMMA)<sup>158</sup> nebo příčnou difuzí přes parabolické profily zón zavedených do kapiláry laminárním tokem<sup>159</sup>. Druhou oblastí jejich zájmů byl vývoj dvou módů afinitní CE (ACE), ACE s posunem pohyblivosti a frontální analýza-kapilární elektroforéza, a využití těchto metod pro studium nekovalentních molekulových interakcí bílkovin s nízkomolekulárními ligandy a léčivy<sup>160,161</sup>.

Jan Preisler a jeho spolupracovníci (Tomáš Rejtar, Ondřej Peš a Viktor Kanický) na Katedře chemie se zasloužili o vývoj pokročilé instrumentace CE metod, zejména o jejich spojení s MS detekcí s maticí asistovanou laserovou desorpční ionizací (MALDI)-MS a s MS detekcí s induktivně vázanou plazmou (ICP-MS). Vyvinutá zařízení využili v oblasti metaloproteomiky<sup>162–164</sup>.

Josef Havel a jeho spolupracovníci (Marta Farková, Mirka Spanilá-Bitová a Jiří Pazourek) na téže katedře zavedli využití umělých neuronových sítí pro optimalizaci extrakce tuhou fází a dalších experimentálních podmínek CE metod<sup>165,166</sup>.

### 3.12. 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Petr Tůma a Eva Samcová významně přispěli k vývoji nové instrumentace, metodiky i aplikačních možností kapilárních i mikročipových elektromigračních metod. Ve spolupráci s Františkem Opekarem, Ivanem Jelínkem a Karlem Štulíkem z PřF UK vyvinuli několik verzí univerzálního bezkontaktního vodivostního detektoru<sup>167–169</sup> a duálního vodivostního a spektrofotometrického detektoru<sup>170</sup>. Přispěli k metodickému rozvoji CE technik, např. zkoncentrováním velkých objemů vzorků v kapiláře do krátkých zón s využitím organického rozpouštědla (acetonitrilu) jako koncového elektrolytu ITP systému<sup>171</sup> a zrychlením CE separací kombinací dvou kapilár o různých vnitřních průměrech<sup>172</sup>. Zavedli spojení CE analýz biomolekul a léčiv s jejich elektromembránovou extrakcí<sup>173</sup> nebo mikrodialýzou<sup>174</sup> a vyvinuli speciální mikrodávkový systém umožňující přímé zavádění nanolitrových objemů vzorků do kapiláry z mikrostríkačky, kterou bylo odebráno pouze několik málo mikrolitrů krevní plazmy nebo jiných biologických tekutin<sup>175</sup>. Vyvinutá zařízení a metodické postupy byly využity pro praktické analýzy mnoha typů nízkomolekulárních látek (organických i anorganických kyselin a bází, aminokyselin, sacharidů a léčiv) v komplexních směsích klinických vzorků krevního séra, moči a slin<sup>176</sup> a v potravinách a nápojích<sup>177</sup>.

### 3.13. Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě

Peter Mikuš, Katarina Maráková a Juraj Piešťanský, absolventi doktorských studií ve skupině D. Kanianského na PřF Univerzity Komenského v Bratislavě vytvořili novou silnou skupinu CE metod na Katedře farmaceutické analýzy a nukleární farmacie této fakulty. V posledních 20 letech vypracovali řadu nových CITP, CZE a kombinovaných CITP-CZE (cit.<sup>178</sup>) metod, často online spojených s ESI-MS detekcí<sup>179,180</sup>, a využili je pro analýzu chirálních i achirálních léčiv, metabolitů a biomarkerů ve slinách a v moči<sup>181</sup>, pro stanovení vitaminů ve výživových doplňcích<sup>182</sup> a pro kontrolu čistoty a kvantitativní analýzu peptidových hormonů ve farmaceutických preparátech<sup>183</sup>.

### 3.14. Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové

Vladimír Jokl, Miroslav Polášek, Marie Pospíšilová a Pavel Jáč na Katedře analytické chemie vyvinuli několik CE metod pro kvalitativní i kvantitativní analýzu různých léků, např. CITP stanovení nesteroidních protizánětlivých léčiv<sup>184</sup>, anionických protiiontů bazických léčiv<sup>185</sup> a polyolových sloučenin sorbitolu a xylitolu v léčivých preparátech<sup>186</sup>. CZE metodu využili pro rychlou analýzu glukosaminu v léčivých a potravinových doplňcích<sup>187</sup> a metodou micelární CEKC analyzovali nečistoty v indometacinu<sup>188</sup>.

### 3.15. Fakulta chemicko-technologická Univerzity Pardubice

Pavel Jandera a jeho spolupracovníci na Katedře analytické chemie se zabývali hlavně vývojem a využitím HPLC metod<sup>2</sup>, ale částečně se věnovali i rozvoji CE techniky. Petr Česla vyvinul nové rozhraní pro přímé spojení LC a CE metod v 2D separační systém a společně s Pavlem Janderou, Janem Fischerem a Václavem Staňkem využili 1D-CE a 2D-LC-CEKC metody pro separaci achirálních i chirálních nízkomolekulárních sloučenin, např. aromatických sulfonových kyselin<sup>189</sup>, fenolových kyselin a flavonoidů<sup>190</sup> a benzothiazolových derivátů aminokyselin<sup>191</sup>.

### 3.16. Agronomická fakulta Mendelovy Univerzity v Brně

René Kizek, Markéta Vaculovičová, Adam Vojtěch, Mírek Macka a jejich spolupracovníci na Katedře chemie a biochemie této fakulty využívali kapilární i čipovou elektroforézu zejména k separaci a analýze kvantových teček<sup>192</sup> a jiných nanomateriálů<sup>193</sup> a ke studiu jejich konjugátů a komplexů s peptidy<sup>194</sup>, DNA<sup>195</sup> a metaloproteiny<sup>196</sup>. Po „přestupu“ z výše uvedeného ÚIACH zde působil i Jan Pospíchal a jeho spolupracovnice Eliška Glovinová. Zabývali se např. vývojem CIEF bez nosných amfolytů<sup>197</sup> a CITP analýzou těžkých kovů po jejich předchozím zkoncentrování metodou gradientové ligandové fokuse<sup>198</sup>.

## 4. Závěr

Mnoho výše uvedených příkladů ukazuje, že i přes relativně malý počet obyvatel čeští a slovenští výzkumní pracovníci velmi významně přispěli k rozvoji teorie, instrumentace a metodiky elektromigračních metod. Úspěchem je, že vyvinutá zařízení a metodické postupy byly široce využity pro prakticky významné rychlé vysokoúčinné separace, vysoce citlivé analýzy, izolace, purifikace a fyzikálně chemické a biochemické charakterizace širokého spektra (bio)molekul a (bio)částic. Elektromigrační metody významně přispěly k poznání chemických i fyzikálních vlastností a biologických funkcí (bio)molekul a (bio)částic a k objasnění procesů probíhajících v živých organismech i neživých systémech. Celkově výzkum českých a slovenských vědců významně posunul elektromigrační metody k rychlejší separacím, vyšším separačním účinnostem a citlivostem a širšímu využití těchto metod pro analytické i preparativní účely v mnoha oblastech výzkumu i průmyslové a zemědělské praxe.

Úspěšný rozvoj elektromigračních metod v Česku i na Slovensku lze očekávat i v příštích letech, neboť ve většině výše uvedených pracovišť je řada schopných mladých vědeckých pracovníků připravených pokračovat ve špičkovém výzkumu, vývoji i využití těchto metod.

*Práce byla podpořena Akademií věd České republiky, projekt č. RVO 61388963.*

## LITERATURA

1. Kašička V.: Chem. Listy. 91, 320 (1997).
2. Jandera P.: J. Sep. Sci. 29, 465 (2006).
3. Gebauer P., Foret F.: Chem. Listy 114, 3 (2020).
4. Křivánková L.: Chem. Listy 114, 10 (2020).
5. Chocholouš P., Polášek M., Kubáň P., Foret F.: Chem. Listy 115, 658 (2021).
6. Reuss F. F.: Memoires de la Societe imperiale des naturalistes de Moscou 2, 327 (1809).
7. Kohlrausch F.: Ann. Phys. 298, 209 (1897).
8. Tiselius A.: Trans. Faraday Soc. 33, 524 (1937).
9. Hjertén S.: Ark. Kemi 13, 151 (1958).
10. Hjertén S.: Chromatogr. Rev. 9, 122 (1967).
11. Heyrovský J.: Lond. Edinb. Dubl. Phil. Mag. 45, 303 (1923).
12. Gordon A. H., Keil B., Šebesta K.: Nature 164, 498 (1949).
13. Gordon A. H., Keil B., Šebesta K., Knessl O., Šorm F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 15, 1 (1950).
14. Mikeš O.: Collect. Czech. Chem. Commun. 22, 831 (1957).
15. Mikeš O., Holeyšovský V.: Collect. Czech. Chem. Commun. 23, 524 (1958).
16. Prusík Z., Keil B.: Collect. Czech. Chem. Commun. 25, 2049 (1960).
17. Jokl V.: J. Chromatogr. A 13, 451 (1964).
18. Vacík J., Fidler Z.: Collect. Czech. Chem. Commun. 36, 2342 (1971).
19. Martin A. J. P., Everaerts F. M.: Anal. Chim. Acta 38, 233 (1967).
20. Haglund H.: Science Tools 17, 2 (1970).
21. Everaerts F. M., Vacík J., Verheggen T. P. E. M., Zuska J.: J. Chromatogr. A 49, 262 (1970).
22. Gaš B., Demjaněnko M., Vacík J.: J. Chromatogr. A 192, 253 (1980).
23. Gaš B., Zuska J., Coufal P., van de Goor T.: Electrophoresis 23, 3520 (2002).
24. Fidler V., Vacík J., Fidler Z.: J. Chromatogr. A 320, 167 (1985).
25. Gaš B., Vacík J., Zelenský I.: J. Chromatogr. A 545, 225 (1991).
26. Hruška V., Gaš B.: Electrophoresis 28, 3 (2007).
27. Hruška V., Jaroš M., Gaš B.: Electrophoresis 27, 984 (2006).
28. Gaš B., Bravenec P.: Electrophoresis 42, 1291 (2021).
29. Malý M., Dohunová M., Dvořák M., Gerlero G. S., Kler P. A., Hruška V., Dubský P.: Electrophoresis 40, 683 (2019).
30. Gaš B.: TrAC, Trends Anal. Chem. 165, 117134 (2023).
31. Gaš B., Hruška V., Dittmann M., Bek F., Witt K.: J. Sep. Sci. 30, 1435 (2007).

32. Hruška V., Jaroš M., Gaš B.: *Electrophoresis* 27, 513 (2006).
33. Malý M., Boublík M., Pocrnic M., Ansorge M., Lorníčková K., Svobodová J., Hruška V., Dubský P., Gaš B.: *Electrophoresis* 41, 493 (2020).
34. Novotný T., Gaš B.: *Electrophoresis* 42, 881 (2021).
35. Jelínek I., Snopek J., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr. A* 405, 379 (1987).
36. Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr. A* 411, 153 (1987).
37. Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr. A* 609, 1 (1992).
38. Coufal P., Pacáková V., Štulík K.: *Electrophoresis* 28, 3379 (2007).
39. Pacáková V., Coufal P., Štulík K.: *J. Chromatogr. A* 834, 257 (1999).
40. Křížek T., Coufal P., Tesařová E., Sobotníková J., Bosáková Z.: *J. Sep. Sci.* 33, 2458 (2010).
41. Hořejší V.: *Anal. Biochem.* 112, 1 (1981).
42. Hořejší V., Tichá M.: *J. Chromatogr. B* 376, 49 (1986).
43. Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr. A* 106, 283 (1975).
44. Deml M., Boček P., Janák J.: *J. Chromatogr. A* 109, 49 (1975).
45. Ryšlavý Z., Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr. A* 147, 369 (1978).
46. Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr. A* 156, 323 (1978).
47. Boček P., Gebauer P., Deml M.: *J. Chromatogr. A* 217, 209 (1981).
48. Gebauer P., Beckers J. L., Boček P.: *Electrophoresis* 23, 1779 (2002).
49. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 267, 49 (1983).
50. Gebauer P., Boček P.: *Anal. Chem.* 69, 1557 (1997).
51. Gebauer P., Borecká P., Boček P.: *Anal. Chem.* 70, 3397 (1998).
52. Dolník V., Deml M., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 320, 89 (1985).
53. Pospíchal J., Deml M., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 470, 43 (1989).
54. Klepárník K., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 22, 783 (2001).
55. Klepárník K., Otevřel M.: *Electrophoresis* 31, 879 (2010).
56. Krenkova J., Kleparnik K., Luksch J., Foret F.: *Electrophoresis* 40, 2263 (2019).
57. Vespalec R., Boček P.: *Chem. Rev.* 100, 3715 (2000).
58. Horáková H., Grüner B., Vespalec R.: *J. Chromatogr. A* 1051, 227 (2004).
59. Krivánková L., Foret F., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 390, 3 (1987).
60. Krivánková L., Gebauer P., Thormann W., Mosher R. A., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 638, 119 (1993).
61. Krivánková L., Boček P.: *J. Chromatogr. B* 689, 13 (1997).
62. Krivánková L., Pantůčková P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 838, 55 (1999).
63. Foret F., Deml M., Kahle V., Boček P.: *Electrophoresis* 7, 430 (1986).
64. Foret F., Thompson T. J., Vouros P., Karger B. L., Gebauer P., Boček P.: *Anal. Chem.* 66, 4450 (1994).
65. Zhang B., Liu H., Karger B. L., Foret F.: *Anal. Chem.* 71, 3258 (1999).
66. Tomáš R., Koval M., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1217, 4144 (2010).
67. Tycova A., Prikryl J., Foret F.: *Electrophoresis* 37, 924 (2016).
68. Foret F., Datinská V., Voráčová I., Novotný J., Gheibi P., Berka J., Astier Y.: *Anal. Chem.* 91, 7047 (2019).
69. Kubán P., Strieglerová L., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 32, 1025 (2011).
70. Míková B., Dvořák M., Ryšavá L., Kubán P.: *Anal. Chem.* 92, 7171 (2020).
71. Ryšavá L., Dvořák M., Kubán P.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 60, 6068 (2021).
72. Greguš M., Foret F., Kubán P.: *J. Chromatogr. A* 1427, 177 (2016).
73. Kubán P., Dvořák M., Kubán P.: *Anal. Chim. Acta* 1075, 1 (2019).
74. Boček P., Deml M., Gebauer P., Dolník V.: *Analytical Isotachophoresis*. Verlag Chemie, Weinheim 1988.
75. Foret F., Krivánková L., Boček P.: *Capillary Zone Electrophoresis*. Verlag Chemie, Weinheim 1993.
76. Šlais K., Friedl Z.: *J. Chromatogr. A* 661, 249 (1994).
77. Šlais K.: *J. Chromatogr. A* 684, 149 (1994).
78. Šlais K.: *Electrophoresis* 29, 2451 (2008).
79. Horká M., Karásek P., Roth M., Šlais K.: *Electrophoresis* 38, 1260 (2017).
80. Karásek P., Horká M., Šlais K., Planeta J., Roth M.: *J. Chromatogr. A* 1539, 1 (2018).
81. Horká M., Karásek P., Roth M., Růžička F.: *Anal. Bioanal. Chem.* 410, 167 (2018).
82. Horká M., Šalplachta J., Karásek P., Roth M.: *Food Chem.* 377, 131986 (2022).
83. Thormann W., Caslavská J., Molteni S., Chmelik J.: *J. Chromatogr. A* 589, 321 (1992).
84. Chmelik J.: *J. Chromatogr. A* 539, 111 (1991).
85. Stankoviansky S., Čičmanec P., Kaniansky D.: *J. Chromatogr. A* 106, 131 (1975).
86. Kaniansky D., Marák J.: *J. Chromatogr. A* 498, 191 (1990).
87. Kaniansky D., Marák J., Masár M., Iványi F., Madajová V., Šimuničová E.: *J. Chromatogr. A* 772, 103 (1997).
88. Zelenský I., Kaniansky D., Havaši P., Verheggen T. P. E. M., Everaerts F. M.: *J. Chromatogr. A* 470, 155 (1989).
89. Kaniansky D., Marák J., Rajec P., Švec A., Koval M., Lůčka M., Sabanoš G.: *J. Chromatogr. A* 470, 139 (1989).

90. Kaniansky D., Masár M., Bielčíková J., Iványi F., Eisenbeiss F., Stanislawski B., Grass B., Neyer A., Jöhnc M.: *Anal. Chem.* 72, 3596 (2000).
91. Zelenský I., Zelenská V., Kaniansky D., Havaši P., Lednárová V.: *J. Chromatogr. A* 294, 317 (1984).
92. Zelenský I., Zelenská V., Kaniansky D.: *J. Chromatogr. A* 390, 111 (1987).
93. Madajová V., Marák J., Kaniansky D., Šimuničová E.: *Chem. Listy* 86, 381 (1992).
94. Madajová V., Šimuničová E., Kaniansky D., Marák J., Zelenská V.: *Electrophoresis* 26, 2664 (2005).
95. Hutta M., Šimuničová E., Kaniansky D., Tkáčová J., Brtko J.: *J. Chromatogr. A* 470, 223 (1989).
96. Hutta M., Marák J., Kaniansky D.: *J. Chromatogr. A* 509, 271 (1990).
97. Marák J., Laštinec J., Kaniansky D., Madajová V.: *J. Chromatogr. A* 509, 287 (1990).
98. Marák J., Staňová A., Gajdoštinová S., Škultéty L., Kaniansky D.: *Electrophoresis* 32, 1273 (2011).
99. Staňová A., Marák J., Rezelí M., Pager C., Kilár F., Kaniansky D.: *J. Chromatogr. A* 1218, 8701 (2011).
100. Masár M., Žuborová M., Bielčíková J., Kaniansky D., Jöhnc M., Stanislawski B.: *J. Chromatogr. A* 916, 101 (2001).
101. Bodor R., Madajová V., Kaniansky D., Masár M., Jöhnc M., Stanislawski B.: *J. Chromatogr. A* 916, 155 (2001).
102. Masár M., Kaniansky D., Bodor R., Jöhnc M., Stanislawski B.: *J. Chromatogr. A* 916, 167 (2001).
103. Masár M., Sydes D., Luc M., Kaniansky D., Kuss H. M.: *J. Chromatogr. A* 1216, 6252 (2009).
104. Prusík Z.: *J. Chromatogr. A* 91, 867 (1974).
105. Kašička V.: *Chem. Listy* 118, 579 (2024).
106. Kašička V., Prusík Z.: *J. Chromatogr. B* 273, 117 (1983).
107. Kašička V., Prusík Z.: *J. Chromatogr. B* 569, 123 (1991).
108. Prusík Z., Kašička V., Staněk S., Kuncová G., Hayer M., Vrkoč J.: *J. Chromatogr. A* 390, 87 (1987).
109. Kašička V., Prusík Z., Pospíšek J.: *J. Chromatogr. A* 608, 13 (1992).
110. Kašička V., Prusík Z., Sázelová P., Chiari M., Mikšík I., Deyl Z.: *J. Chromatogr. B* 741, 43 (2000).
111. Konášová R., Koval D., Dytřtová Jaklová J., Kašička V.: *J. Chromatogr. A* 1568, 197 (2018).
112. Šolínová V., Kašička V., Koval D., Česnek M., Holý A.: *Electrophoresis* 27, 1006 (2006).
113. Šolínová V., Kašička V.: *Electrophoresis* 34, 2655 (2013).
114. Ehala S., Marklík E., Toman P., Kašička V.: *Electrophoresis* 31, 702 (2010).
115. Koval D., Severa L., Adriaenssens L., Vávra J., Teplý F., Kašička V.: *Electrophoresis* 32, 2683 (2011).
116. Sázelová P., Šolínová V., Schimperková T., Jiráček J., Kašička V.: *J. Sep. Sci.* 45, 3328 (2022).
117. Šolínová V., Kašička V., Sázelová P., Holý A.: *Electrophoresis* 30, 2245 (2009).
118. Stránský Z.: *J. Chromatogr. A* 320, 219 (1985).
119. Stránský Z., Chmela Z., Peč P., Šafařík L.: *J. Chromatogr. B* 342, 167 (1985).
120. Ševčík J., Stránský Z., Ingelse B. A., Lemr K.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14, 1089 (1996).
121. Barták P., Bednář P., Friedecký D., Haviger A., Ševčík J.: *J. Chromatogr. B* 758, 323 (2001).
122. Bednář P., Papoušková B., Müller L., Barták P., Stávek J., Pavloušek P., Lemr K.: *J. Sep. Sci.* 28, 1291 (2005).
123. Müller L., Barták P., Bednář P., Fryšová I., Ševčík J., Lemr K.: *Electrophoresis* 29, 2088 (2008).
124. Petr J., Rýparová O., Ranc V., Hinnerová P., Znaleziona J., Kowalska M., Knob R., Maier V., Frébort I., Lemr K., Ševčík J.: *Electrophoresis* 30, 444 (2009).
125. Válka I., Walterová D., Šimánek V.: *J. Chromatogr. A* 350, 336 (1985).
126. Válka I., Šimánek V.: *J. Chromatogr.* 445, 258 (1988).
127. Repášová L., Polonský J., Košík M., Vodný S.: *J. Chromatogr. A* 286, 347 (1984).
128. Karovičová J., Drdák M., Polonský J.: *J. Chromatogr. A* 509, 283 (1990).
129. Sádecká J., Polonský J.: *J. Chromatogr. A* 834, 401 (1999).
130. Karovičová J., Polonský J., Příbela A., Šimko P.: *J. Chromatogr. A* 545, 413 (1991).
131. Buzinkaiová T., Skacáni I., Netriová J.: *Pharmazie* 50, 799 (1995).
132. Kvasnička F.: *J. Chromatogr. A* 390, 237 (1987).
133. Kvasnička F., Jaroš M., Gaš B.: *J. Chromatogr. A* 916, 131 (2001).
134. Dušek M., Kvasnička F., Moravcová J.: *Chem. Listy* 98, 418 (2004).
135. Blatný P., Kvasnička F.: *J. Chromatogr. A* 834, 419 (1999).
136. Kvasnička F.: *J. Chromatogr. A* 838, 191 (1999).
137. Kvasnička F., Voldřich M.: *J. Chromatogr. A* 1103, 145 (2006).
138. Kvasnička F., Humpolíková P., Volkmerová D.: *Potravinarske Vedy* 6, 259 (1988).
139. Kvasnička F., Parkin G., Harvey C.: *Int. Sugar. J.* 95, 451 (1993).
140. Kvasnička F., Voldřich M.: *J. Chromatogr. A* 891, 175 (2000).
141. Kvasnička F.: *J. Sep. Sci.* 28, 813 (2005).
142. Sýkora D., Kašička V., Mikšík I., Řezanka P., Záruba K., Matějka P., Král V.: *J. Sep. Sci.* 33, 372 (2010).
143. Sýkora D., Záruba K., Butnariu M., Tatar A., Pham H. M., Studenovský M., Řezanka P., Král V.: *J. Sep. Sci.* 43, 4178 (2020).
144. Řezanka P., Ehala S., Koktan J., Sýkora D., Žvátora P., Vosmanská M., Král V., Mikšík I., Čefovský V., Kašička V.: *J. Sep. Sci.* 35, 73 (2012).
145. Řezanka P., Ryšavá H., Havlík M., Jakubek M., Sýkora D., Král V.: *Chirality* 25, 379 (2013).
146. Deyl Z., Rohlíček V., Adam M.: *J. Chromatogr. A* 480, 371 (1989).

147. Deyl Z., Mikšík I.: *J. Chromatogr. A* 698, 369 (1995).
148. Mikšík I., Charvátová J., Eckhardt A., Deyl Z.: *J. Chromatogr. B* 800, 155 (2004).
149. Mikšík I., Charvátová J., Eckhardt A., Cserhati T., Forgacs E., Deyl Z.: *J. Chromatogr. B* 800, 161 (2004).
150. Deyl Z.: *Electrophoresis: A Survey of Techniques and Applications*. Pt. A: Techniques. str. 1–390. Elsevier, Amsterdam 1979.
151. Deyl Z.: *Electrophoresis: A Survey of Techniques and Applications*. Pt. B: Applications. Elsevier, Amsterdam 1983.
152. Deyl Z., Mikšík I., Tagliaro F., Tesařová E.: *Advanced Chromatographic and Electromigration Methods in BioSciences*. Elsevier, Amsterdam 1998.
153. Deyl Z., Švec F. (ed.): *Capillary Electrochromatography*, str. 1–440. Elsevier, Amsterdam 2001.
154. Jánoš P., Jandlová J.: *Chem. Anal.* 36, 525 (1991).
155. Jánoš P.: *Electrophoresis* 24, 1982 (2003).
156. Glatz Z.: *J. Chromatogr. B* 841, 23 (2006).
157. Řemínek R., Zeisbergerová M., Langmajerová M., Glatz Z.: *Electrophoresis* 34, 2705 (2013).
158. Zeisbergerová M., Adámková A., Glatz Z.: *Electrophoresis* 30, 2378 (2009).
159. Bržezická T., Kohútová L., Glatz Z.: *J. Sep. Sci.* 47, 2400157 (2024).
160. Michalcová L., Glatz Z.: *J. Sep. Sci.* 38, 325 (2015).
161. Nevídalová H., Michalcová L., Glatz Z.: *Electrophoresis* 40, 625 (2019).
162. Preisler J., Hu P., Rejtar T., Moskovets E., Karger B. L.: *Anal. Chem.* 74, 17 (2002).
163. Pěš O., Jungová P., Vyhnaněk R., Vaculovič T., Kanický V., Preisler J.: *Anal. Chem.* 80, 8725 (2008).
164. Tomalová I., Foltýnová P., Kanický V., Preisler J.: *Anal. Chem.* 86, 647 (2014).
165. Farková M., Penamendez E. M., Havel J.: *J. Chromatogr. A* 848, 365 (1999).
166. Spanilá M., Pazourek J., Farková M., Havel J.: *J. Chromatogr. A* 1084, 180 (2005).
167. Tůma P., Opekar F., Štulík K.: *Electrophoresis* 23, 3718 (2002).
168. Tůma P., Samcová E., Štulík K.: *Electroanalysis* 23, 1870 (2011).
169. Tůma P.: *J. Sep. Sci.* 40, 940 (2017).
170. Zikmundová J., Tůma P., Opekar F.: *J. Sep. Sci.* 31, 353 (2008).
171. Tůma P.: *J. Chromatogr. A* 1345, 207 (2014).
172. Pavlíček V., Tůma P., Matějčková J., Samcová E.: *Electrophoresis* 35, 956 (2014).
173. Opekar F., Tůma P.: *Talanta* 254, 124149 (2023).
174. Tůma P.: *Anal. Chim. Acta* 1287, 342113 (2024).
175. Opekar F., Tůma P.: *Anal. Chim. Acta* 1042, 133 (2018).
176. Tůma P.: *Anal. Chim. Acta* 1225, 340161 (2022).
177. Tůma P., Opekar F., Dlouhý P.: *Food Chem.* 375, 131858 (2022).
178. Piešťanský J., Maráková K., Veizerová L., Galba J., Mikuš P.: *Anal. Chim. Acta* 826, 84 (2014).
179. Piešťanský J., Maráková K., Koval M., Mikuš P.: *J. Chromatogr. A* 1358, 285 (2014).
180. Maráková K., Piešťanský J., Zelinková Z., Mikuš P.: *Molecules* 22, (2017).
181. Mikuš P., Maráková K.: *Electrophoresis* 30, 2773 (2009).
182. Maráková K., Piešťanský J., Havránek E., Mikuš P.: *Pharmazie* 69, 663 (2014).
183. Stefanik O., Mikus P., Piestansky J.: *Electrophoresis* 46, 636 (2025).
184. Pospíšilová M., Jokl V., Polášek M., Mokrý J.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 13, 1147 (1995).
185. Polášek M., Pospíšilová M., Urbánek M.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 23, 135 (2000).
186. Pospíšilová M., Polášek M., Jokl V.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17, 387 (1998).
187. Jác P., Los P., Spáčil Z., Pospíšilová M., Polášek M.: *Electrophoresis* 29, 3511 (2008).
188. Riasová P., Doubková D., Pincová L., Jung O., Polášek M., Jác P.: *Electrophoresis* 39, 2550 (2018).
189. Fischer J., Jandera P., Česla P., Staněk V.: *J. Sep. Sci.* 26, 1035 (2003).
190. Česla P., Fischer J., Jandera P.: *Electrophoresis* 33, 2464 (2012).
191. Nováková Z., Pejchal V., Fischer J., Česla P.: *J. Sep. Sci.* 40, 798 (2017).
192. Stanisavljevic M., Vaculovicova M., Kizek R., Adam V.: *Electrophoresis* 35, 1929 (2014).
193. Adam V., Vaculovicova M.: *Electrophoresis* 38, 2389 (2017).
194. Janu L., Stanisavljevic M., Krizkova S., Sobrova P., Vaculovicova M., Kizek R., Adam V.: *Electrophoresis* 34, 2725 (2013).
195. Stanisavljevic M., Chomoucka J., Dostalová S., Krizkova S., Vaculovicova M., Adam V., Kizek R.: *Electrophoresis* 35, 2587 (2014).
196. Pavelicova K., Vanicková L., Haddad Y., Nejdil L., Zitka J., Kociova S., Mravec F., Vaculovic T., Macka M., Vaculovicova M., Adam V.: *Int. J. Biol. Macromol.* 170, 53 (2021).
197. Pospíchal J., Glovinová E.: *J. Chromatogr. A* 918, 195 (2001).
198. Glovinová E., Pospíchal J.: *Chromatographia* 76, 313 (2013).

**V. Kašička** (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*): **Research and Development of Electromigration Methods in Czechoslovakia, Czechia and Slovakia from their Beginnings to the Present Days**

This article presents history of research and development of electromigration methods (EMMs) in Czechoslovakia, Czechia and Slovakia from their beginnings to the present days. After a short introduction to EMMs in general, the beginnings of the electromigration methods in the world and the first electrophoretic experiments in Czechoslovakia in the late 1940s and in 1950s are described. Then, in the approximately chronological order, the research and developments of EMMs in particular research groups at the colleges of the Czech and Slovak universities and at the institutes of the Czechoslovak, Czech and Slovak Academies of Sciences are presented. The most important results achieved by these groups are shown with references to the original articles in the prestigious international journals. All aspects of EMMs, fundamental theoretical research, construction of new instruments and detectors, and methodological developments are considered and the representative applications of EMMs for fast high-efficient separation, high-sensitive analysis, isolation, and physicochemical characterization of various types of (bio)molecules and (bio)particles are demonstrated. All the presented results confirm that the Czech and Slovak specialists significantly contributed to the great progress of the EMMs both in their early days and in recent times.

**Keywords:** electrophoresis, isotachopheresis, isoelectric focusing, affinity electrophoresis, electrokinetic chromatography, electrochromatography

*Acknowledgements*

*This work was supported by the Czech Academy of Sciences, project no. RVO 61388963.*



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.