

BRNĚNSKÁ ELEKTROFORETICKÁ ŠKOLA

Článek je věnován 100. výročí založení Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy.

LUDMILA KŘIVÁNKOVÁ

Ústav analytické chemie AV ČR, Veveří 97, 611 42 Brno
krivankova@iach.cz

Došlo 20.5.19, přijato 12.8.19.

Klíčová slova: analytická kapilární elektroforéza,
analytická kapilární izotachoforéza

Obsah

1. Úvod
2. Začátky analytické elektroforézy v Československu
3. Brněnská elektroforetická škola
 - 3.1. Izotachoforéza
 - 3.2. Kombinace izotachoforézy se zónovou elektroforézou, přechodná izotachoforéza v zónové elektroforéze
 - 3.3. Zónová elektroforéza
4. Závěr

1. Úvod

Elektroforetické analytické metody zaznamenaly od sedmdesátých let 20. století obrovský rozvoj a staly se samozřejmou součástí analytické a bioanalytické chemie. Trvalo ovšem téměř sto let než se původní objevy při zkoumání pohybu iontů v roztoku vlivem elektrického pole podařilo využít k vývoji analytické elektroforézy a izotachoforézy. Za základní teoretickou studii je považována práce Kohlrausche z roku 1897 (cit.¹), ale v téže době byly publikovány také další stěžejní práce Nernsta² a Whethama³ spojené s měřením převodových čísel a technikou pohyblivého rozhraní. Na možnost praktického využití pohyblivého rozhraní pro analytické účely upozornil až v roce 1928 Kendall⁴. Významným milníkem pro rozvoj současné podoby izotachoforézy a zónové elektroforézy je definování mobility slabých elektrolytů Tiselium v roce 1930 (cit.⁵). V padesátých letech se objevuje několik prací využívajících elektroforetickou migraci k separaci konkrétních analytů jak na nosičích, tak ve volných roztocích. Za zmínku stojí práce Hjertena⁶ popisující separaci bází v rotující kapiláře. K dalšímu výraznému posunu došlo koncem 60. let minulého století, kdy Virtanen popsal elektroforetické separace v kapiláře o vnitřním průměru 0,2 až 0,5 mm (cit.⁷).

2. Začátky analytické elektroforézy v Československu

V Československu se první příspěvky k vývoji teorie a instrumentace izotachoforézy a zónové elektroforézy objevily v 60. letech minulého století. Svůj význam dosud neztratila Joklova rovnice pro empirické určení iontové mobility⁸. Jokl se elektroforézou zabýval systematicky nejprve na Farmaceutické fakultě Komenského univerzity v Bratislavě, později na Farmaceutické univerzitě v Hradci Králové^{9,10}. Významným nestorem v oblasti výzkumu analytické elektroforézy byl Jiří Vacík z Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, který se v 60. letech zabýval elektroforézou na papíře, viz např. cit.¹¹. V roce 1971 publikoval článek o využití protiproudu v izotachoforéze společně s F. M. Everaertsem z Technologické univerzity v Eindhoven a zařadil se tak k průkopníkům této nové analytické metody¹². Společně s Jiřím Zuskou vyvinul aparaturu pro izotachoforézu a věnoval se studiu teplotních a koncentračních profilů^{13,14}. V knize *Electrophoresis*¹⁵ významnou měrou přispěl k vypracování uceleného popisu dějů spojených s analytickou elektroforézou. Studoval dynamiku izotachoforetické separace pomocí počítačové simulace¹⁶ a jeho pracoviště se stalo vedoucím pracovištěm na poli vývoje simulací pro studium dějů v izotachoforéze a později i v zónové elektroforéze. Bohuslav Gaš v jeho díle pokračoval a vypracoval mimo jiné volně dostupné programy počítačových simulací chování iontů při elektroforetických a izotachoforetických separacích PeakMaster a Simul¹⁷.

Snad nejvýznamnější podíl na rozvoji analytické izotachoforézy je nutno připsat pracovišti na Technologické univerzitě v Eindhoven. Kniha *Isotachophoresis; Theory, Instrumentation and Applications* se stala učebnicí a výchozím souborem znalostí pro všechny, kdo se chtěli této metodě věnovat¹⁸. Everaerts představil izotachoforézu i českým čtenářům Chemických listů svým příspěvkem, který do češtiny přeložil Petr Boček¹⁹. Ten se inspiroval nově se rozvíjející analytickou metodou a postupně vytvořil tým spolupracovníků, který zásadním způsobem přispěl k rozvoji teorie a metodologie analytické elektroforézy a získal světové renomé pod hlavičkou Brněnská elektroforetická škola. Další výraznou osobností byl Dušan Kaniánský z Ústavu chemie na Komenského univerzitě v Bratislavě, díky němuž se začal v Československu v Ústavu radioekologie a využitia jadrovej techniky Vývojovo-výskumného závodu prístrojov jadrovej techniky ve Spišské Nové Vsi vyrábět komerční přístroj pro analytickou izotachoforézu²⁰. Další osobností, která se začala věnovat rozvoji analytické izotachoforézy a elektroforézy, byl Zdeněk Stránský se spolupracovníky na Univerzitě Palackého v Olomouci²¹.

Další podrobnosti o pracovištích a osobnostech, které se zasloužily o významný rozvoj izotachoforézy v Československu, České republice a na Slovensku, jsou uvedeny v přehledném článku Foreta a Gebauera²².

3. Brněnská elektroforetická škola

3.1. Izotachoforéza

Počátky rozvoje analytické elektroforezy na Ústavu analytické chemie Akademie věd České republiky v Brně spadají do začátku 70. let minulého století, kdy Boček spolu s Mirko Demlem zkonstruoval vlastní aparaturu, s jejíž pomocí ověřil koncept korekčních faktorů pro izotachoforetickou kvantitativní analýzu^{23,24}, věnoval se studiu jevů doprovázejících izotachoforetickou separaci²⁵, využití protiproudu vedoucího elektrolytu pro zvýšení separační kapacity²⁶ a vývoji metody kontinuálního dávkování vedoucího elektrolytu a vzorku, která umožnila detegovat nízké koncentrace analytů ve vzorcích²⁷. Věnoval se problematice tvorby směsných zón analytů a možnostem zvyšování separační kapacity izotachoforetického systému, aniž by bylo nutno měnit technické parametry zařízení^{28,29}. Za velmi důležitou považoval správnou interpretaci izotachoforetických záznamů³⁰. Ve spolupráci s Petrem Gebauerem objasnil roli, chování a využití vodíkového iontu při izotachoforetické migraci^{31,32}. Zásadním příspěvkem Gebauera k pochopení principů izotachoforetického systému bylo vytvoření konceptu diagramu existence zón. Z diagramu konstruovaného pro danou kombinaci vedoucího a koncového elektrolytu lze pro libovolný pár analytů zjistit, zda budou v daném elektrolytovém systému izotachoforeticky migrovat, v jakém pořadí a zda nevytvorí naopak trvale směsnou zónu³³. Gebauer definoval podmínky pro korektní izotachoforetickou migraci a separovatelnost látek³⁴ a zabýval se selektivitou a separační rychlostí dvojice analytů s cílem pomocí jednoduchých experimentů dospět k nalezení optimálního pH a koncentrace vedoucího elektrolytu pro jejich separaci³⁵. Ludmila Křivánková s kolegy klasifikovala kationtové a aniontové izotachoforetické systémy a z pohledu korektní migrace je dále dělila na stabilní systémy pufrované, stabilní systémy bez pufru a nestabilní nepufrované systémy, které mohou být také cíleně využity³⁶. Možnost jemně modifikovat pH separačního média přidávkou dalšího elektrolytu z další elektrolytové komůrky pomocí změny poměru elektrického proudu popsali a pro pufrovaný systém a systém bez pufru experimentálně ověřili Jan Pospíchal a spol.³⁷. Gebauer se intenzivně zabýval tvorbou komplexů, jejich chováním a využitím při izotachoforetické analýze^{38,39}. Křivánková zkoumala možnosti snižování detekčního limitu izotachoforézy kombinací dvou kapilár o různém průměru a aplikacemi této dvojrozměrné techniky, viz např.^{40–44}. Pospíchal stanovil s využitím izotachoforézy relativní iontové mobility 40 aniontů a 19 kationtů (cit.⁴⁵). Pomocí mikropreparativního postupu umožňujícího měřit pH zón stanovil také iontové mobility a disociační konstanty slabých kyselin

a bázi včetně Goodových pufrů a zwitteriontů⁴⁶. Ve spolupráci s kolegy z Univerzity Palackého v Olomouci publikoval Boček práci o využití bivalentního protiiontu k ovlivňování efektivní mobility vodíkového iontu v kationtové izotachoforéze⁴⁷. Gebauer popsal vliv složení koncového elektrolytu na migraci analytu při kationtové izotachoforéze využívající H^+ ion jako ion vedoucí a demonstroval využití tohoto inverzního elektrolytového systému⁴⁸. Výpočtem a využitím zádrže separační kolony k optimalizaci izotachoforetických analýz se zabýval Vladislav Dolník a spol.⁴⁹. Originální je též vytvoření izotachoforetických podsystémů v pohyblivém rozhraní⁵⁰. Byla popsána strategie volby elektrolytového systému pro spojení izotachoforézy a ESI-MS včetně nekonvenčního systému pohyblivého rozhraní s dvěma koionty ve vedoucí i koncové zóně^{51–54}.

3.2. Kombinace izotachoforézy se zónovou elektroforézou, přechodná izotachoforéza v zónové elektroforéze

Novou kapitolu separací otevřela Křivánková kombinací izotachoforézy se zónovou elektroforézou⁵⁵. Tato metoda umožnila zvýšit citlivost a rozlišení izotachoforetických a elektroforetických analýz a byla úspěšně dále rozvíjena jak s pomocí na sebe navazujících kapilár o různých průměrech, tak uspořádáním elektrolytů v jedné kapiláře. Stěžejní práce klasifikovaly kombinace elektrolytů pro elektroforetický a izotachoforetický krok a popsaly dopady na separaci a zakoncentrování analytu^{56,57}. Na řadě aplikací bylo ukázáno, že při nastavení optimálních separačních podmínek lze dosáhnout nejvyšší citlivosti ve srovnání se samostatnými metodami zónové elektroforézy nebo izotachoforézy^{58–60}. Byly studovány také podmínky pro vznik přechodné izotachoforézy v analýzách metodou kapilární zónové elektroforézy navozené jak složením analyzovaného vzorku, tak složením základního elektrolytu^{61–63}. Poznatky byly aplikovány na analýzu glukuronidu jako markeru konzumace alkoholu v tělních tekutinách^{64,65}. Zajímavá je práce zaměřená na úskalí kvantitativní analýzy v zónové elektroforéze s vyhodnocením výšky pík při optické detekci⁶⁶. Využití chloridu v biologických vzorcích jako nástroje ke zvýšení citlivosti analýz bylo popsáno v další práci⁶⁷. Zajímavá sofistikovaná aplikace pro stanovení stopových kationtových nečistot v iontových kapalinách byla postavena na kombinaci izotachoforézy a zónové elektroforézy v jedné kapiláře s využitím protiproudu a kontinuálního elektrokinetického dávkování vzorku⁶⁸. Kombinace izotachoforézy a zónové elektroforézy umožnila i stanovení nestabilního 5-methyltetrahydrofolátu s možností využít hmotnostně spektrometrickou detekci⁶⁹.

3.3. Zónová elektroforéza

V osmdesátých letech 20. století se Bočkův tým začal orientovat i na rozvoj kapilární zónové elektroforézy. Gebauer v roce 1983 publikoval s velkou citační odezvou

praktickou analýzu dusičnanů, síranů a chloridů v pitné vodě provedenou v zařízení konstruovaném pro kapilární izotachoforézu⁷⁰. Posléze Deml vyvinul zařízení pro kapilární elektroforézu umožňující dávkovat definovaná malá množství vzorku⁷¹. Základ pro řadu dalších studií položila práce zabývající se využitím absorbujícího protiiontu pro analýzy neabsorbujících analytů⁷². Zajímavé jsou práce o možnosti provádět elektroforetické separace v mobilním pH gradientu, který lze dynamicky programovat^{73,74}. Zvýšení separačních možností lze také dosáhnout vnořením zóny přechodné iontové matrice tvořené solvolytickými ionty nebo ionty tvořícími komplexy s analyty do primárního separačního média⁷⁵. Separace slabých kyselin s využitím pulsu H^+ byla precizně matematicky popsána Gebauerem⁷⁶. Byl studován vliv mobility koiontu základního elektrolytu na elektromigrační disperzi analyzovaných zón⁷⁷.

Samostatnou kapitolu tvoří práce zabývající se využitím kapalné agarózy nebo lineárního polyakrylamidu při separaci vysokomolekulárních sloučenin, především DNA fragmentů^{78–81}, s praktickým využitím při sekvenování DNA a v diagnostice dědičných chorob⁸². Pozornost si zaslouží analýzy ssDNA fragmentů v krátkých křemenných kapilárách ve velmi alkalickém prostředí o pH vyšším než 12 (cit.⁸³).

Kapilární elektroforéza byla využita i pro stanovení izoelektrických bodů amfolytů⁸⁴ a fokusaci amfolytů mezi dvě zóny elektrolytového systému s možností posunout zakoncentrovanou zónu potřebným směrem, např. k detekční cele⁸⁵. Tým se také zabýval vývojem a využitím kontinuální průtokové elektroforézy pro preparativní účely^{86,87}. Byly publikovány příspěvky z oblasti separací chirálních sloučenin s využitím celé škály chirálních selektorů a technik včetně stanovení asociačních konstant rovnováhy analytu s chirálním selektorem a mobilit komplexů vznikajících při chirálních separacích^{88–92} a řada aplikací včetně využití micelární elektrokinetické chromatografie nebo iontového párování s polyethyleniminem^{93–96}.

Ve spolupráci s Fakultou informatiky Masarykovy univerzity v Brně byl vypracován samoučící informační systém XEMIC, který je schopen jako expert nabízet na základě podobnosti fyzikálně chemických vlastností analytu vhodné elektrolytové systémy⁹⁷.

Problematiku samozaostřování zón v zónové elektroforéze otevírá Gebauer v roce 1992 (cit.⁹⁸) a v roce 1995 publikuje obecný model a rozbor této problematiky s využitím počítačových simulací⁹⁹. Ve snaze posunout analýzy k vyšším citlivostem věnuje pozornost tvaru píků. Na základě matematického modelu zjistil, že klíčovým parametrem určujícím dynamiku migrace je směrnice rychlosti migrace, a zavedl diagram tvaru píků umožňující nalézt podmínky, za kterých lze pro daný analyt dosáhnout symetrický tvar píku^{100,101}. Podobně zavedl koncept diagramu vodivosti zón umožňující predikovat tvar zón při použití vodivostního detektoru¹⁰².

Samostatnou kapitolu tvoří soubor prací zabývající se systémovými píky v zónové elektroforéze s nepřímou detekcí. Za zmínku stojí vysvětlení schizofrenního chování

některých analytů při nepřímé detekci s využitím dvou koiontů, z nichž jeden má vyšší a druhý nižší mobilitu než analyt¹⁰³. Podmínky pro existenci systémových píků v závislosti na počtu koiontů a pH základního elektrolytu publikoval Boček s Beckersem v r. 1999 (cit.¹⁰⁴). Posléze byla rozšířena teorie vzniku systémových píků i o vliv uhličitánových iontů rozpuštěných v základním elektrolytu¹⁰⁵ a doložena možnost schizofrenního chování analytů ve fosfátovém a ftalátovém elektrolytovém systému^{106–108}. Klasifikace systémových zón a podmínky vzniku migrujících systémových zón jsou uvedeny v dalších pracích^{109,110}. Pozornost byla věnována též efektu surfaktantu cetyltrimethylamonium bromidu užívaného k ovlivnění elektroosmotického toku a separace analytů na tvorbu systémových píků¹¹¹ a možnosti existence systémových píků při elektroforetických analýzách v methanolu¹¹². S využitím všech těchto poznatků byla postulována metodologie návrhu vhodného základního elektrolytu pro optimální migraci a separaci analytů¹¹³. Křivánková upozornila na význam protiiontu u velmi oblíbeného borátového pufru¹¹⁴. U základních elektrolytů s nízkou pufrací kapacitou nebo při analýzách vzorků s vysokým obsahem solí existuje rovněž možnost tvorby systémových píků^{115–117}. Systémové zóny a další jevy lze rovněž očekávat při práci v silně alkalickém základním elektrolytu nebo při analýze alkalických vzorků¹¹⁸.

Na dosud nepopsaný typ migračního rozhraní upozornil Gebauer^{119,120}. Kromě samozaostřujícího a disperzního rozhraní popsal hybridní typ obsahující rysy obou známých rozhraní. Věnoval se též kurioznímu případu zakoncentrování analytu ve vzorku s makrokomponentou, jejíž zóna vytvoří zadní hybridní rozhraní¹²¹. Ukázal, že hybridní rozhraní se vyskytuje i v jednoduchých a běžně užívaných elektrolytových systémech s vícenásobnými slabými kyselinami¹²². Popsal princip zafokusování neamfoterního slabě ionogenního analytu využívající inverzní elektromigrační disperzní gradient¹²³, který byl později využit pro spojení kapilární elektroforézy s hmotnostní detekcí s elektrosprejovou ionizací¹²⁴.

Jednou z dalších kapitol zájmu týmu elektromigračních metod bylo správné stanovení disociačních konstant s využitím kapilární zónové elektroforézy^{125,126}. Šlampová a Boček popsali rigorózní přístup zpracování dat mobilitních křivek univalentních kyselin a bází^{127,128} a publikovali standardní postup volby elektrolytového systému umožňující eliminaci interakcí analytu s protiiontem^{129,130}.

Zajímavý způsob přečištění vzorků se složitými maticemi a zakoncentrování analytu rozpracoval Pavel Kubáň s využitím elektromembránové extrakce přes kapalné membrány^{131–133}. Monitoroval selektivitu kapalných membrán na nosiči pomocí kapilární elektroforézy¹³⁴ a sestavil mikrozařízení umožňující propojení se separační kapilárou komerčního přístroje pro kapilární elektroforézu¹³⁵, které umožnilo řadu zajímavých aplikací, mimo jiné stanovení mravenčanu pro rychlou diagnostiku osob otrávených methanolem^{136,137}. Posléze se věnoval mikroelektromembránové extrakci přes volné kapalné membrány a jejímu využití ve spojení s kapilární elektroforézou^{138–140}. Poukázal

na možné negativní vlivy elektrolyzy při elektromembránových extrakcích a doporučil aplikaci akceptorů s vysokou koncentrací slabých kyselin nebo bází^{141,142}. Pro další zvýšení citlivosti byl sestaven systém zahrnující efektivní zakoncentrování léčiv extrahovaných přes kapalnou membránu na nosiči s využitím přechodné izotachofórey¹⁴³. Zajímavé možnosti nabízí simultánní extrakce aniontů i kationtů pomocí stabilního pětifázového mikroelektromembránového systému¹⁴⁴.

František Foret odvedl obrovský kus práce na vývoji instrumentace orientované na propojení kapilární elektroforézy s hmotnostní spektrometrií při svém dlouholetém pobytu v týmu Barry L. Karger na Barnett institutu Northeastern univerzity v Bostonu v USA, viz např.^{145–147}. Po návratu na brněnské pracoviště pokračoval ve výzkumu a konstrukci zařízení pro spojení kapilární elektroforézy a hmotnostní spektrometrie a v miniaturizaci zařízení a aplikačně se orientoval na genomiku, proteomiku, glykomiku a metabolomiku, viz např.^{148–155}. Jana Křenková přispěla v oblasti miniaturizace kapilární elektroforézy propojené s hmotnostním detektorem dalším zajímavým aspektem, možností on-line štěpit proteiny enzymy imobilizovanými na stěně kapiláry^{156,157}. Foret věnoval pozornost mimo jiné i možnostem využití kvantových teček či nanočástic kovů při analýze proteinů kapilární elektroforézou^{158–160}. Analýzami biologických vzorků tělních tekutin včetně potu či kondenzátu dechu s využitím bezkontaktního nebo fluorescenčního detektoru se zabývá Petr Kubán^{161–164} a vyvíjí miniaturní vzorkovač i analyzátor pro velmi rychlé analýzy biologických vzorků¹⁶⁵.

4. Závěr

Jak je z uvedených konkrétních témat, kterými se brněnské pracoviště Ústavu analytické chemie Akademie věd v období od roku 1974 zabývalo, a z vybraných citací zjevně, přispělo pracoviště výrazným způsobem k rozvoji analytické elektroforézy v celosvětovém měřítku a odborníky ze zahraničí orientovanými na analytickou elektroforézu bývá označováno jako „Brněnská elektroforetická škola“. Kromě původních prací a řady kapitol v monografiích byly vydány dvě knihy o zónové elektroforéze a izotachofóře obsahující základní principy těchto analytických metod^{166,167}. Členové týmu se podíleli na organizování řady mezinárodních konferencí zaměřených na analytickou elektroforézu, František Foret zorganizoval v Brně sérii mezinárodních konferencí CECE (Central European Capillary Electrophoresis), která je již v současnosti šířeji rozkročena i do jiných vědních oblastí a každoročně hostí řadu významných přednášejících. Petr Boček dlouhá léta zastával kromě členství v edičních radách řady mezinárodních časopisů orientovaných na analytickou chemii pozici zástupce redaktora časopisu *Electrophoresis* a byl posléze v této funkci vystřídán Františkem Foretem, který byl spolu s Ludmilou Křivánkovou dlouholetým členem ediční rady tohoto časopisu. I když z kolektivu postupně odešla řada starších členů, je tým

průběžně doplňován nadanými mladými vědeckými pracovníky a problematika analytické elektroforézy stále tvoří důležitou oblast bádání na tomto ústavu.

LITERATURA

1. Kohlrausch F.: Ann. Phys. Chem., N. F. 62, 209 (1897).
2. Nernst W.: Z. Elektrochem. 3, 308 (1897).
3. Whetham W. C. D.: Phil. Trans. A 184, 337 (1893).
4. Kendall J.: Science 67, 163 (1928).
5. Tiselius A.: Nova Acta Regiae Soc. Sci. Uppsaliensis 7, 1 (1930).
6. Hjertén S.: Arkiv Kemi 13, 151 (1958).
7. Virtanen R., Kivalo P.: Suomen Kemistilehti B, 182 (1969).
8. Jokl V.: J. Chromatogr. 13, 451 (1964).
9. Jokl V., Dolejšová J., Matušová M.: J. Chromatogr. 172, 239 (1979).
10. Jokl V., Polášek M., Pospíchalová J.: J. Chromatogr. 391, 427 (1987).
11. Schraml J., Vacík J., Grubner O., Dvořák J.: J. Chromatogr. 9, 154 (1962).
12. Everaerts F. M., Vacík J., Verheggen Th. P. E. M., Zuska J.: J. Chromatogr. 60, 397 (1971).
13. Vacík J., Zuska J.: Chem. Listy 66, 416 (1972).
14. Vacík J., Zuska J.: J. Chromatogr. A 91, 795 (1974).
15. Deyl Z.: (ed.) *Electrophoresis*, Elsevier, Amsterdam 1979.
16. Fidler V., Vacík J., Fidler Z.: J. Chromatogr. 320, 175 (1985).
17. <https://web.natur.cuni.cz/~gas/>, staženo 20.4.2019.
18. Everaerts F. M., Beckers J. L., Verheggen Th. P. E. M.: *Isotachophoresis; Theory, Instrumentation and Applications*, Elsevier, Amsterdam 1976.
19. Everaerts F. M.: Chem. Listy 67, 9 (1973).
20. Kaniánsky D.: *Kandidátska disertačná práca*. Chemický ústav Univerzity Komenského v Bratislave, 1981.
21. Stránský Z.: J. Chromatogr. 320, 219 (1985).
22. Foret F., Gebauer P.: Chem. Listy 114, 3 (2020).
23. Boček P., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 91, 829 (1974).
24. Boček P., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 106, 283 (1975).
25. Ryšlavý Z., Boček P., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 144, 17 (1977).
26. Ryšlavý Z., Boček P., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 147, 446 (1978).
27. Ryšlavý Z., Boček P., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 147, 369 (1978).
28. Boček P., Deml M., Kaplanová B., Janák J.: J. Chromatogr. 160, 1 (1978).
29. Boček P., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 156, 323 (1978).
30. Boček P., Ryšlavý Z., Deml M., Janák J.: J. Chromatogr. 191, 271 (1980).

31. Boček P., Gebauer P., Deml M.: *J. Chromatogr.* 217, 209 (1981).
32. Boček P., Gebauer P., Deml M.: *J. Chromatogr.* 219, 21 (1981).
33. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 267, 49 (1983).
34. Boček P., Gebauer P.: *Electrophoresis* 5, 338 (1984).
35. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 320, 49 (1985).
36. Křivánková L., Foret F., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 390, 3 (1987).
37. Pospíchal J., Deml M., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 470, 43 (1989).
38. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 242, 245 (1982).
39. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 299, 321 (1984).
40. Křivánková L., Samcová E., Boček P.: *Electrophoresis* 5, 226 (1984).
41. Křivánková L., Boček P.: *Electrophoresis* 6, 143 (1985).
42. Křivánková L., Boček P.: *Electrophoresis* 7, 100 (1986).
43. Křivánková L., Boček P., Tekel J., Kovačičová J.: *Electrophoresis* 10, 731 (1989).
44. Křivánková L., Boček P.: *J. Microcol. Sep.* 2, 80 (1990).
45. Pospíchal J., Deml M., Žemlová Z., Boček P.: *J. Chromatogr.* 320, 139 (1985).
46. Pospíchal J., Deml M., Boček P.: *J. Chromatogr.* 390, 17 (1987).
47. Šudor J., Stránský Z., Chmela Z., Boček P.: *Electrophoresis* 9, 799 (1988).
48. Gebauer P., Křivánková L., Boček P.: *J. Chromatogr.* 470, 3 (1989).
49. Dolník V., Deml M., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 545, 249 (1991).
50. Gebauer P., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 35, 746 (2014).
51. Malá Z., Pantůčková P., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 34, 777 (2013).
52. Malá Z., Gebauer P., Boček P.: *Anal. Chim. Acta.* 907, 1 (2016).
53. Malá Z., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 34, 3072 (2013).
54. Gebauer P., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 34, 3245 (2013).
55. Křivánková L., Foret F., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 545, 307 (1991).
56. Křivánková L., Gebauer P., Thormann W., Mosher R. A., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 638, 119 (1993).
57. Křivánková L., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 716, 35 (1995).
58. Křivánková L., Vraná A., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 772, 283 (1997).
59. Procházková A., Křivánková L., Boček P.: *Electrophoresis* 19, 300 (1998).
60. Procházková A., Křivánková L., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 838, 213 (1999).
61. Křivánková L., Boček P.: *J. Chromatogr. B* 689, 13 (1997).
62. Křivánková L., Pantůčková P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 838, 55 (1999).
63. Gebauer P., Křivánková L., Pantůčková P., Boček P., Thormann W.: *Electrophoresis* 21, 2797 (2000).
64. Křivánková L., Caslavská J., Maláškova H., Gebauer P., Thormann W.: *J. Chromatogr. A* 1081, 2 (2005).
65. Mrázková M., Caslavská J., Thormann W., Křivánková L.: *Electrophoresis* 27, 4772 (2006).
66. Křivánková L., Gebauer P., Pantůčková P., Boček P.: *Electrophoresis* 23, 1833 (2002).
67. Křivánková L., Pantůčková P., Gebauer P., Boček P., Caslavská J., Thormann W.: *Electrophoresis* 24, 505 (2003).
68. Urbánek M., Varenne A., Gebauer P., Křivánková L., Gareil P.: *Electrophoresis* 27, 4859 (2006).
69. Pantůčková P., Křivánková L.: *Electrophoresis* 31, 3391 (2010).
70. Gebauer P., Deml M., Boček P., Janák J.: *J. Chromatogr.* 267, 455 (1983).
71. Deml M., Foret F., Boček P.: *J. Chromatogr.* 320, 159 (1985).
72. Foret F., Fanali S., Ossicini L., Boček P.: *J. Chromatogr.* 470, 299 (1989).
73. Boček P., Deml M., Pospíchal J., Šudor J.: *J. Chromatogr.* 470, 309 (1989).
74. Šustáček V., Foret F., Boček P.: *J. Chromatogr.* 480, 271 (1989).
75. Šudor J., Stránský Z., Pospíchal J., Deml M., Boček P.: *Electrophoresis* 10, 802 (1989).
76. Gebauer P., Deml M., Pospíchal J., Boček P.: *Electrophoresis* 11, 724 (1990).
77. Šustáček V., Foret F., Boček P.: *J. Chromatogr.* 545, 239 (1991).
78. Boček P., Chrambach A.: *Electrophoresis* 12, 620 (1991).
79. Šudor J., Foret F., Boček P.: *Electrophoresis* 12, 1056 (1991).
80. Klepárník K., Fanali S., F., Boček P.: *J. Chromatogr.* 638, 283 (1993).
81. Klepárník K., Malá Z., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 772, 243 (1997).
82. Malá Z., Klepárník Boček P.: *J. Chromatogr. A* 853, 371 (1999).
83. Klepárník K., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 22, 783 (2001).
84. Klepárník K., Šlais K., Boček P.: *Electrophoresis* 14, 475 (1993).
85. Pospíchal J., Deml M., Boček P.: *J. Chromatogr.* 638, 179 (1993).
86. Malá Z., Křivánková L., Boček P.: *Electrophoresis* 17, 125 (1996).
87. Křivánková L., Boček P.: *Electrophoresis* 19, 1064 (1998).
88. Vespalec R., Šustáček V., Boček P.: *J. Chromatogr.* 638, 255 (1993).
89. Vespalec R., Šustáček V., Boček P.: *Electrophoresis* 15, 1523 (1994).

90. Krásenský S., Fanali S., Krivánková L., Boček P.: *Electrophoresis* 16, 968 (1995).
91. Vespalec R., Boček P.: *Electrophoresis* 19, 276 (1998).
92. Vespalec R., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 875, 431 (2000).
93. Krivánková L., Krásenský S., Boček P.: *Electrophoresis* 17, 1959 (1996).
94. Krivánková L., Košťálová A., Vargas G., Havel J., Boček P.: *Electrophoresis* 17, 1954 (1996).
95. Krivánková L., Pantůčková P., Boček P.: *Electrophoresis* 21, 627 (2000).
96. Pantůčková P., Krivánková L.: *Electrophoresis* 25, 1102 (2004).
97. Krivánková L., Očko M., Popelínský L., Boček P.: *Electrophoresis* 23, 3364 (2002).
98. Gebauer P., Thormann W., Boček P.: *J. Chromatogr.* 608, 47 (1992).
99. Gebauer P., Thormann W., Boček P.: *Electrophoresis* 16, 2039 (1995).
100. Gebauer P., Boček P.: *Anal. Chem.* 69, 1557 (1997).
101. Gebauer P., Caslavská J., Thormann W., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 772, 63 (1997).
102. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 772, 73 (1997).
103. Gebauer P., Borecká P., Boček P.: *Anal. Chem.* 70, 3397 (1998).
104. Beckers J., Boček P.: *Electrophoresis* 20, 518 (1999).
105. Gebauer P., Pantůčková P., Boček P.: *Anal. Chem.* 71, 3374 (1999).
106. Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 21, 2809 (2000).
107. Gebauer P., Pantůčková P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 894, 83 (2000).
108. Boček P., Gebauer P., Beckers J. L.: *Electrophoresis* 22, 1106 (2001).
109. Beckers J., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 22, 3648 (2001).
110. Beckers J. L., Boček P.: *Electrophoresis* 23, 1942 (2002).
111. Beckers J. L., Boček P.: *Electrophoresis* 23, 1947 (2002).
112. Beckers J. L., Ackermans M. T., Boček P.: *Electrophoresis* 24, 1544 (2003).
113. Beckers J. L., Boček P.: *Electrophoresis* 24, 518 (2003).
114. Krivánková L., Březková M., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 25, 3406 (2004).
115. Beckers J. L., Boček P.: *Electrophoresis* 26, 446 (2005).
116. Beckers J. L., Boček P.: *Electrophoresis* 26, 1869 (2005).
117. Malá Z., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 30, 866 (2009).
118. Malá Z., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 32, 1500 (2011).
119. Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 26, 453 (2005).
120. Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 27, 519 (2006).
121. Gebauer P., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 27, 962 (2006).
122. Gebauer P., Malá Z., Šlampová A., Boček P.: *Electrophoresis* 29, 1067 (2008).
123. Gebauer P., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 31, 886 (2010).
124. Malá Z., Gebauer P., Boček P.: *Anal. Chim Acta* 935, 249 (2016).
125. Barták P., Bednář P., Stránský Z., Boček P., Vespalec R.: *J. Chromatogr. A* 878, 249 (2000).
126. Lišková A., Krivánková L.: *Electrophoresis* 26, 4429 (2005).
127. Šlampová A., Boček P.: *Electrophoresis* 29, 538 (2008).
128. Šlampová A., Boček P.: *Electrophoresis* 29, 1196 (2008).
129. Šlampová A., Krivánková L., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1213, 25 (2008).
130. Šlampová A., Krivánková L., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1216, 3637 (2009).
131. Kubáň P., Strieglerová L., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 32, 1025 (2011).
132. Strieglerová L., Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1218, 6248 (2011).
133. Šlampová A., Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1234, 32 (2012).
134. Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1267, 96 (2012).
135. Pantůčková P., Kubáň P., Boček P.: *Electrophoresis* 34, 289 (2013).
136. Kubáň P., Boček P.: *Anal. Chim. Acta* 768, 82 (2013).
137. Pantůčková P., Kubáň P., Boček P.: *Anal. Chim Acta* 887, 111 (2015).
138. Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1337, 32 (2014).
139. Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1346, 25 (2014).
140. Kubáň P., Boček P.: *Anal. Chim. Acta* 848, 43 (2014).
141. Šlampová A., Kubáň P., Boček P.: *Anal. Chim Acta* 887, 92 (2015).
142. Šlampová A., Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1429, 364 (2015).
143. Šlampová A., Kubáň P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 1389, 1 (2015).
144. Kubáň P., Boček P.: *Anal. Chim Acta* 908, 113 (2016).
145. Foret F., Thompson T. J., Vouros P., Karger B. L., Gebauer P., Boček P.: *Anal. Chem.* 66, 4450 (1994).
146. Zhang B., Liu H., Karger B. L., Foret F.: *Anal. Chem.* 71, 3258 (1999).
147. Zhang B., Foret F., Karger B. L.: *Anal. Chem.* 73, 2675 (2001).
148. Foret F., Preisler J.: *Proteomics* 2, 360 (2002).
149. Křenková J., Foret F.: *Electrophoresis* 25, 3550 (2004).

150. Tomáš R., Koval M., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1217, 4144 (2010).
151. Jarvas G., Grym J., Foret F., Guttman A.: *Electrophoresis* 36, 386 (2015).
152. Týčová A., Vido M., Kovaříková P., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1466, 173 (2016).
153. Křenková J., Klepárník K., Grym J., Luksch J., Foret F.: *Electrophoresis* 37, 414 (2016).
154. Týčová A., Příkryl J., Foret F.: *Electrophoresis* 37, 924 (2016).
155. Křenková J., Bobál' P., Partyka J., Čmelík R., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1570, 67 (2018).
156. Křenková J., Klepárník K., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1159, 110 (2007).
157. Křenková J., Szekrenyes A., Keresztessy Z., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1322, 54 (2013).
158. Křenková J., Foret F.: *J. Sep. Sci.* 34, 2106 (2011).
159. Křenková J., Foret F.: *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 2175 (2013).
160. Příkryl J., Klepárník K., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1226, 43 (2012).
161. Kubáň P., Ďurč P., Bittová M., Foret F.: *J. Chromatogr. A* 1325, 241 (2014).
162. Hodáková J., Preisler J., Foret F., Kubáň P.: *J. Chromatogr. A* 1391, 102 (2015).
163. Greguš M., Foret F., Kubáň P.: *Electrophoresis* 36, 526 (2015).
164. Kubáň P., Foret F., Boček R.: *J. Chromatogr. A* 1281, 142 (2013).
165. Greguš M., Foret F., Kubáň P.: *J. Chromatogr. A* 1427, 177 (2016).
166. Boček P., Deml M., Gebauer P., Dolník V.: *Analytical Isotachophoresis*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1988.
167. Foret F., Křivánková L., Boček P.: *Capillary Zone Electrophoresis*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1993.

Poznámka redakce: Vzhledem k charakteru tohoto přehledného referátu a snaze po co nejúplnějším vystižení přínosu brněnské elektroforetické školy k rozvoji této mimořádně významné analytické metody byl zde povolen počet citací převyšující doporučení pokynů pro autory.

L. Křivánková (*Institute of Analytical Chemistry, Czech Academy of Science, Brno*): **Brno Electrophoretic School**

In Czechoslovakia, the first contributions to the development of the theory and instrumentation of analytical electrophoresis appeared in the 1960s. The beginnings of the development of analytical electrophoresis at the Institute of Analytical Chemistry of the Academy of Sciences of the Czech Republic in Brno date back to the early 1970s, when lab-made apparatus was constructed. Since then, much work has been done there on the theory and methodology of capillary isotachophoresis and zone electrophoresis, their combination, linkage with mass spectrometric detection, and practical application. This workplace has gained international renown and it was called the Brno Electrophoretic School. This article provides information on the main research topics of the Brno Electrophoretic School.

Keywords: analytical capillary electrophoresis, analytical capillary isotachophoresis