

ČESKOSLOVENSKÁ IZOTACHOFRETICKÁ ŠKOLA

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

PETR GEBAUER a FRANTIŠEK FORET

Ústav analytické chemie AV ČR, v.v.i., Veveří 97, 602 00
Brno
gebauer@iach.cz, foret@iach.cz

Došlo 7.8.19, přijato 18.8.19.

Klíčová slova: izotachoforéza, separace, teorie,
instrumentace, historie

Obsah

1. Úvod
2. Přehled hlavních pracovišť a chronologický vývoj izotachoforézy v Československu
3. Další pracoviště a vývoj v České republice a na Slovensku
4. Izotachoforetická symposia
5. Závěr

1. Úvod

Elektroforetická analytická metoda zvaná izotachoforéza využívá tvorby trvale ostrého rozhraní mezi dvěma elektrolyty obsahujícími látky o různých pohyblivostech, na kterém se zachycují a separují ionogenní analyty. Díky svým specifickým vlastnostem, zejména schopnosti zakoncentrovat analyty z velmi zředěných vzorků, si tato technika na poli separačních metod našla své pevné místo, které si úspěšně udržuje již přes 50 let. Izotachoforéza sice zdaleka nedosáhla takového rozmachu a pozornosti jako o dvě desetiletí později nastoupivší kapilární zónová elektroforeza, je však mimořádně zajímavá z hlediska historiografie české a slovenské vědy, neboť na jejím výzkumu se ve významné míře podílela a podílí řada pracovišť z území bývalého Československa.

Přestože princip byl popsán již v 19. století¹, jako analytická metoda se izotachoforéza uplatnila až v druhé polovině 20. století. Zasloužil se o to zejména nositel Nobelovy ceny za rok 1952 prof. A. J. P. Martin, který již v roce 1942 při pokusech s „vytěšňovací elektroforezou“ (displacement electrophoresis, původní název izotachoforézy) provedl úplnou separaci chloridu, acetátu, aspartátu a glutamátu². Když pak jako mimořádný profesor hostoval na Technické univerzitě v holandském Eindhovenu, věnoval se dalšímu výzkumu této metody společně se svým studentem F. M. Everaertsem v rámci jeho diplomové (1964) a později i doktorské práce (1968)³. Jejich první

publikace na toto téma z roku 1967 (cit.⁴) přinesla průlom a otevřela izotachoforézu cestu do analytické praxe jako moderní kapilární separační metody. V práci byly popsány základní vlastnosti metody (automatická adjustace koncentrací analytů a potenciálových gradientů v zónách pro dosažení stejné rychlosti migrace všech zón, řazení zón podle efektivních mobilit analytů) i principy kvalitativní (délka zóny) a kvantitativní (velikost detekčního signálu) analýzy. Popsaný přístroj byl tvořen skleněnou kapilárou, na kterou bylo vloženo vysoké napětí (až 1 kV/cm) zajišťující neobvyklou rychlost analýz, a termočlávkovým online detektorem. Zvláštní vlastnosti nové metody, kde se zóny analytů pohybovaly jedna za druhou stejnou rychlostí jak vagóny vlaku a jejich ostrá rozhraní byla u barevných látek pozorovatelná pouhým okem, vzbudily zájem odborné veřejnosti.

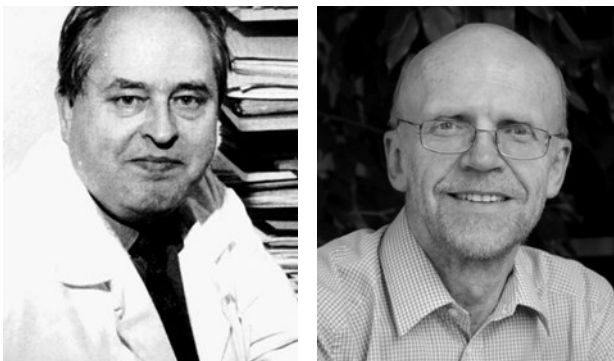
Již v roce 1970 se zásluhou prof. Everaertse objevil na trhu první komerční přístroj švédské firmy LKB, používající teflonové kapiláry a vybavený vedle termočlátku i UV detekcí. V roce 1970 byl také zaveden název „izotachoforéza“, odvozený od stejné rychlosti zón⁵. Izotachoforéza se stala zavedenou separační analytickou technikou a její výzkum se rozšířil do řady pracovišť po celém světě. Na tomto výzkumu se významnou mírou podílela pracoviště z území bývalého Československa, k čemuž přispěly jak dlouhodobé dobré kontakty řady těchto pracovišť s Eindhovenskou univerzitou, tak velmi podstatně i přímo osoba prof. Everaertse. Tento příznivec Československa stál u zrodu výzkumu izotachoforézy v Československu a udržoval se všemi významnými českými a slovenskými pracovišti pravidelné plodné kontakty. Za svůj přínos byl v roce 1984 oceněn zlatou medailí Univerzity Karlovy v Praze a v roce 1990 zlatou medailí Univerzity Komenského v Bratislavě⁶.

V následujících letech bylo uvedeno na trh několik dalších komerčních analyzátorů a v mnoha laboratořích se izotachoforéza (ITP) stala rutinní technikou pro analýzu anorganických i organických iontů. Paralelně s analytickým využitím se rychle rozvíjela teoretická základna metody a vylepšené instrumentální části. Přestože se, po více než 20 letech vývoje kapilární izotachoforézy, přesunul hlavní zájem uživatelů od diskontinuálního elektrolytového systému k separacím v zónové elektroforetickém módu⁷, je kapilární izotachoforéza i po padesáti letech využívána. Na trhu je stále dostupný dvoukolonový ITP analyzátor a přechodná izotachoforéza je hojně využívána i pro koncentraci vzorku během kapilární zónové elektroforezy. Kompletní přehled celosvětového vývoje ITP v uplynulých letech lze najít v nedávně přehledné práci⁸. S určitostí však lze tvrdit, že k vývoji ITP přispěli zásadní mírou českoslovenští vědci. V tomto krátkém přehledu jsme se pokusili popsat historický vývoj ITP

v Československu a později v České a ve Slovenské republice. Text je seřazen víceméně chronologicky a strukturován podle jednotlivých pracovišť.

2. Přehled hlavních pracovišť a chronologický vývoj izotachografie v Československu

**Přírodovědecká fakulta UK Praha – Jiří Vacík
a Bohuslav Gaš (Katedra fyzikální chemie PřF UK)**



V úvodu zmíněná spolupráce československých a holandských vědců započala velmi záhy, již v době, kdy se výzkum izotachografie v Eindhovenu vlastně teprve rodil. Iniciátorem tohoto počátku byl Jiří Vacík, profesor na katedře fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Prof. Vacík se po celá 60. léta zabýval papírovou elektroforézou se zvláštním zaměřením na použití protiproudu elektrolytu a koncem 60. let rovněž publikoval teoretické práce o řešení rovnic kontinuity pro elektroforézu⁹. Jeho ranou spoluprací s Eindhovenskými vědci lze hodnotit jako mimořádně šťastný počín, neboť dala nejen nový impuls a směr jeho vlastní práci, ale zároveň i inspiraci dalším týmům z území bývalého Československa, které se postupně do výzkumu izotachografie zapojily. Jak bylo zmíněno, již v roce 1970 se na trh dostal komerční přístroj pro izotachografie, který však byl pro československé vědce díky tehdejší devizovým poměrům téměř nedosažitelný. Proto si každé pracoviště, které se chtělo výzkumu izotachografie věnovat, nejprve muselo zkonstruovat svůj vlastní přístroj. Tento hendikep oproti západnímu světu ale nakonec měl velmi pozitivní důsledek v tom, že se českoslovenští vědci zařadili na špičku instrumentálního výzkumu v oboru izotachografie.

První práci na téma použití protiproudu v izotachografii publikoval prof. Vacík společně s holandskými autory již ve výše zmíněném přelomovém roce 1970 (cit.¹⁰). Spoluautorem práce byl i Jiří Zuska, který se ve Vacíkově skupině významně podílel na vývoji instrumentace. Další práce obou jmenovaných byly věnovány regulaci toku¹¹ a konstrukci zdroje konstantního proudu¹². Největšího úspěchu v oblasti instrumentace však prof. Vacík dosáhl zavedením nového detekčního principu pro izotachografie: vysokofrekvenční bezkontaktní vodivostní detekce. Dotyčná práce z roku 1980 (cit.¹³), na které se významně podílel jeho tehdejší doktorand Bohuslav Gaš, je také vů-

bec nejcitovanější Vacíkovou publikací. Popsaný princip se později stal jednou z významných univerzálních detekčních technik v kapilární elektroforéze a bezkontaktní vodivostní detektory jsou dodnes používány i v komerční instrumentaci. Prof. Vacík se věnoval i teorii elektroforézy a v roce 1985 společně s bratry Fidlerovými publikoval řešení rovnic kontinuity pro izotachografie pomocí hybridního počítače^{14,15}. I když popsán systém byl omezen jen na 4 silné elektrolyty, umožňoval znázornění dynamiky separace a objevil se přesně v době, kdy se touto problematikou začínala zabývat i další pracoviště.

Nový impuls práci skupiny dal v roce 1988 návrat Bohuslava Gaše, pozdějšího profesora, prorektora univerzity a děkana přírodovědecké fakulty, který po odchodu prof. Vacíka do důchodu v roce 1996 převzal i vedení skupiny. Prof. Gaš se ve své práci věnoval zejména teorii elektroforézy a počítačovým simulacím elektroforetických separačních metod. Dále rozpracovával teoretické modely a způsoby jejich numerického řešení¹⁶ a přitom se mu podařilo obklopit se postupně velmi schopnými spolupracovníky, z nichž je nutno jmenovat zejména Michala Jaroše a Vlastimila Hrušku. Velkým přínosem práce tohoto týmu je, že výsledky své práce převedl do uživatelsky přívětivé podoby a pod názvem Simul 5 (cit.¹⁷) zdarma zpřístupnil odborné veřejnosti. Tento program představuje velmi mocný nástroj, který část výzkumu elektroforetických separací (včetně izotachografie) přesouvá od experimentů v laboratoři a rovnic na papíře na obrazovku počítače, čímž podstatně zvyšuje efektivitu práce: umožňuje sledovat dynamiku přechodných stavů separace, vlastnosti elektrolytových konfigurací, ale i provádět předoptimalizaci praktických systémů. Prof. Gaš se věnoval i mnoha dalším výzkumným tématům; z hlediska izotachografie je nutno zmínit jeho podíl na zavedení metody „electrokinetic supercharging“ (cit.¹⁸), založené na zakoncentrování analytů pomocí přechodné izotachografie, nebo jeho hodnotnou práci¹⁹ o tzv. Kohlrauschově regulační funkci, jednom z pilířů teorie izotachografie. V roce 2016 obdržel prof. Gaš medaili Arnolda O. Beckmana za mimořádné celoživotní příspěvky k teoretickému porozumění a vývoji nových elektromigračních separačních technik.

**Ústav analytické chemie, AV ČR (dříve ČSAV), Brno –
Petr Boček (oddělení elektromigračních metod)**



Ústav analytické chemie ČSAV v Brně byl chronologicky druhým československým pracovištěm, které se do výzkumu izotachografie zapojilo a výrazným způsobem obor ovlivnilo. Tento výzkum je nerozlučně spjat s osobou pozdějšího profesora a dlouholetého ředitele ústavu Petra Bočka. Ten se původně věnoval plynové chromatografii, a to i na postdoktorandské stáži v letech 1970–1971 u prof. Cramerse na katedře in-

strumentální analýzy Technologické univerzity v Eindhovenu, tedy na pracovišti, kde ve stejné době prof. Everaerts rozvíjel novou techniku analytické izotachofórey. Této technice se P. Boček paradoxně začal věnovat teprve po návratu do Brna, a to na popud tehdejšího ředitele ústavu prof. Jaroslava Janáka, který měl dobrý nos na nové progresivní analytické techniky. Poměrně brzy se podařilo do nově založeného oddělení analytické izotachofórey získat řadu talentovaných pracovníků, kteří významně přispěli k jeho světovému renomé. Za mnohé je nutno jmenovat Mirko Demla, Vladislava Dolníka, pozdější dlouholetou ředitelku ústavu prof. Ludmilu Křivánkovou, Petra Gebauera, a současného ředitele ústavu Františka Foreta. Jejich dlouholeté významné výsledky pod vedením prof. Bočka daly vzniknout označení „brněnská elektroforetická škola“, které je věnována samostatná podrobná práce v tomto čísle²⁰. Od brněnské skupiny pochází také jediná knižní publikace o izotachofóře v češtině²¹.

První izotachoforetická práce prof. Bočka vyšla v roce 1974 (cit.²²) na téma relativních korekčních faktorů. Následovaly práce s M. Demlem, popisující unikátní instrumentaci pro izotachofóru²³ s kanálem obdélníkového průřezu vyfrézovaným do bloku plexiskla, ležícím na hliníkovém bloku s protékajícím chladícím médiem, a s univerzálním potenciálově-gradientovým detektorem²⁴. Instrumentálně-metodologicky přínosné byly práce o technice kontinuálního dávkování²⁵, použití koncentrační kaskády vedoucího elektrolytu²⁶, a velkoobjemové předseparaci vzorků pro stopovou analýzu²⁷. Průkopnické byly práce z oblasti izotachofórey komplexních sloučenin, např. o využití komplexotvorných rovnováh pro ovlivnění efektivních mobilit analytů²⁸, o analýze kineticky labilních komplexů²⁹, nebo o vlivu pomalé kinetiky komplexů na stabilitu zón³⁰. Z teoretického hlediska zajímavé jsou práce o využití iontů rozpouštědla jako terminátorů³¹ a o faktorech, které určují migrační pořadí zón³². Významným metodologickým přínosem byly práce, zabývající se možností použití izotachofórey jako předseparační techniky pro zvýšení citlivosti zónové elektroforezy, zejména v uspořádání spojených³³ nebo přepojovaných kolon³⁴, a vymezení teoretických³⁵ i praktických podmínek³⁶ pro její realizaci. Z novější doby je nutno zmínit spojení izotachofórey s hmotnostní spektrometrií, zejména jednu z prvních publikovaných prací³⁷ na toto téma, jakož i sérii prací mapující vhodné elektrolytové systémy³⁸.

Přírodovědecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě – Dušan Kaniansky (Katedra analytické chemie)

Poměrně brzy se začal výzkum izotachofórey rozvíjet také na Slovensku, konkrétně v Chemickém ústavu Univerzity Komenského v Bratislavě pod vedením prof. Samo Stankovianského. Zasloužil se o to jeho žák Dušan Kaniansky, pozdější profesor a dlouholetý vedoucí katedry analytické chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Komenského. Jejich první publikace o izotachofóře, která vyšla v roce 1975 (cit.³⁹), se týkala konstrukce kon-



takního vodivostního detektoru. Setrvání D. Kanianského u výzkumu izotachofórey určitě ovlivnila jeho stáž u prof. Everaertse v Eindhovenu v roce 1976. Po návratu pak nabrala jeho práce velkou dynamiku, která se projevovala jak počtem publikovaných prací, tak i širokým spektrem pokrytých témat. Pozitivně se na obou aspektech projevovovala skutečnost, že se mohl po celou dobu opírat o poměrně početný tým spolupracovníků, z nichž řada dnes zastává významné pozice ve vědě i praxi. Z mnohých jmenujeme alespoň některé: Róbert Bodor, Milan Hutta, Marián Koval', Marián Masár a Peter Mikuš.

Ve výzkumu prof. Kanianského lze rozpoznat dva hlavní směry: instrumentaci a aplikace. V oblasti instrumentace se intenzivně věnoval detekčním principům a detektorům. V roce 1980 publikoval jako první práci o off-line kombinaci izotachofórey s hmotnostní spektrometrií⁴⁰, v roce 1983 pro izotachofóru zavedl online radiometrickou detekci⁴¹ a v roce 1986 „postcolumn“ ampérometrickou detekci⁴². Se svými spolupracovníky sestrojil dvoukolonový přístroj pro kapilární izotachofóru i zónovou elektroforezu, který se stal základem pro několik generací analyzátorů, komerčně vyráběných od roku 1982 podnikem ÚRVJT (Ústav radioekologie a využitia jadrovej techniky – od roku 1992 Villa-Labeco (<http://www.villalabeco.sk/>, staženo 11. 7. 2019) ve Spišské Novej Vsi. Do oblasti instrumentace lze zahrnout také nejcitovanější práci prof. Kanianského z roku 1990 na téma online kombinace kapilární izotachofórey a zónové elektroforezy v přístroji se dvěma spojenými kolonami⁴³, kdy je v první koloně vzorek izotachoforeticky zakoncentrován a pak v druhé koloně separován zónovou elektroforezou. V pozdějších letech včas zachytil trend miniaturizace, když v roce 2000 pro izotachoforetické a elektroforetické separace na čipu⁴⁴ zavedl techniku přepínání spojených kolon. V oblasti aplikace izotachofórey se prof. Kaniansky věnoval zejména analýze mnohasložkových vzorků s komplikovanou maticí. Zvláštní pozornost přitom věnoval anorganickým iontům, např. v pracích o stanovení aniontů v říční vodě⁴⁵, o stanovení aniontů kombinací izotachofórey a zónové elektroforezy⁴⁶, nebo o velmi citlivém stanovení šestimocného chromu⁴⁷. Z velkého množství dalších publikovaných aplikací je možno jmenovat např. izotachoforetickou charakterizaci huminových látek⁴⁸, stanovení anorganických a organických aniontů ve víně⁴⁹, nebo stanovení herbicidů ve vodě⁵⁰. Aktivita laboratoře elektroseparačních metod na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Komenského pokračuje i po předčasné smrti Dušana Kanianského v roce 2010, v současné době pod vedením doc. Mariana Masára.

3. Další pracoviště a vývoj v České republice a na Slovensku

Výše uvedená tři pracoviště, která se do výzkumu izotachofórey zapojila v 70. letech, lze považovat z hlediska jejich dlouhodobého přínosu, počtu pracovníků a množství publikovaných prací za pilíře tohoto výzkumu v Československu. O něco později, v 80. letech, se k uvedenému výzkumu připojila některá další pracoviště, jejichž přínos lze hodnotit jako významný.

V 60. a 70. letech na **Ústavu organické chemie a biochemie ČSAV** se **Dr. Zdeněk Prusík** zabýval výzkumem elektroforézy na papíře, gelu i ve volném roztoku z hlediska možností separace peptidů, hormonů a dalších látek. Jeho první práce z oblasti izotachofórey z roku 1983, kterou publikoval společně s pozdějším vedoucím skupiny elektromigračních metod **Dr. Václavem Kašičkou**, se věnovala izotachoforetické desorpci proteinů⁵¹. Ve stejné době použili ve svém výzkumu afinitní izotachofórey i ve skupině **profesorky Marie Tiché**⁵², která patřila k průkopníkům afinitních separací ve světovém měřítku. V dalších studiích však upřednostnila chromatografické techniky. Izotachoforetické desorpci proteinů věnovali Prusík s Kašičkou ještě několik prací, následovaných dalšími publikacemi, věnovanými zejména izotachoforetické analýze peptidů⁵³. Z novějších prací Dr. Kašičky je nutno zmínit izotachoforetické stanovení efektivního náboje proteinů⁵⁴.

V roce 1984 se k výzkumu izotachofórey přidal **doc. Jozef Polonský**, pozdější vedoucí **Katedry analytické chemie Fakulty chemické a potravinářské technologie Slovenské technické univerzity v Bratislavě**, publikací o stanovení organických kyselin po oxidaci hydrolytických produktů monosacharidů⁵⁵. Do roku 2004 publikoval tři desítky prací, věnované nejrozličnějším aplikacím analytické izotachofórey. Dobrý citační ohlas vykazaly např. práce o stanovení kardiovaskulárních léčiv v tělních tekutinách⁵⁶ nebo o stanovení inhibitorů serotoninu⁵⁷.

O další rok později (1985) publikoval práci o izotachoforetickém stanovení kationtových herbicidů ve vodách a půdách⁵⁸ **Zdeněk Stránský** z **Katedry analytické a organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci**, pozdější emeritní profesor této univerzity. Také jeho další studie byly zaměřeny zejména aplikačně, jako např. metoda pro stanovení degradačních produktů insekticidů⁵⁹. Prof. Stránský významně přispěl k rozvoji izotachofórey v instrumentální rovině: jím vyvinutý přístroj byl pod názvem Agrofor od roku 1986 vyráběn komerčně v JZD Odra v Krmelíně (od roku 1990 firma Recman (<http://www.recman.cz/>), staženo 11. 7. 2019).

V roce 1986 se do výzkumu izotachofórey zapojil i **prof. Vladimír Jokl** z **Katedry analytické chemie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové**. Ten se již v 60. a 70. letech zabýval papírovou elektroforézou komplexů, a přitom také zformuloval svoji známou empirickou rovnici, korelující iontovou pohyblivost s molekulovou hmotností⁶⁰. Ve zmíněné práci z roku 1986 (cit.⁶¹) navrhl elektrolytový systém pro izotachoforetickou

analýzu bází o velmi nízké pohyblivosti. Jeho další práce z oblasti izotachofórey zahrnují různá témata z oblasti metodologie i aplikací. Teoreticky zajímavá je jeho brilantní práce o izotachofórey ve fázově heterogenních systémech tvořených málo rozpustnými bázemi⁶².

Do výzkumu izotachofórey v Československu se zapsala také **prof. Eva Smolková-Keulemansová** z **Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze**. V letech 1987–1989 společně s **Ivanem Jelínkem** a **Jiřím Snopkem** publikovala osmidílný seriál prací o použití cyklodextrinů jako chirálních selektorů v izotachofórey^{63,64}.

Ve stejné době se v několika člancích věnovala separacím a izolaci rostlinných alkaloidů s využitím jak kapilární izotachofórey, tak i vysoko-účinné kapalinové chromatografie⁶⁵ skupina kolem **prof. V. Šimánka z Lékařské fakulty Univerzity v Olomouci** a od roku 1986 je aktivní skupina kolem **F. Kvasničky**, která se na **VŠCHT v Praze** zabývá zejména analýzou potravin a potravinářských surovin⁶⁶ a v oblasti izotachofórey stále publikuje⁶⁷.

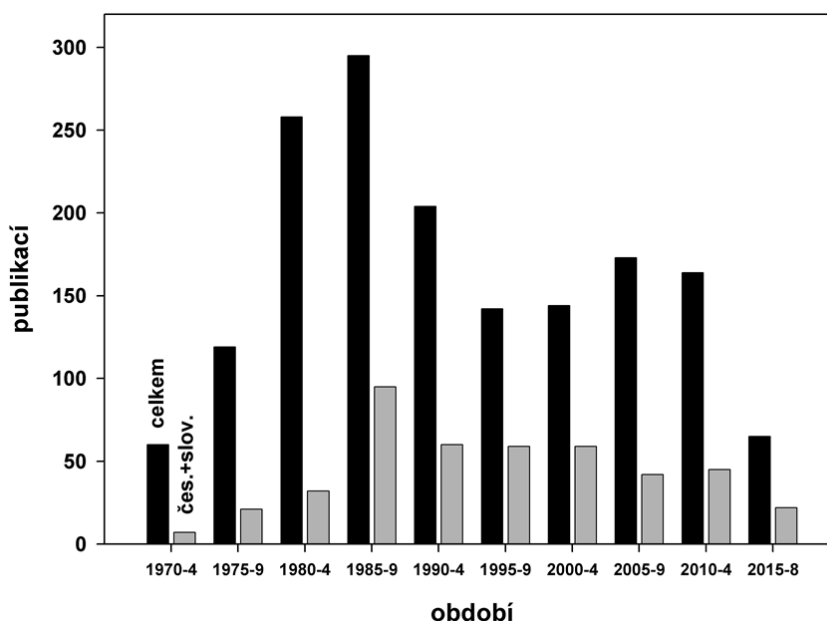
Nový pohled na separační možnosti izotachofórey s využitím pH gradientů a kapilárních kolon se zužujícím se průřezem přinesl v 90. letech v sérii článků **Karel Šlais z Ústavu analytické chemie AV ČR v Brně**^{68–72}. Skupina v práci dosud pokračuje a v současné době používá zajímavé nové koncepty pro separaci proteinů v kapilárách nekonstantního průřezu, připravených leptáním pomocí superkritické vody^{73,74}.

Po roce 2000 byla aktivní také skupina bývalých spolupracovníků Dušana Kanianského z **Farmaceutické fakulty Univerzity Komenského v Bratislavě**. Autorský tým v sérii článků popsal zejména aplikace kombinace izotachofórey a zónové elektroforózy pro farmakokinetické studie a analýzy léčiv v moči^{75,76}.

Z dalších, jednotlivých, publikací pocházejících z pracovišť, která se nesespecializovala jen na izotachofórey, je vhodné zmínit například práce o použití ITP při stanovení léčiv^{77,78}, anorganické analýze^{79,80}, analýze hydrolytických produktů karboxymethylcelulosity⁸¹, nebo separaci chlorfenolů⁸².

4. Izotachoforetická symposia

Sérii symposií označovaných zkratkou ITP, věnovaných izotachofórey a později i dalším technikám, založili A. Adam a C. Schots, kteří uspořádali první takové symposium již v roce 1979 v belgickém Baconfoy. Velkým oceněním československého izotachoforetického výzkumu a jeho dobrých zahraničních kontaktů bylo, že se tato symposia pravidelně konala i na území bývalého Československa. Poprvé se tak stalo již v roce 1984 při 4. symposiu, konaném v Hradci Králové pod vedením Zdeňka Prusíka. Součástí symposia byl i základní a pokračilý kurs izotachofórey pod patronací Petra Bočka, který pro tento účel také vydal brožurku s texty přednášek⁸³. Na tomto symposiu se vedle významných zahraničních účastníků sešli všichni, kdo se tehdy izotachofórey v Československu



Obr. 1. Celkové počty publikací o izotachoforéze a počty publikací českých a slovenských autorů evidovaných v databázi Web of Science

zabývali, a jejich setkání a diskuse byly velkým stimulem pro další práci. Vypovídající je i podíl článků československých autorů v symposiálním čísle časopisu *Journal of Chromatography A*⁸⁴, který činil celé dvě třetiny.

Další (již 7.) izotachoforetické symposium se konalo v roce 1990 v Tatrské Lomnici pod vedením Dušana Kanianského. Příjemné horské prostředí stimulovalo výměnu vědeckých poznatků a neformální diskuse a jeho úspěch dokládá symposiální číslo⁸⁵ s třemi desítkami prací. V roce 1996 se pak konalo jubilejní 10. symposium v Praze pod vedením Bohuslava Gaše. Velmi živý zájem a velkou účast dokumentuje 44 přednášek a 95 posterů, jakož i 42 prací v symposiálním čísle⁸⁶, opět s vysokým podílem českých a slovenských autorů. Zatím naposledy se pak symposium vrátilo do našich zemí v roce 2000, kdy se v Bratislavě uskutečnilo 12. symposium pod společným vedením Dušana Kanianského a Ernsta Kenndlera. Toto symposium, organizované za účasti vídeňské univerzity, se těšilo přítomnosti 160 účastníků a symposiální číslo⁸⁷ přineslo přes 30 původních prací.

Všechna čtyři symposia významně přispěla k reprezentaci českého a slovenského izotachoforetického výzkumu ve světě a podstatně tento výzkum stimulovala. V současné době probíhá ITP symposium každý rok, střídavě v Evropě a v Americe. Za zmínku stojí uvést, že 28. symposium je plánováno na rok 2021 v Brně.

5. Závěr

Předchozí text krátce shrnul české a slovenské příspěvky k rozvoji izotachoforézy, které jsme považovali za klíčové. Přehled však rozhodně není kompletní a jsme si vědomi mnoha dalších kvalitních prací, které se již do tohoto přehledu nedostaly. Alespoň částečnou představu o velikosti příspěvku našich autorů k rozvoji izotachoforézy je možné získat z grafu na obr. 1, který ukazuje jak celkové počty publikací o izotachoforéze v pětiletých obdobích od roku 1970, tak i počet publikací českých a slovenských autorů. Z 1624 vyhodnocených prací z let 1970 až 2018 má české autory nebo spoluautory 442 prací, což je průměrný podíl 27 %. Za zmínku stojí také fakt, že jediné dva komerční izotachoforetické analyzátoři se v současnosti vyrábí v Česku a na Slovensku. Tato situace se však může v budoucnosti změnit vzhledem k novým, prakticky velmi zajímavým, aplikacím v oblasti separací, spojení s hmotnostní spektrometrií a izolace vzorků obsahujících proteiny a DNA. Zejména v případě DNA analýz je možné sledovat zvýšenou výzkumnou aktivitu jak v oblasti instrumentální (mikrofluidická zřízení⁸⁸), tak aplikační, hlavně pro izolaci DNA s vyšším výtěžkem, než umožňují současné techniky založené na extrakcích na pevné fázi⁸⁹. Lze předpokládat, že budoucí ITP aplikace budou využívat jak kapilární formát, tak i separační kolony větších rozměrů pro preparativní účely⁹⁰ a ITP se ve zvýšené míře bude využívat jako předseparační technika ve víceúrovňových separačních postupech.

LITERATURA

1. Kohlrausch F.: *Ann. Phys. Chem. N.F.* 62, 209 (1897).
2. Lovelock J.: *Biogr. Mems Fell. R. Soc. Lond.* 50, 157 (2004).
3. Everaerts F. M., Wielders J. P. M., Everaerts F. J. L.: *Ned. Tijdschr. Klin. Chem.* 25, 207 (2000).
4. Martin A. J. P., Everaerts F. M.: *Anal. Chim. Acta*, 38, 233, (1967).
5. Haglund H.: *Sci. Tools* 17, 2 (1970).
6. Reijenga J., Verheggen T.: *Electrophoresis* 28, 1475 (2007).
7. Jorgenson J. W., Lukacs K. D.: *J. High Resol. Chromatogr.* 4, 230 (1981).
8. Malá Z., Gebauer P., Boček P.: *Electrophoresis* 38, 9 (2017).
9. Vacík J.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 36, 1713 (1971).
10. Everaerts F. M., Vacík J., Verheggen T. P. E. M., Zuska J.: *J. Chromatogr.* 49, 262 (1970).
11. Vacík J., Zuska J.: *Chem. Listy* 66, 416 (1972).
12. Vacík J., Verheggen T. P. E. M., Zuska J., Everaerts F. M.: *Chem. Listy* 66, 647 (1972).
13. Gaš B., Demjaněnko M., Vacík J.: *J. Chromatogr.* 192, 253 (1980).
14. Fidler V., Vacík J., Fidler Z.: *J. Chromatogr.* 320, 167 (1985).
15. Fidler Z., Fidler V., Vacík J.: *J. Chromatogr.* 320, 175 (1985).
16. Gaš B., Vacík J., Zelenský I.: *J. Chromatogr.* 545, 225 (1991).
17. Hruška V., Jaroš M., Gaš B.: *Electrophoresis* 27, 984 (2006).
18. Hirokawa T., Okamoto H., Gaš B.: *Electrophoresis* 24, 498 (2003).
19. Hruška V., Gaš B.: *Electrophoresis* 28, 3 (2007).
20. Křivánková L.: *Chem. Listy* 114, 10 (2020).
21. Boček P., Deml M., Gebauer P., Dolník V.: *Analytická kapilární izotachografie*. Pokroky chemie 18, Academia Praha 1987.
22. Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr.* 91, 829 (1974).
23. Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr.* 106, 283 (1975).
24. Deml M., Boček P., Janák J.: *J. Chromatogr.* 109, 49 (1975).
25. Ryšlavý Z., Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr.* 147, 369 (1978).
26. Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr.* 156, 323 (1978).
27. Dolník V., Deml M., Boček P.: *J. Chromatogr.* 320, 89 (1985).
28. Boček P., Miedziak M., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr.* 137, 83 (1977).
29. Gebauer P., Boček P., Deml M., Janák J.: *J. Chromatogr.* 199, 81 (1980).
30. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 299, 321 (1984).
31. Boček P., Gebauer P., Deml M.: *J. Chromatogr.* 217, 209 (1981).
32. Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr.* 267, 49 (1983).
33. Foret F., Šustáček V., Boček P.: *J. Microcolumn. Sep.* 2, 229 (1990).
34. Křivánková L., Foret F., Boček P.: *J. Chromatogr.* 545, 307 (1991).
35. Křivánková L., Pantůčková P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 838, 55 (1999).
36. Křivánková L., Gebauer P., Boček P.: *J. Chromatogr. A* 716, 35 (1995).
37. Thompson T. J., Foret F., Vouros P., Karger B. L.: *Anal. Chem.* 65, 900 (1993).
38. Gebauer P., Malá Z., Boček P.: *Electrophoresis* 34, 3245 (2013).
39. Stankoviánský S., Čičmanec P., Kaniánský D.: *J. Chromatogr.* 106, 131 (1975).
40. Kenndler E., Kaniánský D.: *J. Chromatogr.* 209, 306 (1981).
41. Kaniánský D., Rajec P., Švec A., Havaši P., Macášek F.: *J. Chromatogr.* 258, 238 (1983).
42. Kaniánský D., Havaši P., Marák J., Sokolík R.: *J. Chromatogr.* 366, 153 (1986).
43. Kaniánský D., Marák J.: *J. Chromatogr.* 498, 191 (1990).
44. Kaniánský D., Masár M., Bielčíková J., Iványi F., Eisenbeiss F., Stanislawski B., Grass B., Neyer A., Jöhnck M.: *Anal. Chem.* 72, 3596 (2000).
45. Zelenský I., Zelenská V., Kaniánský D., Havaši P., Lednárová V.: *J. Chromatogr.* 294, 317 (1984).
46. Kaniánský D., Zelenský I., Hybenová A., Onuska, F.I.: *Anal. Chem.* 66, 4258 (1994).
47. Zelenský I., Zelenská V., Kaniánský D.: *J. Chromatogr.* 390, 111 (1987).
48. Kopáček P., Kaniánský D., Hejzlar, J.: *J. Chromatogr.* 545, 461 (1991).
49. Masár M., Kaniánský D., Bodor R., Jöhnck M., Stanislawski B.: *J. Chromatogr. A* 916, 167 (2001).
50. Kaniánský D., Iványi F., Onuska F. I.: *Anal. Chem.* 66, 1817 (1994).
51. Kašička V., Prusík Z.: *J. Chromatogr.* 273, 117 (1983).
52. Hořejší V., Datta T. K., Tichá M.: *J. Chromatogr.* 241, 395 (1982).
53. Kašička V., Prusík Z.: *J. Chromatogr.* 470, 209 (1989).
54. Ibrahim A., Koval D., Kašička V., Faye C., Cottet H.: *Macromolecules* 46, 533 (2013).
55. Repášová L., Polonský J., Košík M., Vodný Š.: *J. Chromatogr.* 286, 347 (1984).
56. Sádecká J., Polonský J.: *J. Chromatogr. A* 735, 403 (1996).
57. Buzinkaiová T., Polonský J.: *Electrophoresis* 21, 2839 (2000).
58. Stránský Z.: *J. Chromatogr.* 320, 219 (1985).
59. Dombek V., Stránský Z.: *Anal. Chim. Acta* 256, 69 (1992).
60. Jokl V.: *J. Chromatogr.* 13, 451 (1964).

61. Jokl V., Pospíchalová J., Polášek M.: *Electrophoresis* 7, 433 (1986).
62. Jokl V., Vítkovič B., Polášek M.: *J. Chromatogr.* 470, 263 (1989).
63. Jelínek I., Snopek J., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* 405, 379 (1987).
64. Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* 472, 308 (1989).
65. Válka I., Šimánek V.: *J. Chromatogr.* 445, 258 (1988).
66. Kvasnicka F.: *J. Chromatogr.* 390, 237 (1987).
67. Kvasnicka F., Kavková S., Honzlová A.: *J. Chromatogr.* 1588, 180 (2019).
68. Šlais K.: *J. Microcolumn Sep.* 5, 469 (1993).
69. Šlais K.: *J. Chromatogr.* 684, 149 (1994).
70. Šlais K.: *J. Chromatogr.* 679, 335 (1994).
71. Šlais K.: *Electrophoresis* 16, 2060 (1995).
72. Šlais K.: *J. Chromatogr.* 764, 309 (1997).
73. Horká M., Karásek P., Roth M., Šlais K.: *Electrophoresis* 38, 1260 (2017).
74. Šťastná M., Šlais K.: *Electrophoresis* 36, 2579 (2015).
75. Mikuš P., Maráková K., Marák J., Planková, A., Valášková, I., Havránek, E.: *Current Pharm. Anal.* 5, 171 (2009).
76. Mikuš P., Maráková K., Marák J., Němec I., Valášková, I., Havránek, E.: *Electrophoresis* 29, 4561 (2008).
77. Šubert J.: *Pharmacopeial Forum* 14, 4432 (1988).
78. Jelínek, I., V. Rejholec, Holá V., Roubal Z., Snopek J.: *J. Chromatogr.* 495, 338 (1989).
79. Janoš P.: *J. Chromatogr.* 834, 3 (1999).
80. Nováková M., Křivánková L., Bartoš M., Urbanová V., Vytřas Karel.: *Talanta* 74, 183 (2007).
81. Pospíšilík K.: *Electrophoresis* 10, 20 (1989).
82. Praus P., Dombek V.: *Anal. Chim. Acta* 277, 97 (1993).
83. Boček P. (ed.): *Isotachopheresis. Basic course, advanced course.* ÚRVJT Spišská Nová Ves 1984.
84. Isotachopheretic symposium issue: *J. Chromatogr. A* 320 (1), (1985).
85. Isotachopheretic symposium issue: *J. Chromatogr. A* 545 (2), (1991).
86. Isotachopheretic symposium issue: *J. Chromatogr. A* 772 (1-2), (1997).
87. Isotachopheretic symposium issue: *J. Chromatogr. A* 916 (1-2), (2001).
88. Rosenfeld T., Bercovici M.: *Lab. Chip* 18, 861 (2018).
89. Datinská V., Voracova I., Schlecht U., Berka J., Foret F.: *J. Sep. Sci.* 41, 236 (2018).
90. Foret F., Datinská V., Voráčková I., Novotný J., Gheibi P., Berka J., Astier Y.: *Anal. Chem.* 91, 7047 (2019).

P. Gebauer and F. Foret (*Institute of Analytical Chemistry of the Czech Academy of Sciences, Brno*):
Czechoslovak Isotachopheretic School

Isotachopheresis (ITP) utilizes the formation of a permanently sharp interface between electrolytes containing substances of different mobility. Due to its specific properties, especially its ability to concentrate analytes from very diluted samples, this technique found its firm place in the field of separation methods, maintaining it successfully for over 50 years. We can argue with certainty that Czech and Slovak scientists contributed significantly to the development of ITP. In this short review, we have tried to describe the historical development of ITP in Czechoslovakia, the Czech Republic, and Slovakia. The text is arranged more or less chronologically and structured according to the individual laboratories and teams.

Keywords: isotachopheresis, separations, theory, instrumentation, history

Acknowledgements

This work was financed by the Institutional support RVO 68081715 of the Institute of Analytical Chemistry, Czech Academy of Sciences, v.v.i. (Brno, Czech Republic).