

# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

**Fakulta přírodovědecká**

**Katedra analytické chemie**

## **Identifikace konzervačních látek v potravinách ambientními ionizačními technikami**

### **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Autor práce:

Dominik Mosler

Studijní obor:

Analytická chemie

Vedoucí práce:

Mgr. Lucie Borovcová

Konzultant práce:

prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.

**Olomouc 2018**

## **Bibliografická identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Dominik Mosler

Název práce: Identifikace konzervačních látek v potravinách ambientními ionizačními technikami

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: Mgr. Lucie Borovcová

Konzultant práce: prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.

Rok odevzdání práce: 2018

Abstrakt:

Bakalářská práce se zabývá identifikací konzervačních látek v potravinách pomocí ambientních ionizačních technik. Teoretická část uvádí vybrané ambientní ionizační techniky, jejich principy, využití a aplikaci na potravinové vzorky. Další část pojednává o konzervačních látkách a jejich stanovení.

Ve výsledcích této práce jsou srovnány tři ambientní ionizační techniky, konkrétně sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku (ASAP), nanoelektrosprej (nanoESI) a desorpční nanoelektrosprej (nanoDESI), použité při identifikaci konzervačních látek - kyseliny sorbové a kyseliny benzoové. Jako nejvhodnější technika byla vybrána ASAP, která byla následně použita k analýze reálného vzorku, ve kterém byly výše zmíněné kyseliny úspěšně identifikovány a potvrzeny fragmentací, která byla ve shodě se standardy. Ze získaných výsledků vyplývá rychlá a dobrá využitelnost ambientních ionizačních technik při analýze konzervačních látek.

Klíčová slova: ambientní ionizační techniky, konzervační látky, kyselina sorbová, kyselina benzoová

Počet stran: 49

Počet příloh: 1

Jazyk: Český

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Dominik Mosler

Title: Identification of food preservatives by ambient ionization techniques

Type of thesis: Bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: Mgr. Lucie Borovcová

Consultant: prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.

The year of submission: 2018

Annotation:

The bachelor thesis deals with identification of food preservatives by ambient ionization techniques. The theoretical part introduces selected ambient ionization techniques, their principles, use and application on food samples. The next part of thesis describes food preservatives and their determination.

In the results of this thesis are compared three ambient ionization techniques, namely atmospheric solids analysis probe (ASAP), nanoelectrospray ionization (nanoESI) and desorption nanoelectrospray (nanoDESI) used for identification of preservatives – sorbic acid and benzoic acid. As the most appropriate technique was chosen ASAP, which was used for analysis of a real sample. Both acids were successfully identified and confirmed by their fragmentation, which corresponded with standards. The obtained results show rapid and good usability of ambient ionization techniques in the analysis of food preservatives.

Keywords: ambient ionization techniques, food preservatives, sorbic acid, benzoic acid

Number of pages: 49

Number of appendices: 1

Language: Czech

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....  
Vlastnoruční podpis

*Děkuji své vedoucí bakalářské práce Mgr. Lucii Borovcové za její ochotu, vstřícnost, cenné rady a čas, který věnovala při zpracování mé práce. Dále bych chtěl poděkovat prof. RNDr. Karlovi Lemrovi, Ph.D. za odborné rady při konzultaci mé práce.*

*Poděkování patří rovněž mé rodině za jejich podporu po celou dobu mého studia.*

# OBSAH

|  |    |
|--|----|
| 1. ÚVOD .....  | 1  |
| 2. TEORETICKÁ ČÁST.....  | 2  |
| 2.1 Úvod k ambientním ionizačním technikám .....                             | 2  |
| 2.1.1 Desorpční elektrosprej - DESI.....                                     | 3  |
| 2.1.2 Desorpční nanoelektrosprej - nanoDESI .....                            | 6  |
| 2.1.3 Nanoelektrosprej – nanoESI.....  | 8  |
| 2.1.4 Sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku - ASAP.....           | 8  |
| 2.1.5 Desorpce chemickou ionizací za atmosférického tlaku - DAPCI .....      | 10 |
| 2.1.6 Přímá analýza v reálném čase - DART .....                              | 11 |
| 2.1.7 Desorpční fotoionizace za atmosférického tlaku - DAPPI.....            | 12 |
| 2.2 Konzervační látky .....  | 13 |
| 2.2.1 Kyselina sorbová .....   | 14 |
| 2.2.2 Kyselina benzoová.....   | 15 |
| 2.2.3 Stanovení kyseliny sorbové a benzoové .....                            | 15 |
| 2.2.4 Parabeny .....   | 18 |
| 2.2.5 Stanovení parabenů.....  | 19 |
| 2.2.6 Siřičitany.....  | 20 |
| 2.2.7 Dusitany a dusičnany .....   | 20 |
| 2.3 Využití ambientních ionizačních technik v oblasti analýzy potravin ..... | 21 |
| 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....   | 26 |
| 3.1 Chemikálie .....   | 26 |
| 3.2 Přístroje a nastavení parametrů .....                                    | 26 |
| 3.3 Pracovní postupy.....  | 27 |
| 3.3.1 Příprava pracovních roztoků a reálného vzorku .....                    | 27 |
| 3.3.2 Příprava experimentů ASAP .....  | 27 |
| 3.3.3 Příprava experimentů nanoESI.....                                      | 28 |
| 3.3.4 Příprava experimentů nanoDESI.....                                     | 29 |
| 4. VÝSLEDKY A DISKUZE .....  | 31 |
| 4.1 Výsledky z ASAP experimentů .....  | 31 |
| 4.2 Výsledky z nanoESI experimentů.....                                      | 34 |
| 4.3 Výsledky z nanoDESI experimentů.....                                     | 36 |
| 4.4 Srovnání výsledků ASAP, nanoESI, nanoDESI.....                           | 38 |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 4.5 | Identifikace konzervantů v reálném vzorku..... | 38 |
| 5.  | ZÁVĚR.....                                     | 41 |
|     | POUŽITÁ LITERATURA.....                        | 42 |
|     | SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ .....                 | 48 |
|     | PŘÍLOHY.....                                   | I  |

# 1. ÚVOD

Hmotnostní spektrometrie je dnes již běžně využívanou analytickou technikou, která se díky zavádění nových ionizačních technik a postupů neustále rozšiřuje. Jednou z oblastí ionizačních technik jsou techniky ambientní, které umožňují přímou analýzu vzorků bez předchozí úpravy, případně po jednoduché úpravě. Díky tomu se stávají jednoduchým nástrojem např. ve forezní a farmaceutické chemii, při detekci drog, lékových přípravků, výbušnin a také v chemii životního prostředí či potravinářském průmyslu. Právě oblast analýzy potravin je součástí této bakalářské práce.

Tato práce je zaměřena na identifikaci konzervačních látek (konkrétně kyseliny sorbové a benzoové) v potravinách pomocí ambientních ionizačních technik ASAP, nanoESI a nanoDESI. Je zde provedeno zhodnocení nastavení parametrů a vhodnost použití jednotlivých technik pro tento typ vzorku. Vybranou technikou ASAP byl finálně zanalyzován vzorek ledového čaje.



## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Úvod k ambientním ionizačním technikám

Ambientní ionizační techniky jsou založeny na přímé ionizaci vzorku za atmosférických podmínek (tlaku, teploty). Kromě přímé analýzy látek další výhodou těchto technik je jejich rychlost. Vzorky jsou měřeny bez předchozí úpravy, popřípadě pouze po jednoduché úpravě [1].

Většina ambientních ionizačních technik, jichž je v současné době okolo třiceti, pracuje na principu desorpce/ionizace, čímž tvoří požadované ionty v plynné fázi. Tyto techniky umožňují přímou, rychlou, selektivní a vysoce citlivou kvalitativní i kvantitativní chemickou analýzu látek různé polariry, z široké škály matric a povrchů. Díky své jednoduchosti a nízkým provozním nákladům se tyto techniky dají lehce propojit s hmotnostní spektrometrií (MS) [2]. Nacházejí uplatnění v mnoha oborech, zejména v kriminalistice a forenzní chemii, kde se využívají k detekci drog a výbušnin [3], ve farmacii k analýze léčiv a tablet, v chemii životního prostředí k detekci látek znečišťujících ovzduší [4], také v potravinářském průmyslu, ale i v jiných zajímavých oblastech, např. při prokázání pravosti starých dokumentů [5]. Ambientní techniky také umožňují přímo analyzovat rostlinné i živočišné tkáně [6,7].

Mezi první ambientní ionizační techniky patří DESI (**D**esorption **e**lectrospray ionization, desorpční elektrosprej) a DART (**D**irect **a**nalysis in **r**eal **t**ime, přímá analýza v reálném čase), které byly představeny v roce 2004 [2], respektive 2005 [8]. V posledních letech dochází k rychlému rozvoji nových ambientních technik (Obr. 1) například ASAP (**A**tmospheric solids **a**nalysis **p**robe, sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku) [9], DAPCI (**D**esorption **a**tmospheric **p**ressure **c**hemical ionization, desorpce chemickou ionizací za atmosférického tlaku) [1], DAPPI (**D**esorption **a**tmospheric **p**ressure ionization, desorpční fotoionizace za atmosférického tlaku) [10] nebo vznikají kombinované techniky MALDESI (**M**atrix-assisted **l**aser **d**esorption **e**lectrospray ionization, matricí asistovaná laserová desorpce s ionizací elektrosprejem), u které se využívá kombinace MALDI a ESI [11] či LAESI (**L**aser **a**blation **e**lectrospray ionization, laserová ablace s ionizací elektrosprejem), což představuje kombinaci laserové ablace a ESI [12].

| Zkratka   | Název   | Technika, z nichž vychází | Rok uvedení |
|-----------|---|---------------------------|-------------|
| SESI      | Secondary elektro-spray ionization                        | SESI                      | 2000        |
| FD-ESI    | Fused-droplet ESI   | ESI                       | 2002        |
| DESI      | Desorption elektro-spray ionization                       | GDI                       | 2004        |
| DART      | Direct analysis in real time                              | (AP)CI                    | 2005        |
| ASAP      | Atmospheric solids analysis probe                         | ESI                       | 2005        |
| DAPCI     | Desorption atmospheric pressure chemical ionization       | APCI (GDI)                | 2006        |
| EASI      | Easy ambient sonic-spray ionization                       | SSI                       | 2006        |
| EESI      | Extractive elektro-spray ionization                       | ESI                       | 2006        |
| ELDI      | Elektro-spray-assisted laser desorption ionization        | ESI/LDI                   | 2006        |
| MALDESI   | Matrix-assisted laser desorption elektro-spray ionization | MALDI + ESI               | 2006        |
| ND-EESI   | Neutral desorption EESI                                   | ESI                       | 2007        |
| DAPPI     | Desorption atmospheric pressure photon ionization         | APPI                      | 2007        |
| PADI      | Plasma-assisted desorption/ionization                     | GDI                       | 2007        |
| DBDI      | Dielectric barrier discharge ionization                   | GDI                       | 2007        |
| LAESI     | Laser-assisted ESI  | LDI + ESI                 | 2007        |
| FA-APGDI  | Flowing afterglow-atmospheric pressure glow discharge     | GDI                       | 2008        |
| IR-LADESI | Infrared laser-assisted desorption ESI                    | LDI + ESI                 | 2008        |
| LTP       | Low-temperature plasma ionization                         | PD                        | 2008        |
| PSI       | Paper spray ionization                                    | ESI                       | 2010        |
| V-EASI    | Venturi easy ambient sonic-spray ionization               | V-EASI                    | 2010        |

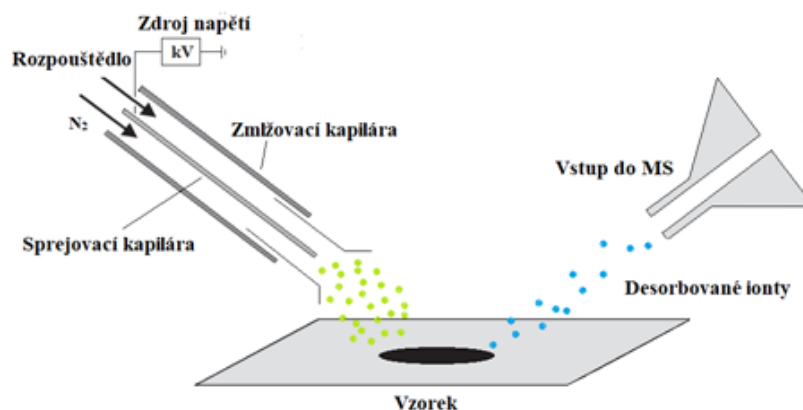
**Obř. 1:** Výčet ambientních ionizačních technik dle roku objevu (převzato z cit. [13] a upraveno).

V této práci je věnována pozornost nejvíce používaným ambientním ionizačním technikám DESI, nanoDESI, nanoESI, ASAP, DAPCI, DART a DAPPI, jejich principu a využití.

### 2.1.1 Desorpční elektro-sprej - DESI

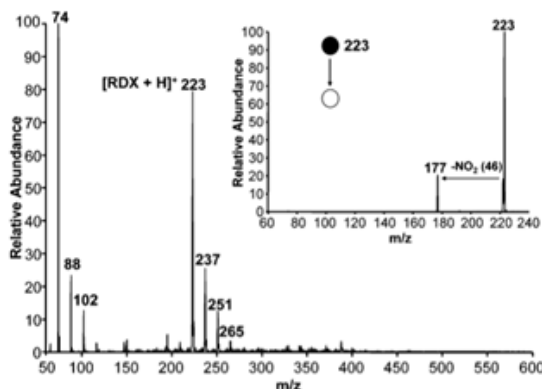
Desorpční elektro-sprej se řadí mezi nejpoužívanější a nejrozšířenější ambientní ionizační techniku, která byla uvedena v roce 2004 Robertem G. Cooksem a jeho spolupracovníky [1]. Právě rozvoj desorpčního elektro-spreje vytvořil povědomí o „analýzách v otevřeném prostoru“, tedy o ambientních technikách.

Princip DESI je zobrazen na obr. 2. V prvním kroku dochází pomocí vysokého napětí k rozprašování sprejovací kapaliny kapilárou na povrch analyzovaného vzorku. Po dopadu nabitých kapiček sprejovací kapaliny dochází k desorpci iontů ze vzorku. Takto uvolněné ionty jsou transportovány do hmotnostního spektrometru [1,2].



**Obr. 2:** Schéma DESI zobrazující jeho princip (převzato z cit. [14] a upraveno).

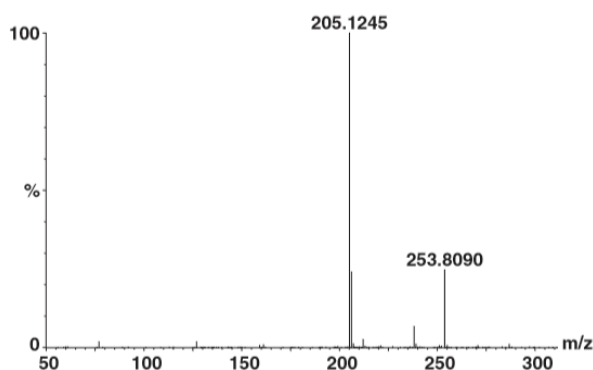
Desorpční elektrosprej nachází své uplatnění v různých oblastech. Využívá se ve forenzní chemii k analýze výbušnin (trinitrotoluen (TNT), oktogen (HMX), hexogen (RDX) a tetryl) [15], toxických průmyslových sloučenin a chemických bojových látek z různých povrchů (papíru, plastu, zavazadla apod.) [16]. Látky byly analyzovány přímo bez předúpravy vzorku a potvrzeny tandemovou hmotnostní spektrometrií. Jednalo se o rychlé analýzy s časem pod 5 s. Jako příklad lze uvést hmotnostní spektrum RDX (Obr. 3), u něhož v pozitivním módu lze pozorovat pík  $[M+H]^+$   $m/z$  223. Při kvantifikaci RDX z papíru se relativní směrodatná odchylka (RSD) pohybovala okolo 2,3 % při použití vody jako sprejovací kapaliny.



**Obr. 3:** Hmotnostní spektrum RDX v pozitivním módu (převzato z cit. [15]).

Další z oblastí, kde se DESI využívá je toxikologie a farmacie. Požadavky farmaceutického průmyslu rychleji objevovat a rozvíjet nová léčiva vedou k nárůstu počtu vzorků vyžadujících analýzu. Spojení desorpčního elektrospreje s hmotnostní spektrometrií (DESI-MS) bylo aplikováno k analýze farmaceutických tablety ibuprofenu, aspirinu, paracetamolu, kodeinu, ale také i mastí a gelů [17]. Získaná hmotnostní spektra potvrdila

přítomnost daných léčiv v léčivých přípravcích. Na obr. 4 je zobrazeno hmotnostní spektrum ibuprofenu, který poskytuje v negativním módu signál deprotonované molekuly  $[M-H]$  [17].

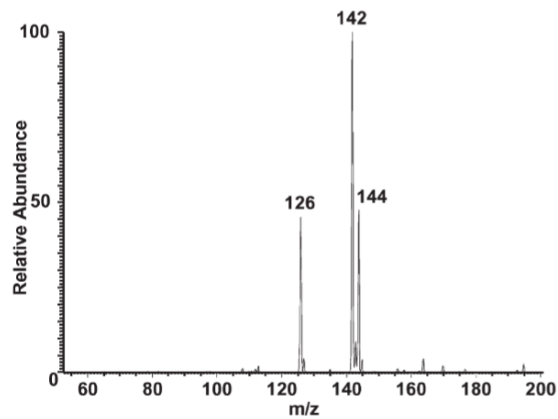


**Obr. 4:** Hmotnostní spektrum ibuprofenu ( $m/z$  205,1245) v negativním módu (převzato z cit. [17]).

Desorpčním elektrosprejem byla také analyzována moč získaná od uživatelů drog. Výsledky byly následně srovnány s daty získané GC-MS analýzou. V moči byly stanoveny různé třídy drog z řad amfetaminů, opiátů, kanabinoidů a benzodiazepinů. V jednom ze vzorků byly detekovány kodein, morfin či oxazepam v koncentracích 740 ng/ml, 950 ng/ml a 5200 ng/ml [3].

Jednou z dalších aplikací DESI byla analýza lipidů v biologické tkáni [7]. Společně s nukleární magnetickou rezonancí byla technika desorpčního elektrospreje použita při analýze nádorových onemocnění k rozlišení nemocných a zdravých myší. Stanovení bylo provedeno na základě detekce analytů (např. cystathioninu, kyseliny glukoronové, 1,3-dihydroxyacetonu či kyseliny mléčné) nacházejících se v moči [18].

Desorpční elektrosprej je vhodný také pro analýzu rostlinných materiálů například k detekci alkaloidů v tkáních jedovatých rostlin (bolehlavu, durmanu a rulíku zlomocném) [6], kdy jednotlivé alkaloidy obsažené v rostlinách byly potvrzeny hmotnostním spektrem. Například v rostlinném materiálu listu bolehlavu byly potvrzeny alkaloidy  $\gamma$ -konicein ( $m/z$  126), N-methylkoniin ( $m/z$  142) a konhydrin ( $m/z$  144) (obr. 5), které jsou typické pro tento druh rostliny.

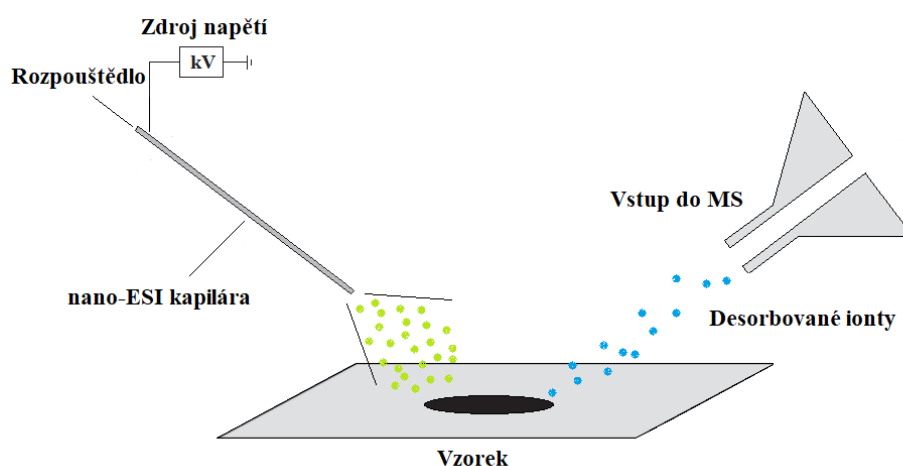


**Obr. 5:** Hmotnostní spektrum listu bolehlavu měřené v pozitivním módu získané ambientní technikou DESI (převzato z cit. [6]).

Výše uvedené příklady ukazují širokou použitelnost první uvedené ambientní ionizační techniky.

### 2.1.2 Desorpční nanoelektrosprej - nanoDESI

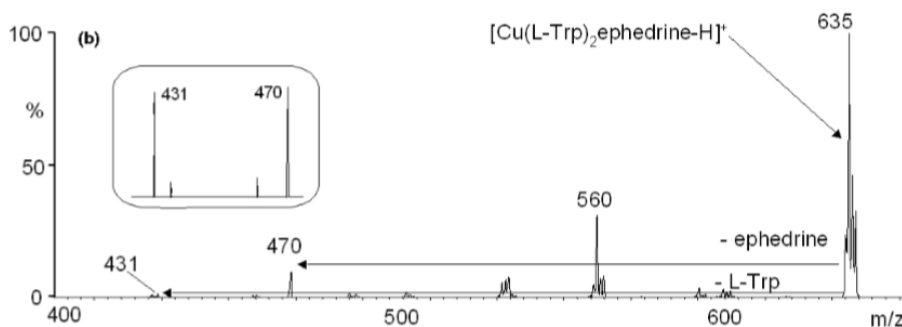
Druhá uvedená ambientní technika desorpčního nanoelektrospreje byla vyvinuta na Katedře analytické chemie na PřF UP v Olomouci a publikována v roce 2007. Jedná se o zmenšenou modifikaci klasického DESI přístroje, přičemž konstrukčně vychází z nanoelektrospreje, nikoli z elektrospreje. Díky tomu dochází ke snížení průtoku sprejovací kapaliny, čímž nedochází k velkému rozmývání analytu [19]. Obr. 6 znázorňuje princip desorpčního nanoelektrospreje.



**Obr. 6:** Schéma nanoDESI znázorňující jeho princip (převzato z cit. [14] a upraveno).

K desorpci iontů ze vzorku se využívá sprejovací špička naplněná rozpouštědlem. Ze špičky se po vložení napětí uvolňují nabitě kapičky rozpouštědla, které dopadají na povrch analyzovaného vzorku. Dochází k uvolnění iontů z povrchu, které následně putují vyhřívanou kapilárou do hmotnostního spektrometru. Rozdíl mechanismu vzniku iontů oproti desorpčnímu elektrospreji spočívá v tom, že se v nanoDESI nevyužívá zmlžovacího plynu [20].

Desorpční nanoelektrosprej byl úspěšně použit k chirální analýze vzorků krve, ve které byly detekovány enantiomery jedné ze tří farmaceuticky významných sloučenin dihydroxyfenylalaninu (DOPA), efedrinu (obr. 7) a ibuprofenu. Zaschlé skvrny krve o objemu 1 μl byly analyzovány bez jakýchkoliv předběžných úprav. Vyhřívání kapiláry bylo nastaveno na 175 °C a postupně bylo na sprejovací kapiláru vkládáno napětí v rozsahu 1,5 kV - 3 kV. Ze získaných výsledků, které byly porovnávány s iontovým zdrojem ESI vyplývá, že nanoDESI je vhodný a rychlý nástroj pro analýzu vzorků krve, přestože počáteční nastavení geometrie sprejování u nanoDESI je obtížnější [21].

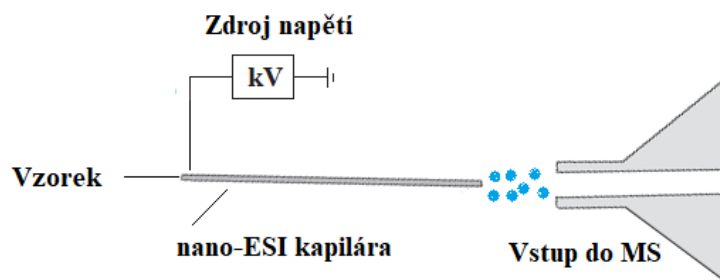


**Obr. 7:** Hmotnostní spektrum komplexu efedrinu ze vzorku zaschlé krve (převzato z cit. [21]).

Technika nanoDESI byla využita k zobrazování proteinů v tkáňových vzorcích za použití hmotnostního spektrometru Orbitrap. V mozkové tkáni dospělé myši byla produkce proteinů včetně ubiquitinu, β-thymosinu, myelinu a hemoglobinu prostorově mapována a charakterizována. Následně byla pozorována řada zkrácených proteinů, kde byly normální buňky části mozku infikovány nádorovými buňkami a porovnávány se zdravou tkání. NanoDESI se ukázalo jako velice schopný nástroj k detekci proteinů s malou molekulovou hmotností. Předpokládá se, že poskytne důležité informace v analýze týkající se buněčných procesů [22].

### 2.1.3 Nanoelektrosprej – nanoESI

NanoESI je varianta klasického elektrospreje, kde tvorba iontů vychází ze stejného ionizačního procesu. Od elektrospreje se liší snížením průtoku na méně než 1 nl/min (ESI má průtok větší než 1  $\mu$ l/min) a použitím menší sprejovací kapiláry. NanoESI využívá skleněnou nebo křemennou kapiláru naplněnou vzorkem, na kterou je postupně vkládáno napětí. Na špičce kapiláry vznikají nabité kapky, ze kterých se pak uvolňují ionty vstupující do hmotnostního spektrometru [23]. Na obr. 8 je znázorněno schéma nanoelektrospreje.



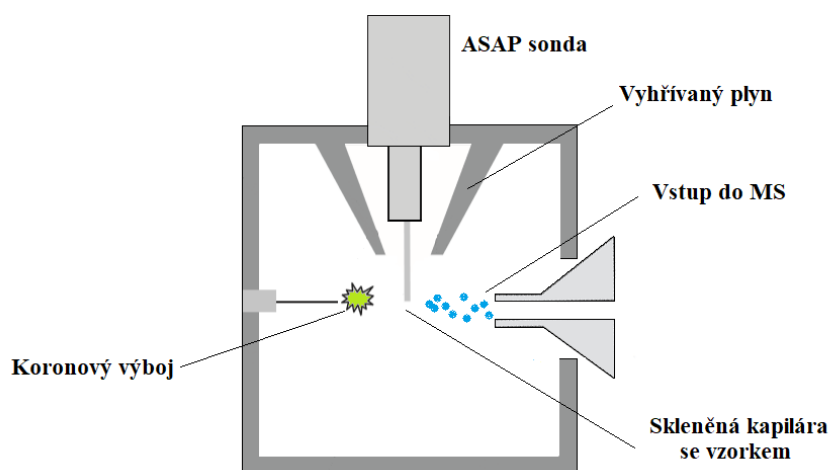
**Obr. 8:** Schéma nanoESI znázorňující jeho princip.

Nejedná se o typicky ambientní ionizační techniku, ale je jednoduchá a nevyžaduje složitou předběžnou úpravu vzorku, proto je i tato technika zde uvedena. V porovnání s elektrosprejem u nanoESI dochází ke snížení interferujících účinků solí a jiných látek. NanoESI poskytuje lepší citlivost k řadě analytů v důsledku snížení průtokové rychlosti. Typicky je používán k analýze peptidů, proteinů a oligosacharidů [24].

### 2.1.4 Sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku - ASAP

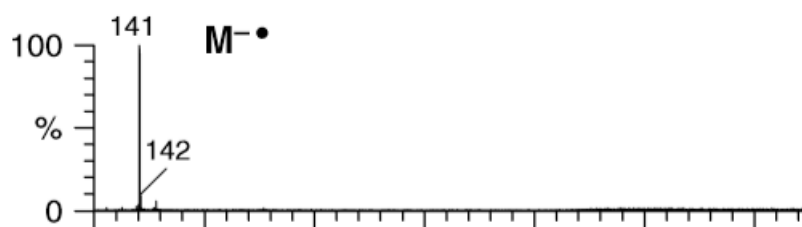
ASAP je technika zavedená McEwanem a jeho spolupracovníky v roce 2005 [9]. Je vhodná pro přímou analýzu těkavých pevných a kapalných vzorků použitím ionizace za atmosférického tlaku [25].

Kapalný nebo pevný vzorek je umístěn ve skleněné kapiláře a uložen v sondě, která se následně vloží do hmotnostního spektrometru při atmosférickém tlaku bez potřeby podtlakového uzavření. Proudící ohřátý dusík způsobuje tepelnou desorpci přítomných sloučenin ve vzorku. Následná ionizace je provedena koronovým výbojem vložením napětí [9,25]. Obr. 9 znázorňuje schéma techniky ASAP.



**Obr. 9:** Schéma ASAP zobrazující jeho princip (převzato z cit. [26] a upraveno).

Tato technika byla úspěšně použita ve forenzní chemii k analýze léčiv a drog v moči, nebo také přímo z papírových bankovek [27]. Spojením ASAP s hmotnostním spektrometrem s detektorem doby letu (ASAP-TOF-MS) bylo možné analyzovat léčiva, která se jinými ionizačními technikami nedařilo detekovat (např. APCI a ESI). V pozitivním módu látky poskytovaly molekulární ionty pro všechny studované sloučeniny, zatímco pomocí ESI a APCI nebyly detekovány kyselina glukuronová, 1-fluoro-2-nitrobenzen a trifenylen. Jako příklad lze uvést hmotnostní spektrum látky 1-fluoro-2-nitrobenzen získané technikou ASAP zobrazeno na obr. 10 [28].



**Obr. 10:** Hmotnostní spektrum 1-fluoro-2-nitrobenzenu  $M^{\bullet}$   $m/z$  141 (převzato z cit. [28]).

Technika ASAP byla využita také pro rychlou identifikaci a kvantifikaci derivátů anabolických steroidních esterů jako testosteron, estradiol, boldenon a nandrolon. Téměř všechny steroidní estery poskytovali meze stanovitelnosti 1 ng/l s výjimkou několika derivátů s dlouhým postranním řetězcem, které poskytly meze stanovitelnosti 10 ng/l [29].

Své uplatnění nachází také v chemii životního prostředí, jelikož pomocí této techniky byly detekovány sekundární organické aerosoly z ovzduší, které jsou tvořeny v atmosféře z kondenzace semivolatilních oxidačních produktů, představující významnou složku



leteckých nečistot, které mají škodlivé účinky na zdraví, viditelnost a klima. Vzorky ovzduší byly odebrány pomocí ZnSe disků ze zalesněných i příměstských oblastí Kalifornie a porovnány se vzorky připravenými v laboratoři oxidací  $\alpha$ -pinenu a isoprenu s  $O_3$  a  $N_2O_5$ . Následně byly analyzovány infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací (FT-IR) a poté technikou ASAP. Spektra získána oběma technikami se shodovala a výsledky modelové reakce i reálných vzorků byly stejné [4].

Zajímavou oblastí použití ASAP bylo určení přítomnosti a koncentrace para-fenylendiaminu (PPD), který se vyskytuje v heně v dočasných tetováních, kde je uměle přidáván výrobcí k intenzivní černé barvě, která ovšem může způsobovat alergické reakce. V jedenácti ze sto devíti vzorků heny, pocházejících z různých zemí (největším producentem je Indie), bylo pozitivně detekováno PPD. Na potvrzení výsledků ASAP a stanovení koncentrací PPD v henových produktech byla následně použita ultra-vysoko účinná kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí s ionizací elektrosprejem (UHPLC-ESI-MS). PPD byl detekován v koncentracích od 0,05 do 4,21 % (w/w). Z výsledků lze usoudit, že ASAP-MS je dostatečně citlivý na detekci PPD v heně, jelikož limit detekce byl 0,025 % (w/w) [30].

### **2.1.5 Desorpce chemickou ionizací za atmosférického tlaku - DAPCI**

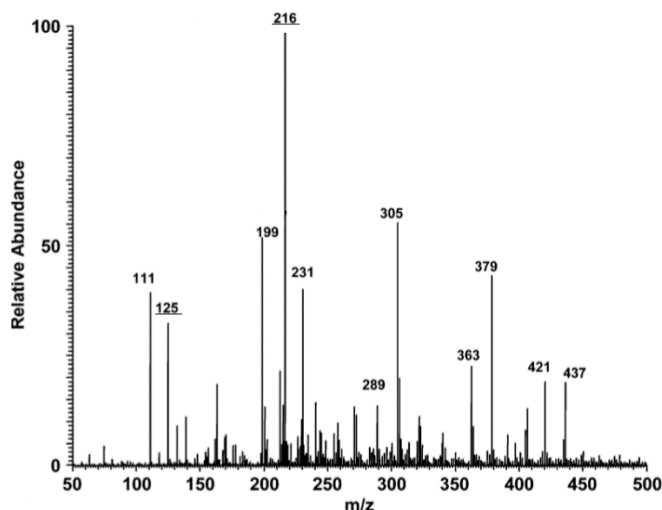
DAPCI je ambientní ionizační technika popsána v roce 2005 [1] využívající chemické ionizace za atmosférického tlaku (APCI).

Mechanismus je založen na využití proudu plynu a zmlžovací kapaliny zajišťující desorpci látek s následnou ionizací koronovým výbojem. Koronový výboj je vytvářen vložením vysokého napětí na elektrodovou špičku. Dochází k uvolnění iontů, které jsou následně transportovány do hmotnostního spektrometru [31].

Technika DAPCI byla použita k detekci peroxidových výbušnin, jako jsou hexamethylen triperoxodiamin (HMTD), tetraaceton tetraperoxid (TrATrP) a triaceton triperoxid (TATP). Jednalo se o rychlou selektivní identifikaci nevyžadující přípravu vzorku, s detekčními limity v nanogramech ve všech studovaných případech včetně těch, ve kterých jsou výbušniny přítomny v komplexních maticích [32].

DAPCI byl také využit k detekci těkavých látek DMMP (dimethyl methylfosfonát), RDX (hexogen) a TNT (trinitrotoluen), které mohou být analyzovány přímo z kůže a oděvu poté, co byly vystaveny těmto sloučeninám. RDX a TNT byly naneseny do tkanin jako simulace detekce z oděvu. RDX byl touto technikou detekován

v pozitivním módu jako ( $m/z$  223) a detekční limit byl 50 fg čisté látky. DMMP a atrazin byly nanесeny do tkaniny jako roztoky o obsahu 1 pg těchto látek. Po zaschnutí byly analyzovány DAPCI-MS. Výsledné spektra v pozitivním módu ukazují přibližně dva krát větší signál u atrazinu než DMMP (Obr. 11), způsobenou větší protonovou afinitou atrazinu [33].



**Obr. 11:** Hmotnostní spektrum získané technikou DAPCI z tkaniny. Ve spektru lze pozorovat ionty DMMP ( $m/z$  125) a atrazinu ( $m/z$  216) (převzato z cit. [33]).

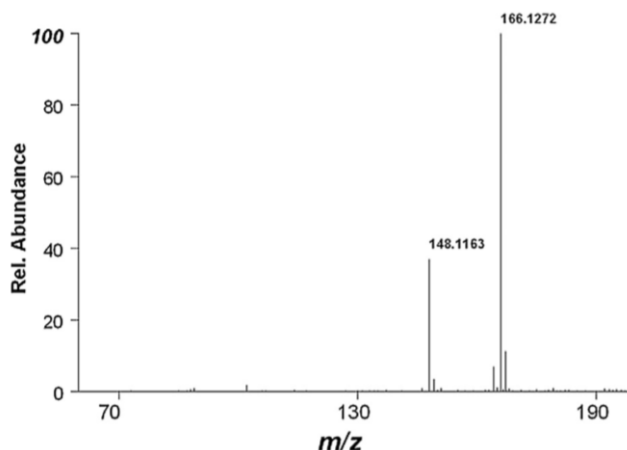
### 2.1.6 Přímá analýza v reálném čase - DART

Iontový zdroj DART byl poprvé popsán R. B. Codym a jeho kolektivem v roce 2005 [34].

Průtok plynu, typicky hélium nebo dusík, je veden trubicí rozdělenou do tří úseků. V prvním úseku koronový výboj vytváří ionty, elektrony a excitované atomy. Studená plazma procházející druhým úsekem, kde se nachází elektroda odstraňující většinu kationtů z proudu plynu, který se následně zahřívá a prochází konečnou mřížkovou elektrodou, která odstraňuje opačně nabitě ionty. Ionizovaný neutrální plyn zasahuje povrch vzorku a uvolněné ionty vstupují do hmotnostního spektrometru [2,35].

I tato ambientní ionizační technika našla uplatnění v analýze zneužívaných drog. DART ve spojení s hmotnostní spektrometrií (DART-TOF-MS) byl použit pro rychlý screening a identifikaci 53 zneužívaných drog např. efedrinu, kokainu, heroinu, amfetaminu, diazepamu, THC a mnoha dalších. Na obr. 12 můžeme vidět hmotnostní spektrum efedrinu poskytující  $[M+H]^+$   $m/z$  166,1272. V porovnání s metodami plynové a kapalinové chromatografie, které potřebují k získu výsledků přibližně 30 minut je DART velice rychlý

a schopný nástroj, který by mohl být využit pro detekci drog ve velkých počtech vzorků (stovky až tisíce) [36].



**Obr. 12:** Hmotnostní spektrum efedrinu (převzato z cit. [36]).

Zajímavé použití DART je určování pravosti dokumentů a jejich relativního stáří na základě analýzy použitého inkoustů. Dnes většina dosavadních metod vyžaduje odstranění vzorku nebo viditelnou změnu dokumentu. Nedestruktivní analýza písemných inkoustů na papíře bez viditelných změn je možná pomocí hmotnostní spektrometrie právě s iontovým zdrojem DART. Bylo analyzováno celkem 43 různých vzorků inkoustů, a ze získaných spekter byla vytvořena databáze k usnadnění identifikace pro další analýzy dokumentů [5].

### 2.1.7 Desorpční fotoionizace za atmosférického tlaku - DAPPI

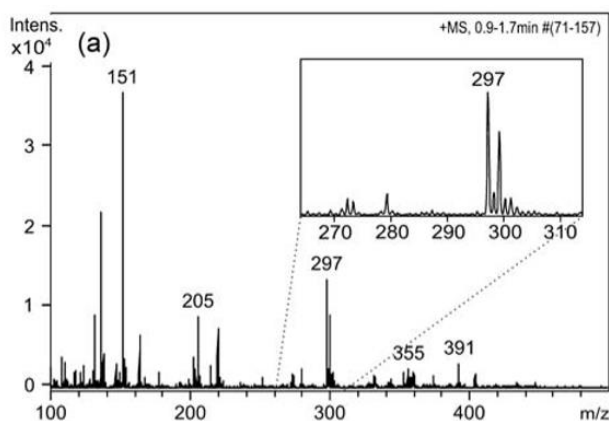
DAPPI je ambientní ionizační technika, která může být použita pro analýzu polárních a nepolárních sloučenin přímo z jejich povrchů. Poprvé byla tato technika popsána v roce 2007 M. Haapalou a jeho spolupracovníky [10].

Mechanismus generování iontů v DAPPI je založen na tepelné desorpci analytů z povrchu s následnou fotoionizací za atmosférického tlaku. Pára horkého rozpouštědla a rozprašovací plyn se dodávají k pevnému vzorku za použití vyhřátého mikročipu, což způsobuje tepelnou desorpci analytů z povrchu vzorku. Z kryptonové výbojky jsou emitovány fotony a tím dochází k ionizaci rozpouštědla. Následně dochází k ionizaci a vzniklé ionty jsou analyzovány v hmotnostním spektrometru [10].

DAPPI bylo použito k přímé analýze lipidů z chromatografických desek. Ve spojení s hmotnostní spektrometrií DAPPI-MS byla testována schopnost ionizovat a detekovat lipidy (cholesterol, 1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol, 1,2-dioleoylhexadecan-1,2-diol,

skvalen), 1,2-diolové diestery, voskové estery, cholesterol-estery a uhlovodíky z TLC a HPTLC desek. Cholesterol poskytoval molekulární ionty pouze v negativním módu  $[M-H]^-$ , ostatní sloučeniny v pozitivním módu  $[M+H]^+$  a skvalen byl detekován v obou módech [37].

Použití této techniky otevírá nové možnosti analýzy životního prostředí a potravin, například při analýze polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) jako naftalen, fenanthren, chrysen, akridin, bromovaného retardantu tetrabrombisfenolu A (TBBPA) a pesticidů. Zkoumány byly reálné vzorky, a to konkrétně obvodová deska, pomerančová kůra a vzorek půdy. Detekční limity pro jednotlivé látky se pohybovaly v rozmezí 30 pg – 1 ng. Konkrétně sloučeniny PAH 0,1 – 1 ng, TBBPA 300 pg, a pesticidy jako aldikarb, karbofuran, oxamyl nebo imazalil 30 – 300 pg. Hmotnostní spektrum jednoho z pesticidů, konkrétně imazalilu ze vzorku pomerančové kůry je uvedeno na obr. 13 [38].



**Obr. 13:** Hmotnostní spektrum pesticidu imazalilu ( $m/z$  297) ze vzorku pomerančové kůry (převzato z cit. [38]).

V této kapitole jsou uvedeny a popsány nejběžnější ambientní ionizační techniky včetně ukázky jejich použití. Některé z nich, konkrétně ASAP, nanoESI a nanoDESI jsou součástí experimentální části.

## 2.2 Konzervační látky

Konzervační látky neboli konzervanty jsou přísady, které zamezují růstu mikroorganismů, čímž prodlužují trvanlivost a dobu uchování potravin. Konzervace jako taková je známá již tisíce let, jelikož si lidé chtěli své potraviny uchovat pro pozdější konzumaci. Nejstaršími přírodními konzervanty jsou sůl a ocet. Kromě přídavku konzervačních přísad lze také potraviny ochránit před tvorbou mikroorganismů jejich zpracováním např. vařením, sušením, chlazením či pasterizací [39].

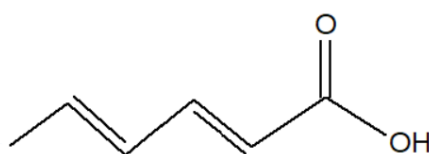
Umělé konzervanty přidávající se do potravin se značí písmenem E a číslicí. V potravině vytvářejí kyselé prostředí, ve kterém se mikroorganismy nejsou schopny množit a růst. Koncentrace těchto látek jsou stanovovány potravinářskými úřady, na mezinárodní úrovni např. Světovou zdravotnickou organizací (WHO) nebo Organizací pro výživu a zemědělství (FAO). Existují předepsané normy s maximálními povolenými limity koncentrací konzervačních látek, které musí být dodržovány [40].

**Tabulka I:** Nejčastěji používané konzervační látky.

| Látka                                  | Zkratka    |
|--|------------|
| Kyselina sorbová a její soli sorbany   | E200 – 203 |
| Kyselina benzoová a její soli benzoany | E210 – 213 |
| Parabeny                               | E214 – 219 |
| Sířičitany                             | E220 – 228 |
| Dusitany a dusičnany                   | E249 – 252 |

### 2.2.1 Kyselina sorbová

Kyselina sorbová patří mezi nenasycené karboxylové kyseliny, v přírodě přirozeně se vyskytující v bobulích jeřábu ptačího. Struktura kyseliny sorbové je znázorněna na obr. 14.

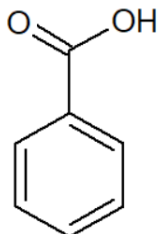


**Obr. 14:** Strukturní vzorec kyseliny sorbové.

Na rozdíl od kyseliny benzoové má kyselina sorbová spíše antifungicidní účinky, využívající se v potravinách, nápojích, ale také v různých kosmetických přípravcích či lécích [40]. Je považována za nejméně škodlivý konzervant, jelikož u ní nebyly prokázány žádné toxické účinky [41]. Jako konzervant ji nalezneme pod zkratkou E200, a její soli – sorbany E201, E202 atd.

### 2.2.2 Kyselina benzoová

Kyselina benzoová je bílá krystalická látka řadící se mezi jednosytné aromatické karboxylové kyseliny. Na obr. 15 je znázorněna její struktura.



**Obr. 15:** Strukturální vzorec kyseliny benzoové.

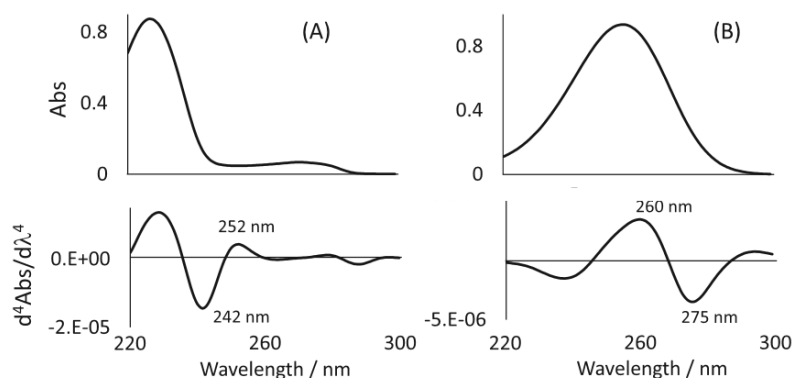
Přírodně se vyskytuje v ovoci např. v broskvích, jablkách, švestkách, ale také ve skořici. Společně se svou sodnou solí se používá jako konzervační látka zabraňující změnám a degradaci potravin mikroorganismy, jelikož obě vykazují inhibiční aktivitu proti houbám, kvasinkám, plísním a bakteriím [42]. Využití kyseliny benzoové je velké, a své uplatnění nachází hlavně v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu [43]. Jako konzervační látku ji nalezneme pod zkratkou E210, a její soli – benzoan sodný E211 nebo draselný E212 [40].

### 2.2.3 Stanovení kyseliny sorbové a benzoové

Analýza kyseliny sorbové a benzoové, respektive jejich solí sorbanů a benzoanů je velmi důležitá, jelikož se jedná o nejběžnější konzervační látky, přičemž kyselina benzoová a její soli mohou mít nepříznivé účinky na lidské zdraví např. alergie, astma a jiné dýchací problémy [44]. V dnešní době existuje několik metod ke stanovení obou kyselin najednou, jelikož se často vyskytují v různých potravinách společně. Směrnice Evropské unie stanovila limit pro kyselinu sorbovou ve výši 300 mg/l (0,03 %) a kyselinu benzoovou 150 mg/l (0,015 %) pokud se použijí odděleně. Společné užití je limitováno 250 mg/l pro kyselinu sorbovou a 150 mg/l pro kyselinu benzoovou. V USA je limit pro kyselinu benzoovou <0,1 %. Neexistuje žádný právní limit pro sorban, ale mezinárodní dohoda stanoví maximální úroveň 0,3 % [45]. Nejběžnější metody ke stanovení těchto kyselin jsou metody chromatografické a spektrofotometrické.

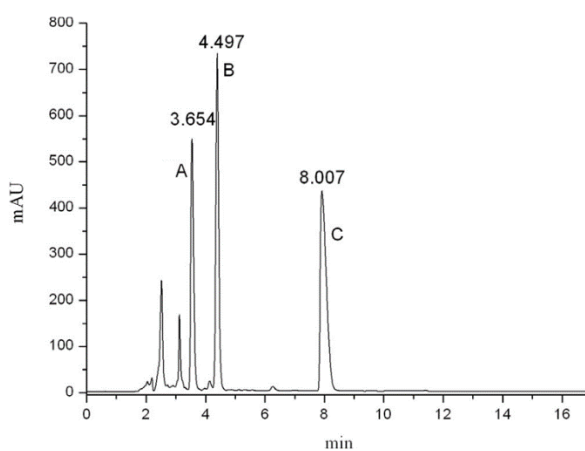
Tyto kyseliny byly například stanovovány metodou založenou na měření UV-VIS spekter bez použití chromatografických metod. Pro předúpravu vzorků různých potravin a nápojů byla použita mikrodialýza. Následně byly měřeny UV-VIS spektra a pomocí čtvrté

derivace (obr. 16) byly zaznamenány kvantitativní výsledky. Ty byly porovnávány s HPLC metodou a výsledky spolu dobře korelovaly ( $R^2 > 0,97$ ). Tato metoda je jednoduchá a poměrně rychlá, tudíž by mohla být použitelná i pro analýzu dalších potravinářských přísad [43].



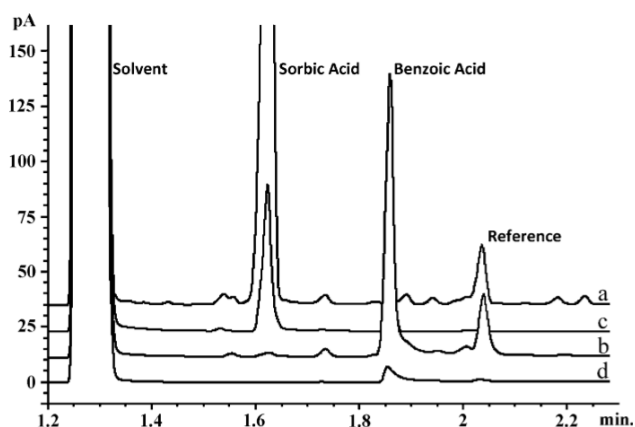
**Obr. 16:** Ukázka spektra a čtvrté derivace kyseliny benzoové **A**) a sorbové **B**) (převzato z cit. [43]).

Vysokoučinná kapalinová chromatografie s mobilní fází obsahující methanol a amono-octanový pufr (30:70, v/v) ve spojení s UV detekcí (vlnová délka 225 nm) byla využita pro stanovení obsahu kyselin sorbové a benzoové v sójové omáčce (obr. 17). Obsah těchto kyselin byl stanoven metodou interního standardu, kterým v tomto případě byla kyselina skořicová. Poslední analyt (interní standard) byl eluován v 8 minutě. Obsah obou látek byl stanoven u 4 vzorků sójových omáček. U kyseliny benzoové se pohyboval v rozmezí 238 – 661  $\mu\text{g/g}$  a u kyseliny sorbové byl obsah 246 a 311  $\mu\text{g/g}$ , přičemž u dvou vzorků nebyla kyselina sorbová detekována [41].



**Obr. 17:** Chromatogram extrakce sójové omáčky - kys. benzoová **A**), sorbová **B**), skořicová **C**) (převzato z cit. [41]).

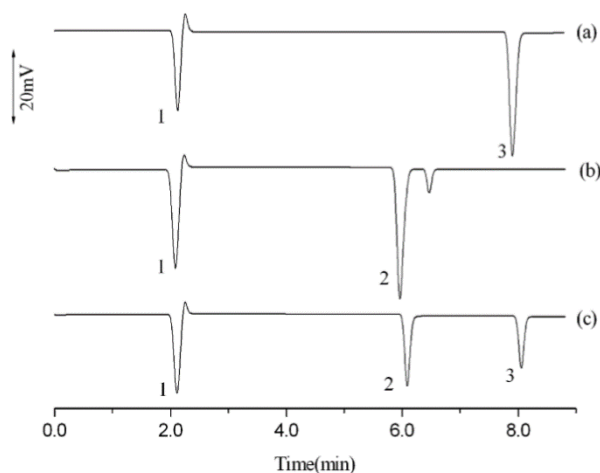
Rychlé a přímé stanovení kyseliny benzoové a sorbové lze docílit také pomocí kombinace metod využívající disperzní mikroextrakce a plynovou chromatografii s plamenovou ionizační detekcí (GC-FID). Ke zpracování vzorku byla použita disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina (DLLME), která je založena na disperzi malých kapiček extrakční kapaliny ve vodném roztoku, která zajišťuje rovnováhu extrakce během několika vteřin. Vzorky sycených nealkoholických nápojů byly extrahovány a následně dávkovány do GC-FID. Metoda poskytovala relativní směrodatnou odchylku (RSD) obsahu 11 % pro kyselinu sorbovou a 13 % pro kyselinu benzoovou. Limity detekce byly 0,2 mg/l pro kyselinu sorbovou a 0,5 mg/l pro kyselinu benzoovou. Spojení disperzní mikroextrakce s plynovou chromatografií bylo poprvé použito právě k detekci těchto dvou kyselin (obr. 18). Jedná se o rychlou a spolehlivou techniku, která může nacházet své další uplatnění při analýze potravin [40].



**Obr. 18:** Chromatogram analýzy dvou nápojů pomocí DLLME **A), B)**, LLE **C), D)**  
(převzato z cit. [40]).

Ke stanovení těchto kyselin byla využita i technika kapilární elektroforézy. Kapilární elektroforéza s bezkontaktní vodivostní detekcí (CE-C<sup>4</sup>D) ukazuje velký potenciál při stanovení kyseliny benzoové a kyseliny sorbové taktéž v sójových omáčkách (obr. 19). Kyselina sorbová a kyselina benzoová byly dobře separovány v čase do 10 minut. Limity detekce byly 5,6 µg/l pro kyselinu sorbovou a 9,8 µg/l pro kyselinu benzoovou s výtěžky 95 - 99 % pro obě dvě. Výsledky této studie ukazují velký potenciál pro navrženou metodu jako nástroj rychlého screeningu kyseliny benzoové a kyseliny sorbové v komplexní matici [46].



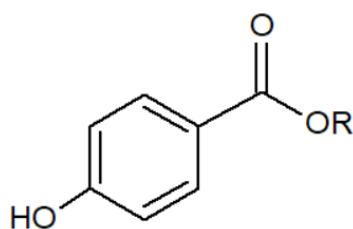


**Obr. 19:** Elektroferogram třech vzorků sójové omáčky **A**), **B**), **C**), identifikace píku **1** – neznámý, **2** – kys. benzoová, **3** – kys. sorbová (převzato z cit. [46]).

Rychlého oddělení a kvantifikace benzoanu a sorbanu bylo také dosaženo použitím superkritické fluidní chromatografie (SFC). Analyzováno bylo 15 nápojů a 10 polotekutých potravin. Mnoho vzorků obsahovalo kofein, který byl také stanovován. Potraviny byly zředěny methanolem, centrifugovány a analyzovány. Bylo dosaženo dobré opakovatelnosti jednotlivých analýz. Nápoje byly označeny etiketami, které často ve složení deklarovaly jiné přísady, než které ve skutečnosti byly analýzou prokázány. Uvedené úrovně vyhovovaly limitům stanoveným v USA (s výjimkou jedné šňavy), ale podle evropských směrnic byly tyto limity překročeny. Metoda se ukázala jako velice účinná, a je také obecně považována za 3 až 5krát rychlejší než HPLC [45].

#### 2.2.4 Parabeny

Parabeny jsou estery kyseliny p-hydroxybenzoové zahrnující často používané methyl (E218), ethyl (E214), propyl (E216) a butyl parabeny. Strukturální vzorec parabenu je na obr. 20, kde R je substituent představující methyl, ethyl a jinou funkční skupinu.



**Obr. 20:** Strukturální vzorec parabenu.

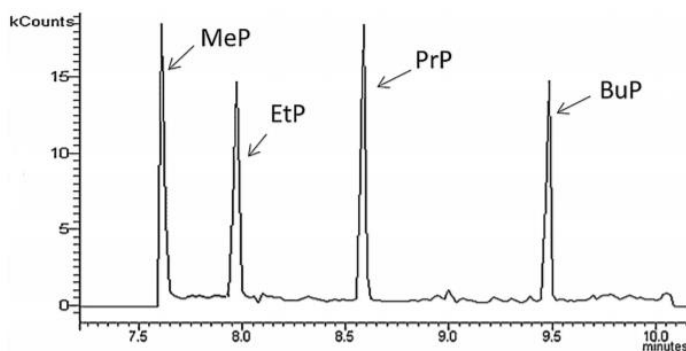
Sloučeniny parabenů se obecně používají jako konzervační látky v potravinářských, farmaceutických a zejména v kosmetických výrobcích, jako jsou šampóny, zubní pasty, deodoranty a různé krémy. Jsou využívány díky jejich neutrálnímu pH, nedostatku zápachu, chuti, zbarvení, dobré stabilitě na vzduchu a jejich odolnosti proti hydrolýze ve vodných a kyselých roztocích. V neposlední řadě také díky svým antibakteriálním a antifungicidním vlastnostem [47,48]. Ty mohou být zvýšeny použitím kombinace dvou a více parabenů.

### 2.2.5 Stanovení parabenů

Některé studie naznačují, že parabeny by mohly být potenciálně škodlivé, díky jejich rozšířenému použití. Z důvodů možné toxicity stanovily regulační orgány limity pro použití parabenů v potravinách a kosmetických přípravcích. Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) schválil za bezpečné množství parabenů do 20 mg/kg [49]. Jelikož jsou široce používány, dostávají se do životního prostředí a přispívají k přímému zavádění parabenů do vodních médií prostřednictvím domácích a průmyslových odpadních vod. Parabeny byly detekovány např. v povrchové vodě, sedimentech, odpadních vodách, kalu a další vodní biotě. Ještě více znepokojující je však detekce parabenů u lidí, kde byly např. detekovány v moči, krvi, séru a dokonce i v mateřském mléce [50]. Z těchto důvodů je nezbytné vyvíjet rychlé a citlivé techniky umožňující jejich spolehlivou detekci a stanovení.

Ke stanovení čtyř parabenů v potravinách a farmaceutických výrobcích byla využita například kombinace techniky kapilární kapalinová chromatografie s UV detekcí s dvojitou mikroextrakcí. Limity detekce této techniky se pohybovaly v rozsahu 10 - 30 ng/ml. V sójových omáčkách byl stanoven jeden z nejvíce používaných parabenů – butylparaben [47].

Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) byla také použita pro stanovení stejných parabenů např. v mořských plodech. Analyzovanými vzorky byly čerstvé ryby a krevety z místního trhu, a dovezené mražené filety zakoupené v supermarketu v Taiwanu. Celkové koncentrace čtyř vybraných parabenů se pohybovaly v rozmezí 16,7 - 44,7 ng/g a mez stanovitelnosti byla 0,2 – 1,0 ng/g - vztaženo na sušinu. Metoda poskytuje detekční limity v jednotkách ng/g. I tato technika je spolehlivá pro stanovení přítomnosti parabenů v potravinách [50]. Na obr. 21 je zobrazen chromatogram z analýzy krevet. GC-MS technika v kombinaci s rotační sorpční diskovou extrakcí (RDSE) byla aplikována k analýze parabenů také ve vodách [51].



**Obr. 21:** Chromatogram vzorku krevet s detekcí čtyř parabenů (převzato z cit. [50]).

Ke stanovení parabenů v pěti vzorcích čerstvě nakrájené zelenině - brambor, brokolice, mrkev, celer a zelí byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS/MS). Vzorky byly extrahovány za použití acetonitrilu a extrakty byly přečištěny uhlíkovými nanotrubičkami. Metoda umožnila detekovat vybrané parabeny, např. v celeru bylo detekováno 81  $\mu\text{g}/\text{kg}$  methylparabenu [49].

### 2.2.6 Siřičitany

Siřičitany a jejich sloučeniny jsou přirozeně se vyskytující minerály, které mají dlouhou historii použití v potravinářském průmyslu. Vyskytují se i v některých potravinách, ale jsou široce používány jako konzervační látky, které zabraňují mikrobiálnímu znehodnocení a změně barvy potravin [52].

Do této skupiny můžeme zařadit konzervační látky odvozené od oxidu siřičitého E220 a siřičitanů jako jsou siřičitan sodný E221 a draselný E225.

Používají se např. pro konzervaci zeleniny, sušeného ovoce – typicky meruňky a rozinky, vína, piva, šťáv, koření, masných výrobků a mnoha dalších. Bezpečný obsah oxidu siřičitého byl stanoven na 0 - 0,7  $\text{mg}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti. Nejvyšší koncentrace siřičitanů (až 1000  $\text{mg}/\text{kg}$ ) se používá pro konzervaci sušeného ovoce a také vína [53].

### 2.2.7 Dusitany a dusičnany

Dusitany a dusičnany jsou soli odvozené od kyseliny dusité a dusičné. Přirozeně se vyskytují v mnoha potravinách, do kterých se dostávají v důsledku koloběhu dusíku. Velký podíl dusitanů a dusičnanů nalezneme také v půdách a vodách, ve kterých jsou obsaženy v důsledku přidávání dusíkatých hnojiv [54].

V potravinářství jsou používány jako přísady kvůli jejím antimikrobiálním účinkům a také pro zbarvení a zlepšení chuti potravin. Dusitan je obecně považován za účinný inhibitor růstu bakterie *Clostridium botulinum*, která produkuje smrtelný toxin botulotoxin [54].

Jako konzervační látky se používají dusitan draselný (E249), dusitan sodný (E250), dusičnan sodný (E251) a dusičnan draselný (E252).

Nacházejí se hlavně v masných výrobcích, kde se používají jako solící směsi pro zachování růžové barvy, chuti a také inhibici výše zmíněné bakterie, respektive toxinu botulotoxin, kterému je přezdívám „klobásový jed“. Dále se používají pro konzervaci sýrů nebo ryb. Například maximální hladina dusitanů v sušeném konzervovaném mase je v Číně 30 mg/kg a v Evropské unii 50 - 250 mg/kg [55].

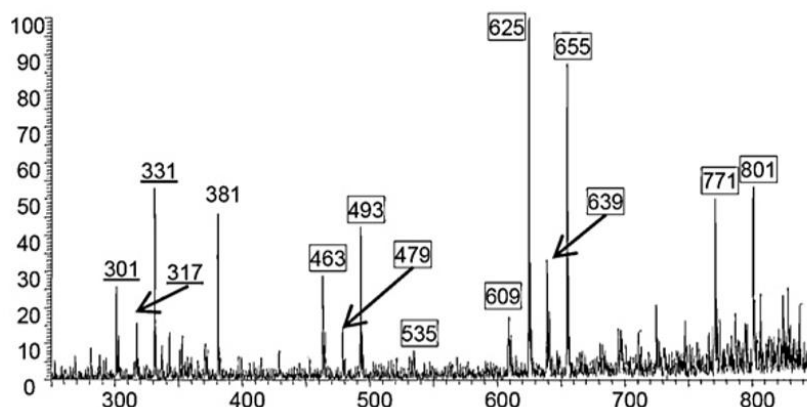
Nadměrný příjem dusitanů a dusičnanů může mít negativní vliv na lidské zdraví. Mohou např. způsobovat rakovinu žaludku a jícnu, spontánní potrat a také methemoglobinémii, což je krevní porucha, při které se nevratně přeměňuje hemoglobin na methemoglobin, čímž se snižuje schopnost krve přenášet kyslík [55].

Konzervační látky jsou užitečné k uchování potravin, avšak některé z nich mohou způsobovat nežádoucí účinky na lidský organismus, proto je nezbytné tyto látky také analyzovat. Součástí experimentu je rychlá identifikace kyselin sorbové a benzoové pomocí ambientních ionizačních technik.

### **2.3 Využití ambientních ionizačních technik v oblasti analýzy potravin**

V oblasti potravinářské chemie byl desorpční nanoelektrosprej použit k analýze antokyaninů v červených vínech, které jsou zodpovědné za jejich charakteristické zbarvení. Byly provedeny analýzy dvou ročníků (2005 a 2007) tří odrůd červených vín (Alibernet, Neronet a Rubinet) a získané výsledky byly porovnány s LC/MS výsledky. Vzorky okyselené kyselinou mravenčí byly nanášeny na sklíčko a po zaschnutí analyzovány. Jako sprejovací kapalina byla použita směs methanol:voda (3:1, v/v) okyselená 0,2 % HCOOH. Na sprejovací kapiláru bylo postupně vkládáno napětí v rozsahu 2,5 kV – 3,0 kV. Okyselení vzorků zlepšilo desorpci analytu ze sklíčka, čímž se výrazně zlepšuje kvalita spekter. Zjištěnými antokyaniny byly např. kyanidin, peonidin, petunidin, malvidin a jejich antokyanidiny např. peonidin-3-glukosid nebo malvidin-3,5-diglukosid. Na obr. 22 je zobrazeno hmotnostní spektrum vína Rubinet 2005 s ionty odpovídající peonidinu  $[M+H]^+$

$m/z$  301, petunidinu  $[M+H]^+$   $m/z$  317 a malvidinu  $[M+H]^+$   $m/z$  331 a dalším antokyanidinům [56].



**Obr. 22:** Hmotnostní spektrum vína Rubinet 2005 (převzato z cit. [56]).

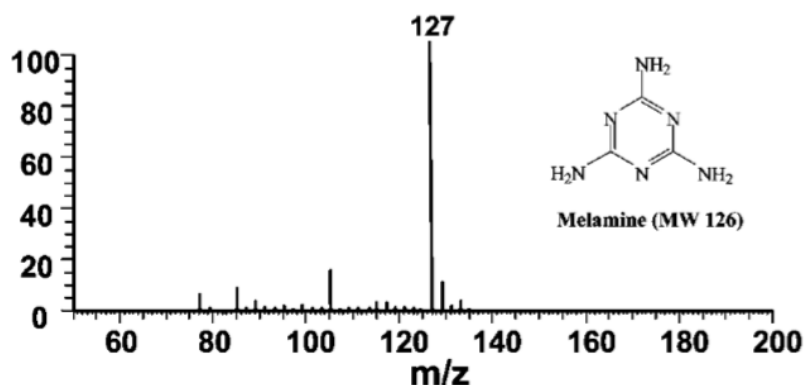
Naměřená data umožnila stanovit poměr dvou kultivarů ve směsi a také rozpoznat, zda je zbarvení vína způsobeno samotnými hroznými nebo extraktem z černého bezu. NanoDESI může přispět a odhalit falšování vína díky detekci přítomnosti nepřírodných antokyaninů nebo neobvykle vysoké množství některých z nich [56].

Technika ASAP má potenciál být použita v širokém rozsahu analytické chemie, včetně rychlé detekce reziduí, kontaminantů a příměsí v potravinách. ASAP byl úspěšně použit pro detekci pesticidů skupiny strobilurinů v zrnech obilí. Celá nebo mletá zrna a jejich rozpouštědlové extrakty byly analyzovány pomocí ASAP s detektorem TOF-MS. Např. vzorek mletého zrna byl připraven rozemletím zrn až na jemný prášek, do kterého se ponořila ASAP sonda, poklepaním se odstranil přebytečný prášek a následně byl analyzován. Ve hmotnostních spektrech byly detekovány látky odpovídající pesticidům ze skupiny strobilirinů. Analýza methanolového extraktu poskytla průměrný obsah azoxystrobinu 3,4 mg/kg (RSD = 7%). Tyto údaje z analýzy zrn byly srovnatelné s výsledky získané LC-MS/MS, která poskytla hodnotu 4,5 mg/kg. Analýza acetonitrilového extraktu poskytla hodnotu 0,4 mg/kg (RSD = 14%), což bylo srovnatelné s hodnotou (0,45 mg /kg) získanou LC-MS/MS [26].

Tato studie dále uvádí, že byl ASAP ve spojení s detektorem TOF-MS použit pro detekci nelegálních potravinových barviv v šafránu nebo detekci přítomnosti bixinu a norbixinu v paprice a kumarinu ve skořici [26].

Desorpční elektrosprej (DESI-MS) byl použit k analýze 32 pesticidů nalezených na 9 vzorcích ovoce – mango, maracuja, 3 papáje a 4 jahody, které poskytla kontrola potravin. Nejlepší výsledky ukázala analýza skleněného povrchu, na který byl nanesen vzorek tak, že se bavlněný tampon namočil do acetonitrilu a následně byl použit k ořeru vzorku. Tampon se poté umístil na sklo a byl analyzován DESI-MS. Výťažnost tohoto postupu byla 88 %. Detekovány byli pesticidy, jako např. karbendazim a thiabendazol u manga, azoxystrobin, prochloraz u papáji a cyprodinil, fludioxonil, thiacloprid a fenhexamid u vzorků jahod. Maximální legální limity (MRL) se pohybovaly od 0,2 – 10 mg/kg. Největší množství pesticidů obsahovaly jahody. Metoda DESI-MS by mohla sloužit jako rychlý a jednoduchý předběžný nástroj pro odhalení porušování předepsaných hodnot o používání pesticidů [57].

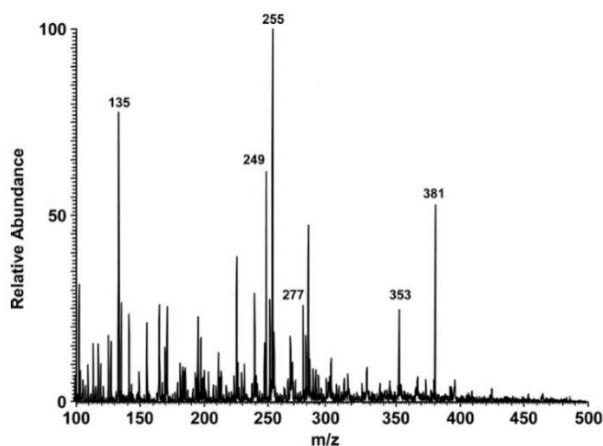
Zneužívání a ochuzování mléčných výrobků o výživové hodnoty představuje typickou výzvu v regulaci potravin, která vyžaduje citlivé metody k detekci specifických látek. Ambientní ionizační technika DAPCI byla použita k rychlé detekci melaminu v mléce. Melamin je látka obsahující vysoké množství dusíku, tudíž je některými výrobci používána ke zneužívání stravy bohaté na bílkoviny. Analýza vzorků práškového a tekutého mléka z místních obchodů trvala několik sekund a to bez jejich složité úpravy. U čtyř vzorků byl nalezen melamin v koncentracích 8,4 – 3032 mg/kg a v jednom nebyl detekován vůbec. Limit detekce pro čistý melamin na papírovém povrchu byl  $3,4 \times 10^{-15}$  g/mm<sup>2</sup>, což je mnohonásobně menší než u vzorku práškového mléka ( $1,6 \times 10^{-11}$  g/mm<sup>2</sup>) nebo tekutého mléka ( $1,3 \times 10^{-12}$  g/mm<sup>2</sup>). Na obr. 23 můžeme vidět hmotnostní spektrum standardu melaminu poskytující protonovanou molekulu  $m/z$  127 [58].



**Obr. 23:** Hmotnostní spektrum melaminu v pozitivním módu (převzato z cit. [58]).

Pomocí techniky DAPCI s detektorem iontové pasti byla analyzována sušina modelového vzorku rajčatové omáčky spikované barvivy Sudan I, II, III a IV, což jsou

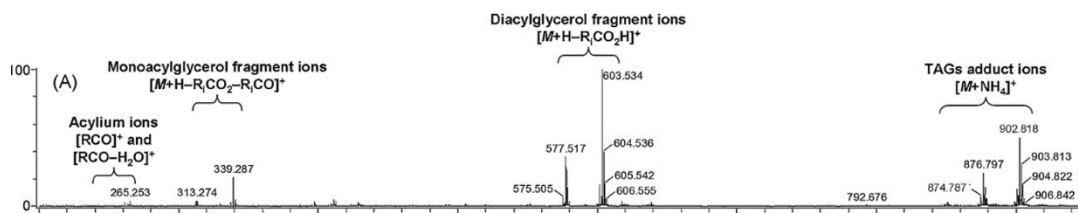
typické potravinářské přídatné látky zakázané ve většině zemí kvůli jejich karcinogennímu potenciálu. Směs roztoků obsahující 10 pg Sudan I a IV a 5 ng Sudan II a II byla přidána na vzorek rajčatové omáčky. Analýza DAPCI poskytla protonované molekuly u všech sloučenin - Sudan I ( $m/z$  249), Sudan II ( $m/z$  277), Sudan III ( $m/z$  353) a Sudan IV ( $m/z$  381) (obr. 24) [33].



**Obr. 24:** Hmotnostní spektrum rajčatové omáčky obsahující Sudan I, II, III a IV (převzato z cit. [33]).

Studie dále uvádí detekci herbicidu atrazinu, který byl detekován DAPCI z povrchu nezralé dýně nebo detekci putrescinu a kadaverinu v rybím mase, které vznikají degradací při laboratorní teplotě [33].

Pro komplexní profilování triacylglycerolů a následnou klasifikaci různých vzorků olivového oleje byla použita ambientní ionizační technika DART. Nejen odlišení mezi extra panenským olivovým olejem (EVOO), olejem z olivových výlisků (OPO) a olivovým olejem (OO) je možné touto technikou a kombinací statistických metod dosáhnout, ale i prokázání z falšování extra panenského olivového. Ten je díky své chuti ze všech druhů nejvíce ceněný a je často falšovaný podvodnými výrobci levnějším, buď olivovým, zeleninovým nebo olejem ze semen, většinou oříšků. DART-TOF-MS umožnila spolehlivou klasifikaci jakosti olivového oleje z různých zemí původu a také se osvědčila k detekci falšování extra panenského olivového oleje, a tudíž se uvažuje o dalším použití této techniky v oblasti potravinářského průmyslu. Na obr. 25 je ukázka hmotnostního spektra extra panenského olivového oleje [59]. Přímá analýza v reálném čase (DART) byla využita spolu se systémem čtyřnásobné tandemové hmotnostní spektrometrie také pro rychlou identifikaci dikyandiamidu v mléčných prášcích [60].



**Obr. 25:** Hmotnostní spektrum extra panenského olivového oleje (převzato z cit. [59]).

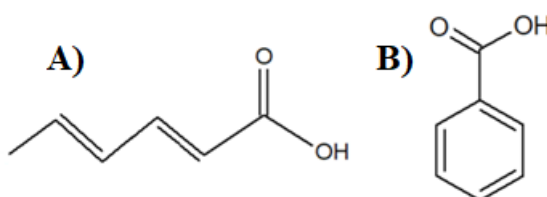
Z výše uvedených příkladů je patrné využití ambientních ionizačních technik v analýze potravin. Jedná se o časově méně náročné techniky, které poskytují spolehlivou identifikaci látek i z řad potravin např. ovoce, zeleniny, oleje, vína a dalších.



### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Chemikálie

Methanol HPLC kvality (Fisher Chemical, Pardubice, Česká republika), voda (upravena na přístroji Direct – Q VV Millipore), kyselina mravenčí p.a. (Sigma Aldrich, Praha, Česká republika), standardy kyselina sorbová p.a (Fluka, Praha, Česká republika), benzoová p.a (Lachema Brno, Česká republika). Na obr. 26 jsou zobrazeny struktury obou kyselin.



**Obr. 26:** Strukturní vzorec kyseliny sorbové **A)** a benzoové **(B)**.

#### 3.2 Přístroje a nastavení parametrů

K vlastnímu měření vzorků kyseliny sorbové a benzoové byl použit *hmotnostní spektrometr Xevo TQD* (Waters, Manchester, Velká Británie) s různými iontovými zdroji ASAP, nanoESI a nanoDESI. V případě nanoESI a nanoDESI byl komerční vstup hmotnostního spektrometru nahrazen vstupem se vzorkovacím kónusem a vyhřívanou kapilárou umožňující regulaci podtlaku. Jako sprejovací kapilára sloužila ( $2 \pm 1 \mu\text{m}$  I. D., PicoTips emitter, New Objective, Woburn, USA). Parametry pro jednotlivé iontové zdroje jsou shrnuty v tabulkách II a III. V tabulce IV jsou zoptimalizované parametry jednotlivých látek.

**Tabulka II:** Nastavení parametrů pro iontový zdroj ASAP.

| Parametry                                     | Hodnoty             |
|---|---------------------|
| Koronový proud                                | 7 $\mu\text{A}$     |
| Teplota desolvatačního plynu ( $\text{N}_2$ ) | 50 $^\circ\text{C}$ |
| Průtok desolvatačního plynu                   | 50 l/h              |
| Kolizní energie                               | 12 V                |

**Tabulka III:** Nastavení parametrů pro iontový zdroj nanoESI a nanoDESI.

| Parametry                       | Hodnoty |
|---------------------------------|---------|
| Napětí na sprejovací kapiláře   | 2,2 kV  |
| Teplota zdroje                  | 100 °C  |
| Teplota vyhřívané kapiláry (°C) | 200 °C  |
| Kolizní energie                 | 12 V    |

Ovládání a sběr dat byly zajištěny prostřednictvím software Waters MassLynx 4.1. (Waters, Manchester, Velká Británie). Data byla sbírána vždy po dobu 1 minuty.

**Tabulka IV:** Parametry pro jednotlivé látky.

| # | název látky       | sumární vzorec                               | prekurzorový ion ( $m/z$ ) | napětí na kónusu (V) | fragmentový ion | kolizní energie (V) |
|---|-------------------|--|----------------------------|----------------------|-----------------|---------------------|
| 1 | Kyselina sorbová  | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> | 111                        | 40                   | 68              | 12                  |
| 2 | Kyselina benzoová | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> | 121                        | 40                   | 78              | 12                  |

### 3.3 Pracovní postupy

#### 3.3.1 Příprava pracovních roztoků a reálného vzorku

Zásobní roztoky pro experimenty ASAP, nanoESI a nanoDESI byly připraveny o koncentraci 1 mg/ml rozpuštěním navážky příslušného standardu v odpovídajícím objemu směsi rozpouštědel methanol:voda (1:1, v/v).

Byl zakoupen nápoj Ledový zelený čaj jahoda-aloe vera značky AH Basic z obchodního řetězce Albert. Ten byl vybrán z důvodu deklarace přítomnost konzervačních látek E202 (sorban draselný) a E211 (benzoan sodný). Vzorek bez jakékoli úpravy byl nanesen na ASAP sondu a přímo analyzován.

#### 3.3.2 Příprava experimentů ASAP

Skleněná kapilára o délce 100 mm byla ponořena do roztoku standardu/vzorku (obr. 27). ASAP sonda byla vložena do hmotnostního spektrometru a analyzována.



**Obr. 27:** Nanášení vzorku na skelněnou kapiláru ASAP sondy.

### **3.3.3 Příprava experimentů nanoESI**

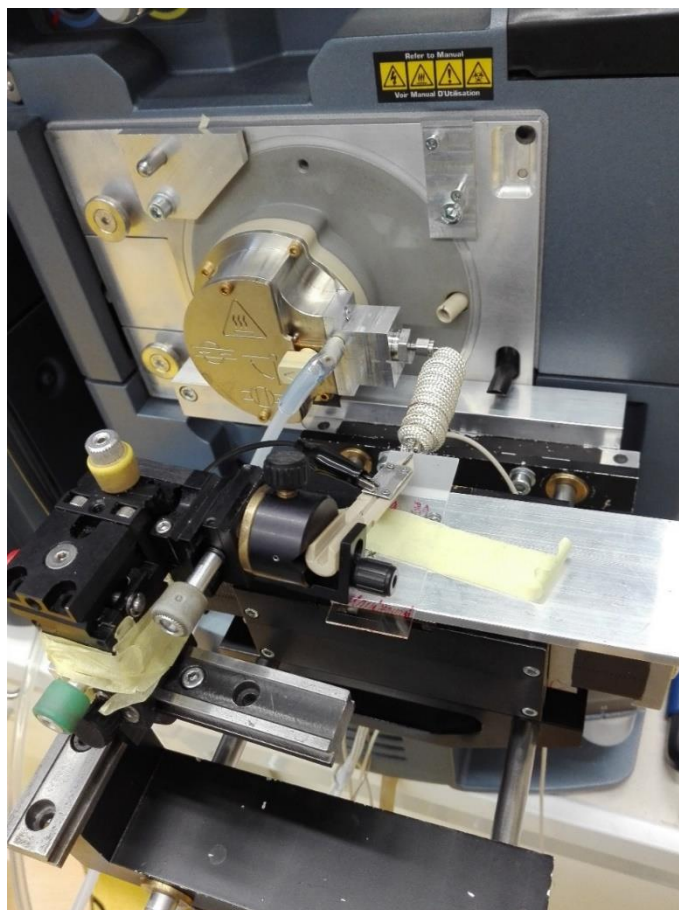
Sprejovací kapilára byla naplněna roztoky standardů kyselin pomocí mikrostříkačky Hamilton s redukcí pro plnění kapiláry. Před měřením vzorků standardů byl vždy proměřen slepý pokus, kdy sprejovací kapilára byla naplněna směsí rozpouštědel methanol:voda (3:1, v/v) okyselenou 2 % kyselinou mravenčí. Vzorky byla analyzovány při podtlaku 0,1 a 0,4 barů. Obr. 28 znázorňuje konstrukci nanoESI.



**Obr. 28:** Konstrukce nanoESI přístroje vytvořeného na Katedře analytické chemie PřF UP.

### 3.3.4 Příprava experimentů nanoDESI

Vzorky standardů kyselin o objemu 5  $\mu$ l byly naneseny na silonizované sklíčko. Po zaschnutí kapky bylo nanášení na stejném místě opakováno ještě dvakrát. Sreiovací špička byla naplněna kapalinou methanol:voda (3:1, v/v) okyselenou 2% kyselinou mravenčí. Zobrazení konstrukce přístroje je uvedeno na obr. 29.



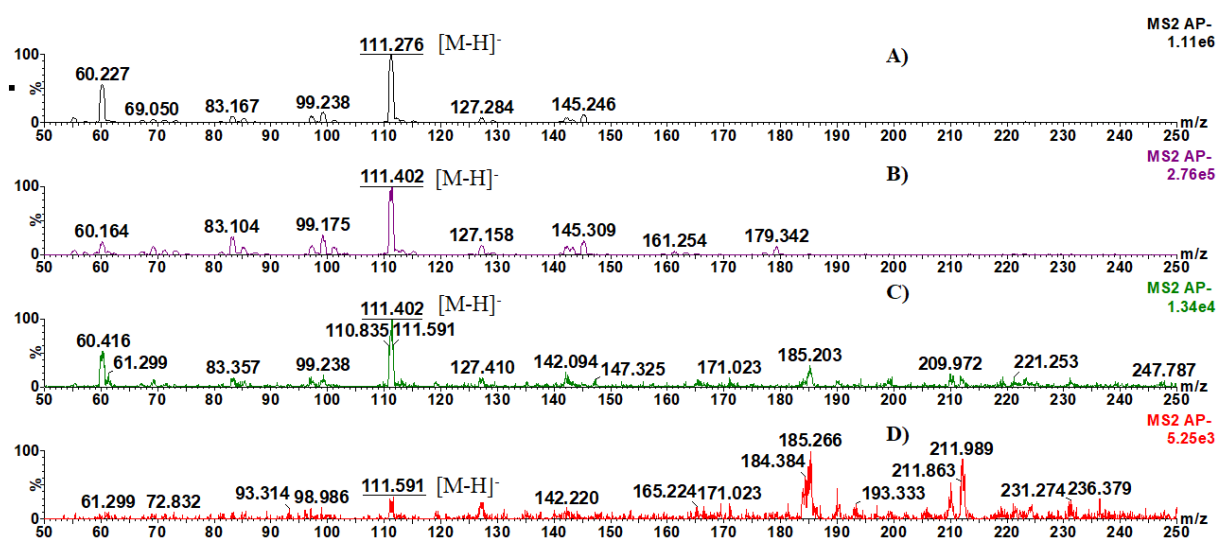
**Obr. 29:** Konstrukce nanoDESI přístroje vytvořeného na Katedře analytické chemie PřF UP.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

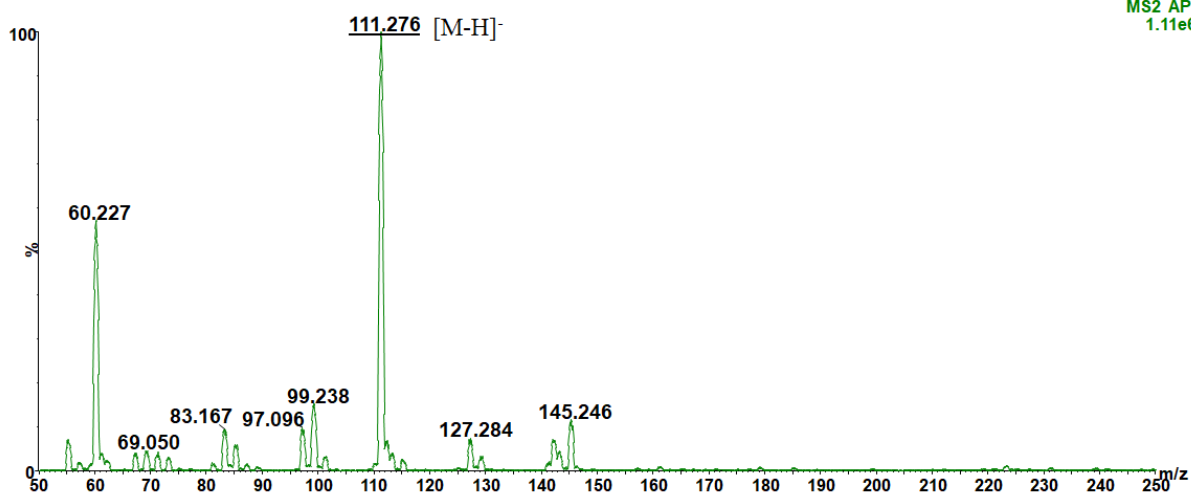
Předmětem této bakalářské práce bylo zhodnotit použití vybraných ambientních ionizačních technik (ASAP, nanoESI, nanoDESI) na konzervační látky kyselinu sorbovou a benzoovou.

### 4.1 Výsledky z ASAP experimentů

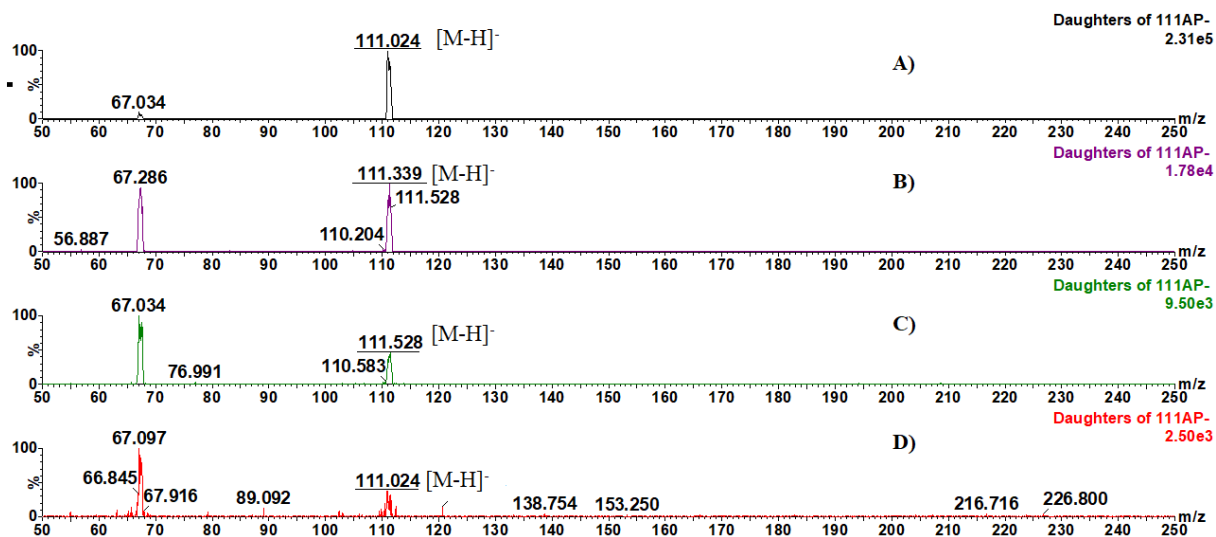
Na kyselině sorbové byl testován vliv nastavení parametrů teploty a průtoku desolvatačního plynu v rozmezí 50 – 120 °C a 50 – 120 l/h (obr. 30). Nejlepší spektra byla získána při nastavení parametrů teploty 50 °C a průtoku 50 l/h, což může souviset s degradací analyzovaných látek. Měření probíhalo v negativním módu, kde můžeme ve spektru pozorovat molekulární ion  $[M-H]^-$   $m/z$  111 (obr. 31). Následně byla testována fragmentace kyseliny sorbové při různých kolizních energiích v rozmezí 2 – 15 V (obr. 32). Optimální fragmentace (intenzita prekurzorového iontu v rozmezí 30 – 50 %) bylo dosaženo při použití kolizní energie 12 V. Při nižších kolizních energiích 5 a 10 V nedocházelo k dostatečné fragmentaci prekurzorového iontu. Kolizní energie 15 V byla pro tento prekurzorový ion naopak příliš vysoká. Diference mezi prekurzorovým iontem a fragmentovaným iontem byla 44, což odpovídá odštěpení karboxylové skupiny (obr. 33).



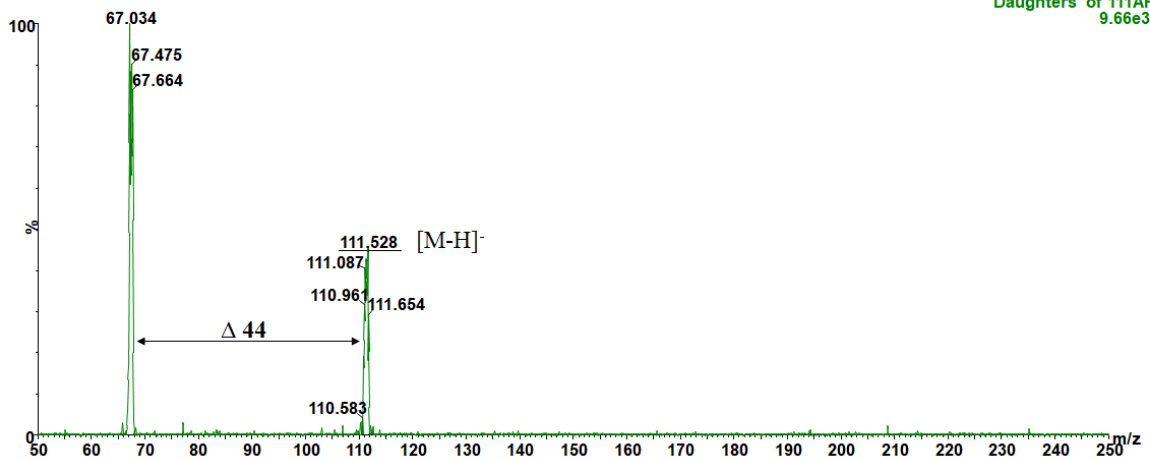
**Obr. 30:** Hmotnostní spektra kyseliny sorbové při různých nastaveních teploty a průtoku desolvatačního plynu **A)** 50 °C, 50 l/h; **B)** 70 °C, 70 l/h; **C)** 100 °C, 100 l/h; **D)** 120 °C, 120 l/h.



**Obr. 31:** Hmotnostní spektrum kyseliny sorbové při nastavení optimálních podmínek - teplotě 50 °C a průtoku desolvatačního plynu 50 l/h.



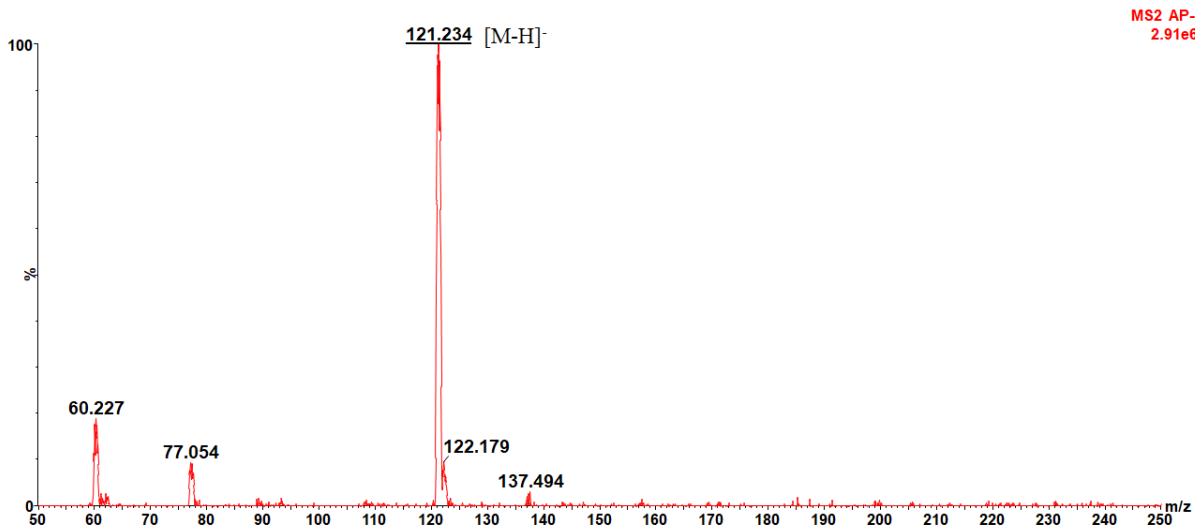
**Obr. 32:** Fragmentační spektra kyseliny sorbové při různých hodnotách kolizní energie **A)** 5 V; **B)** 10 V; **C)** 12 V; **D)** 15 V.



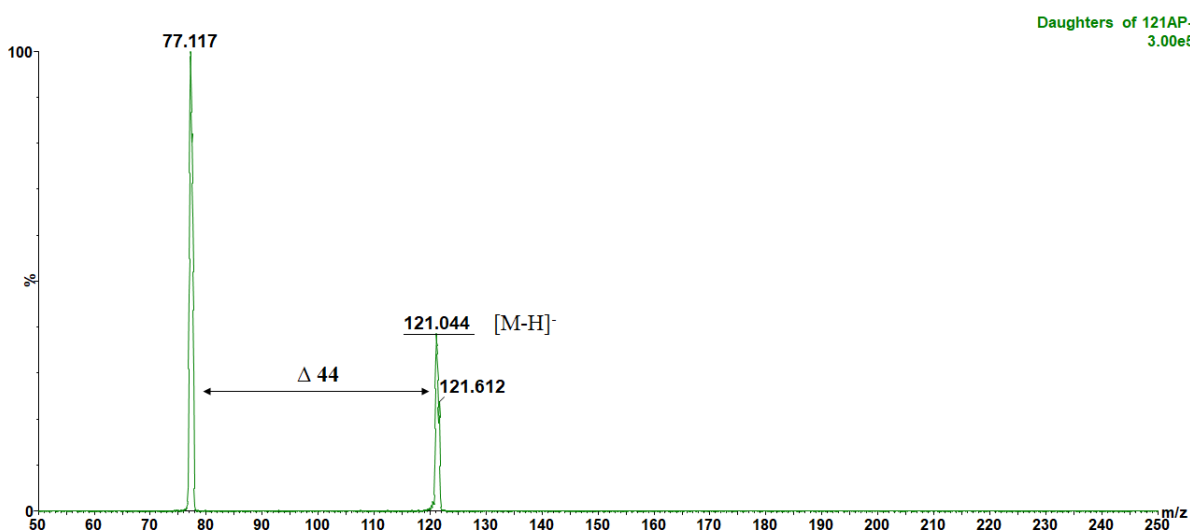
**Obr. 33:** Fragmentační spektrum kyseliny sorbové při hodnotě kolizní energie 12 V.

Na kyselině benzoové byl testován stejný vliv nastavení parametrů teploty a průtoku desolvatačního plynu, jako v případě kyseliny sorbové. Nejlepších výsledků bylo opět dosaženo při nízké teplotě 50 °C i průtoku desolvatačního plynu 50 l/h (obr. 34). Spektra při různých hodnotách teploty a průtoku desolvatačního plynu jsou uvedeny v příloze I. Ve spektru v negativním módu byl pozorován ion [M-H]<sup>-</sup>  $m/z$  121 odpovídající deprotonované molekule kyseliny benzoové. Následně byla testována fragmentace kyseliny benzoové při různých kolizních energiích v rozmezí 2 – 15 V (příloha II). Optimální fragmentace (intenzita prekurzorového iontu v rozmezí 30 – 50 %) bylo dosaženo při použití kolizní energie 12 V. Diference mezi prekurzorovým iontem a fragmentovaným iontem byla i u této kyseliny 44, což odpovídá odštěpení karboxylové skupiny (obr. 35).





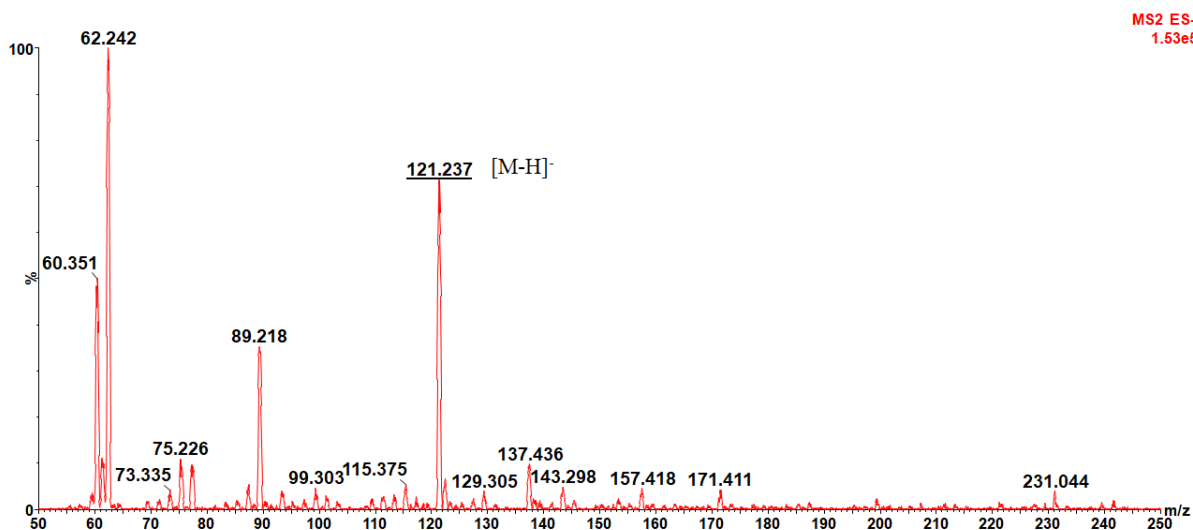
**Obr. 34:** Hmotnostní spektrum kyseliny benzoové při nastavení teploty 50 °C a průtoku desolvatačního plynu 50 l/h.



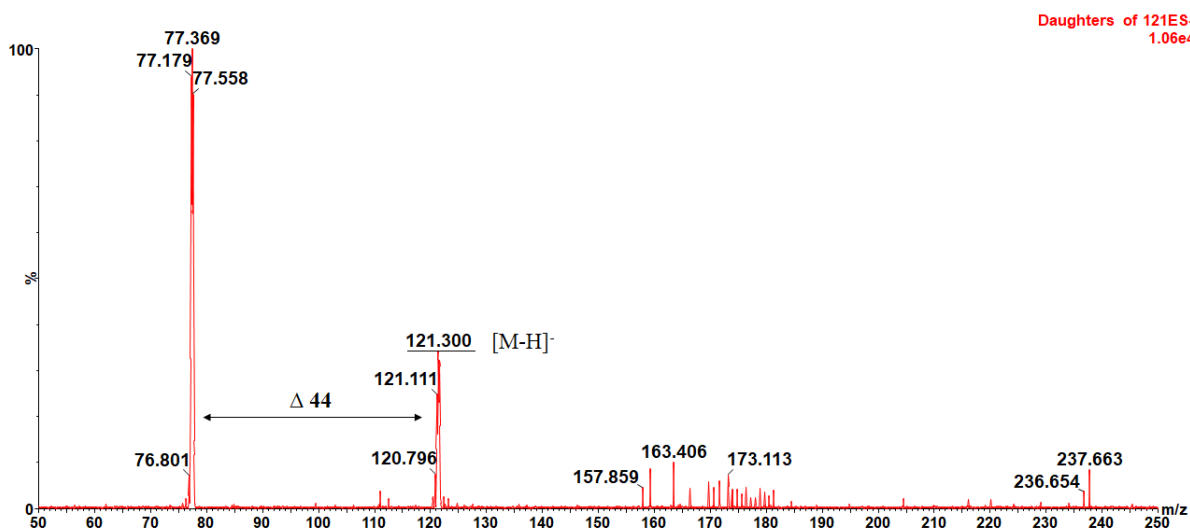
**Obr. 35:** Fragmentační spektrum kyseliny benzoové při hodnotě kolizní energie 12 V.

## 4.2 Výsledky z nanoESI experimentů

Po naplnění sprejovací špičky roztokem daného standardu a po jejím připojení k napětí byly provedeny experimenty nanoESI (obr. 28 – viz experimentální část). Měření probíhalo opět v negativní módu, kdy se podařilo úspěšně detekovat pouze kyselinu benzoovou. (obr. 36). Identifikace kyseliny benzoové byla potvrzena její fragmentací (obr. 37).

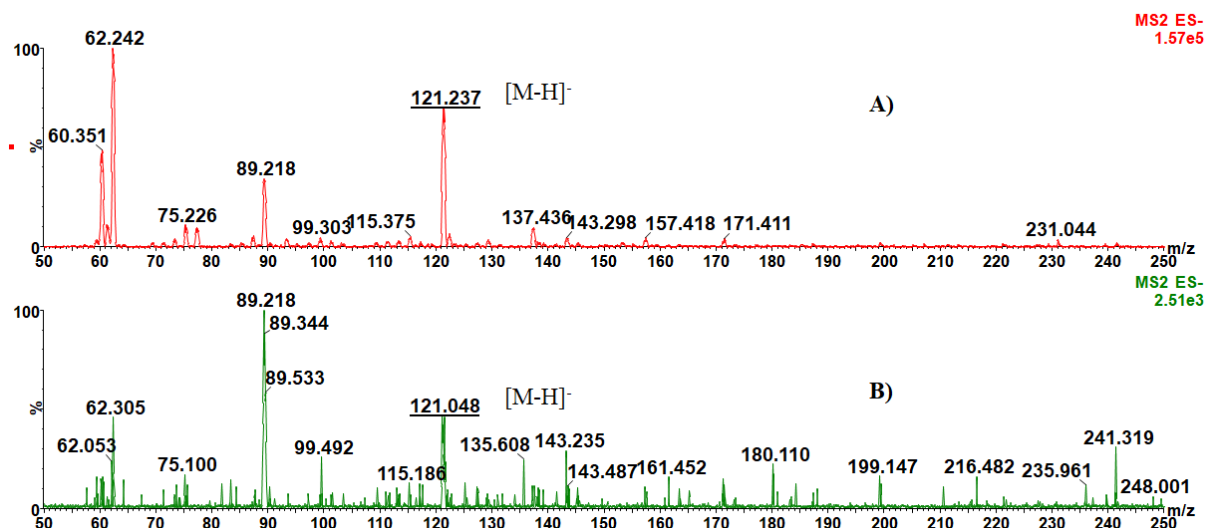


**Obr. 36:** Hmotnostní spektrum kyseliny benzoové získané experimentem nanoESI.



**Obr. 37:** Fragmentační spektrum kyseliny benzoové při hodnotě kolizní energie 12 V.

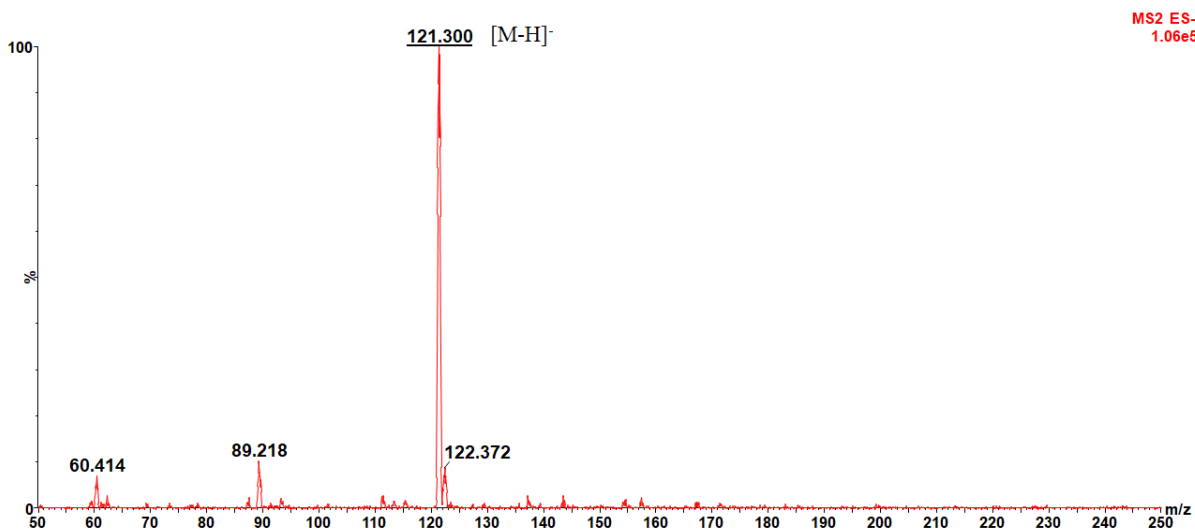
Při nanoESI experimentu byl rovněž testován vliv regulace podtlaku, který zlepšuje transport iontů do hmotnostního analyzátoru. Na obr. 38 jsou uvedeny spektra získaná při podtlaku 0,1 a 0,4 barů. Ze spekter je zřejmé, že regulace podtlaku má při nanoESI experimentech značný vliv, jelikož při podtlaku 0,4 barů bylo docíleno intenzity signálů o dva řády vyšší.



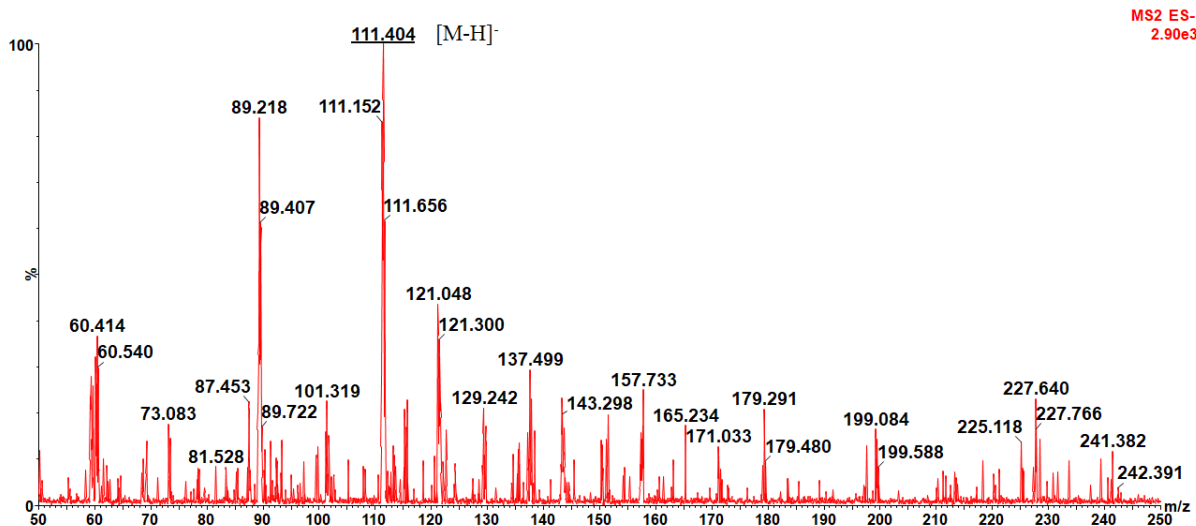
**Obr. 38:** Hmotnostní spektra kyseliny benzoové při různých hodnotách podtlaku **A)** 0,4 bar; **B)** 0,1 bar.

### 4.3 Výsledky z nanoDESI experimentů

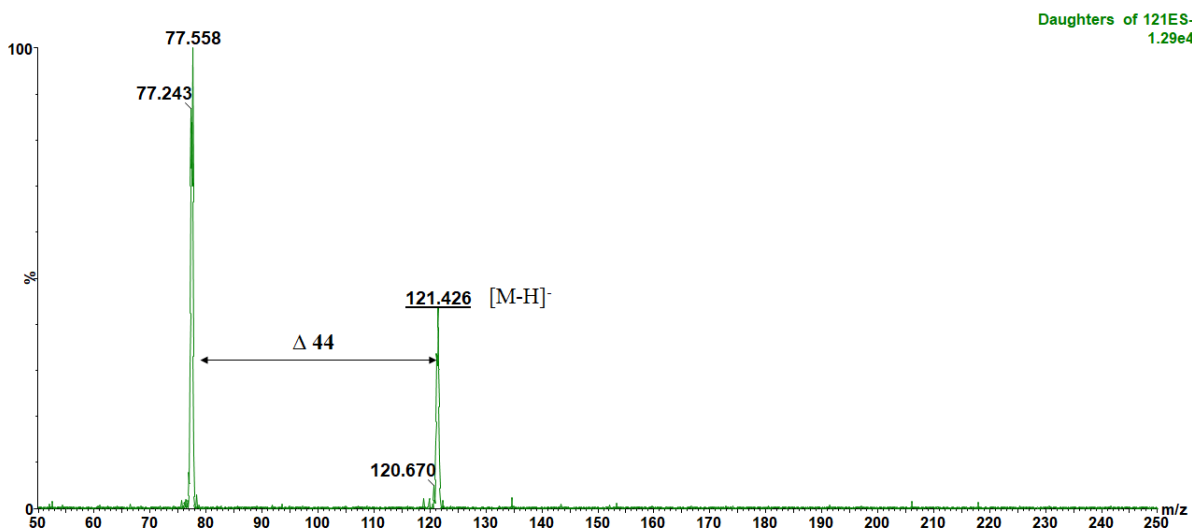
Po nanesení a zaschnutí vzorku standardu na silonizovaném sklíčku (kap. 3.3.4) byl vzorek podroben analýze pomocí ambientní ionizační techniky nanoDESI. Jako sprejovací kapalina byla použita směs methanol:voda (3:1, v/v) okyselená 2 % kyseliny mravenčí. Touto technikou se v negativním módu podařilo identifikovat obě kyseliny (obr. 39 a 40). Kyselina benzoová je potvrzena i fragmentačním spektrem (obr. 41). Opět byl testován na kyselině benzoové vliv regulace podtlaku, který i při těchto experimentech hraje významnou roli (obr. 42).



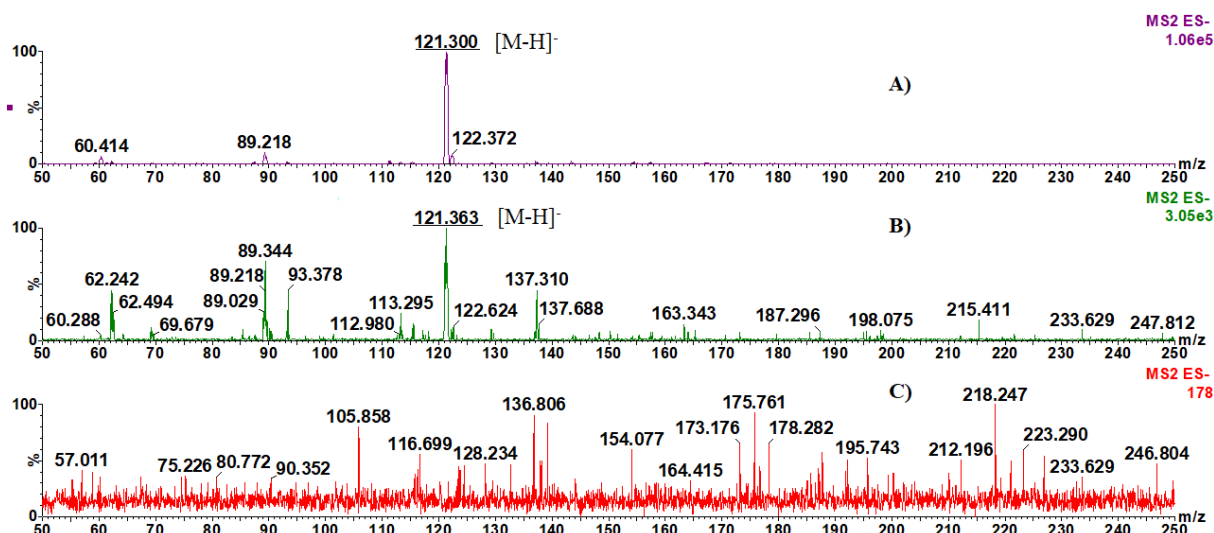
**Obr. 39:** Hmotnostní spektrum kyseliny benzoové získané z nanoDESI experimentu.



Obr. 40: Hmotnostní spektrum kyseliny sorbové z nanoDESI experimentu.



Obr. 41: Fragmentační spektrum kyseliny benzoové při hodnotě kolizní energie 12 V z nanoDESI experimentu.



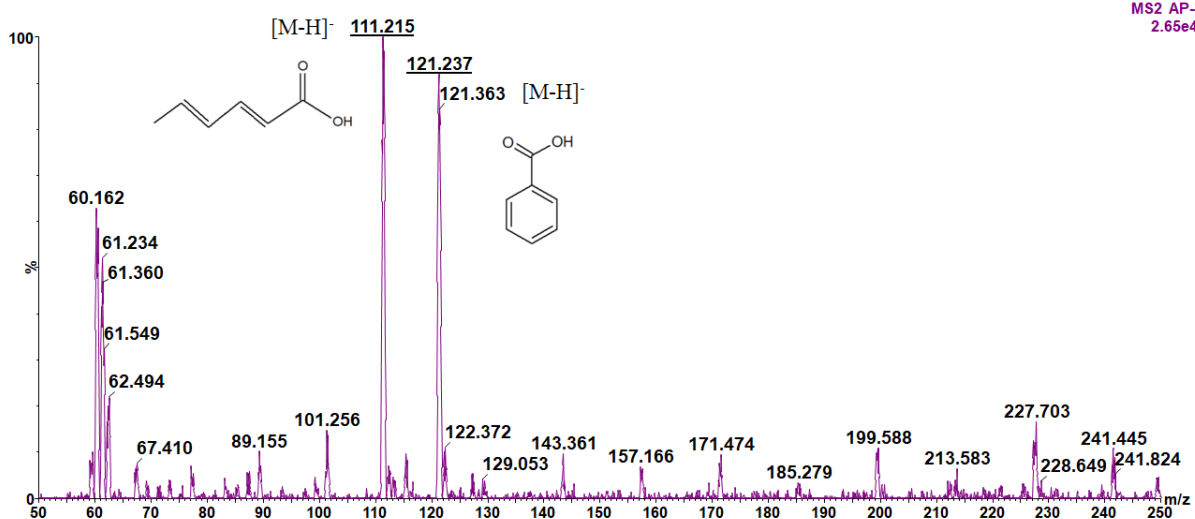
**Obr. 42:** Hmotnostní spektra kyseliny benzoové při různých hodnotách podtlaku **A)** 0,4 bar; **B)** 0,1 bar; **C)** 0 bar – zcela odpojeno.

#### 4.4 Srovnání výsledků ASAP, nanoESI, nanoDESI

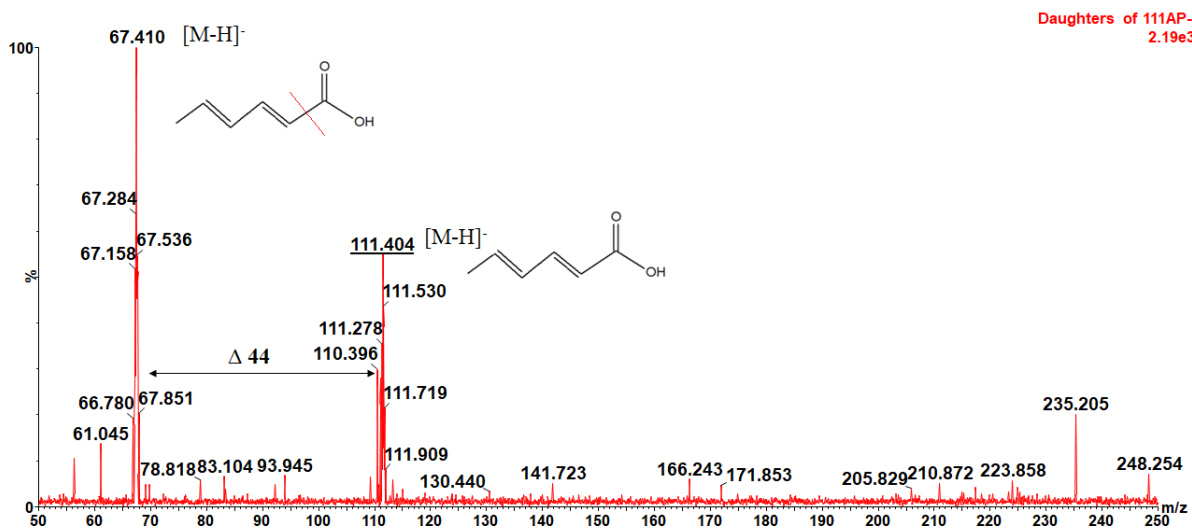
Z kapitol 4.1 – 4.3 je zřejmé, že regulace podtlaku u experimentů nanoESI i nanoDESI hraje významnou roli. Při optimálním nastavení podtlaku dochází ke zvýšení intenzity signálu o několik řádů. Přesto nejlepších výsledků v případě identifikace standardů kyseliny sorbové a benzoové bylo dosaženo ambientní ionizační technikou ASAP, pomocí které byly obě látky úspěšně identifikovány a potvrzeny na základě jejich fragmentace. Z tohoto důvodu byla pro analýzu reálného vzorku zvolena technika ASAP (kap. 4.5).

#### 4.5 Identifikace konzervantů v reálném vzorku

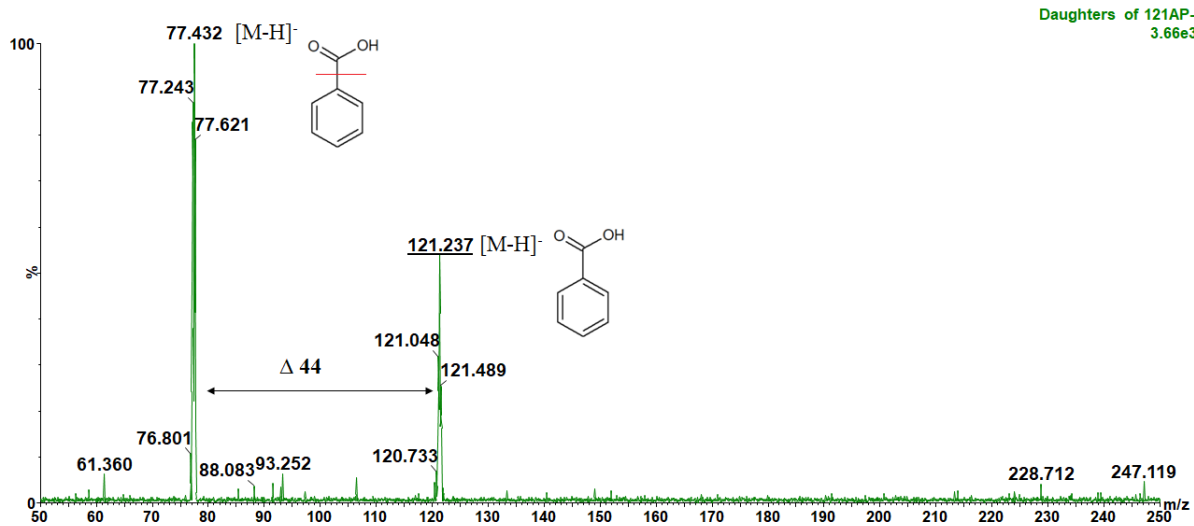
Po předchozím testování třech ambientních ionizačních technik byl vybrán ASAP k analýze reálného vzorku Ledového zeleného čaje jahoda-aloe vera. Obrázek 43 zobrazuje hmotnostní spektrum získané analýzou reálného vzorku nápoje. Toto spektrum se vyznačuje přítomností molekulárních iontů  $[M-H]^-$   $m/z$  111 a  $[M-H]^-$   $m/z$  121, které přísluší kyselině sorbové, respektive benzoové. Přítomnost obou kyselin byla navíc potvrzena fragmentací těchto molekulárních iontů (obr. 44 a 45).



**Obr. 43:** Hmotnostní spektrum reálného vzorku nápoje získaného technikou ASAP.



**Obr. 44:** Fragmentační spektrum kyseliny sorbové z reálného vzorku nápoje.



**Obr. 45:** Fragmentační spektrum kyseliny benzoové z reálného vzorku nápoje.

## 5. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo ověření použití vybraných ambientních ionizačních technik k identifikaci konzervačních látek v potravinách. Teoretická část pojednává o principu a využití vybraných ambientních technik, o problematice konzervačních látek a jejich stanovování v potravinách.

V rámci experimentální části byla testována vhodnost použití celkem tří ambientních ionizačních technik (ASAP, nanoESI, nanoDESI) k identifikaci a analýze kyseliny sorbové a benzoové. Obě látky byly při všech experimentech měřeny v negativním módu, kde poskytovaly deprotonovanou molekulu  $[M-H]^-$ . V rámci ASAP experimentů bylo testováno nastavení teploty a průtoku desolvatačního plynu. Pro finální experimenty byla pro desolvatační plyn zvolena teplota 50 °C a průtok 50 l/h. V případě nanoESI a nanoDESI byl také testován vliv podtlaku, který při těchto experimentech hraje významnou roli. Při optimálním nastavení podtlaku lze dosáhnout zvýšení intenzity signálu až o několik řádů.

Ze získaných výsledků lze však vidět, že jako nejvhodnější technika se jeví ASAP, která byla zvolena i k analýze reálného vzorku Ledového zeleného čaje jahoda-aloe vera z řetězce Albert. V tomto vzorku byly úspěšně identifikovány obě kyseliny, které byly uvedeny na etiketě. Jejich identifikace byla potvrzena fragmentací, která se shodovala s fragmentačními spektry získanými ze standardů. Typickou fragmentační ztrátou u obou kyseliny bylo odštěpení karboxylové skupiny ze struktury dané látky.

Cíle této bakalářské práce byly úspěšně naplněny a další experimenty budou zaměřeny na rozšíření počtu analytů z řad konzervačních látek, jejich identifikaci, ale rovněž jejich kvantifikaci.



## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] A. Venter, M. Nefliu, R. G. Cooks, *Ambient desorption ionization mass spectrometry*, Trends in Analytical Chemistry 27 (2008) 284–290.
- [2] L. Li, H. Hsieh, Ch. Hsu, *Clinical Application of Ambient Ionization Mass Spectrometry*, Mass Spectrometry 6 (2017) 1–12.
- [3] J. T. Kauppila, N. Talaty, T. Kuuranne, T. Kotiaho, R. Kostianen, R. G. Cook, *Rapid analysis of metabolites and drugs of abuse from urine samples by desorption electrospray ionization-mass spectrometry*, The Analyst 132 (2007) 868–875.
- [4] A. E. Bruns, V. Perraud, J. Greaves, B. J. Finlayson-Pitts, *Atmospheric solids analysis probe mass spectrometry: A new approach for airborne particle analysis*, Analytical Chemistry 82 (2010) 5922–5927.
- [5] W. R. Jones, R. B. Cody, J. F. McClelland, *Differentiating writing inks using direct analysis in real time mass spectrometry*, Journal of Forensic Sciences 51 (2006) 915–918.
- [6] N. Talaty, Z. Takáts, R. G. Cooks, *Rapid in situ detection of alkaloids in plant tissue under ambient conditions using desorption electrospray ionization*, The Analyst 130 (2005) 1624–1633.
- [7] J. M. Wiseman, S. M. Puolitaival, Z. Takáts, R. G. Cooks, R. M. Caprioli, *Mass spectrometric profiling of intact biological tissue by using desorption electrospray ionization*, Angewandte Chemie - International Edition 44 (2005) 7094–7097.
- [8] T. Yrjönen, H. Vuorela, T. J. Kauppila, *Direct analysis of Peucedanum palustre samples by desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry*, Phytochemistry Letters 20 (2017) 49–53.
- [9] J. Vieillard, M. Hubert-Roux, F. Brisset, C. Soullignac, F. Fioersi, N. Mofaddel, S. Morin-Grognet, C. Afonso, F. Le Derf, *Atmospheric Solid Analysis Probe-Ion Mobility Mass Spectrometry: An Original Approach to Characterize Grafting on Cyclic Olefin Copolymer Surfaces*, Langmuir 31 (2015) 13138–13144.
- [10] M. Haapala, J. Pól, V. Saarela, V. Arvola, T. Kotiaho, R. A. Ketola, S. Franssila, T. J. Kaupilla, R. Kostianen, *Desorption atmospheric pressure photoionization*, Analytical Chemistry 79 (2007) 7867–7872.
- [11] A. J. Barry, G. Robichaud, M. T. Bokhart, C. Thompson, C. Sykes, A. D.M. Kashuba, D. C. Muddiman, *Mapping antiretroviral drugs in tissue by IR-MALDESI MSI*

- coupled to the Q Exactive and comparison with LC-MS/MS SRM assay*, Journal of the American Society for Mass Spectrometry 25 (2014) 2038–2047.
- [12] F. A. M. G van Geenen, M. C. R. Franssen, A. H. M. Schotman, H. Zuilhof, M. W. F. Nielen, *Ambient characterization of synthetic fibers by laser ablation electrospray ionization mass spectrometry*, Analytical Chemistry 89 (2017) 4031–4037.
- [13] M. R. Alberici, R. C. Simas, G. B. Sanvido, W. Romao, P. M. Lalli, M. Benassi, I. B.S. Cunha, M. N. Eberlin, *Ambient mass spectrometry: Bringing MS into the „real world“*, Analytical and Bioanalytical Chemistry 398 (2010) 265–294.
- [14] M. M. W. F Nielen, H. Hooijerink, P. Zomer, J. G. J. Mol, *Desorption electrospray ionization mass spectrometry in the analysis of chemical food contaminants in food*, Trends in Analytical Chemistry 30 (2011) 165–180.
- [15] I. Coote-Rodríguez, Z. Takáts, N. Talaty, H. Chen, R. G. Cooks, *Desorption electrospray ionization of explosives on surfaces: sensitivity and selectivity enhancement by reactive desorption electrospray ionization*, Analytical Chemistry 77 (2005) 6755–6764.
- [16] Z. Takáts, J. M. Wiseman, R. G. Cooks, *Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): Instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology*, Journal of Mass Spectrometry 40 (2005) 1261–1275.
- [17] J. P. Williams, J. H. Scrivens, *Rapid accurate mass desorption electrospray ionisation tandem mass spectrometry of pharmaceutical samples*, Rapid Communications in Mass Spectrometry 19 (2005) 3643–3650.
- [18] H. Chen, Z. Pan, N. Talaty, D. Raftery, R. G. Cooks, *Combining desorption electrospray ionization mass spectrometry and nuclear magnetic resonance for differential metabolomics without sample preparation*, Rapid Communications in Mass Spectrometry 20 (2006) 1577–1584.
- [19] V. Ranc, V. Havlíček, P. Bednář, K. Lemr, *Desorption electrospray: A modern tool for organic surface analysis*, Chemické listy 101 (2007) 524–529.
- [20] L. Hartmanová, I. Lorencová, M. Volný, P. Fryčák, V. Havlíček, H. Chmelíčková, T. Ingr, K. Lemr, *Lateral resolution of desorption nanoelectrospray: a nanospray tip without nebulizing gas as a source of primary charged droplets*, The Analyst 141 (2016) 2150–2154.
- [21] V. Ranc, V. Havlíček, P. Bednář, K. Lemr, *Nano-desorption electrospray and kinetic method in chiral analysis of drugs in whole human blood samples*, European Journal

- of Mass Spectrometry 14 (2008) 411–417.
- [22] Ch. Hsu, P. Chou, R. N. Zare, *Imaging of proteins in tissue samples using nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry*, Analytical Chemistry 87 (2015) 11171–11175.
- [23] G. T. T. Gibson, S. M. Mugo, R. D. Oleschuk, *Nanoelectrospray emitters: trends and perspective*, Mass spectrometry reviews 28 (2009) 918–936.
- [24] A. El-Faramawy, K. W. M. Siu, B. A. Thomson, *Efficiency of nano-electrospray ionization*, Journal of the American Society for Mass Spectrometry 16 (2005) 1702–1707.
- [25] Ch. N. McEwen, R. G. McKay, B. S. Larsen, *Analysis of solids, liquids, and biological tissues using solids probe introduction at atmospheric pressure on commercial LC/MS instruments*, Analytical Chemistry 77 (2005) 7826–7831.
- [26] R. J. Fessell, D. Chan, M. Sharman, *An assessment of atmospheric-pressure solids-analysis probes for the detection of chemicals in food*, Trends in Analytical Chemistry/Trends in Analytical Chemistry 29 (2010) 1326–1335.
- [27] [www.asap-ms.com](http://www.asap-ms.com); staženo 20.10.2017.
- [28] Ch. Petucci, J. Diffendal, *Atmospheric solids analysis probe: a rapid ionization technique for small molecule drugs*, Journal of Mass Spectrometry 43 (2008) 1565–1568.
- [29] M. Doué, G. Dervilly-Pinel, A. Gicquiau, K. Pouponneau, F. Monteau, B. Le Bizec, *High throughput identification and quantification of anabolic steroid esters by atmospheric solids analysis probe mass spectrometry for efficient screening of drug preparations*, Analytical Chemistry 86 (2014) 5649–5655.
- [30] W. Chen, T. A.N. Nkosi, S. Combrinck, A. M. Viljoen, C. Cartwright-Jones, *Rapid analysis of the skin irritant p-phenylenediamine (PPD) in henna products using atmospheric solids analysis probe mass spectrometry*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 128 (2016) 119–125.
- [31] H. Chen, G. Gamez, R. Zenobi, *What can we learn from ambient ionization techniques?*, Journal of the American Society for Mass Spectrometry 20 (2009) 1947–1963.
- [32] I. Cotte-Rodríguez, H. Hernández-Soto, H. Chem, R. G. Cooks, *In situ trace detection of peroxide explosives by desorption electrospray ionization and desorption atmospheric pressure chemical ionization*, Analytical Chemistry 80 (2008) 1512–1519.

- [33] H. Chen, J. Zheng, X. Zhang, M. Luo, Z. Wang, X. Qiao, *Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination*, *Journal of Mass Spectrometry* 42 (2007) 1045–1056.
- [34] T. Yrjönen, H. Vuorela, T. J. Kauppila, *Direct analysis of Peucedanum palustre samples by desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry*, *Phytochemistry Letters* 20 (2017) 49–53.
- [35] R. B. Cody, J. Laramee, H. D. Durst, *Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions*, *Analytical Chemistry* 77 (2005) 2297–2302.
- [36] R. Lian, Z. Wu, X. Lv, Y. Rao, H. Li, J. Li, R. Wang, Ch. Ni, Y. Zhang, *Rapid screening of abused drugs by direct analysis in real time (DART) coupled to time-of-flight mass spectrometry (TOF-MS) combined with ion mobility spectrometry (IMS)*, *Forensic Science International* 279 (2017) 268–280.
- [37] J. Rejšek, V. Vrkoslav, A. Vaikkinen, M. Haapala, T. J. Kaupilla, R. Kostianinen, J. Cvačka, *Thin-layer chromatography/desorption atmospheric pressure photoionization orbitrap mass spectrometry of lipids*, *Analytical Chemistry* 88 (2016) 12279–12286.
- [38] L. Luosujarvi, S. Kanerva, V. Saarela, S. Franssila, R. Kostianinen, T. Koatiaho, T. Kauppila, *Environmental and food analysis by desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry*, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 24 (2010) 1343-1350.
- [39] [www.healthyfood.co.nz/articles/2006/june/what-are-preservatives](http://www.healthyfood.co.nz/articles/2006/june/what-are-preservatives); staženo 30.3.2018.
- [40] T. A. Kokya, K. Farhadi, A. M. Kalhori, *Optimized dispersive liquid–liquid microextraction and determination of sorbic acid and benzoic acid in beverage samples by gas chromatography*, *Food Analytical Methods* 5 (2012) 351–358.
- [41] M. Ding, J. Peng, S. Ma, Y. Zhang, *An environment-friendly procedure for the high performance liquid chromatography determination of benzoic acid and sorbic acid in soy sauce*, *Food Chemistry* 183 (2015) 26–29.
- [42] J. Wang, X. Guo, L. Jai, *A simple method for the determination of benzoic acid based on room temperature phosphorescence of 1-bromopyrene/ $\gamma$ -cyclodextrin complex in water*, *Talanta* 162 (2017) 423–427.
- [43] T. Fujiyoshi, T. Ikami, K. Kikukawa, M. Kobayashi, R. Takai, D. Kozaki, A.

- Yamamoto, *Direct quantitation of the preservatives benzoic and sorbic acid in processed foods using derivative spectrophotometry combined with micro dialysis*, Food Chemistry 240 (2018) 386–390.
- [44] A. Naseri, F. Farahmand, S. Sheykhizadeh, M. Tabibiazar, *Coupling of air-assisted liquid–liquid microextraction method with partial least squares for simultaneous spectrophotometric determination of some preservatives*, Journal of the Iranian Chemical Society 44 (2017) 643–653.
- [45] T. A. Berger, B. K. Berger, *Rapid, direct quantitation of the preservatives benzoic and sorbic acid (and Salts) plus caffeine in foods and aqueous beverages using supercritical fluid chromatography*, Chromatographia 76 (2013) 393–399.
- [46] R. Wei, W. Li, L. Yang, Y. Jiang, T. Xie, *Online preconcentration in capillary electrophoresis with contactless conductivity detection for sensitive determination of sorbic and benzoic acids in soy sauce*, Talanta 83 (2011) 1487–1490.
- [47] Ch. W. Chen, W. Ch. Hsu, Y. Ch. Lu, J. R. Weng, Ch. H. Feng, *Determination of parabens using two microextraction methods coupled with capillary liquid chromatography-UV detection*, Food Chemistry 241 (2018) 411–418.
- [48] A. M. C. Ferreira, M. Moder, M. E. F. Laespada, *Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl triclosan from soil, sediment and sludge with in situ derivatization and determination by gas chromatography-mass spectrometry*, Journal of Chromatography A 1218 (2011) 3837–3844.
- [49] S. Song, Z. Zhang, N. Zou, R. Chen, L. Han, C. Pan, Y. Sapozhnikova, *Determination of six paraben residues in fresh-cut vegetables using QuEChERS with multi-walled carbon nanotubes and high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry*, Food Analytical Methods 10 (2017) 3972–3979.
- [50] R. Djatmika, Ch. Ch. Hsieh, J. M. Chen, W. H. Ding, *Determination of paraben preservatives in seafood using matrix solid-phase dispersion and on-line acetylation gas chromatography–mass spectrometry*, Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 1036 (2016) 93–99.
- [51] M. Becerra-Herrera, V. Miranda, D. Arismendi, P. Richter, *Chemometric optimization of the extraction and derivatization of parabens for their determination in water samples by rotating-disk sorptive extraction and gas chromatography mass spectrometry*, Talanta 176 (2018) 551–557.
- [52] [www.foodstandards.gov.au/consumer/additives/sulphite/Pages/default.aspx](http://www.foodstandards.gov.au/consumer/additives/sulphite/Pages/default.aspx); staženo 2.4.2018.

- [53] [www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92107.aspx](http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92107.aspx); staženo 2.4.2018.
- [54] [www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76479.aspx](http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76479.aspx); staženo 2.4.2018.
- [55] J. M. Jian, L. Fu, J. Ji, L. Lin, X. Guo, T. L. Ren, *Electrochemically reduced graphene oxide/gold nanoparticles composite modified screen-printed carbon electrode for effective electrocatalytic analysis of nitrite in foods*, *Sensors and Actuators, B: Chemical* 262 (2018) 125–136.
- [56] L. Hartmanová, V. Ranc, B. Papoušková, P. Bednář, V. Havlíček, K. Lemr, *Fast profiling of anthocyanins in wine by desorption nano-electrospray ionization mass spectrometry*, *Journal of Chromatography A* 1217 (2010) 4223–4228.
- [57] S. Gerbig, G. Stern, h. E. Brunn, R. A. During, B. Spengler S. Schulz, *Method development towards qualitative and semi-quantitative analysis of multiple pesticides from food surfaces and extracts by desorption electrospray ionization mass spectrometry as a preselective tool for food control*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 409 (2017) 2107–2117.
- [58] S. Yang, J. Ding, J. Zheng, B. Hu, J. Li, H. Chen, Z. Zhou, S. Qiao, *Detection of Melamine in Milk Products by Surface Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry*, *Analytical Chemistry* 81 (2009) 2426–2436.
- [59] L. Václavík, T. Čajka, V. Hrbek, J. Hajšlová, *Ambient mass spectrometry employing direct analysis in real time (DART) ion source for olive oil quality and authenticity assessment*, *Analytica Chimica Acta* 645 (2009) 56–63.
- [60] L. Zhang, W. Yong, J. Liu, S. Wang, Q. Chen, T. Guo, J. Zhang, T. Tan, H. Su, Y. Dong, *Determination of Dicyandiamide in Powdered Milk Using Direct Analysis in Real Time Quadrupole Time-of-Flight Tandem Mass Spectrometry*, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 26 (2015) 1414–1422.

## SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

**APCI** – atmospheric pressure chemical ionization, chemická ionizace za atmosférického tlaku

**ASAP** – atmospheric solids analysis probe, sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku

**C<sup>4</sup>D** – contactless conductivity detector, bezkontaktní vodivostní detektor

**CE** – capillary electrophoresis, kapilární elektroforéza

**DAPCI** – desorption atmospheric pressure chemical ionization, desorpce chemickou ionizací za atmosférického tlaku

**DAPPI** – desorption atmospheric pressure ionization, desorpční fotoionizace za atmosférického tlaku

**DART** – direct analysis in real time, přímá analýza v reálném čase

**DESI** – desorption electrospray ionization, desorpční elektrosprej

**DLLME** – dispersive liquid-liquid microextraction, disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina

**DMMP** – dimethyl methylphosphonate, dimethyl methylfosfonát

**DOPA** – dihydroxyphenylalanine, dihydroxyfenylalanin

**ESI** – electrospray ionization, elektrosprejová ionizace

**EVOO** – extra virgin olive oil, extra panenský olivový olej

**FAO** – Food and agriculture organization, Organizace pro výživu a zemědělství

**FDA** – Food and drug administration, Úřad pro kontrolu potravin a léčiv

**FID** – flame ionization detector, plameno-ionizační detektor

**FT-IR** – fourier transform infrared spectroscopy, infračervenou spektroskopií s fourierovou transformací

**GC** – gas chromatography, plynová chromatografie

**HMTD** – hexamethylenetriperoxidediamine, hexamethylentriperoxodiamin

**HMX** – oktogen, oktogen

**HPLC** – high-performance liquid chromatography, vysokoúčinná kapalinová chromatografie

**HPTLC** – high-performance thin-layer chromatography, vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie

**LAESI** – laser ablation electrospray ionization, laserová ablace s ionizací elektrosprejem

**LC** – liquid chromatography, kapalinová chromatografie

**LLE** – liquid-liquid extraction, extrakce kapalina-kapalina

**m/z** – mass-to-charge ratio, poměr hmoty ku náboji

**MALDESI** – matrix-assisted laser desorption electrospray ionization, matricí asistovaná laserová desorpce s ionizací elektrosprejem

**MALDI** – matrix assisted laser desorption/ionization, matricí asistovaná laserová desorpce/ionizace

**MRL** – maximum residue level, maximální legální limity

**MS** – mass spectrometry, hmotnostní spektrometrie

**MS/MS** – tandem mass spectrometry, tandemová hmotnostní spektrometrie

**MSPD** – matrix solid phase dispersion, matricová disperze pevnou fází

**nanoDESI** – desorption nanoelectrospray, desorpční nanoelektrosprej

**nanoESI** – nanoelectrospray ionization, nanoelektrosprej

**OO** – olive oil, olivový olej

**OPO** – olive pomace oil, olej z olivových výlisků

**PAH** – polyaromatic hydrocarbons, polycyklické aromatické uhlovodíky

**PPD** – para-phenyldiamine, para-fenyldiamin

**RDSE** – rotating disk sorptive extraction, rotační sorpční disková extrakce

**RDX** – hexogen, hexogen

**RSD** – relative standard deviation, relativní směrodatná odchylka

**SFC** – supercritical fluid chromatography, superkritická fluidní chromatografie

**TATP** – triaceton triperoxide, triaceton triperoxid

**TBBPA** – tetrabrombisphenol A, tetrabrombisfenol A

**THC** – tetrahydrocannabinol

**TLC** – thin layer chromatography, tenkovrstvá chromatografie

**TNT** – trinitrotoluene, trinitrotoluen

**TOF** – time of flight, detektor doby letu

**TrATrP** – tetracetone tetraepoxide, tetracetone tetraepoxid

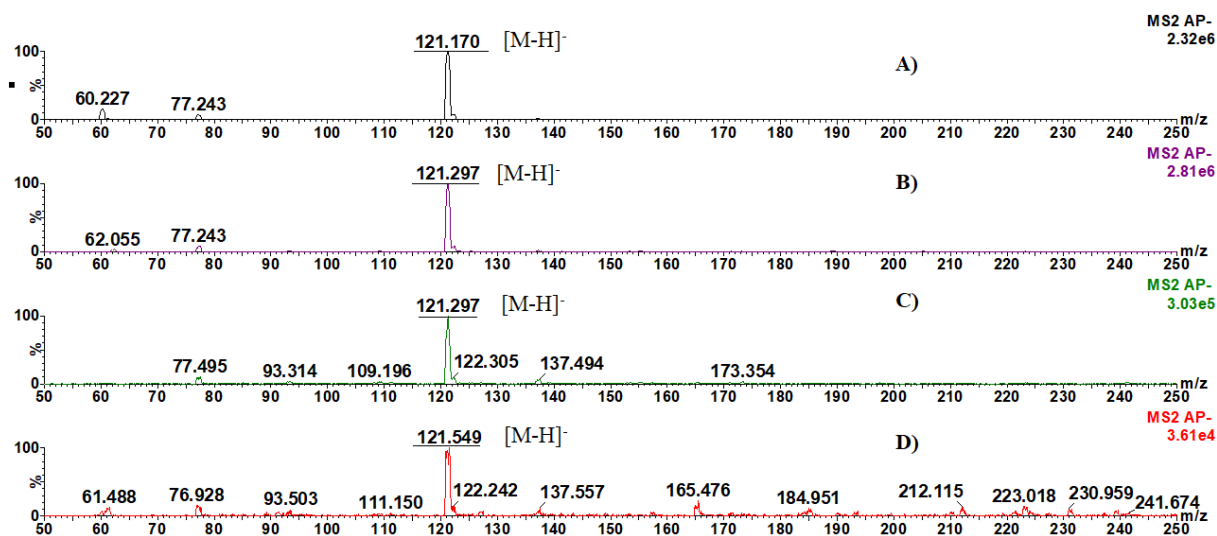
**UHPLC** – ultra-high performance liquid chromatography, ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie

**UV-VIS** – ultraviolet-visible spectroscopy, ultrafialovo-viditelná spektroskopie

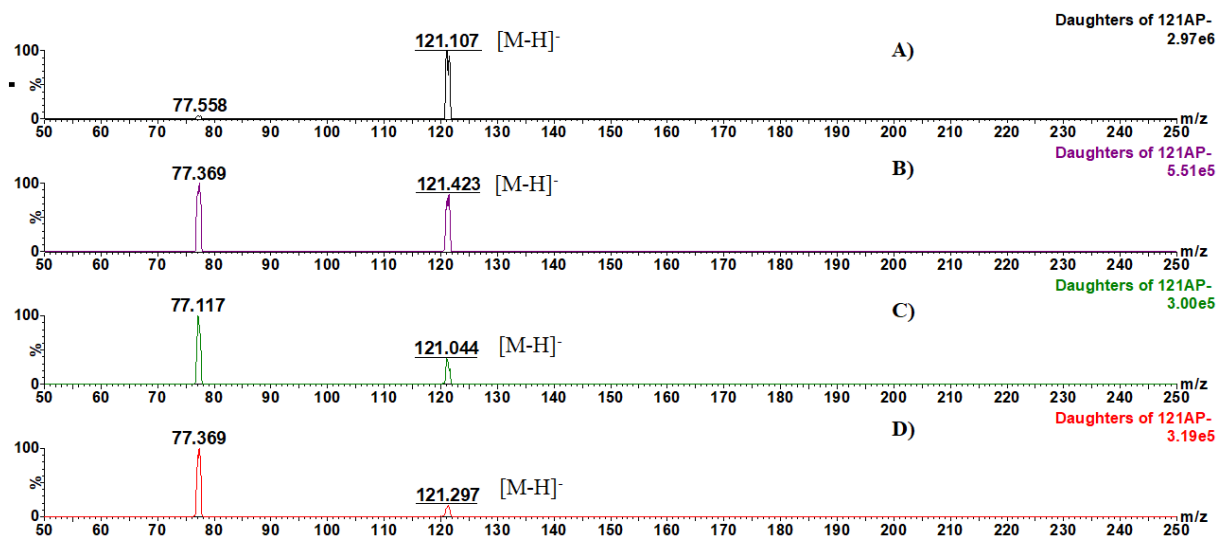
**WHO** – World health organization, Světová zdravotnická organizace



# PŘÍLOHY



**Příloha I:** Hmotnostní spektra kyseliny benzoové s různými parametry nastavení teploty a průtoku desolvatačního plynu **A)** 50 °C, 50 l/h; **B)** 70 °C, 70 l/h; **C)** 100 °C, 100 l/h; **D)** 120 °C, 120 l/h.



**Příloha II:** Fragmentační spektra kyseliny benzoové při různých hodnotách kolizní energie **A)** 5 V; **B)** 10 V; **C)** 12 V; **D)** 15 V.