

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Hmotnostně spektrometrické zobrazování otisku prstu

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Štěpán Dostál
Studijní obor:	Chemie
Vedoucí práce:	prof. RNDr. Karel Lemr Ph.D.
Konzultant práce:	Mgr. Lucie Borovcová

2018 Olomouc

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Štěpán Dostál

Název práce: Hmotnostně spektrometrické zobrazování otisku prstu

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: prof. RNDr. Karel Lemr Ph.D.

Konzultant: Mgr. Lucie Borovcová

Rok odevzdání práce: 2018

Anotace: Identifikace osob pomocí otisků prstů významně přispívá k objasňování trestných činů. Pro zjištění chemického složení otisků se nejčastěji se využívají techniky infračervené spektroskopie, fluorescenční spektrometrie, Ramanovy spektroskopie a hmotnostní spektrometrie. Poslední jmenovaná technika využívá vhodných ionizačních technik, jako je například desorpce/ionizace laserem za účasti matrice (MALDI) nebo desorpční elektrosprej (DESI) v módu hmotnostně spektrometrického zobrazování. Ze signálu sledovaných iontů lze rekonstruovat rozložení látek na zkoumané ploše, v případě otisků prstů pak papilární linie. Na teoretickou část pojednávající o uvedené problematice navázaly experimenty s desorpčním nanoelektrosprejem, které demonstrovaly jeho schopnost sledovat složky léčiv (kofein a paracetamol pro Panadol extra, kyselinu acetylsalicylovou pro Acylpyrin) na studovaném povrchu. Na dosažené výsledky by mohly navázat experimenty s detailním proměřením povrchu s cílem zobrazit otisk prstu.

Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, zobrazování, otisky prstu, desorpční nanoelektrosprej

Počet stran: 53

Počet příloh: 0

Jazyk: Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Štěpán Dostál

Title: Mass spectrometry imaging of fingerprint

Type of thesis: Bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: prof. RNDr. Karel Lemr Ph.D.

Consultant: Mgr. Lucie Borovcová

The year of submission: 2018

Annotation: Using fingerprints left in the crime scene as a tool for identification of suspects is very important for investigation. Infrared spectroscopy, fluorescence, Raman spectroscopy and mass spectrometry belong to the most often applied techniques for chemical analysis of fingerprints. Mass spectrometry uses suitable ionization techniques such as matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) or desorption electrospray ionization (DESI) allowing mass spectrometry imaging. Distribution of signal of monitored ions on investigated surfaces can be reconstructed and papillary lines visualized. After the theoretical part describing the mentioned topic experiments using desorption nanoelectrospray (nanoDESI) are discussed. They demonstrated possibility to monitor active pharmaceutical ingredients (caffeine and paracetamol for Panadol extra, acetylsalicylic acid for Acylpyrin) on studied surface. Detail scanning of surface by nanoDESI might be a future experiment providing chemical fingerprints.

Keywords: mass spectrometry, imaging, fingerprints, desorption nanoelectrospray

Number of pages: 53

Number of appendices: 0

Language: Czech

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci

.....

Podpis

Děkuji svému vedoucímu bakalářské práce prof. RNDr. Karlovi Lemrovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, cenné rady a čas, který věnoval mé práci. Dále děkuji Mgr. Lucii Borovcové za rady a kladný přístup při zpracovávání experimentální části.

Poděkování patří rovněž mé rodině za trpělivost a podporu po celou dobu studia.

Obsah

1.	ÚVOD.....	8
2.	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Identifikace osob	9
2.2	Analytické instrumentální metody zobrazování otisků prstů	10
2.3	Spektrální metody	10
2.4	Infračervená spektroskopie	11
2.5	Fluorescenční spektrometrie	12
2.6	Ramanova spektroskopie	13
2.7	Hmotnostní spektrometrie.....	14
2.8	Hmotnostně spektrometrické zobrazování.....	14
2.9	Hmotnostní spektrometrie s desorpční elektrosprejovou ionizací.....	15
2.10	Hmotnostní spektrometrie s desorpcí laserem za účasti povrchu	16
2.11	Hmotnostní spektrometrie s desorpcí laserem za přítomnosti matrice	17
2.12	Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů	20
2.13	Nezobrazovací techniky hmotnostní spektrometrie.....	21
3.	PRAKTICKÁ ČÁST	22
3.1	Přístroje a chemikálie.....	22
3.2	Pracovní postup.....	24
3.2.1	Příprava zásobních roztoků	24
3.2.2	Příprava vzorků pro experimenty desorpčním nanoelektrosprejem	24
4.	VÝSLEDKY	26
4.1	Analýza účinných látek obsažených v komerčních léčivých přípravcích elektrosprejem a desorpčním nanoelektrosprejem	26
4.2	Analýza aktivních farmaceutických substancí z tablet komerčních léčivých přípravků desorpčním nanoelektrosprejem	30
4.3	Zkoumání vlivu podtlaku na kvalitu hmotnostních spekter získaných pomocí desorpčního nanoelektrospreje	34
4.4	Analýza kombinovaných vzorků komerčních léčiv desorpčním nanoelektrosprejem	41
4.4.1	Měření v pozitivním módu	42
4.4.2	Měření v negativním módu	44
5.	ZÁVĚR.....	46

LITERATURA	47
SEZNAM ZKRATEK	52

1. ÚVOD

Jedním z nejlepších důkazů pro usvědčení podezřelé osoby ze spáchání trestného činu jsou otisky prstů. Jejich výhoda vychází z předpokladu, že s největší pravděpodobností neexistují dva lidé, kteří by měli totožné otisky prstů. Vědní obor zabývající se touto problematikou se nazývá daktyloskopie. Jeho náplní je odběr na místě činu a analyzování papilárních linií, ze kterých se otisk skládá. Díky rozvoji vědy a techniky je v poslední době možné získat i jeho chemické složení, k čemuž se využívá řada analytických metod založených například na infračervené a Ramanově spektroskopie nebo hmotnostní spektrometrii. Postupy založené na hmotnostní spektrometrii hrají významnou roli a především jim byla věnována pozornost v této bakalářské práci. O různých přístupech k zobrazování chemického složení otisků prstů pojednává teoretická část, v experimentální části je testován desorpční nanoelektrosprej pro analýzu povrchů. Sledována byla přítomnost léčiv na povrchu, což by mohlo být východiskem pro jejich následné zobrazování z otisku prstu.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Identifikace osob

Již od nepaměti lidstvo řešilo problém s individuální identifikací osoby. Badatelé z různých oborů se snažili najít nějaký způsob, který by mohl spolehlivě potvrdit identitu člověka. Informace týkající se této problematiky jsou přehledně shrnuty například v knize *Forensic science – druhé vydání* od autorů Stuarda H. Jamese a Jon J. Nordbye z roku 2005, ze které jsem čerpal [1].

První vědecká metoda zvaná bertillonáž po svém zakladateli Alphonsi Bertillonovi spočívala v proměřování jednotlivých částí lidského těla. Bertillon vycházel z předpokladu, že se délky některých lidských kostí a obvody lebek u dospělých jedinců nemění. Tento postup se aplikoval pro identifikaci zločinců – recidivistů. Zadržený byl podroben měření, hodnoty byly uloženy do kartotéky a při opětovném zadržení byl na jejich základě identifikován. Od bertillonáže bylo časem odstoupeno, jelikož se zjistilo, že dva odlišní lidé mohou mít shodné antropometrické znaky.

Ve snaze nalézt spolehlivější identifikační metodu se upnula pozornost badatelů na otisk prstu. Základní kámen položil J. E. Purkyně, který v roce 1823 publikoval práci, ve které popsal základní vzory papilárních linií na koncových člancích prstů a klasifikoval je do několika skupin. Řada vědců se o tuto problematiku začala zajímat, a tím přišla na svět nová metoda pro identifikaci jedince zvaná daktyloskopie, která patří dnes k nejhojněji používaným kriminalistickým technikám.

Kriminalistická daktyloskopie je levná a spolehlivá metoda identifikace osob. Její pomocí se nejen hledají pachatelé, ale i identifikují neznámá těla. Vychází z předpokladů, že každý člověk má jedinečný otisk prstů, ty se po dobu života nemění a jsou neodstranitelné. Otisky prstů dělíme do tří skupin: viditelné, plastické a latentní.

U viditelných otisků prstů není třeba jakékoli úpravy pro jejich zobrazení. Jsou to otisky tvořené například krví či inkoustem. Plastické otisky jsou takové, které byly vytvořeny na měkkém povrchu (plastelína, máslo), jsou trojrozměrné a většinou není potřeba dalších úprav. Latentní skupinu tvoří otisky prstů, u kterých je třeba použít speciální forenzní techniky, typicky nanesení prášku, k jejich zviditelnění. Pro zviditelnění latentních otisků prstů používáme řadu metod založených na různých principech [1].

První skupinu tvoří fyzikální metody. Jejich podstatou je nanesení jemných částic na povrch materiálu a tím vytvořením kontrastu mezi papilárními liniemi a pozadím. Většina prášků jsou anorganické látky v různých barevných provedeních. Dají se rozdělit na

magnetické (např. modifikovaný nebo čistý železný prach) a nemagnetické (např. hliníkový prášek, grafit). Získané otisky se fotografují nebo skenují.

Druhou skupinu tvoří metody chemické. Jejich principem je reakce mezi chemickými látkami vyskytujícími se v otisku prstu a činidlem. Mezi činidla patří nejčastěji ninhydrin, dále pak jód, dusičnan stříbrný či estery kyanoakrylové kyseliny. Ninhydrin se běžně používá jako činidlo k detekci aminokyselin, působí jako oxidační činidlo a při reakci nejdříve dojde k dekarboxylaci příslušné aminokyseliny a vzniklý meziprodukt hydrolyzuje a následně probíhá reakce s další molekulou ninhydrinu za vzniku zbarveného produktu. V závislosti na pH prostředí mají pak výsledné produkty lehce odlišné zbarvení. Reakce s jódem patří spíše na pomezí fyzikálních a chemických metod, protože její princip je založen na sublimaci jódu a zachytávání jeho částic na otiscích. Zviditelnění pomocí dusičnanu stříbrného je založeno na jeho reakci s chloridy z otisku, čímž vznikne chlorid stříbrný a ten následně projde fotoredukcí na elementární stříbro. Tato metoda se již v současnosti příliš nevyužívá. Estery kyseliny kyanoakrylové, které se využívají např. jako tzv. vteřinová lepidla, našly své uplatnění také ve forenzní chemii. Zahřátím kyanoakrylátů dojde k vývoji par, které se na otiscích prstů usazují ve formě polykyanoakrylátu. Ten je viditelný i pouhým okem, lze však využít i přídavek fluorescenčního nebo nefluorescenčního barviva, který otisk prstu ještě zvýrazní a zviditelní.

2.2 Analytické instrumentální metody zobrazování otisků prstů

Pro vyšetřování kriminálních trestných činů může být nejen přínosné získat otisk prstu klasickými postupy, ale i chemický otisk prstu, kdy jsou chemické látky přiřazeny k papilárním liniím. Takováto informace umožňuje prokázat manipulaci vyšetřované osoby například s drogami, ale může také napomoci při rozlišení překrytých otisků prstů. Základní metody používané pro tyto účely jsou uvedeny v následujících kapitolách.

2.3 Spektrální metody

Spektroskopické zobrazování je technologie, která kombinuje digitální zobrazování a spektroskopii, kde se získávají vysoce kvalitní spektrální a prostorové informace za daný časový interval. Využívá se v řadě odvětví, z nichž jedním jsou i forenzní vědy. Možným uplatněním je detekce chemických látek v latentních otiscích prstů, což může být velice užitečné pro vyšetřování kriminálních činů. V ilustračním případě je zadržena osoba, která je podezřelá z výroby výbušnin. Po sejmutí otisků prstů a jejich následné analýze je zjištěno,

že obsahují látky, které jsou složkou výbušnin a tedy s nimi musela osoba manipulovat [2]. V dalším případě lze prokázat, že osoba střílela díky nálezu povýstřelových částic v jejích otiscích [3]. Jiná z možných aplikací je usvědčení drogových dealerů pozitivním nálezem látky z drog [4].

V současné době se pro nejen tyto účely analyzování otisků prstů využívají nejvíce infračervená spektroskopie (v blízké a střední oblasti), mikro rentgenová fluorescenční spektrometrie (micro-X-ray fluorescence MXRF) a Ramanova spektroskopie [5].

2.4 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie je analytická metoda pro identifikaci sloučenin a pro poznání jejich struktury. Infračerveným zářením je elektromagnetické záření v rozsahu vlnočtů $13000\text{--}10\text{ cm}^{-1}$. Principem této metody je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem, při které dochází ke změně rotačně vibračních energetických stavů molekuly. Oblast $4000\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ nazýváme oblastí skupinových (charakteristických) vibrací, které využíváme pro identifikaci funkčních skupin molekuly. Pásky v oblasti $1500\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ jsou nazývané oblastí „otisku palce“ (fingerprint region) [6].

Ve forenzních vědách je infračervená spektroskopie atraktivní detekční technikou, která umožňuje analýzu specifických chemických složek v latentních otiscích prstů, jelikož je nedestruktivní a velice často nevyžaduje žádnou další úpravu vzorku. Nejčastěji se využívá uspořádání infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR). V kombinaci s rozšířeným polem zobrazovací optiky lze analyzovat vzorek do velikosti několika centimetrů. Bylo prokázáno, že chemické zobrazování pomocí FTIR je vhodné pro snímání otisků z různých náročných povrchů (včetně polymerních bankovek, mnoha druhů papírů či lepicích pásek). V některých případech se může latentní otisk nacházet na povrchu, ze kterého nemůže být analyzován a je tedy třeba jej za pomoci speciální gelové pásky přenést do laboratoře k dalšímu zkoumání. K minimalizování interference gelu se používá technika zeslabeného úplného odrazu (attenuated total reflection ATR) [7].

Protože infračervené spektrometry s globarovým zdrojem nejsou dostatečně citlivé, bylo vyvinuto měření se synchrotronovým zdrojem SR-FTIR (synchrotron radiation-based FTIR) pro mikro skenování mikroskopických částic. Banas a kol. demonstrovali potenciál této techniky pro přesnou identifikaci pevných mikroskopických částic s průměrem do $4\text{ }\mu\text{m}$ nacházejících se v latentních otiscích prstů na různých površích z každodenního života [8].

Je dobře známo, že chemické složení otisku prstu záleží na věku. V roce 2008 Hemmila a kol. úspěšně prokázali pomocí FTIR a mezi složkami obsaženými v otiscích a věkem s výrazným posunem kolem puberty [9]. To znamená, že tato technika by mohla být vhodná k odhadu věku osoby, která zanechala otisk prstu na místě činu, i když nejsou známy žádné další informace, například nebyla nalezena shoda v databázi. Tento postup je však možný jen za podmínek, kdy byl otisk nejprve nalezen bez poškození například zdrojem světla.

2.5 Fluorescenční spektrometrie

Fluorescence označuje emisi světla látkou, která absorbovala elektromagnetické záření. Po odejmutí zdroje záření přestává látka emitovat (svítit). Fluorescence má řadu praktických uplatnění. Využívá se například v medicíně, mineralogii nebo při detekci kosmického záření. Své místo má také ve forenzních vědách, kde ji lze využít pro detekci a zobrazení otisků prstů.

V současné době se nejvíce využívá tzv. mikro rentgenová fluorescenční spektrometrie (micro-X-ray fluorescence MXRF). Tato technika se také používá pro zvýšení kontrastu mezi samotným otiskem prstu a povrchem, na kterém se nachází. Principem je detekce prvků (draslík, chlor, atd.) obsažených v otiscích. Malý bod na povrchu vzorku je ozářen rentgenovým paprskem a detekuje se emitované záření. Pohybováním rentgenového paprsku po povrchu vzorku vzniká dvou dimenzionální obrázek distribuce prvků na základě detekce změn intenzity záření a polohy. Tyto rozdíly odpovídají relativní koncentraci daného prvku ve vzorku [10]. V současnosti je MXRF schopna zobrazit povrch až do velikosti několika cm² s prostorovým rozlišením v rozmezí od několika μm do několika set μm v závislosti na přístroji. Toto z ní dělá ideální techniku pro detekci otisků prstů [11], [12].

Worley a kol. uveřejnil v roce 2006 práci, ve které zkusili analýzu otisků prstů pomocí MXRF. Závěrem bylo, že je vhodná pro zobrazení otisků i náročných povrchů. Jelikož se jedná o nedestruktivní techniku, umožňuje následné využití vzorku, jako je například extrakce DNA [12].

Hlavní výhodou MXRF je schopnost zobrazit otisk prstu a zároveň i zjistit jeho chemické složení. Některé otisky zanechané na zvláštních typech povrchů či za speciálních podmínek mohou být obtížně detekovatelné konvenčními kontrastními metodami. Jedná se zejména o vláknité papíry, textilie, dřevo, kůže, plasty a lidskou kůži [13], [14]. Dále zviditelnění otisků zanechaných na tmavých nebo vícebarevných podkladech může být

obtížně proveditelné běžnými technikami kvůli malému kontrastu s povrchem [15]. Otisky prstů patřící předpubertálním dětem mohou být taktéž obtížně detekovatelné, zvláště po uplynutí delší doby, jelikož neobsahují kožní maz a jsou tvořeny relativně těžkými volnými mastnými kyselinami [16]. Ve všech těchto případech zobrazování založené na jejich elementárním složení za využití MXRF je velmi cenné.

2.6 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je technika vhodná k získávání informací o vibračních a rotačních stavech molekuly založená na sledování Ramanova rozptylu. Je nedestruktivní a vyžaduje malou či žádnou úpravu vzorku. Při Ramanově efektu je dopadající světlo při průchodu vzorkem neelasticky rozptýleno a frekvence je posunuta o energii charakteristických molekulových vibrací. Dnes se pro Ramanovu spektroskopii používají jako zdroje lasery v širokém rozsahu frekvencí od blízké ultrafialové oblasti do blízké infračervené oblasti. To umožňuje výběr optimálních excitačních podmínek pro každý vzorek [17].

Ve forenzních vědách našla své místo například při analyzování otisků prstů. Její pomocí jsme schopni detekovat přítomnost exogenních látek. Lze ji použít například v případě analyzování otisků prstů, které byly získány za pomoci esterů kyseliny kyanoakrylové (CNA) [18].

Day a kol. využil Ramanovu spektroskopii pro detekci zakázaných látek a jiných exogenních substancí v latentních otiscích prstů [19].

V běžné praxi mohou některá nosná média ztěžovat identifikaci stopových látek, jelikož poskytují signál, který může zastínit slabší odezvu hledaných složek. K odstranění tohoto nedostatku byla vyvinuta metoda BTEM (band-target entropy minimization). Při ní se zpracovávají data vzorku. Následně je provedena identifikace knihovnou spekter [5].

Citlivost běžné Ramanovy spektroskopie není dostatečná kvůli malému povrchu, který je schopna analyzovat. Zhruba 50 let po objevu Ramanova efektu byla vyvinuta technika SERS (povrchem zesílený Ramanův rozptyl, surface-enhanced Raman scattering). Principem je adsorpce molekul na zdrsňelý kovový nebo nanočásticový povrch, který zesiluje měřený signál [20]. Výhodou této techniky je možnost získat informace o vzorku jako třeba přítomnost nepatrného množství moči, specifických aminokyselin či proteinů. Z tohoto důvodu se jeví jako cenná metoda forenzní vědy k detekci biomarkerů a stopových složek obsažených v otiscích prstů [21].

2.7 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie má své významné místo v analyzování otisků prstů. Její pomocí lze získat jak informace o chemickém složení otisků prstů proměřením zkoumaného povrchu, tak i otisk prstu z naměřených signálů iontů rekonstruovat pro následné daktyloskopické vyhodnocení. Nejpoužívanější techniky hmotnostní spektrometrie jsou popsány v následujících kapitolách.

2.8 Hmotnostně spektrometrické zobrazování

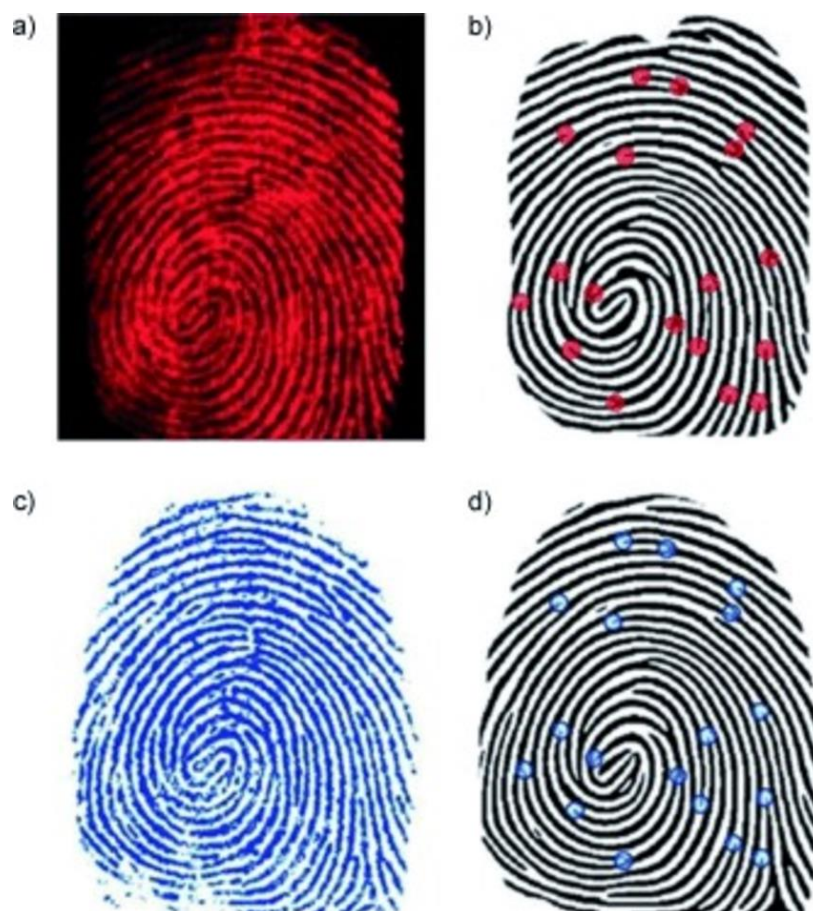
Techniky hmotnostní spektrometrie přispívají k identifikaci látek určením molekulové hmotnosti nebo struktury z fragmentačních spekter. Bylo prokázáno, že zobrazení hmotnostní spektrometrií (MSI mass spectrometry imaging) poskytuje komplementární informace ke konvenčním metodám, například k plynové či kapalinové chromatografii. Existuje několik metod využívajících hmotnostní spektrometrii, které se používají k získání informací o otiscích prstů. Patří k nim spojení plynové chromatografie–hmotnostní spektrometrie (gas chromatography-mass spectrometry GC-MS), vysokoúčinná kapalinová chromatografie-hmotnostní spektrometrie (high performance liquid chromatography-mass spectrometry HPLC-MS), kapilární elektroforézy–hmotnostní spektrometrie (capillary electrophoresis–mass spectrometry CE-MS), desorpční elektrosprejové ionizace (desorption electrospray ionization DESI), desorpce a ionizace laserem za účasti povrchu (surface-assisted laser desorption/ionization SALDI), desorpce laserem za účasti matrice (matrix-assisted laser desorption/ionization MALDI), hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (secondary ion mass spectrometry SIMS) a přímá analýza v reálném čase (direct analysis in real time DART). Pomocí MSI můžeme nejen zobrazit otisk prstu, ale i získat informace o látkách exogenních a endogenních (např. volné mastné kyseliny, estery cholesterolu, skvalen) v něm obsažených [22]. Na druhou stranu techniky hmotnostní spektrometrie jsou nákladné a v mnohých případech nekompatibilní s některými metodami získávání otisků prstů na místě činu [5].

2.9 Hmotnostní spektrometrie s desorpční elektrosprejovou ionizací

Desorpční elektrosprejová ionizace (Desorption Electrospray DESI) byla vytvořena za účelem přímé analýzy biologických vzorků. Výhody DESI spočívají v jednoduché či žádné úpravě vzorku a v provedení analýzy za atmosférického tlaku za podmínek okolí [23]. Nevýhodou pak je horší povrchové rozlišení než poskytuje MALDI technika. Patří do skupiny ambientních ionizačních technik mezi nimiž například laserová ablace ve spojení s elektrosprejovou ionizací (LAESI) poskytla zvláště užitečná zobrazení biologických systémů, včetně *in vivo* systémů [24].

Principem DESI je vytvoření nabitých kapiček elektrosprejem. Ty jsou směřovány na povrch vzorku, kde vytváří tenký film, který rozpouští analyt. Dopad dalších primárních kapiček zapříčiňuje vznik sekundárních kapiček obsahujících analyt. Po tomto procesu následuje standardní elektrosprejový odpařovací proces odpařování a zmenšování nabitých kapek, kdy jsou v posledním kroku z kapek uvolňovány ionty do plynné fáze [25]. Při hmotnostně spektrometrickém zobrazování jsou výstupem hmotnostní spektra zaznamenaná pro jednotlivé body povrchu postupným směřováním proudu nabitých kapiček napříč povrchem [26]. Prostorové rozlišení DESI je typicky 200 μm , ačkoli byly zaznamenány i znatelně lepší hodnoty [27].

Pomocí DESI lze analyzovat široké spektrum látek, od jednoduchých aminokyselin po alkaloidy, terpenoidy a steroidy, peptidy i proteiny. Díky tomu se jeví jako atraktivní metoda pro aplikaci ve forenzních analýzách a zajištění bezpečnosti, což mimo jiné zahrnuje analyzování suché krve, latentních otisků prstů, detekci výbušnin či chemických bojových prostředků [23]. Ifa a kol. jako první využili DESI hmotnostní spektrometrii k zobrazení latentního otisku prstu a k získání informací o distribuci endogenních látek na povrchu zkoumaného otisku [26].



Obrázek 1. a) DESI-MS obraz distribuce kokainu na latentním otisku prstu zanechaném na skle, b) počítačem vytvořený obraz otisku prstu z DESI měření, c) inkoustový otisk prstu zanechaný na papíru a opticky naskenován, d) počítačem vytvořený otisk z opticky naskenovaného otisku prstu. Obrázek převzatý z cit. [26]

Obrázek 1 ukazuje otisk prstu s kokainem přičemž otisk byl rekonstruován (obr. 1a) pro signál při m/z 304 odpovídající iontu $[M+H]^+$ kokainu po měření latentního otisku prstu na skle. Pro srovnání je ukázán otisk prstu stejné osoby vytvořený inkoustem na papíře (obr. 1c). Shodně nalezené znaky ukazují, že hmotnostní spektrometrie umožňuje identifikaci osob podle jejich otisků.

Mirabelli a kol. publikovali práci, ve které demonstrují využití DESI hmotnostní spektrometrie při analyzování a zobrazení otisku prstu obsahujícího látky z kondomu. Aplikace tohoto postupu může usnadnit vyšetřování sexuálních útoků [28].

2.10 Hmotnostní spektrometrie s desorpcí laserem za účasti povrchu

Jak již bylo zmíněno v úvodu, jedním z kritických úkolů při analyzování otisků prstů je jejich nalezení na místě činu. Nejčastěji používanou metodou je zviditelňování pomocí prášku. Hmotnostní spektrometrie s desorpcí laserem za účasti povrchu (surface-assisted

laser desorption ionization SALDI) byla shledána jako vhodná pro analyzování takto zviditelněných latentních otisků.

Desorpce a ionizace laserem (LDI) je proces přenosu energie, který vytváří malé anorganické a organické ionty v plynné fázi, když je analyt vystaven působení laseru. Technika SALDI využívá pro zprostředkování ionizace vhodného povrchu (substrátu) tvořeného nanomateriálem, z něž je analyt desorbován. Takovéto uspořádání chrání analyt před přímým působením laseru, čímž se snižuje fragmentace. Ve forenzní vědě má SALDI například využití právě při analyzování otisků prstů.

SALDI s analyzátozem doby letu (ToF) byla použita při analýze nikotinu v otisku prstu, který byl zviditelněn hydrofobním křemičitým nanopráškem (substrát pro SALDI) a sejmut lepicí páskou. Výsledkem byla detekce nikotinu a jeho metabolitu (kotininu). Touto metodou lze spolehlivě rozlišit otisk prstu nekuřáka od kuřáka, a to podle intenzity iontu m/z 163 v hmotnostním spektru [29]. Bylo prokázáno, že i různé farmaceutické substance mohou být detekovatelné v otisku prstu právě pomocí SALDI-ToF. Lim a Seviour prokázali v latentním otisku prstu, který byl vyvinut výše zmíněným postupem, přítomnost terbinafinu, což je antimykotikum [30]. Obsah léčiv v otiscích odkazuje na životní styl a další důležité osobní informace, které mohou být výhodné při pátrání po osobách podezřelých ze spáchání trestného činu.

Kromě otisků zviditelněných pomocí křemičitého prášku lze SALDI analyzovat i otisky vytvořené estery kyseliny kyanoakrylové známé pod zkratkou CNA. Sundar a Rowell publikovali v roce 2013 na toto téma práci, ve které popisují sejmutí otisků prstů s obsahem drog (kokain, metadon) nebo léčiv (aspirin, paracetamol a kofein) ze skleněného podkladu a jejich následné podrobení SALDI-ToF hmotnostní spektrometrii. Otisk prstu byl zviditelněn CNA metodou a poprášen černým magnetickým práškem. Poté byl vystaven párák rozpouštědla a sejmut lepicí páskou. Takovýto otisk byl pak přímo analyzován na pásce bez další úpravy SALDI-ToF-MS. Výsledkem je poznatek, že bez použití prášku a rozpouštědla není možné přímou analýzou hmotnostní spektrometrií prokázat přítomnost drog [31].

2.11 Hmotnostní spektrometrie s desorpcí laserem za přítomnosti matrice

Od roku 2009, kdy byla poprvé hmotnostní spektrometrie s desorpcí laserem za přítomnosti matrice (matrix-assisted laser desorption ionization MALDI) použita k analýze složení otisku prstu, její aplikace strmě rostly. Dnes je to nejprozkoumanější technika

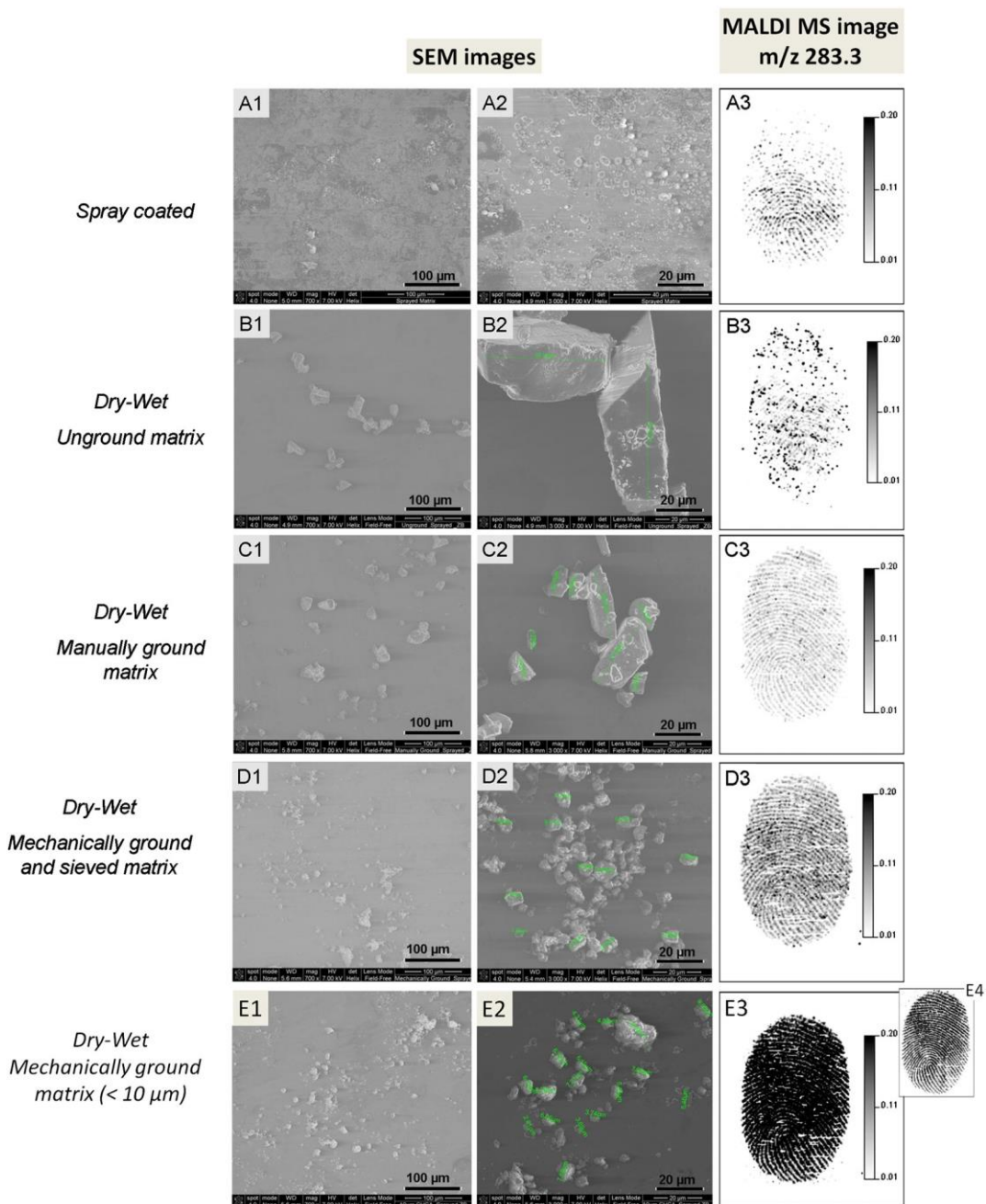
s nejvíce publikacemi, patenty a aplikačními sděleními, navíc výborně kompatibilní s metodami vyvíjení otisků prstů na místě činu [32]. MALDI umožňuje ionizaci široké škály látek včetně nízkomolekulárních metabolitů drog, polysacharidů a lipidů[33].

Tato měkká technika generuje desorpci ionty v plynné fázi. Desorpce je způsobena laserem za pomoci nízkomolekulárních netěkavých organických látek, jako například kyselin při měření v pozitivním módu, které vykazují velkou konjugaci násobných vazeb, což umožňuje absorpci laserové energie [34].

Pro získání informací o chemickém otisku prstu byly testovány různé postupy nanášení matrice. Slibným z hlediska kvality dat a povrchového rozlišení bylo nanášení matrice sprejováním, ale vyžadovalo předchozí vizualizaci otisku [32], [33].

Pro vyřešení tohoto problému byla navržena tzv. dry wet metoda aplikace matrice [35]. V tomto případě je samotná MALDI matrice (nejpoužívanější je kyselina α -kyano-4-hydroxyskořicová– α -CHCA) jako zviditelňující prášek nanášena štětečkem na latentní otisk, stejně jako když se otisk na místě činu zviditelňuje použitím speciálních prášků. Ferguson s týmem zjistil, že takovými nanášením matrice se papilární linie zviditelní a lze je sejmut páskou z povrchu [36]. Podle spektroskopických vlastností matrice, kromě optických obrazů mohou být zachyceny i UV a fluorescenční obrazy otisku prstu a ty lze dále použít pro vyhledávání v databázi a identifikaci podezřelého. Sejmutý otisk je následně rovnoměrně posprejován aerosolem rozpouštědla. To umožňuje rozpuštění matrice i analytu a jejich kokrytalizaci [37]. Následně může být na takto ošetřené otisky aplikované MALDI skenování poskytující molekulový obraz papilárních linií.

„Dry-wet“ metoda poskytla jeden z prvních příkladů dvojitého zobrazování papilárních linií, kdy samotné nanášení matrice poskytne optický obraz, hmotnostní spektrometrie pak chemický obraz otisku. Dále bylo prokázáno skenovací elektronovou mikroskopií (scanning electron microscopy SEM) a MALDI-MSI (MALDI mass spectrometry imaging), že metoda „dry-wet“ není jen lépe reprodukovatelná, rychlejší a účinnější než metoda sprejem nanášené matrice, ale také že s nižší velikostí částic matrice bude výsledný obraz otisku kvalitnější (viz. obr.2) [35].



Obr.2 Srovnání otisků prstů získaných metodou „dry-wet“. Převzato z cit.[32]. Zobrazení vzorku pomocí SEM a MALDI-MSI. Panel A1-E1 ukazuje 700x zvětšený obraz otisku prstu, který byl potáhnutý sprejem (Spray coated – SC) a metodu dry-wet (DW) s rozdílnými velikostmi částic (A1 = SC metoda, B1 = DW metoda, nerozemletá matrice, C1 = DW metoda, manuálně rozemletá matrice, D1 = DW metoda, mechanicky rozemletá a prosetá matrice, E1 = DW metoda, mechanicky rozemletá matrice ($\leq 10\text{nm}$ velikost částic)). Panel A2-E2 ukazuje 3000x zvětšený panel A1-E1. Panel A3-E3 ukazuje odpovídající obraz iontu při m/z 283,3 z MALDI hmotnostní spektrometrie. Panel E4 ukazuje obraz E3, který neprošel normalizací

Další používanou MALDI matricí je 1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-hepta-1,6-dien-3,5-dion známý pod názvem kurkumin. Kurkumin byl testován „dry-wet“ metodou za laboratorních podmínek, ale i v podmínkách imitujících reálné použití. Bylo zjištěno, že tato látka vykazuje výrazné zlepšení zobrazení otisku prstu, pravděpodobně kvůli tvorbě vodíkových vazeb mezi mastnými kyselinami/glyceridy obsažených v kožním mazu (lat. *sebum*) a karbonylovou/hydroxylovou skupinou z kurkuminu [32].

S. Francese s kol. publikovala článek, ve kterém demonstrovala univerzálnost kurkuminu jako MALDI matrice pro lipidy a další malé molekuly, ale i pro peptidy a proteiny. V některých případech vykazoval dokonce lepší vlastnosti než kyselina α -kyano-4-hydroxyskořicová. Nevýhodou ovšem je, že silná adheze kurkuminu k otisku prstu způsobuje velice těžko odstranitelné skvrny na povrchu, kde byl otisk zanechán. Z tohoto důvodu se od jeho využití v praxi na místě činu upustilo [38].

R. Bradshaw s týmem vypracoval studii pojednávající o možnosti detekce lubrikantů z kondomů v otiscích prstu, čímž je možná identifikace osoby podezřelé ze spáchání sexuálního útoku. Využili MALDI hmotnostně spektrometrické zobrazování s aplikací α -CHCA matrice, kterou v první kroku poprášili otisk, což umožnilo jeho sejmutí. Prokázali použitelnost této techniky při vyšetřování na místě činu [39].

MALDI hmotnostní spektrometrie je také vhodná pro analyzování široké škály různých léčiv a drog a jejich metabolitů. Výhodou je rovněž fakt, že některé techniky používané pro lokaci a sejmutí otisků prstů, jako například nanesení pěny kyseliny kyanoakrylové, nebrání detekci takových látek [40].

2.12 Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů

Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (secondary ion-mass spectrometry SIMS) pracuje na principu bombardování vzorku vysokoenergetickým svazkem iontů (1-40 keV), což způsobuje desorpci sekundárních iontů. Výsledný obraz vzniká rastrováním svazku iontů po povrchu na kterém je nanesený vzorek [5].

SIMS byla shledána jako vhodná technika pro forenzní využití při analýze otisků prstů zanechaných na místě činu, například pro odhadnutí stáří otisku na základě signálů nasycených mastných kyselin v rozpětí molárních hmotností od 143 g/mol do 395 g/mol [41]. Szyrkowska se spolupracovníky zobrazila a analyzovala otisky prstu kontaminované různými látkami zanechané na čtyřech typech povrchů (ocel, hliník, mosaz a sklo). Práce ukázala, že využití techniky může být vhodné pro analyzování otisku prstu jak z hlediska

identifikace exogenních látek tak i jejich distribuce na celém povrchu [42].

Zajímavá je práce publikovaná N. Montaltem s kol. v roce 2013, kde bylo zkoumáno, zda otisk vznikl po tisku z laserové tiskárny nebo před ním [43]. Zmapováním vybraných endogenních prvků Na^+ , K^+ a C_3H_5^+ lze získat obraz papilárních linií a zároveň tyto ionty byly pozorovány pouze u otisků vzniklých po tisku [43]. Zobrazování technikou SIMS může být použito jako poslední možnost zlepšení vizualizace latentního otisku prstu v případě, kdy vzorek není úplně vyvinut konvenčními činidly, jako je pěna kyseliny kyanoakrylové [44].

Mezi nevýhody hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů patří zejména nutnost vložit vzorek do vakuové komory, ve které mohou nastat změny chemického otisku prstu, jako třeba redukce některých mastných kyselin nebo změny koncentrací lipidů a skvalenu, a prodloužení doby a ceny analýzy [44].

2.13 Nezobrazovací techniky hmotnostní spektrometrie

Spojení plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie (GC-MS), kapilární elektroforéza-hmotnostní spektrometrie (CE-MS) a přímá analýza v reálném čase (DART-MS) nejsou schopny poskytnout vyobrazení otisků prstů, avšak hrají důležitou roli při poskytování chemických informací.

GC-MS byla jednou z nejpoužívanějších technik pro studování endogenních látek v otiscích prstů. Bylo zjištěno, že látky obsažené v jednotlivých otiscích se výrazně lišily u každé osoby a také docházelo pro danou osobu k jejich změnám v čase [45] [46]. Pomocí GC-MS se zjistilo, že lidé rozdílných ras a pohlaví mají rozdílný poměr některých metyl esterů mastných kyselin [47].

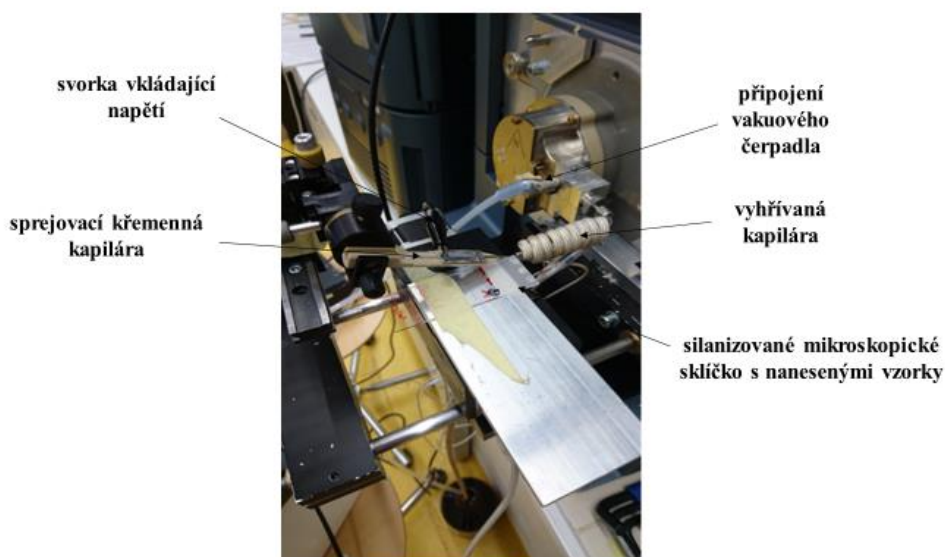
GC-MS obecně vyžaduje rozpuštění analytu, k čemuž je zapotřebí většího množství vzorku (látek vytvářejících otisk), a může tím být ohroženo následné skenování, mikroskopické zkoumání a uložení otisku do databáze [48].

Přímá analýza v reálném čase je metoda ambientní ionizace, která využívá mechanismu ionizace v plynné fázi a pro analýzu potřebuje jen malé množství vzorku. Samotná analýza je rychlá a vzorky se měří přímo, bez nutnosti jejich úprav. Musah a kol. v roce 2012 demonstrovali schopnost DART-MS při identifikaci lubrikačních látek používaných v kondomech (nonoxynol-9) a řady dalších látek související se sexuálními útoky [49]. Dále tuto techniku také použili pro identifikaci mastných kyselin v latentních otiscích. DART nabízí rychlou a dostatečně citlivou metodu analyzování otisků prstů.

3. PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Přístroje a chemikálie

K měření vzorků účinných aktivních farmaceutických substancí z tablet byl použit *hmotnostní spektrometr Xevo TQD* (Waters, Manchester, Velká Británie) s iontovým zdrojem ESI a nanoDESI. Komerční vstup hmotnostního spektrometru v případě nanoDESI byl nahrazen vstupem se vzorkovacím kónusem a vyhřívanou kapilárou umožňující regulaci podtlaku. Jako sprejovací kapilára nanoDESI sloužila křemenná kapilára ($2\pm 1 \mu\text{m}$ I. D., PicoTips emitter, New Objective, Woburn, USA). Uspořádání iontového zdroje je zobrazeno na obrázku 3 (iontový zdroj nanoDESI).



Obrázek 3 Zobrazení uspořádání nanoDESI iontového zdroje

Tabulka I Nastavení parametrů pro iontový zdroj ESI

parametry	hodnoty
napětí na sprejovací kapiláře (kV)	2,2
napětí na kónusu (V)	32
teplota zdroje (°C)	100
průtok desolvatačního plynu (l/hod)	100
teplota desolvatačního plynu (°C)	100

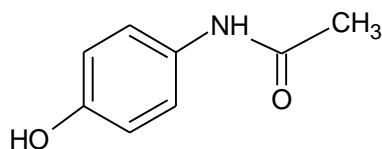
Tabulka II Nastavení parametrů pro iontový zdroj nanoDESI

parametry	hodnoty
napětí na sprejovací kapiláře (kV)	2,2
teplota vyhřívání kapiláry (°C)	200
teplota zdroje (°C)	100

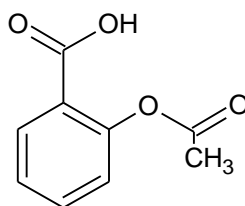
Nastavení parametrů jednotlivých iontových zdrojů je uvedeno v tabulce I a II. Průtok vzorku v případě ESI byl 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Ovládání přístroje a sběr dat byly zajištěny prostřednictvím software MassLynx 4.1. (Waters, Manchester, Velká Británie). Vyhřívání kapiláry (nanoDESI) bylo zajištěno externím zdrojem s regulací Termostat FY400 (CD Automation, Eastbourne, Velká Británie).

Použité chemikálie: methanol HPLC kvality (Fisher Chemical, Pardubice, Česká republika), voda (upravena na přístroji Direct – Q VV Millipore, Merck, Darmstadt, Německo), kyselina mravenčí p.a. (Sigma Aldrich, Praha, Česká republika), standardy kyselina acetylsalicylová p.a (Sigma Aldrich, Praha, Česká republika), kofein p.a (Fluka, Praha, Česká republika), vzorky komerčních analgetik Panadol Extra (Brentford, Velká Británie), Acylpyrin (Herbacos Recordati, Pardubice, Česká republika) byly zakoupeny v běžné lékárně.

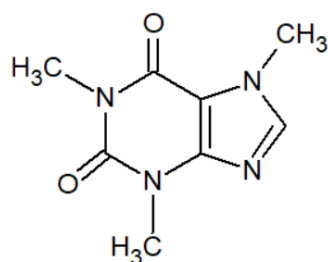
V léčivém přípravku Panadol extra jsou jako účinné látky obsaženy paracetamol a kofein. V jedné tabletě je 500 mg paracetamolu a 65 mg kofeinu. V přípravku Acylpyrin je obsažena jako účinná látka kyselina acetylsalicylová (500 mg v jedné tabletě). Na obr. 4, 5 a 6 jsou zobrazeny struktury aktivních farmaceutických substancí obsažených ve vybraných léčivech.



Obr. 4 Paracetamol



Obr. 5 Kyselina acetylsalicylová



Obr. 6 Kofein

Tabulka III Informace o analyzovaných aktivních farmaceutických substancích

#	název látky	sumární vzorec	prekurzorový ion (m/z)	napětí na kónusu (V)	fragmentové ionty	kolizní energie (V)
1	paracetamol	C ₈ H ₉ NO ₂	152 [M+H] ⁺	45	110	20
2	kyselina acetylsalicylová	C ₉ H ₈ O ₄	179 [M-H] ⁻	20	137	5
3	kofein	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	195 [M+H] ⁺	45	138	45

3.2 Pracovní postup

3.2.1 Příprava zásobních roztoků

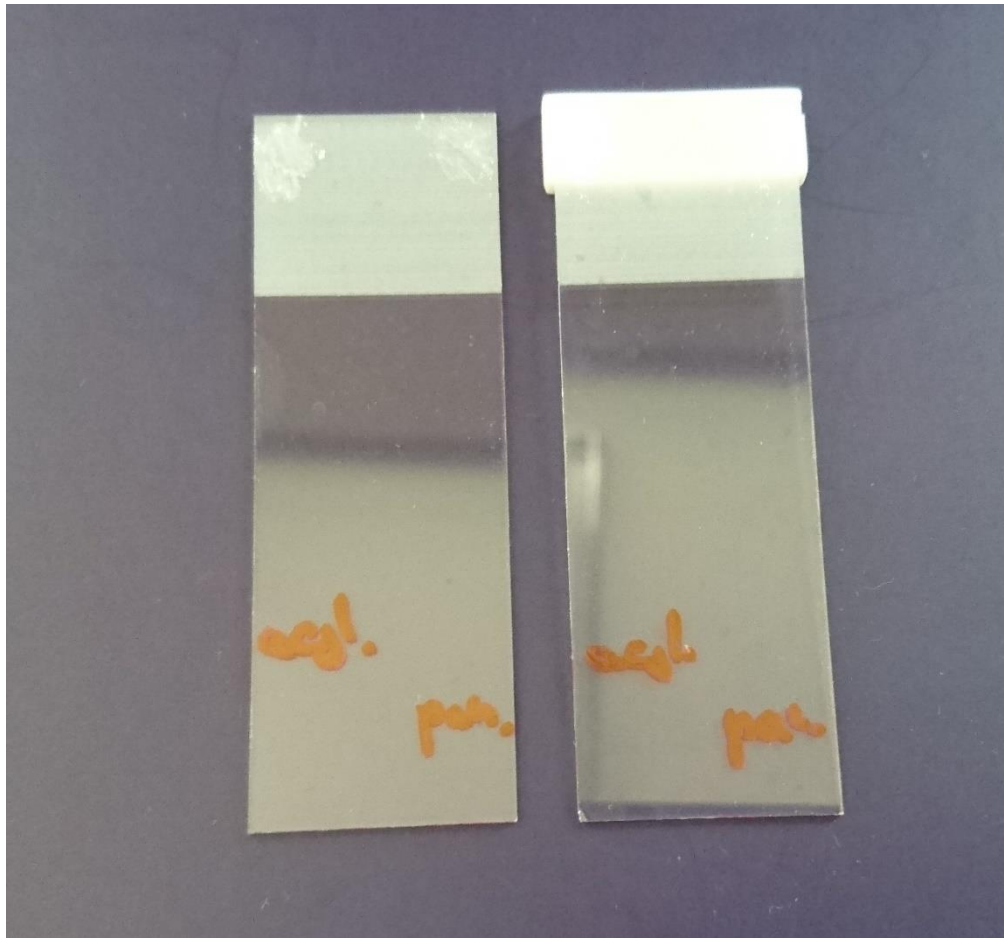
Zásobní roztoky standardů (kofein, kyselina acetylsalicylová) pro experimenty ESI byly připraveny o koncentraci 1mg/ml rozpuštěním navážky příslušného standardu v odpovídajícím objemu směsi rozpouštědel methanol:voda (1:1, v/v). Jako pracovní roztok sloužil 10x zředěný zásobní roztok u obou standardů.

3.2.2 Příprava vzorků pro experimenty desorpčním nanoelektrosprejem

Tablety komerčních léčivých přípravků se otřely na okraj zdrsněného silanizovaného povrchu podložního mikroskopického sklíčka (Thermo Scientific, Menzel-Gläser, 76 x 26 mm), viz obr. 7. Takto připravený vzorek byl podroben přímé desorpci ze sklíčka bez/s teflonovým nástavcem. Jako sprejovací kapalina byla použita směs rozpouštědel methanol:voda (3:1, v/v) okyselená 2% kyseliny mravenčí. Látky byly měřeny při podtlaku 0,4 baru.

Dále byly připraveny suspenze obou komerčních léčiv. Tableta léčiva se rozetřela v třecí misce, odebralo se 250 mg prášku do 5 ml odměrné baňky, která se doplnila po rysku

směsí rozpouštědel methanol:voda (1:1,v/v). Následně došlo k homogenizaci v ultrazvukové lázni. Vzorke byly měřeny při podtlaku 0,4 baru, není-li uvedeno jinak.



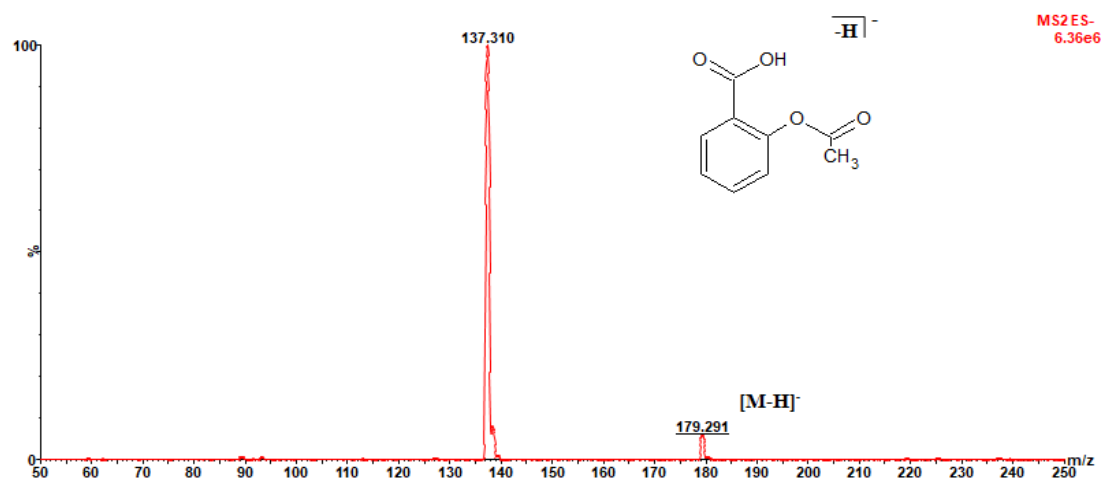
Obrázek 7 Fotografie mikroskopických sklíček. Vlevo se nachází sklíčko bez teflonového nástavce, vpravo pak sklíčko s teflonovým nástavcem. U obou sklíček byla vlevo otřena tableta Acylpyrinu, vpravo Panadolu extra

4. VÝSLEDKY

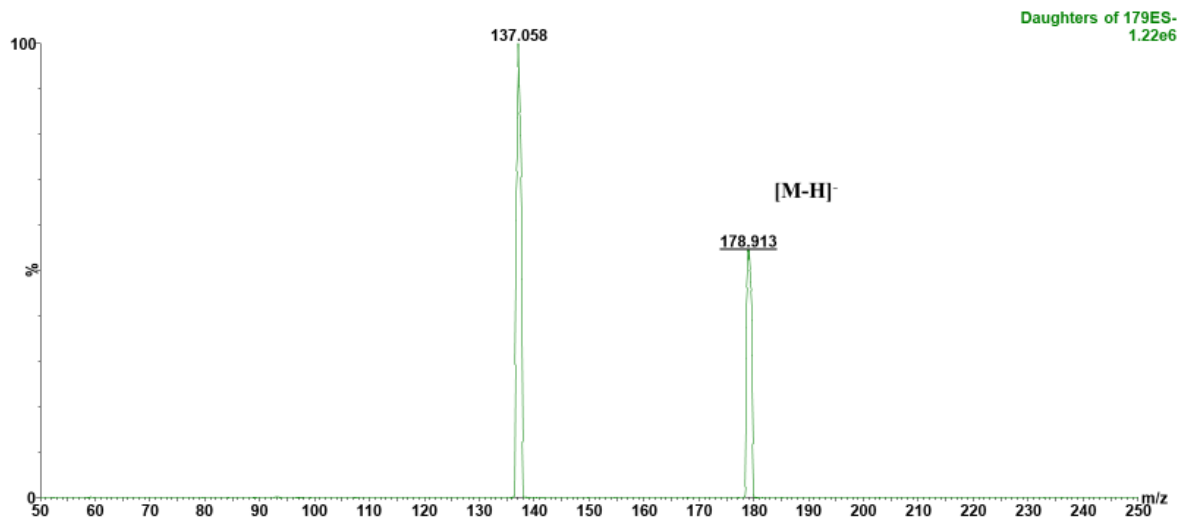
4.1 Analýza účinných látek obsažených v komerčních léčivých přípravcích elektrosprejem a desorpčním nanoelektrosprejem

Vzorky standardů kyseliny acetylsalicylové a kofeinu byly analyzované pomocí ESI. Vzorek byl měřen přímou infúzí s průtokem 10 $\mu\text{l}/\text{min}$.

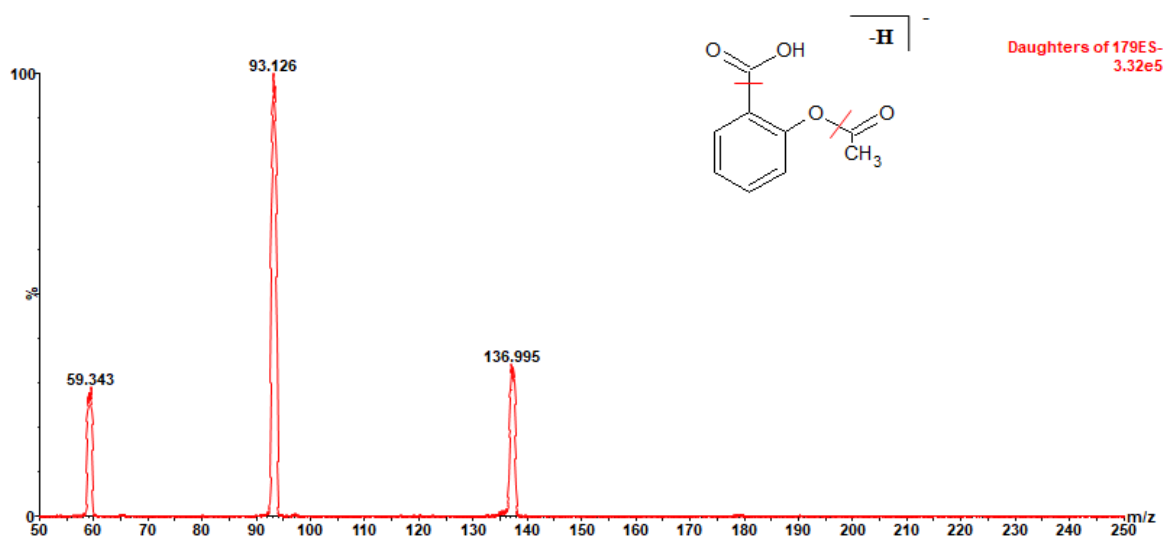
Standard kyseliny acetylsalicylové poskytuje v hmotnostním spektru v negativním módu ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ při m/z 179 (obr. 8). Fragmentační spektrum kyseliny acetylsalicylové po izolaci iontu $[\text{M}-\text{H}]^-$ při fragmentačním napětí 10 V je zobrazeno na obr. 9. Při měření se ve spektrech vyskytoval poměrně intenzivní ion m/z 137. Tuto skutečnost lze přisoudit odštěpení acetylové skupiny (neutrální ztráta $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$). Dalším fragmentem je ion s m/z 93 (obr. 10), který může vzniknout ztrátou $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ a CO_2 z iontu $[\text{M}-\text{H}]^-$.



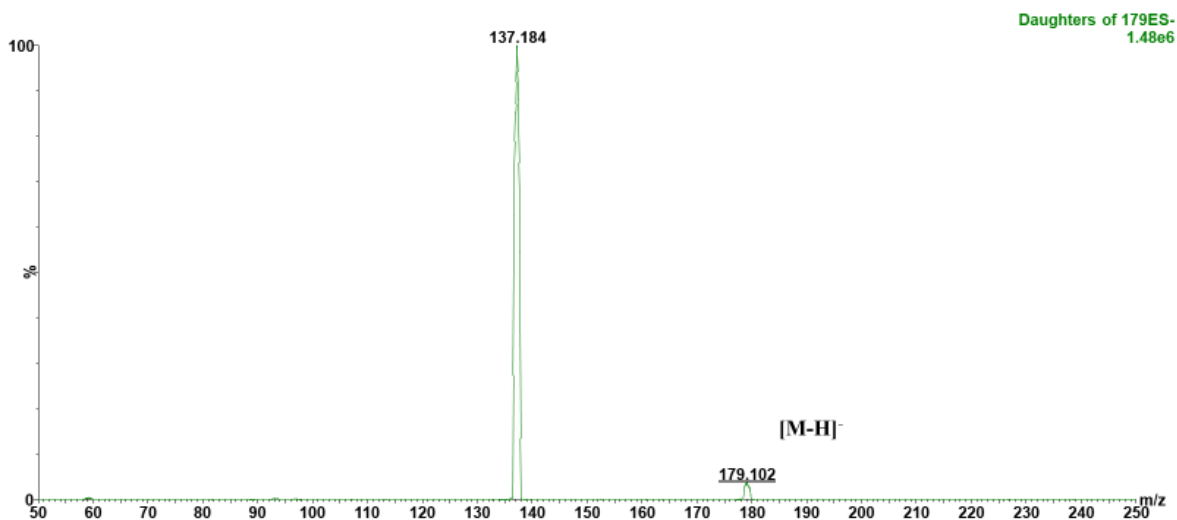
Obrázek 8 Hmotnostní spektrum standardu kyseliny acetylsalicylové, ionizace elektrosprejem, měřeno v negativním módu



Obrázek 9 Fragmentační spektrum iontu m/z 179 kyseliny acetylsalicylové po izolaci iontu $[M-H]^-$ při fragmentačním napětí 10 V, ionizace elektrosprejem, měřeno v negativním módu



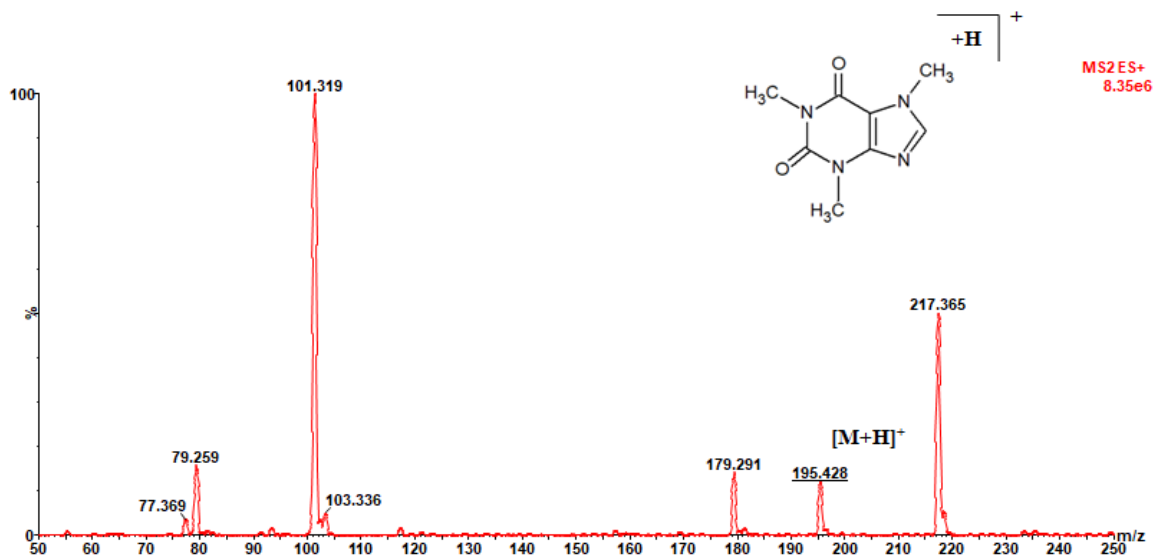
Obrázek 10 Fragmentační spektrum iontu m/z 179 standardu kyseliny acetylsalicylové při fragmentačním napětí 20 V, ionizace elektrosprejem, měřeno v negativním módu



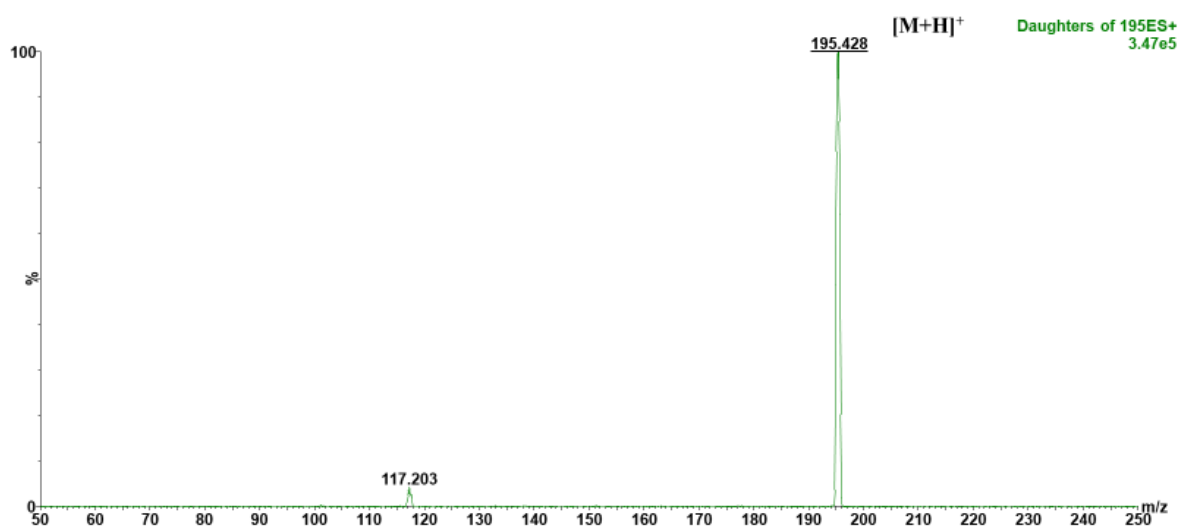
Obrázek 11 Fragmentační spektrum iontu m/z 179 standardu kyseliny acetylsalicylové při fragmentačním napětí 5 V, ionizace elektrosprejem, měřeno v negativním módu

Hmotnostní spektra na obr. 10 a 11 naznačují, že při nižší kolizní energii vzniká dominantně ion m/z 137, při vyšší dochází k další fragmentaci a základní pík ve spektru odpovídá m/z 93. Toto odpovídá ztrátě acetylové skupiny C_2H_2O při nižší kolizní energii a odštěpení acetylové skupiny C_2H_2O a CO_2 při vyšší kolizní energii.

Kofein poskytuje při měření v pozitivním módu ion $[M+H]^+$ při m/z 195 (obr. 12). Fragmentační spektrum kofeinu po izolaci iontu $[M+H]^+$ při napětí 10 V je zobrazeno na obr. 13. Fragmentací m/z 195 (obr. 14) byly získány hlavní fragmenty m/z 138, m/z 110, m/z 83, m/z 69. Fragment m/z 138 by mohl odpovídat ztrátě methylisokyanátové skupině C_2H_3NO , druhý z fragmentů (m/z 110) představuje další úbytek 28, což odpovídá odštěpení CO skupiny. Třetí fragmentový ion m/z 83 je nižší o 27, což naznačuje ztrátu CHN.

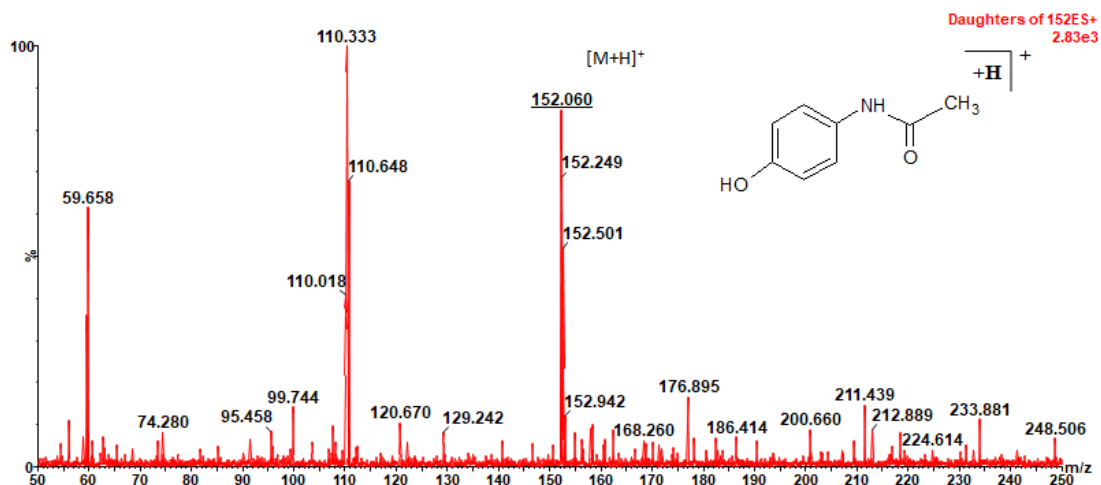


Obrázek 12 Hmotnostní spektrum standardu kofeinu, ionizace elektrosprejem, měřeno v pozitivním módu



Obrázek 13 Fragmentační spektrum kofeinu po izolaci iontu [M+H]⁺ při napětí 10 V, ionizace elektrosprejem, měřeno v pozitivním módu

Obrázek 14 Fragmentační spektrum iontu m/z 195 standardu kofeinu při fragmentačním napětí 20 V, ionizace elektrosprejem, měřeno v pozitivním módu



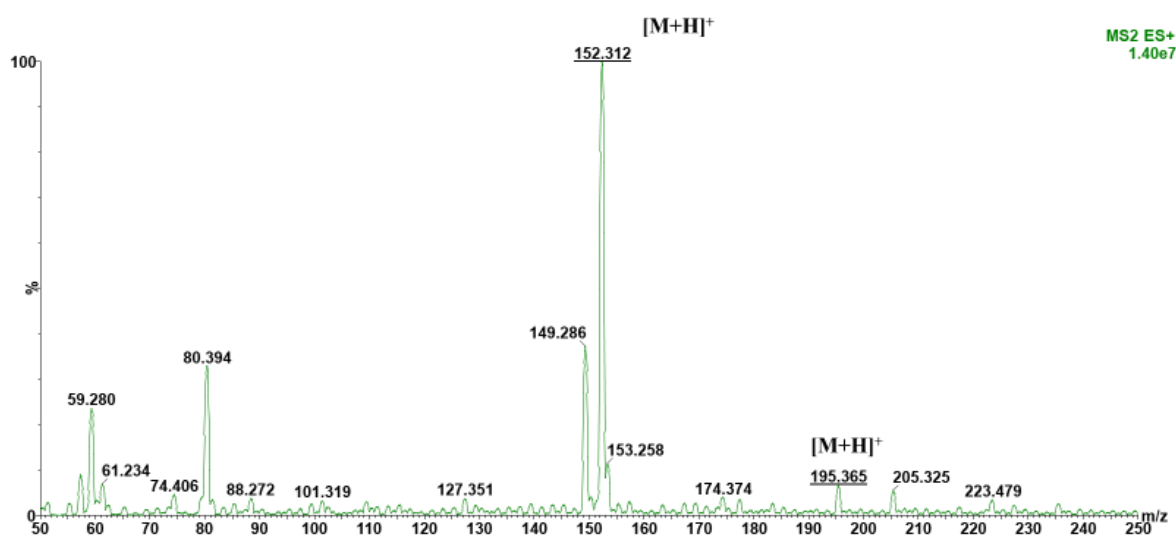
Obrázek 15 Fragmentační spektrum iontu m/z 152 odpovídající látce paracetamol z přípravku Panadol extra při 12 V v pozitivním módu, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem

Na obr. 15 je znázorněné fragmentační spektrum iontu m/z 152 při 12 V odpovídající účinné farmaceutické substanci paracetamolu, který je spolu s kofeinem obsažen v komerčním léčivém přípravku Panadol extra. Záznam vznikl analyzováním suspenze Panadolu extra, která byla připravena postupem uvedeným v kapitole 2.2.2. Z důvodu absence standardu paracetamolu nejsou zde uvedena další hmotnostní spektra. Měření probíhalo v pozitivním módu.

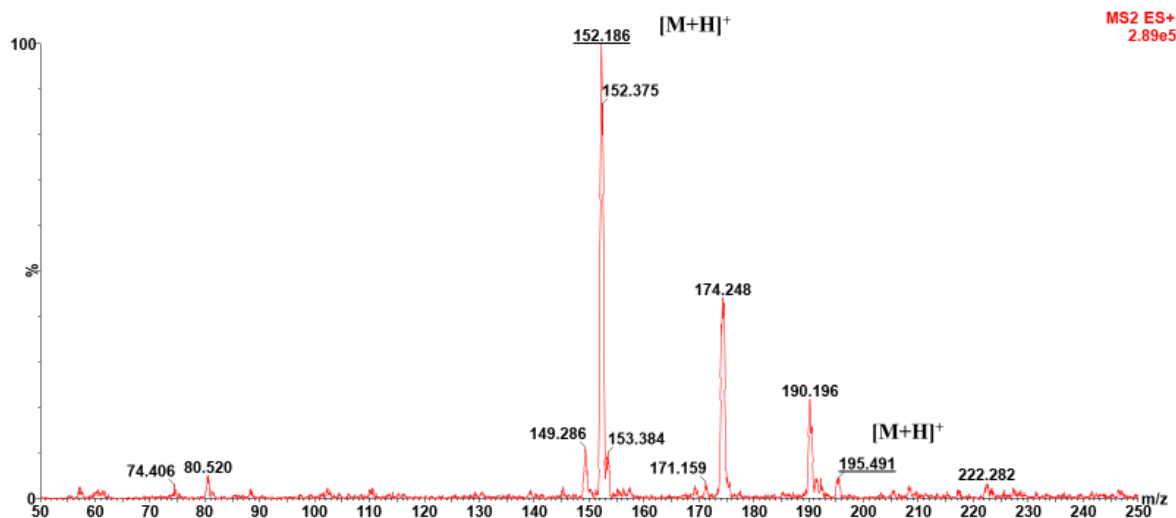
V hmotnostním spektru uvedeném na obr. 15 je patrný ion m/z 152 $[M+H]^+$, což odpovídá molekule paracetamolu. Další intenzivní ion m/z 110 je produktem fragmentace, který pravděpodobně vznikl odštěpení acetylové skupiny C_2H_2O .

4.2 Analýza aktivních farmaceutických substancí z tablet komerčních léčivých přípravků desorpčním nanoelektrosprejem

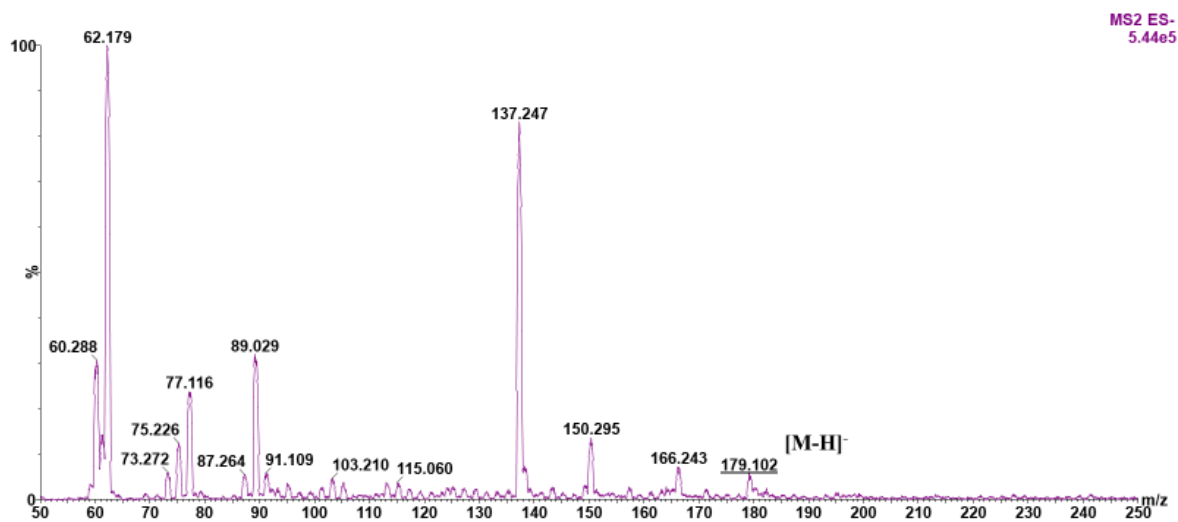
Vzorky komerčních léčivých přípravků Panadol extra a Acylpyrin byly naneseny otěrem na silanizované mikroskopické sklíčko viz obr. 7, umístěny na nástavec pro vzorek a ionizovány pomocí nanoDESI. Měření každého vzorku bylo provedeno 6x. Následně byl ke sklíčku přidán teflonový nástavec a opět se provedlo 6 měření pro vzorek Panadolu extra a 6 pro Acylpyrin. Doba sběru dat při měření byla nastavena na 1 minutu.



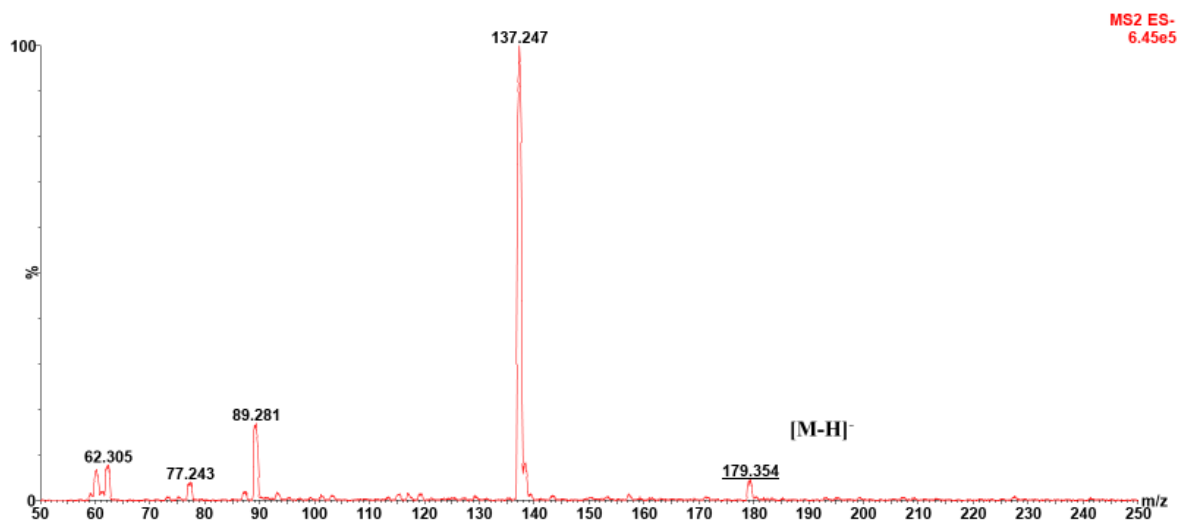
Obrázek 16 Hmotnostní spektrum přípravku Panadol extra, měřeno v pozitivním módu, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem



Obrázek 17 Hmotnostní spektrum přípravku Panadol extra s teflonovým nástavcem, měřeno v pozitivním módu, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem (ionty m/z 174 a 190 mohou odpovídat $[M+Na]^+$ a $[M+K]^+$)



Obrázek 18 Hmotnostní spektrum přípravku Acylpyrin, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu



Obrázek 19 Hmotnostní spektrum přípravku Acylpyrin s teflonovým nástavcem, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu

Tabulka IV Naměřené hodnoty intenzit iontů, které odpovídají účinným farmaceutickým látkám, látek a jejich fragmentů v závislosti na přítomnosti teflonového nástavce.

vzorek	ion (m/z)	#1	#2	#3	#4	#5	#6	arit- metický průměr	RSD (%)
Panadol extra	152	1,40e7	1,32e7	4,3e 6	1,63e6	2,95e6	1,67e5	6,04E +6	91,0
	195	9,35e5	9,18e5	4,71e5	8,20e4	6,31e4	1,32e4	4,14E +5	94,8
Panadol extra s teflonovým nástavcem	152	2,89e5	9,18e5	1,63e5	2,42e3	1,58e5	3,20e4	2,60E +5	118,6
	195	1,35e4	2,03e4	1,44e4	4,56e3	7,56e3	9,39e3	1,16E +4	44,2
Acylpyrin	179	3,13e4	3,45e3	4,68e4	5,54e4	3,82e4	3,19e4	3,45E +4	47,1
	137	4,52e5	5,59e4	6,4e 5	6,48e5	5,62e5	5,62e5	4,87E +5	41,7
Acylpyrin s teflonovým nástavcem	179	2,96e4	2,98e4	1,96e4	1,81e4	3,41e4	1,19e4	2,39E +4	32,8
	137	6,45e5	4,22e5	2,93e5	2,41e5	5,67e5	2,04e5	3,95E +5	41,7

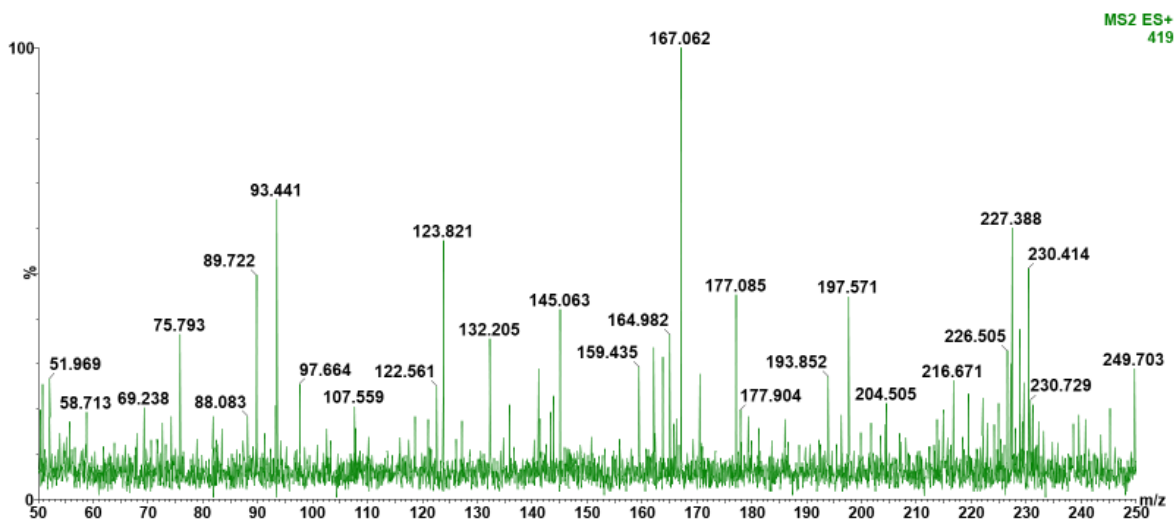
Náhodně vybraná tableta léčiva byla otřena na silanizované mikroskopické sklíčko viz obr. 7 a proměřena bez a s teflonovým nástavcem. V tab. IV jsou uvedeny hodnoty intenzit sledovaných iontů v komerčních léčivých přípravcích, odpovídající průměry a relativní směrodatné odchylky. V Panadolu extra byly sledovány ionty m/z 152 odpovídající

účinné látky paracetamolu a m/z 195, který odpovídá kofeinu. U přípravku Acylpyrin byly sledovány ionty m/z 179 odpovídající účinné látce kyselině acetylsalicylové a m/z 137, který patří hojně se vyskytujícímu produktu fragmentace.

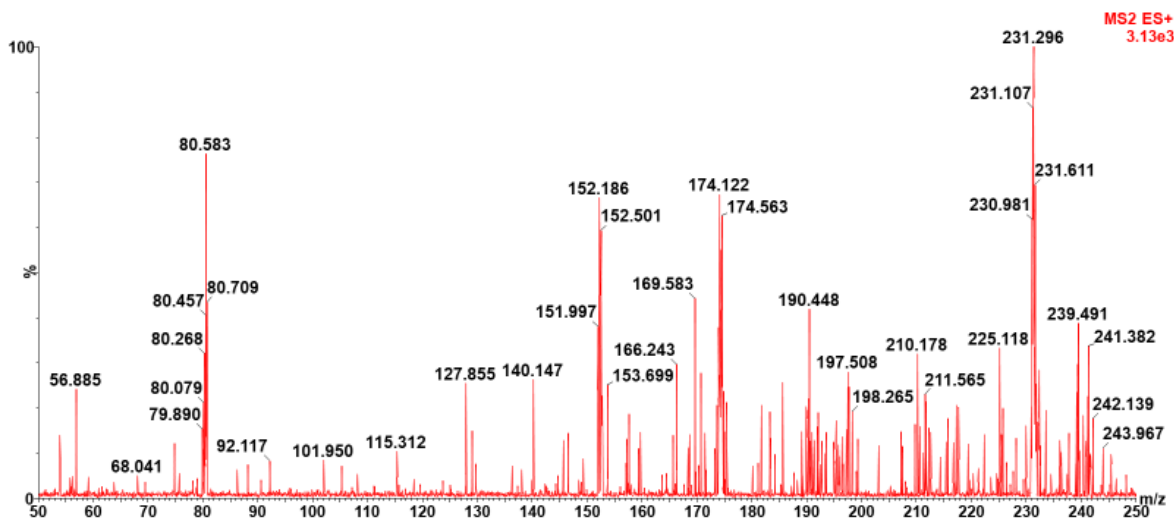
Z uvedených hodnot aritmetických průměrů vyplývá, že s aplikací teflonového nástavce dochází k snížení intenzit sledovaných iontů. Z hlediska opakovatelnosti (relativní směrodatné odchylky) jsou měření s a bez teflonového nástavce srovnatelná. Významný rozdíl v hodnotách relativní směrodatné odchylky RSD byl pozorován pro Panadol extra při použití teflonového nástavce (118,6 % pro m/z 152 a 44,2 % pro m/z 195), což lze přisoudit nehomogenitě měřeného vzorku (nanášení vzorku otěrem tablety, měření v různých místech povrchu)

4.3 Zkoumání vlivu podtlaku na kvalitu hmotnostních spekter získaných pomocí desorpčního nanoelektrospreje

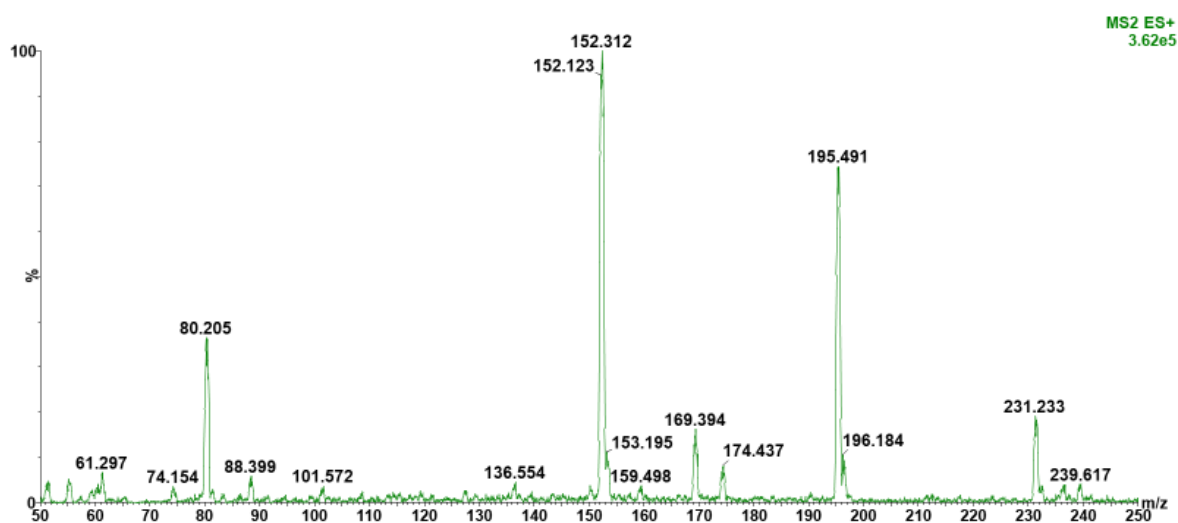
Za účelem získání co nejkvalitnějších dat byla provedena série měření při různě velkých podtlacích zvláště pro vzorek Panadolu extra a Acylpyrinu. Níže jsou uvedena hmotnostní spektra pro vzorek Panadol extra (obr. 20 až 25) nanosený ve formě suspenze a měřený v pozitivním módu. Následují hmotnostní spektra pro vzorek suspenze přípravku Acylpyrinu (obr. 26 až 31) měřený v negativním módu. Oba dva vzorky byly měřeny pomocí desorpčního nanoelektrospreje.



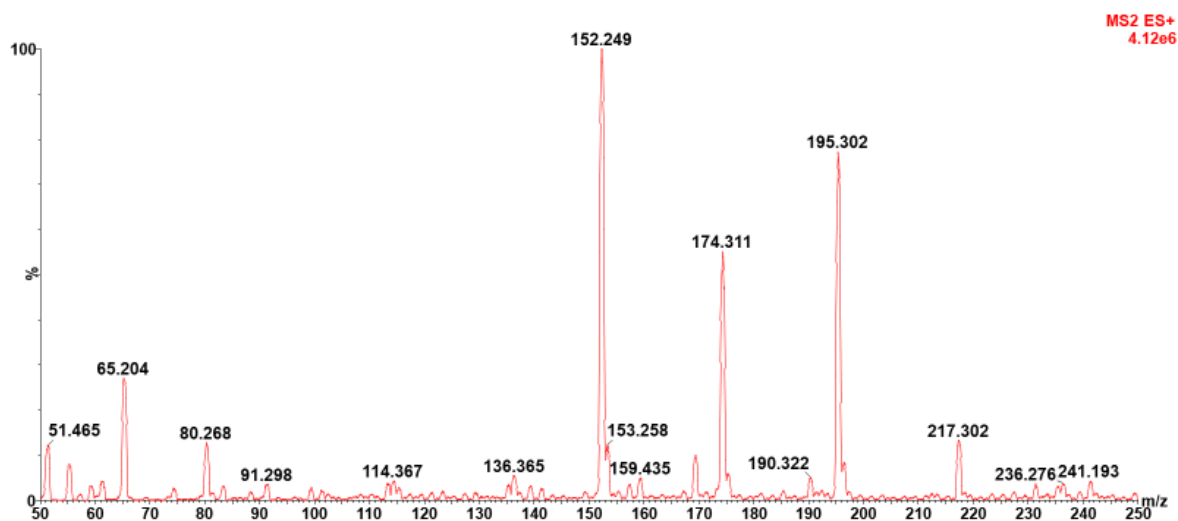
Obrázek 20 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu při odpojeném podtlaku



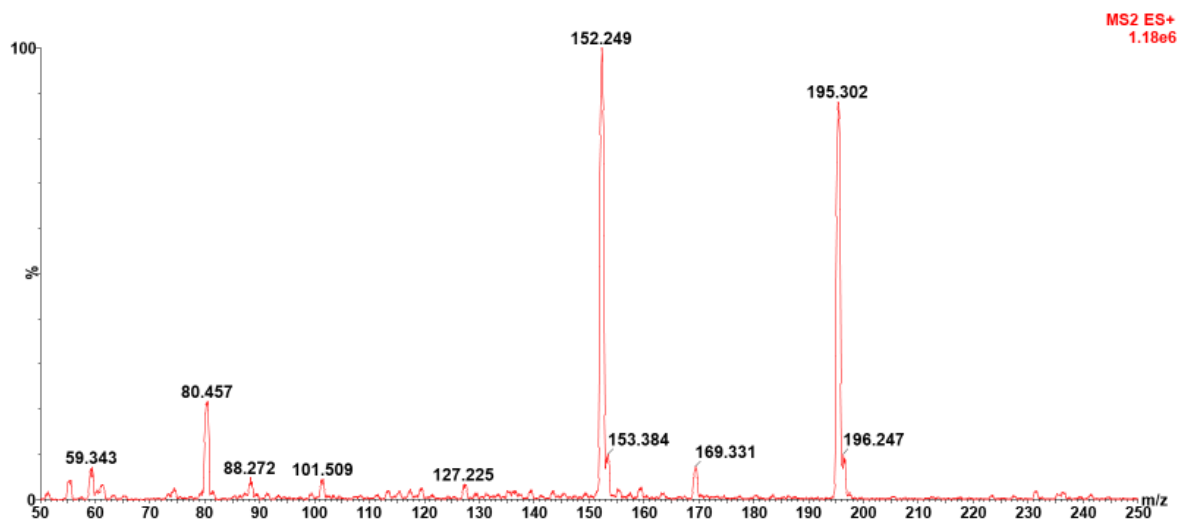
Obrázek 21 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu při podtlaku 0,05 baru



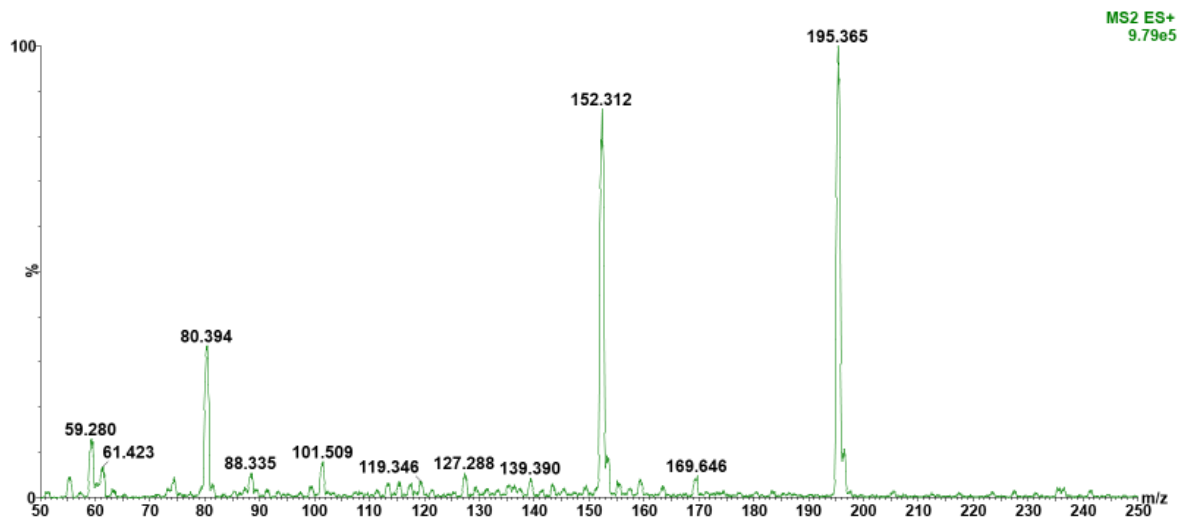
Obrázek 22 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu při podtlaku 0,2 baru



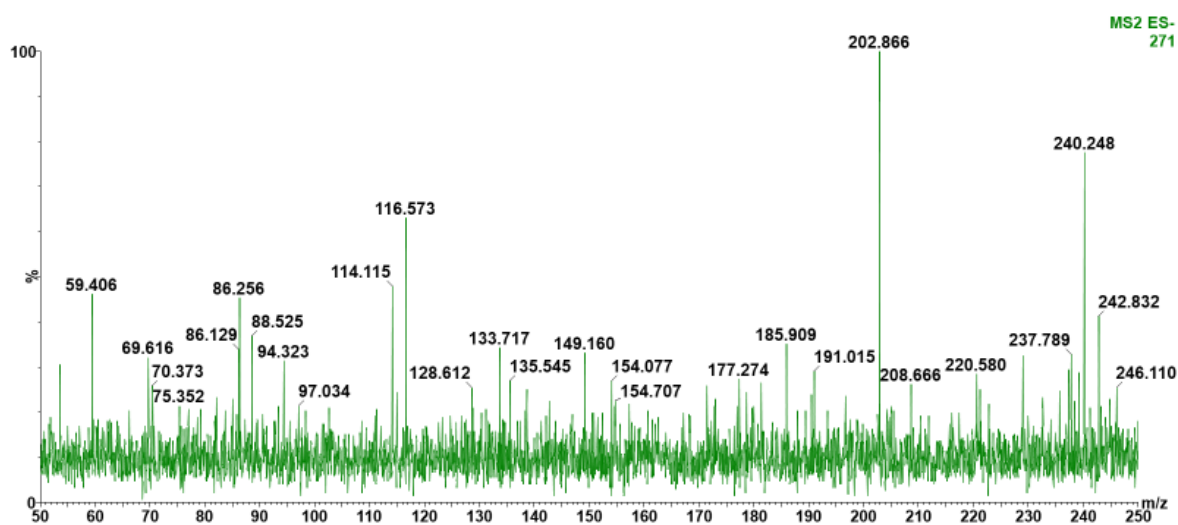
Obrázek 23 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu při podtlaku 0,4 baru



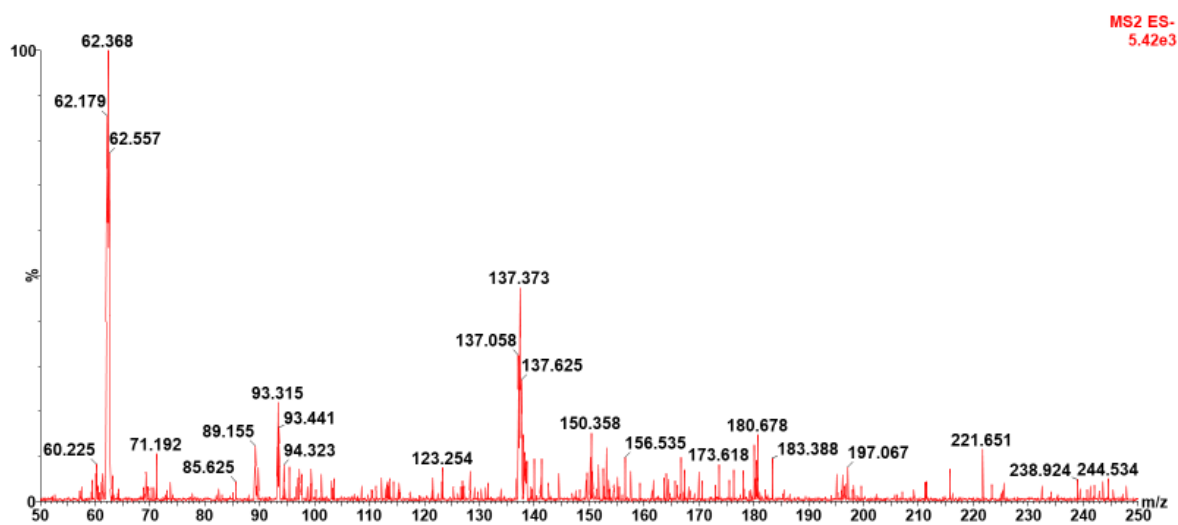
Obrázek 24 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra nanoseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu při podtlaku 0,6 baru



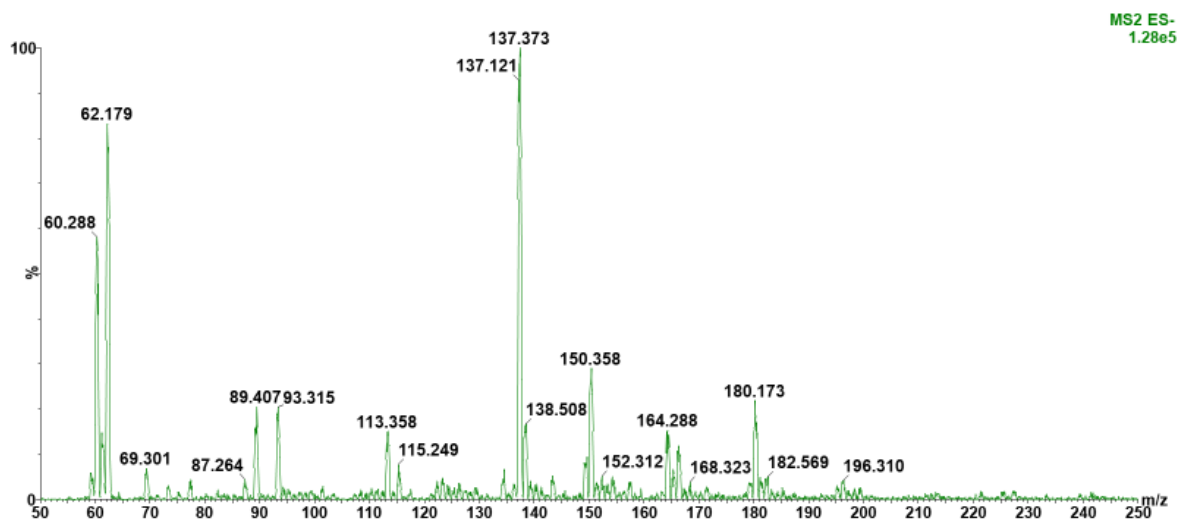
Obrázek 25 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra nanoseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu při podtlaku 0,75 baru



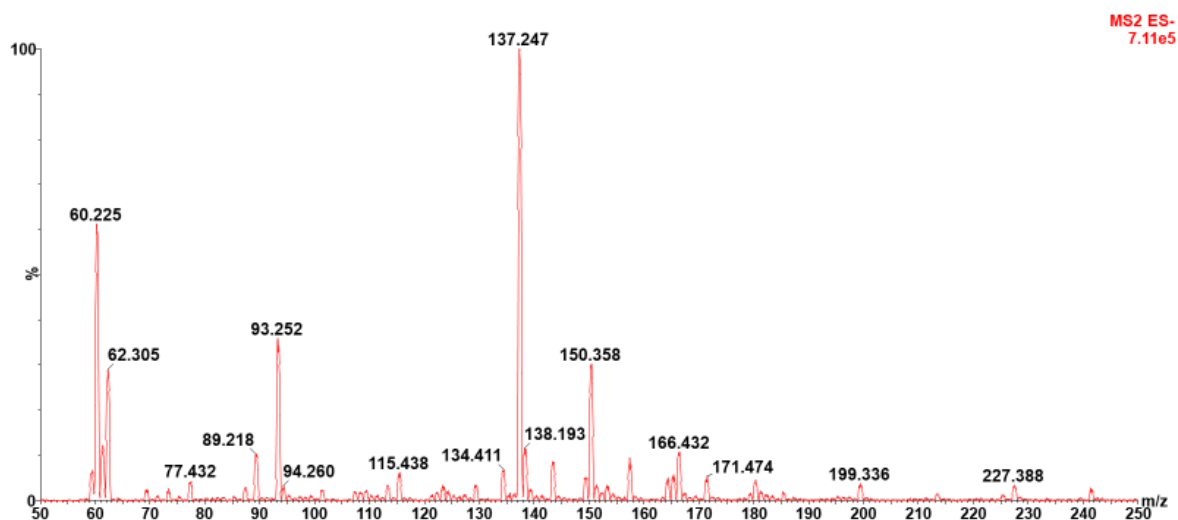
Obrázek 26 Hmotnostní spektrum vzorku Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu při odpojeném podtlaku



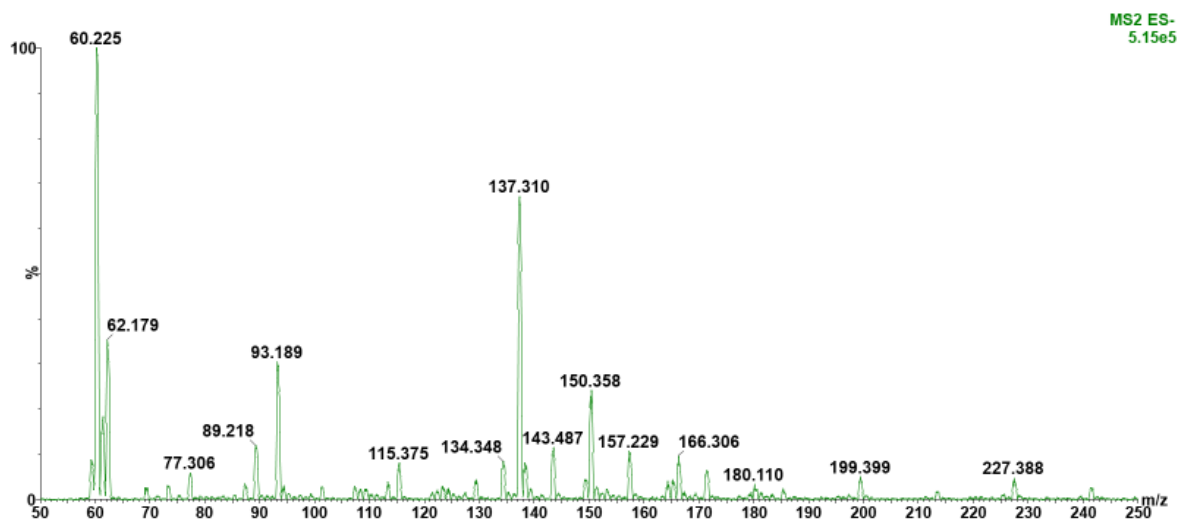
Obrázek 27 Hmotnostní spektrum vzorku Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu při podtlaku 0,05 baru



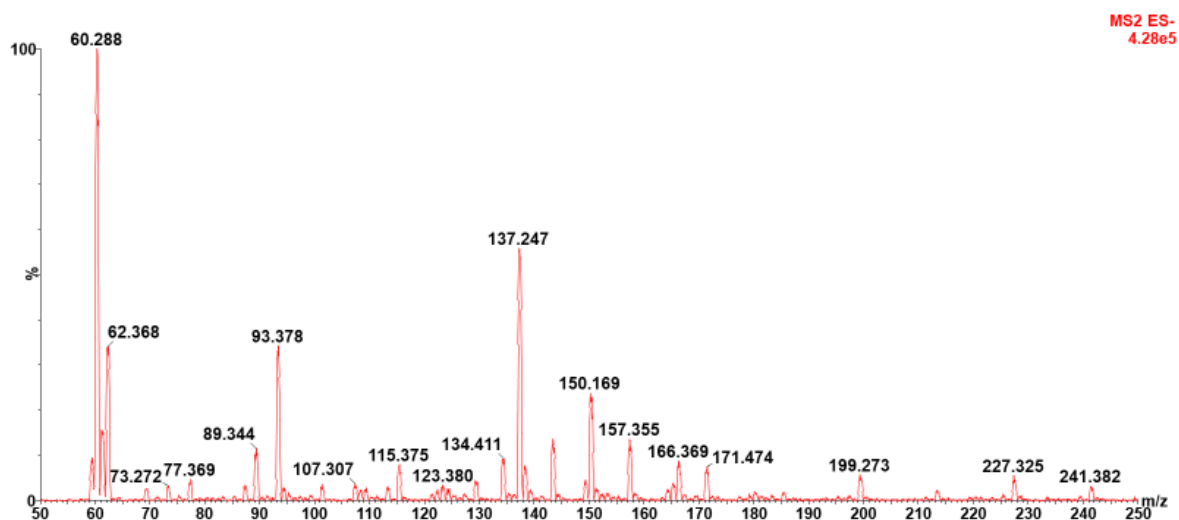
Obrázek 28 Hmotnostní spektrum vzorku Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu při podtlaku 0,2 baru



Obrázek 29 Hmotnostní spektrum vzorku Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu při podtlaku 0,4 baru



Obrázek 30 Vzorek Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu při podtlaku 0,6 baru



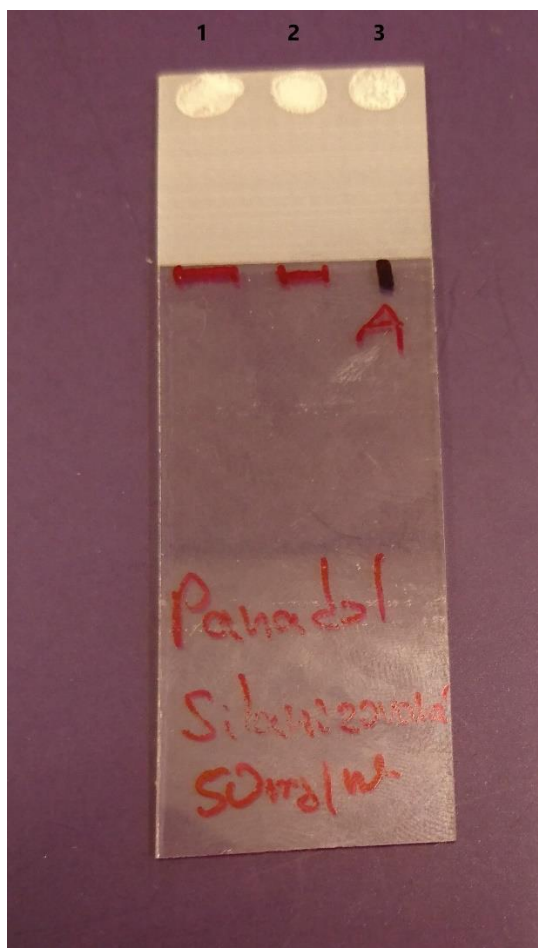
Obrázek 31 Vzorek Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu při podtlaku 0,75 baru

Z výše uvedených hmotnostních spekter (obr. 20-25) je zřejmé, že podtlak má zásadní vliv na kvalitu výsledků při analyzování přípravku Panadol extra. Bez nastavení nebo při velmi nízkém podtlaku (obr. 20 a 21) dochází k výraznému zhoršení poměru signálu k šumu. Zvýšení podtlaku (obr. 24 a 25) vede k snižování intenzit sledovaných iontů, což rovněž nelze považovat za vhodné. Na obr. 26-31 jsou zobrazena hmotnostní spektra

přípravku Acylpyrinu měřeného při různých podtlacích v negativním módu. Stejně jako v případě Panadolu extra má podtlak i u Acylpyrinu zásadní vliv na kvalitu výsledných hmotnostních spekter. Jako optimální podtlak k měření komerčních léčivých přípravků Panadol extra a Acylprin se ukázala hodnota 0,4 baru (obr. 23 a 29).

4.4 Analýza kombinovaných vzorků komerčních léčiv desorpčním nanoelektrosprejem

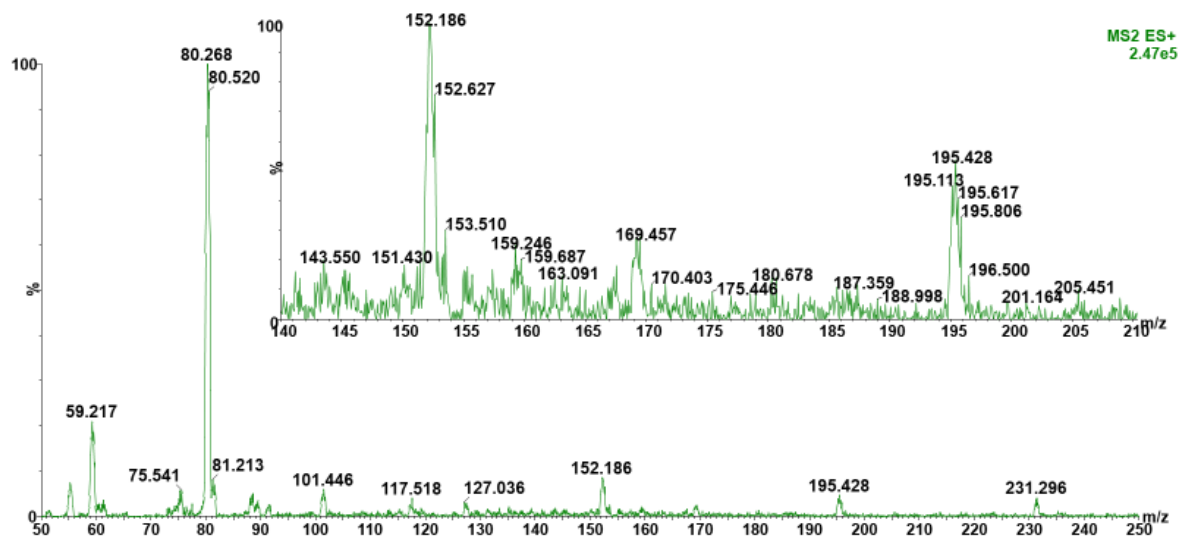
Na silanizované mikroskopické sklíčko byly nanесeny dvě kapky suspenze vzorku Panadolu extra na dvě různá místa a jedna kapka vzorku Acylpyrinu (obr. 32). Oba vzorky byly připraveny ve formě suspenze jak je uvedeno v kapitole 2.2.2. Jelikož se Panadol extra měří při pozitivním módu a Acylpyrin při negativním, bylo provedeno měření všech tří vzorků nejprve v pozitivním módu, poté v negativním. Na obr. 33 a 34 jsou zobrazena hmotnostní spektra přípravku Panadol extra z různých pozic.



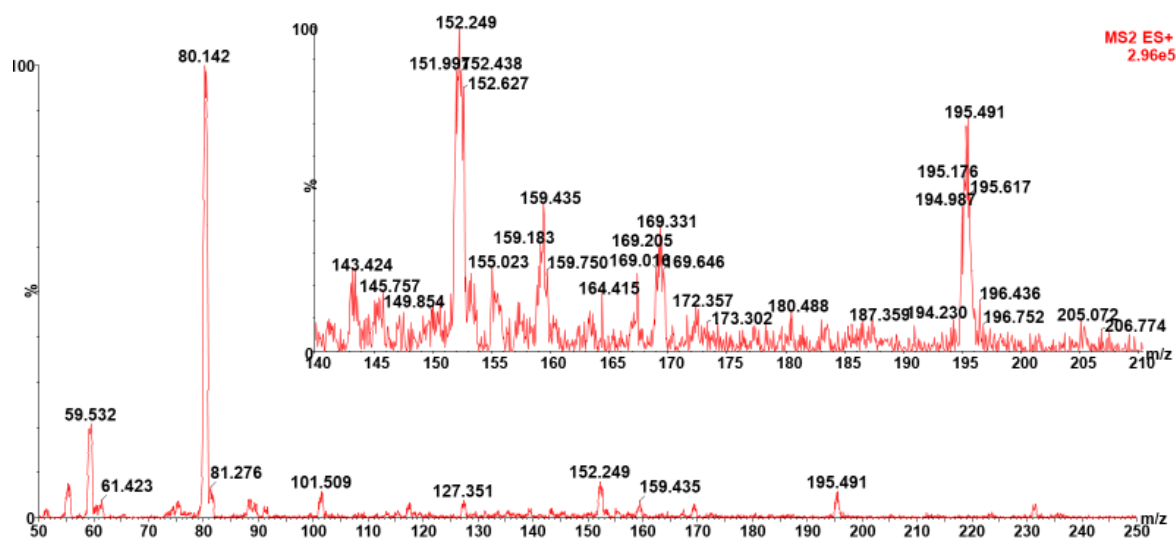
Obrázek 32 Silanizované mikroskopické sklíčko s nanесenými vzorky ve formě suspenzí.

1) kapka Panadolu extra, 2) kapka Panadolu extra, 3) kapka Acylpyrinu.

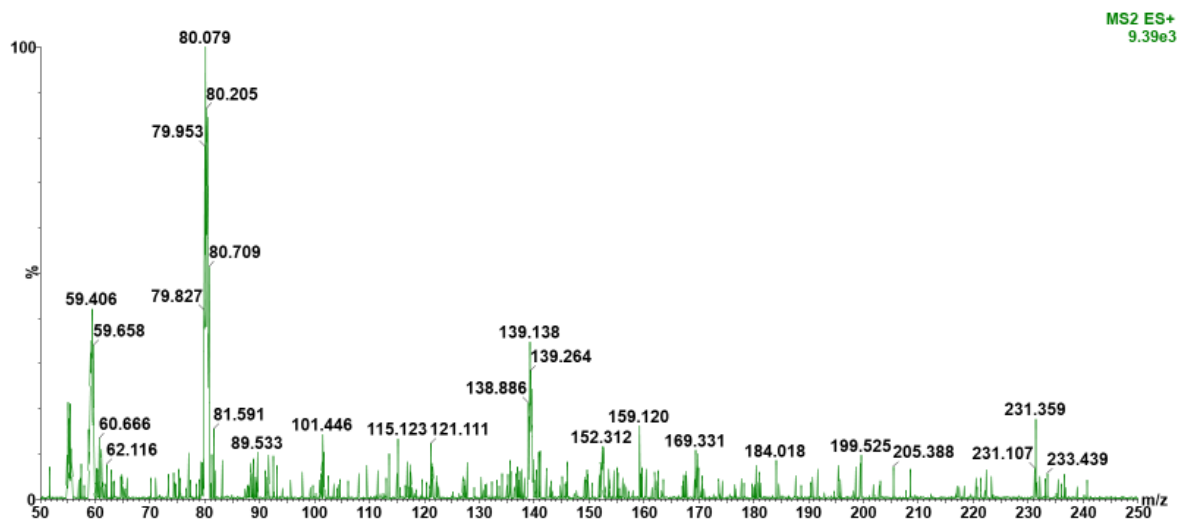
4.4.1 Měření v pozitivním módu



Obrázek 33 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra nanoseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu z pozice 1 viz obr. 32



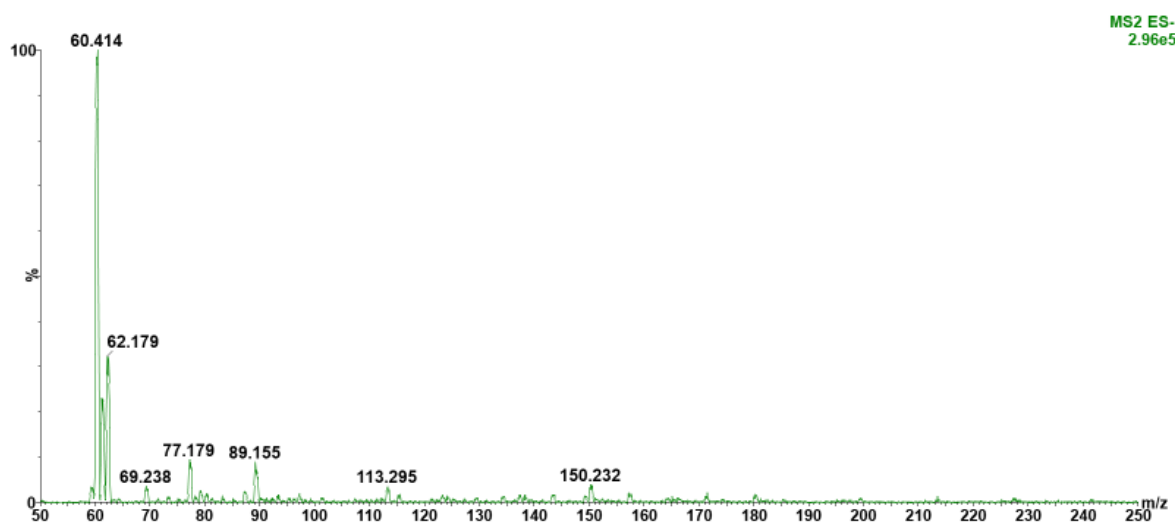
Obrázek 34 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra nanoseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu z pozice 2 viz obr. 32



Obrázek 35 Hmotnostní spektrum vzorku Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v pozitivním módu z pozice 3 viz obr. 32

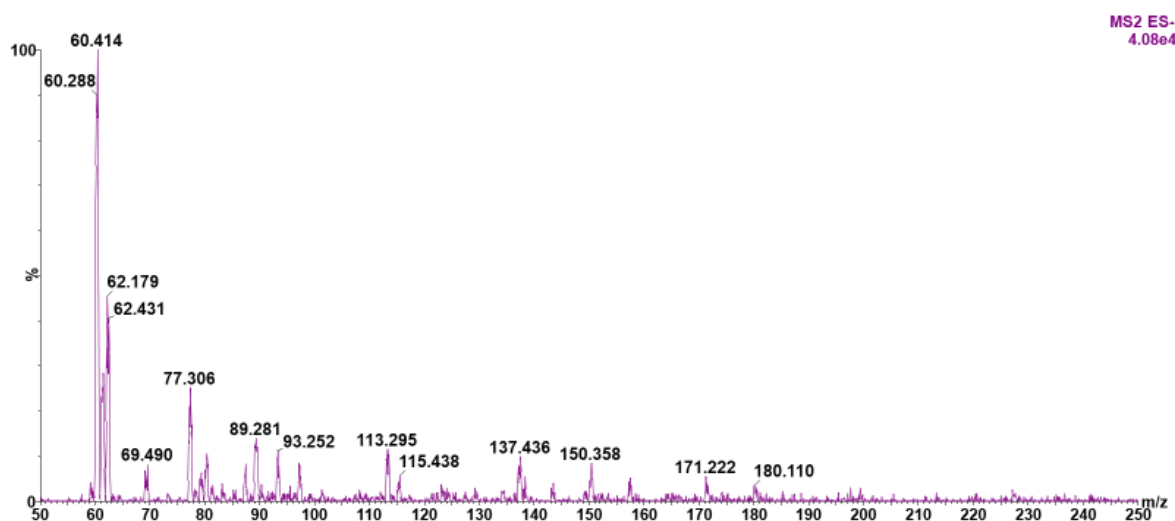
Při měření v pozitivním módu poskytují účinné látky z přípravku Panadol extra hledané ionty. V případě látky paracetamolu se jedná o ion m/z 152 a u kofeinu jde o m/z 195. V přípravku Acylpyrin je obsažena jako účinná látka kyselina acetylsalicylová, která poskytuje ionty m/z 179 a fragment m/z 137, avšak v negativním módu. Z hmotnostních spekter uvedených na obr. 33, 34 a 35 je patrné, že lze zaznamenat přítomnost Panadolu extra na povrchu a že kyselina acetylsalicylová není v pozitivním módu detekovatelná.

4.4.2 Měření v negativním módu



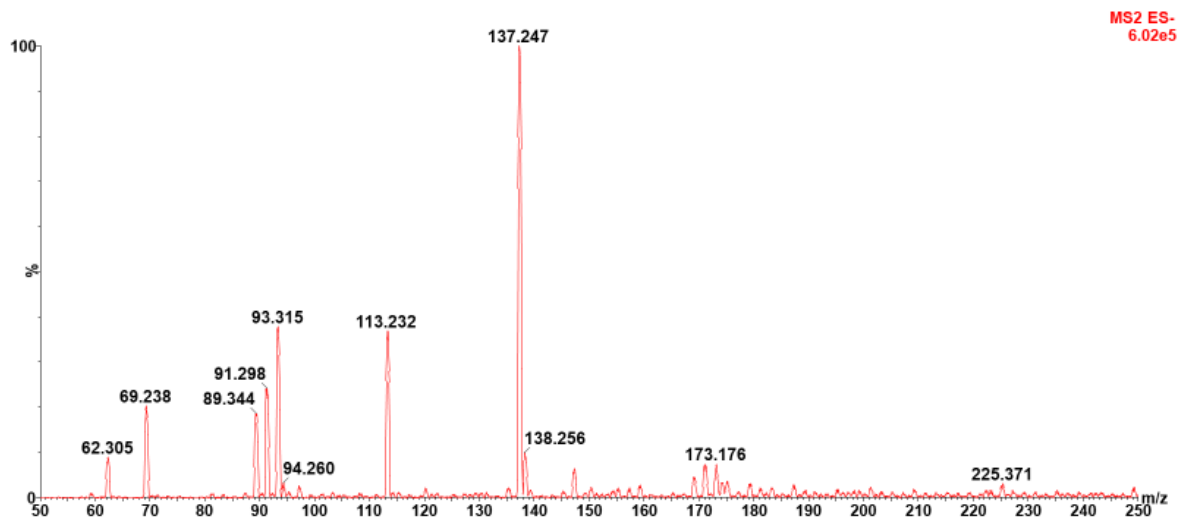
Obrázek 36 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu z pozice 1 viz obr.

32



Obrázek 37 Hmotnostní spektrum vzorku Panadolu extra naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu z pozice 2 viz obr.

32



Obrázek 38 Hmotnostní spektrum vzorku Acylpyrinu naneseného ve formě suspenze, ionizace desorpčním nanoelektrosprejem, měřeno v negativním módu z pozice 3 viz obr.

32

Na obr. 36, 37 a 38 jsou uvedena hmotnostní spektra z měření kombinovaných vzorků komerčních léčiv v negativním módu. Při měření v negativním módu dochází k fragmentaci iontu m/z 179 kyseliny acetylsalicylové, která je obsažena v přípravku Acylpyrin jako účinná substance. Odštěpením acetylové skupiny C_2H_2O vzniká intenzivní ion m/z 137. Látky paracetamol a kofein, což jsou účinné látky z přípravku Panadol extra, nebyly v negativním módu efektivně detekovány. Možnou známkou přítomnosti paracetamolu může být ion m/z 150 odpovídající jeho deprotonované molekule (obr. 36 a 37).

5. ZÁVĚR

Řada technik analytické chemie má své uplatnění i při analýze otisků prstů. Jejich využitím lze zjistit informace o chemickém složení otisku či jej zobrazit. K používaným technikám patří i hmotnostní spektrometrie s desorpčním elektrosprejem, pomocí něhož lze získat informace o chemickém složení a po rekonstrukci i obraz otisku. V této práci byla pozornost věnována využití unikátní techniky tzv. desorpčního nanoelektrospreje (nanoDESI) při analýze povrchů kontaminovaných běžně dostupnými léčivými pro utlumení bolesti. Jednalo se o tablety Panadolu extra a Acylpyrinu. Postupnými experimenty byly nalezeny vhodné podmínky pro analýzy. Kromě ionizace byla ověřována fragmentace aktivních farmaceutických substancí obsažených ve zkoumaných komerčních léčivých přípravcích. Jmenovitě se jednalo o paracetamol, kofein a kyselinu acetylsalicylovou. Pomocí elektrospreje byly proměřeny standardy, technikou nanoDESI byl měřen otěr tablety na skličku popř. vzorek po zaschnutí nanosené kapky suspenze tablety. Z hmotnostních spekter je zřejmé, že na kvalitu nanoDESI spektra má významný vliv regulace podtlaku ve vstupní části hmotnostního spektrometru. Nejvyšší záznam byl získán při podtlaku 0,4 baru. Následně bylo zjištěno, že při použití teflonového nástavce připevněného na mikroskopické skličko se vzorkem dochází ke snížení signálu v hmotnostním spektru a z hodnot relativních směrodatných odchylek nevyplývalo ani zlepšení opakovatelnosti měření, které bylo dříve pro jinou konfiguraci iontového zdroje pozorováno [50]. Při měření kombinovaných vzorků léčiv (obě léčiva byla přítomna na analyzovaném povrchu) byla prováděna analýza v kladném a záporném módu a byla ukázána schopnost nanoDESI poskytnout signál pro odlišení míst na povrchu s deponovaným Acylpyrinem nebo Panadolem extra.

Na tyto experimenty je možné navázat samotným proměřováním otisků prstů, kdy bude ještě nutné ověřit povrchové rozlišení nanoDESI. V minulosti bylo demonstrováno rozlišení v desítkách mikrometrů, což by mělo být postačující, ale kritickým parametrem pak může být citlivost. Z tohoto důvodu bylo důležité testovat regulaci podtlaku [51].

LITERATURA

- [1] S. H. James, J. J. Nordbye, Forensic science, Taylor & Francis, Abingdon 2005.
- [2] F. Rowell, J. Seviour, A. Yimei, C. G. Elumbaring-Salazar, J. Loke, J. MA, Detection of nitro-organic and peroxide explosives in latent fingermarks by DART- and SALDI-TOF-mass spectrometry. *Forensic Science International*, 221, (2012), 84–91.
- [3] R. V. Taudte, A. Beavis, L. Blanes, N. Cole, P. Doble, C. Roux, Detection of gunshot residues using mass spectrometry, *BioMed Research International*, (2014).
- [4] M. J. West, M. J. Went, Detection of drugs of abuse by Raman spectroscopy, *Drug Testing and Analysis*, 3, (2011), 532–538.
- [5] Q. Wei, M. Zhang, B. Ogorevc, X. Zhang, Recent advances in the chemical imaging of human fingermarks, *The Analyst*, 141, (2016), 6172–6189.
- [6] B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, Wiley, Hoboken 2004.
- [7] M. Tahtouh, P. Despland, R. Shimmonn, J. R. Kalman, B. J. Reedy, The application of infrared chemical imaging to the detection and enhancement of latent fingerprints: Method optimization and further findings. *Journal of Forensic Sciences*, 52, (2007), 1089–1096.
- [8] A. Banas, K. Banas, M. B. H. Breese, J. Loke, B. H. Teo a S. K. Lim, Detection of microscopic particles present as contaminants in latent fingerprints by means of synchrotron radiation-based Fourier transform infra-red micro-imaging. *The Analyst*, 137, (2012), 3459.
- [9] A. Hemmila, J. Mcgill, D. Ritter. Fourier transform infrared reflectance spectra of latent fingerprints: A biometric gauge for the age of an individual. *Journal of Forensic Sciences*, 53, (2008), 369–376.
- [10] N. Broll, Quantitative x-ray fluorescence analysis. Theory and practice of the fundamental coefficient method. *X-Ray Spectrometry*, 15, (1986), 271–285.
- [11] Ch. G. Worley, L. Tandon, P. T. Martinez, D. L. Decker, Application of micro-XRF for nuclear materials characterization and problem solving. *Powder Diffraction*, 28, (2013), 127–131.
- [12] Ch. G. Worley, S. S. Wiltshire, T. C. Miller, G. J. Havrilla, V. Majidi, Detection of visible and latent fingerprints using micro-X-ray fluorescence elemental imaging. *Journal of Forensic Sciences*, 51, (2006), 57–63.
- [13] A. M. Knowles, Aspects of physicochemical methods for the detection of latent fingerprints, *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 11, (1978), 713–721.

- [14] G. L. Thomas, The physics of fingerprints and their detection. *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 11, (1978), 722–731.
- [15] D. L. Exline, C. Wallace, C. Roux, C. Lennard, M. P. Nelson, P. J. Treado, Forensic applications of chemical imaging: Latent fingerprint detection using visible absorption and luminescence. *Journal of Forensic Sciences*, 48, (2003), 1047–1053.
- [16] K. M. Antione, S. Mortazavi, A. D. Miller, L. M. Miller, Chemical differences are observed in children's versus adults' latent fingerprints as a function of time. *Journal of Forensic Sciences*, 55, (2010), 513–518.
- [17] J. R. Ferraro, K. Nakamoto, C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy: Second Edition*, Academic Press, Cambridge 2003.
- [18] A. V. Ewing, S. G. Kazarian, Infrared spectroscopy and spectroscopic imaging in forensic science, *The Analyst*, 142, (2017), 257–272.
- [19] J. S. Day, H. G. M. Edwards, S. A. Dobrowski, A. M. Voice. The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman spectroscopy I: Latent fingerprints, *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 60, (2004), 563–568.
- [20] X. Zhang, C. R. Yonzon, R. P. Duyn, An electrochemical surface-enhanced Raman spectroscopy approach to anthrax detection, *Proceedings of SPIE*, 5221, (2003), 82–91.
- [21] W. Song, Z. Mao, X. Liu, Y. Lu, Z. Li, B. Zhao, L. Lu, Detection of protein deposition within latent fingerprints by surface-enhanced Raman spectroscopy imaging, *Nanoscale*, 4, (2012), 2333.
- [22] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingermark residue: A qualitative and quantitative review, *Forensic Science International*, 223, (2012), 10–24.
- [23] Z. Tákats, J. M. Wiseman, B. Gologan, R. G. Cooks, Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization, *Science*, 306, (2004), 471–473.
- [24] P. Nemes, A. A. Barton, Y. Li, A. Vertes, Ambient Molecular Imaging and Depth Profiling of Live Tissue by Infrared Laser Ablation Electrospray Ionization Mass Spectrometry, *Analytical chemistry*, 80, (2008), 4575–4582.
- [25] A. B. Costa, R. G. Cooks, Simulated splashes: Elucidating the mechanism of desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Chemical Physics Letters*, 464, (2008), 1–8.
- [26] D. R. Ifa, N. E. Manicke, A. L. Dill, R. G. Cooks, Latent fingerprint chemical imaging by mass spectrometry, *Science*, 321, (2008), 805.

- [27] V. Kertesz, G. J. Berkel, Improved imaging resolution in desorption electrospray ionization mass spectrometry, *Organic and Biological Mass Spectrometry Group*, 22, (2008), 2639-2644.
- [28] M. F. Mirabelli, A. Chramow, E. C. Cabral, D. R. Ifa, Analysis of sexual assault evidence by desorption electrospray ionization mass spectrometry *Journal of Mass Spectrometry*, 48, (2013), 774–778.
- [29] M. Benton, M. J. Chua, F. Gu, F. Rowell, J. Ma, Environmental nicotine contamination in latent fingermarks from smoker contacts and passive smoking, *Forensic Science International*, 200, (2010), 28–34.
- [30] A. Y. Lim, J. Seviour, Doped silica nanoparticles for the detection of pharmaceutical terbinafine in latent fingerprints by mass spectrometry, *Analytical Methods*, 4, (2012), 1983-1988.
- [31] L. Sundar, F. Rowell, Detection of drugs in lifted cyanoacrylate-developed latent fingermarks using two laser desorption/ionisation mass spectrometric methods, *The Analyst*, 139, (2014), 633–642.
- [32] S. Francese, R. Bradshaw, N. Denison, An update on MALDI mass spectrometry based technology for the analysis of fingermarks – stepping into operational deployment, *The Analyst*, 142, (2017), 2518–2546.
- [33] R. Wolstenholme, R. Bradshaw, M. R. Clench, S. Francese, Study of latent fingermarks by matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging of endogenous lipids, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23, (2009), 3031–3039.
- [34] S. Francese, R. Bradshaw, L. S. Ferguson, R. Wolstenholme, M. R. Clench, S. Bleay, Beyond the ridge pattern: multi-informative analysis of latent fingermarks by MALDI mass spectrometry, *The Analyst*, 138, (2013), 4215-4228.
- [35] L. S. Ferguson, S. Creasey, R. Wolstenholme, M. R. Clench, S. Francese, Efficiency of the dry-wet method for the MALDI-MSI analysis of latent fingermarks, *Journal of Mass Spectrometry*, 48, (2013), 677–684.
- [36] L. Ferguson, R. Bradshaw, R. Wolstenholme, M. Clench, S. Francese, Two-step matrix application for the enhancement and imaging of latent fingermarks. *Analytical Chemistry*, 83, (2011), 5585–5591.
- [37] M. E. Dueñas, L. Carlucci, Y. J. Lee, Matrix Recrystallization for MALDI-MS Imaging of Maize Lipids at High-Spatial Resolution, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 27, (2016), 1575–1578.

- [38] S. Francese, R. Bradshaw, B. Flinders, C. Mitchell, S. Bleay, L. Cicero, M. R. Clench, Curcumin: A multipurpose matrix for MALDI mass spectrometry imaging applications, *Analytical Chemistry*, 85, (2013), 5240–5248.
- [39] R. Bradshaw, R. Wolstenholme, R. D. Blackledge, M. R. Clench, L. S. Ferguson, S. Francese, A novel matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging based methodology for the identification of sexual assault suspects, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25, (2011), 415–422.
- [40] G. Groeneveld, M. Puit, S. Bleay, R. Bradshaw, S. Francese, Detection and mapping of illicit drugs and their metabolites in fingerprints by MALDI MS and compatibility with forensic techniques, *Scientific Reports*, 5, (2015), 1-11.
- [41] S. Muramoto, E. Sisco, Strategies for Potential Age Dating of Fingerprints through the Diffusion of Sebum Molecules on a Nonporous Surface Analyzed Using Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 87, (2015), 8035–8038.
- [42] M. I. Szyrkowska, K. Czerski, J. Rogowski, T. Paryjczak, A. Parczewski, ToF-SIMS application in the visualization and analysis of fingerprints after contact with amphetamine drugs, *Forensic Science International*, 184, (2009), 2008–2010.
- [43] N. A. Montalto, J. J. Ojeda, B. J. Jones, Determining the order of deposition of natural latent fingerprints and laser printed ink using chemical mapping with secondary ion mass spectrometry, *Science and Justice*, 53, (2013), 2–7.
- [44] N. J. Bright, T. R. Willson, D. J. Driscoll, S. M. Reddy, R. P. Webb, S. Bleay, N. I. Ward, K. J. Kirkby, M. J. Bailey, Chemical changes exhibited by latent fingerprints after exposure to vacuum conditions, *Forensic Science International*, 230, (2013), 81–86.
- [45] N. E. Archer, Y. Charles, J. A. Elliott, S. Jickells, Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface, *Forensic Science International*, 154, (2005), 224–239.
- [46] R. S. Croxton, M. G. Baron, D. Butler, T. Kent, V. G. Sears, Development of a GC-MS method for the simultaneous analysis of latent fingerprint components, *Journal of Forensic Sciences*, 51, (2006), 1329–1333.
- [47] S. Michalski, R. Shaler, F. L. Dorman, The Evaluation of Fatty Acid Ratios in Latent Fingerprints by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) Analysis, *Journal of Forensic Sciences*, 58, (2013), 215-220.
- [48] H. C. Lee, R. E. Gaensslen, *Advances in Fingerprint Technology*, CRC Press, Boca Raton 2001.

- [49] R. A. Musah, R. B. Cody, A. J. Dane, A. L. Vuong, J. R. E. Shepard, Direct analysis in real time mass spectrometry for analysis of sexual assault evidence, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26, (2012), 1039–1046.
- [50] L. Hartmanová, P. Fryčák, M. Sural, F. Tureček, V. Havlíček, K. Lemr, Ion internal energy, salt tolerance and a new technical improvement of desorption nanoelectrospray, *Journal of Mass Spectrometry*, 49, (2014), 750–754.
- [51] 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.

SEZNAM ZKRATEK

- α -CHCA** - kyselina α -kyano-4-hydroxyskořicová
- ATR** - zeslabený úplný odraz, attenuated total reflection
- BTEM** - band-target entropy minimization
- CE-MS** - kapilární elektroforéza-hmotnostní spektrometrie, capillary electrophoresis–mass spectrometry
- CNA** – kyselina kyanoakrylová
- DART** - přímá analýza v reálném čase, direct analysis in real time
- DESI** - desorpční elektrosprej, desorption electrospray ionization
- DW** – „dry-wet“
- ESI** - ionizace elektrosprejem, electrospray ionization
- FTIR** – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací, Fourier-transform infrared spectroscopy
- GC-MS** - plynová chromatografie- hmotnostní spektrometrie, gas chromatography-mass spectrometry
- HPLC-MS** – vysokoúčinná kapalinová chromatografie-hmotnostní spektrometrie, high performance liquid chromatography-mass spectrometry
- LAESI** - laserová ablace ve spojení s elektrosprejovou ionizací, laser ablation electrospray ionization
- LDI** – desorpce a ionizace laserem, laser desorption ionization
- MALDI** - desorpce/ionizace laserem za účasti matrice, matrix–assisted laser desorption/ionization
- MSI** – hmotnostně spektrometrické zobrazování, mass spectrometry imaging
- MXRF** – mikro rentgenová fluorescenční spektrometrie, micro-X-ray fluorescence
- NanoDESI** - desorpční nanoelektrosprej, desorption nanoelectrospray
- SALDI** - desorpce laserem za účasti povrchu, surface-assisted laser desorption ionization
- SC** – sprejem potahované, spray coated
- SEM** - skenovací elektronová mikroskopie, scanning electron microscopy
- SERS** – povrchem zesílený Ramanův rozptyl, surface-enhanced Raman scattering
- SIMS** - hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů, secondary ion-mass spectrometry

SR-FTIR - infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací a synchrotronovým zdrojem, synchrotron radiation-based FTIR

TOF - průletový analyzátor, time of flight

UV – ultrafialové, ultraviolet