

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Fakulta přírodovědecká

Katedra analytické chemie



Hmotnostní spektrometrie v archeologii

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2013

Vypracovala: Sandra Benická

Obor: Chemie

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

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, 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

Poděkování:

Děkuji svému vedoucímu prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph.D. za odborné vedení při práci a pomoc poskytnutou při vypracovávání. Dále velký dík patří M.Sc. Andree Marii Iordache, Ph.D. za její pomoc při provádění experimentu. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým rodičům a přátelům za podporu během celého mého studia.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Sandra Benická
Název práce: Hmotnostní spektrometrie v archeologii
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Katedra analytické chemie
Vedoucí práce: prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.
Rok obhajoby: 2013
Počet stran: 46
Jazyk: čeština

Souhrn:

Archeologie má pro odhalení života v minulosti nezastupitelný význam. Proto je důležité hledat nové metody, které by poskytovaly správné a přesné výsledky pro hodnocení archeologických nálezů. Práce byla zaměřena na zkoumání možností a vhodnosti použití různých ionizačních technik hmotnostní spektrometrie na studium archeologických artefaktů. Teoretická část práce je zaměřena na uplatnění jednotlivých technik na nejrůznější archeologické nálezy (kosti, zuby, keramika, sklo, obsidiány, kovové předměty atd.). Experimentální část práce byla zaměřena na analýzu látek se stejným sumárním vzorcem - fumarové kyseliny a produktů vzniklých dehydratací jablečné kyseliny. Fumarová kyselina může být markerem přítomnosti vína ve starých nádobách, jablečná kyselina patří k nejdůležitějším kyselinám ve víně. Při experimentu bylo použito ionizace elektrosprejem a sondy ASAP. Cílem bylo prověřit možnosti studovaných ionizačních technik a kombinace iontové mobility s hmotnostní spektrometrií při analýze uvedených látek. Dosažené výsledky ukazují výhodnost kombinace iontové mobility a hmotnostní spektrometrie při odlišení látek se stejným sumárním vzorcem. Oba studované iontové zdroje dovolují dosáhnout potřebné ionizace. Sonda ASAP byla testována jako nástroj pro získání informací o neupraveném vzorku vína. Ukázalo se, že lze ionizovat řadu látek ve víně.

Klíčová slova: Hmotnostní spektrometrie, archeologie, elektrosprej, ASAP, jablečná kyselina, fumarová kyselina

Summary:

Archaeology has irreplaceable importance in detection of everyday life in history. Therefore it is important to find new methods which can provide correct and accurate results for evaluation of archaeological finds. The work was focused on suitability of various techniques of mass spectrometry in study of archaeological artifacts. A theoretical part is focused on the use of analytical techniques in investigation of various archeological finds (bones, teeth, ceramics, glass, obsidians, metal objects etc.). An experimental part of the work was focused on analysis of compounds with the same molecular formula - fumaric acid and products of dehydration of malic acid. Fumaric acid can be a marker of presence of wine in old containers. Malic acid belongs to the most important acids in wine. Ionization by electrospray and ASAP probe was tested. The aim was to use the ionization techniques and combination of ion mobility with mass spectrometry to distinguish mentioned compounds. The results demonstrate advantage of combination of ion mobility and mass spectrometry for differentiation of compounds with the same molecular formula. Both studied ion sources allow sufficient ionization. The probe ASAP was tested to obtain information on untreated sample of wine. It could serve to get a finger print of wine samples.

Keywords: Mass spectrometry, archaeology, electrospray, ASAP, malic acid, fumaric acid

Obsah:

1. Úvod	8
2. Teoretická část	9
2.1 Analytická chemie v archeologickém výzkumu	9
2.2 Vybrané analytické metody v archeologii	9
2.3 Hmotnostní spektrometrie	14
2.3.1 Prvková analýza	14
2.3.2 Analýza molekul	18
3. Experimentální část	25
3.1 Přístrojové vybavení	25
3.2 Chemikálie	25
4. Výsledky a diskuze	26
4.1 Analýza s využitím elektrospreje	26
4.2 Analýza s využitím sondy ASAP	31
5. Závěr	40
Citovaná literatura	41

1. Úvod

Hmotnostní spektrometrie (MS) je fyzikálně-chemická metoda, která se využívá ke kvalitativní i kvantitativní analýze látek. Slouží k identifikaci neznámých látek, určování izotopového složení prvků ve vzorku a zároveň je tato metoda schopna poskytnout informace o struktuře analyzované látky. Hmotnostní spektrometrie je rychlou, specifickou a citlivou metodou a je často využívána i ve spojení s moderními separačními metodami.

Hmotnostní spektrometrie má velice široké využití. Je nepostradatelná nejen z hlediska klinické biochemie pro analýzu organických látek, ale také z hlediska dešifrování doposud skrytých informací z archeologických nálezů. Hmotnostní spektrometrii lze aplikovat na skleněné artefakty, keramiku, lidské ostatky, kovové objekty, pigmenty atd. Ze získaných dat se lze dopátrat nejen původu archeologického nálezu, ale také k čemu nalezený artefakt s největší pravděpodobností dříve sloužil. Analýzy archeologických nálezů hrají důležitou roli při studiu vývoje lidské civilizace a vztahu člověka k životnímu prostředí.

Vzhledem k důležitosti archeologie a často nenahraditelnosti zkoumaných předmětů je nutné hledat vhodné metody, které lze na historické předměty aplikovat. Práce byla zaměřena na uplatnění hmotnostní spektrometrie v archeologickém výzkumu. Na vybraných příkladech je demonstrována širší uplatnění této techniky. Praktická část byla zaměřena na analýzu fumarové kyseliny (marker přítomnosti vína ve starých nádobách) a produktů dehydratace jablečné kyseliny (jedna z významných kyselin ve víně), což jsou látky se stejným sumárním vzorcem, přičemž byla testována ionizace elektrosprejem a sonda ASAP. Současně bylo využito kombinace iontové mobility s hmotnostní spektrometrií.

2. Teoretická část

2.1 Analytická chemie v archeologickém výzkumu

Starodávné objekty, reprezentující kulturní dědictví minulých generací, jsou často využívány k odkrývání tajemství o životě před dávnými lety. Analýza těchto materiálních pozůstatků hraje nesmírně důležitou roli při datování, zjišťování původu, určení výrobní technologie, využití a v neposlední řadě slouží k objasnění vztahu původní civilizace k životnímu prostředí [1]. Archeologie se ovšem nezabývá pouze věcmi, nýbrž i lidmi. Nejen studiem předmětů, ale i půd a sedimentů jsou vědci schopni zrekonstruovat, jak přesně vypadal každodenní život lidí před dávnými lety – čím se stravovali, jaké měli technické dovednosti a kulturní sklony, jak využívali přírodních zdrojů atd. Z analýz keramických a skleněných pozůstatků je například možno usuzovat, kudy lidé vedli obchodní cesty, rekonstrukce starodávných měst pomáhá poodhalit ekonomické rozložení společnosti, vyspělost a kulturní sklony obyvatel [2]. Nábožensky a vědecky bohaté nálezy nejčastěji ukrývají pohřebiště – zde se nenacházejí pouze pohřbená těla, ale i oděvy a rituální předměty, které dokreslují mentalitu a víru tehdejší civilizace. Střípky do starodávné mozaiky poskytuje i analýza pozůstatků zvířat [3] – nejen domácích mazlíčků a užitkových zvířat, ale například i hmyzu, která dokresluje environmentální a ekologickou situaci dané doby.

Pro studium archeologických nálezů je nesmírně důležité použití techniky, která by byla schopna poskytnout co nejvíce informací o daném předmětu. Metody analytické chemie, které umožňují kvalitativní i kvantitativní analýzu neznámého materiálu, jsou tedy pro archeologický výzkum nepostradatelné. Vzhledem k velké rozmanitosti archeologických nálezů (zuby, kosti, sklo, keramika, kovové předměty, písemnosti atd. [4]), existuje velké množství technik, které jsou používány k účelům elementární a molekulové analýzy.

2.2 Vybrané analytické metody v archeologii

Jak již bylo řečeno, analytických metod, využívaných pro archeologické výzkumy, je celá řada a podle typu zkoumaných částic je lze rozdělit na techniky používané pro elementární analýzu a metody molekulové analýzy.

- elementární analýza

Své místo mezi metodami spadajícími pod elementární analýzu má optická emisní spektroskopie (OES). Dnes je to již pro potřeby archeologie zastaralá technika, která byla v 80. letech nahrazena atomovou absorpční spektroskopií (AAS), která však patřila k prvním instrumentálním technikám pro analýzu geologických, metalurgických a archeologických vzorků (pevné látky, kapaliny). Hlavní nevýhodou této metody byla neuspokojivá reprodukovatelnost excitačních podmínek a nedostatečná mez detekce. AAS je schopna analyzovat nízké koncentrace kovu ve vodných roztocích, což se uplatňuje při analýzách kovů například ve vodních tocích, ale i v tělních tekutinách. Z hlediska aplikace lze AAS využít nejen pro analýzy archeologických a geologických vzorků, ale i pro klinická vyšetření při analýze olova a dalších stopových prvků v kostech, krvi a moči. Obě výše zmíněné metody se využívají dodnes. Optická emisní spektrometrie se využívá ve spojení s buzením v indukčně vázaném plazmatu (ICP). Účinnost OES byla limitována nízkými teplotami plamene, které vedly ke generování malého počtu atomů v excitovaném stavu. Použitím plazmové hlavice, kde je dosahováno mnohem vyšších teplot (8000 - 10000 °C), byl tento problém eliminován [2].

Pro prvkovou analýzu lze využít rovněž rentgenových technik. Rentgenová fluorescenční spektrometrie (XRF) patří mezi nedestruktivní metody a využívá se při studiu povrchu vzorků. V archeologii je tato metoda aplikována, jestliže je nutná rychlá identifikace a semikvantitativní analýza široké škály materiálů zahrnující kovy a jejich slitiny, sklo, keramiku, glazury, pigmenty, drahé kameny a průmyslové nečistoty [2]. Rentgenová fluorescenční analýza byla například využita při studiu 44 archeologických vzorků keramiky pocházející ze severozápadní Sýrie. Celkem bylo stanoveno 17 různých chemických prvků. Studie měla odhalit složení vzorků a na základě výsledků měření měla určit vztah mezi jednotlivými artefakty. Zastoupení jednotlivých prvků hraje významnou roli při určování původu předmětu, eventuálně lze usuzovat, kudy vedly obchodní cesty [5]. Elektronová mikroanalýza kombinuje vysoké rozlišení elektronového mikroskopu s charakteristickým rentgenovým zářením či elektrony produkovanými při bombardování vzorku elektrony. Stejně jako rentgenová fluorescenční spektrometrie poskytuje informace o přítomnosti konkrétních prvků v analyzované látce. Využití našla zejména při analýze artefaktů z keramiky a kovů.

Ve 2. polovině minulého století došlo k nemalému využití těchto metod, zejména při analýze keramiky (pocházející především z Řecka, Kypru a východního Středozeří) a kovových předmětů z doby bronzové pocházejících z Evropy. Tyto rozsáhlé rozbory nevedly pouze k určení chemického složení (zastoupení jednotlivých prvků), ze získaných informací byla určena přibližná doba a místo vzniku i metody výroby využívané v dané době. Dalším příkladem může být použití metody AAS, kdy byla uskutečněna analýza 1200 střepů pocházejících z glazované islámské keramiky. Artefakty byly nalezeny v různých oblastech Egypta, Íránu, Iráku a Sýrie. Všechny vzorky mapovaly období 8. - 14. století našeho letopočtu. Pro měření byla kromě AAS použita i XRF (rentgenová fluorescenční spektrometrie). Výsledky měření odhalily, jaké látky byly použity při výrobě glazur, zároveň lze podle jejich chemického složení rozlišit, odkud keramika s onou glazurou zhruba pochází a lze přibližně určit stáří zkoumaného předmětu [2], [6]. Existuje mnoho dalších rentgenových technik, z nichž nejvyužívanější a nejznámější je rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) – známá také jako elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu (ESCA). Využívá se především k analýze povrchu materiálu [2].

Neutronová aktivační analýza (NAA) je další významnou analytickou metodou umožňující určení koncentrace velkého počtu prvků v široké škále archeologických materiálů. Od 50. let patří tato technika ke standardním metodám pro multielementární analýzu. Jednou z jejích hlavních výhod z hlediska archeologie je analýza pevných vzorků. Vzhledem k variabilitě výchozích surovin a antropogenním vlivům je určení původu keramiky velmi obtížné. NAA je schopna původ daného materiálu určit detekcí stopových prvků, které jsou pro keramiku určitého původu charakteristické. Je možné dohledat původ hlíny zkoumané keramiky. Neutronová aktivační analýza posloužila k určení původu keramiky například ze Sýrie, Mikronésie, Kypru, Egypta a Číny [2].

- analýza molekul

Optické spektroskopické techniky sloužící k analýze molekul jsou založeny na absorpci elektromagnetického záření v ultrafialové (UV), viditelné (VIS) a infračervené (IR) oblasti spektra (záleží na vlnové délce absorbovaného záření). Řadíme zde i Ramanovu spektroskopii sledující rozptyl. Výsledkem analýzy jsou molekulová spektra, která jsou

ovšem oproti spektrům atomovým značně složitější. Z archeologického hlediska byla metoda UV/VIS spektrometrie nepostradatelná při zkoumání zvýšené koncentrace fosfátů v půdě, což je výsledek lidské aktivity – jsou součástí organického odpadu, ostatků (kosti a měkké tkáně) nebo se do půdy dostaly hnojením. Infračervená spektrometrie našla uplatnění při studiu kostí objevených na archeologických nalezištích a charakterizování zdroje jantaru pocházejícího z Evropy. Ramanova spektrometrie je prakticky vzato doplňkovou metodou IR spektrometrie [2]. Ramanova spektrometrie a UV/VIS spektrometrie byly využity při analýze modrých a zelených pigmentů pocházejících z nástěnných maleb, masek, váz atd. Tyto historické artefakty byly objeveny při archeologických vykopávkách na území starých Mayů - naleziště Calakmulu v Mexiku. Analýza byla zaměřena na objasnění chemického složení a původu těchto pigmentů [7]. Infračervená spektrometrie je v dnešní době využívána zejména pro analýzu obrazů. Dovede odhalit, zda se pod aktuální malbou neskrývá malba jiná, nebo zda nebyl obraz na plátně nějak poupraven. Infračervená spektrometrie byla mimo jiné použita i při analýze dřevěného „kontejneru“, který sloužil k uchování ostatků. Artefakt pocházel z Cimitile v Itálii (z naleziště Complesso Basilicale), velký zájem archeologů vzbudil především z důvodu objevu nápisu na jeho spodní vnější straně. Nápis nebyl úplně čitelný pouhým okem, a proto bylo využito metody IR spektrometrie. Na základě výsledků analýzy dostali historikové a archeologové více informací o středověkém archeologickém nalezišti Complesso Basilicale. Na nalezeném artefaktu bylo čitelných pouze pár písmen a to „SCS“ v prvním řádku. Jedná se o zkratku slova Sanctus (tj. svatý). Písmena byla napsána černým inkoustem. Infračervenou spektrometrií byl odkryt text na druhém řádku. Jednalo se o písmena „MA“. Spolu se znakem „+“ a ve spojení s „SCS“ má odkrytý text pro archeology nesmírný význam, neboť se zmiňuje o relikviích (z konce třetího století) nolského biskupa – svatého Maxima. [8].

Další technikou využívanou při analýze molekul je rentgenová difrakce - ke zjištění krystalové struktury, z čehož lze identifikovat, o jakou chemickou sloučeninu se jedná. Na rozdíl od rentgenové fluorescenční spektrometrie a elektronové mikroanalýzy, které slouží ke stanovení koncentrace základních prvků v artefaktech, rentgenová difrakce (XRD) umožňuje identifikaci struktury dané látky. V některých případech může dále poskytnout informaci o mechanickém a tepelném zpracování artefaktu. Primárně se práškové XRD využívá při identifikaci jílových materiálů v keramice (s cílem charakterizovat daný typ keramiky) a k analýze zdrojů surovin. Další aplikace zahrnuje identifikaci pigmentů, glazur

a nástěnných maleb. XRD se také běžně používá při studiu korozních produktů vzniklých na povrchu kovů – to se týká železa, mědi a jejich slitin. Některé studie se zaměřily na strukturní a chemické změny, které se vyskytují v průběhu fosilizace, z čehož vyplývá aplikace pro datování některých materiálů [2]. Rentgenová difrakce byla například použita při analýze keramiky. Jednalo se o úlomky artefaktů pocházejících z Coga Zambil v jihozápadní části Íránu. Studie byla zaměřena na charakterizaci keramiky vyráběné v období 1250 před naším letopočtem. Výsledky analýzy poskytly informace o surovinách, ze kterých byla zkoumaná keramika vyráběna. Zároveň tato studie nastínila, jaká výrobní technika byla využívána při vzniku těchto historických artefaktů [9]. Další analýza, kde byla využita metoda rentgenové difrakce, se týkala čínského purpurového pigmentu. Při této analýze byla kromě XRD použita i termogravimetrická-diferenční termická analýza (TG-DTA). Výzkum se zabýval otázkou, z jakého materiálu byl pigment ve starověké Číně vyráběn a v jakém stavu výchozí materiál byl. Výsledky měření ukázaly, že čínský purpurový pigment je z přírodního minerálního zdroje - witheritu ($\text{Ba}[\text{CO}_3]$), který je zdrojem barya [10].

Archeologická rezidua jsou často směsí původních molekul, produktů rozkladu, nečistot zachycených při výrobě, skladování atd. Chromatografie je metoda, která umožňuje separovat směsi na jednotlivé komponenty. Při archeologickém výzkumu bylo chromatografických metod využito například v analýze vín. Bylo prováděno studium nejen zbytků vín, ale i amfor určitého tvaru, u kterých se předpokládalo, že ve své době víno uchovávaly [2]. Dále bylo chromatografie využito při analýze mastných kyselin, triacylglycerolů a sterolů. Mastné kyseliny byly nalezeny ve velkém množství v archeologických reziduiích. Jejich výskyt byl spojen s nádobami využívanými na vaření, lampami atd. Rozmístění zbytků v jednotlivých nádobách může poskytovat informace o použití nádoby. Mastné kyseliny byly také nalezeny v dochovaných lidských měkkých tkáních a kostech. Terpenoidy jsou sekundárním produktem rostlin. V minulosti byly lidmi široce využívány například jako důležitá složka při výrobě parfémů, léků, lepidel a hydroizolačních prostředků. V porovnání s ostatními organickými materiály nalezenými na archeologických nalezištích, terpenoidy vykazují dobrou stopu. Dochází k jejich degradaci na terpenoidy s nižší molekulovou hmotností. K analýze terpenoidů se nejčastěji využívá metoda GC (plynová chromatografie) - resp. GC/MS [2]. Polymerace monoterpenoidů a diterpenoidů dala vzniknout jantaru (byl zkoumán IR spektrometrií). Chromatografií lze analyzovat a identifikovat borovicovou smolu a pryskyřice. Z archeologických nálezů

vyplývá, že se tento materiál využíval na utěsnění amfor při přepravě a zároveň dodával chuť vínu. Metoda GC/MS byla takéž použita na studium a identifikaci včelího vosku z období 3700-3340 př. n. l. [2]. Uvedené naznačuje význam další analytické techniky, kterou je hmotnostní spektrometrie.

2.3 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrii lze rozdělit na molekulovou a atomovou. Molekulová MS slouží ke studiu molekul, naopak atomové MS se využívá při multielementární prvkové analýze.

Hmotnostní spektra podávají informaci o složení a struktuře analyzovaného vzorku. Z tohoto důvodu má MS široké využití. Tato technika je nepostradatelná nejen v lékařství, kriminalistice a toxikologii (např. antidopingové kontroly), ale své využití našla i v archeologii, geologii, potravinářském a vojenském průmyslu a v mnoha dalších oblastech, kde je potřeba rychle a správně identifikovat neznámé látky [11].

Součástí každého hmotnostního spektrometru je iontový zdroj, hmotnostní analyzátor, detektor, vakuový systém a řídicí počítač [12]. Zajímavou součástí hmotnostních spektrometrů se v poslední době stává iontová mobilita, která přidává další separační rozměr.

2.3.1 Prvková analýza

Z hlediska prvkové analýzy má v analýze archeologických artefaktů důležitou roli LA-ICP-MS (laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry). Je to výkonná analytická metoda umožňující multielementární stopovou analýzu, mimo to je schopna určit i izotopové složení. Pomocí LA-ICP-MS lze zkoumat nejrozmanitější archeologické materiály, jako jsou lidské ostatky (kosti a zuby), obsidiány a sklo, polodrahokamy, kovové a keramické předměty, písemné památky a další materiály [13]. Co se týče experimentálního uspořádání této metody, na povrch vzorku je namířen laser, působením pulzů laseru vznikají částice, které jsou proudem argonu (nebo helia) unášeny do plazmového hořáku, kde dochází ke generování iontů. Z analýzy kosterních pozůstatků lze zjistit nejen jaké stravovací návyky

měly minulé populace, ale také jakými chorobami trpěly a zda nebyly vystaveny jedům a znečištění prostředí. Velice často (pokud je to možné) se provádí analýza zubů, vlasů a kostí [1]. Analýza zubů byla například prováděna na chilské mumii z města Arica a na zubech egyptských dětí z populace žijící v nilské deltě. Na těchto vzorcích byl měřen obsah olova, stroncia, zinku a lithia v zubních tkáních. Analýzou bylo zjištěno, že obsah olova u vzorků pocházejících z Egypta byl v průměru o řád vyšší, než obsah v zubní tkáni z chilské mumie. Vyšší zastoupení olova bylo důsledkem expozice antropogenním zdrojům olova, příkladem může být olovnatý benzín. Naopak obsah lithia byl vyšší v zubní tkáni odebrané z chilské mumie, důvodem byl přirozeně vyšší obsah lithia ve vodě, která se nalézala blízko pohřebiště, kde byla mumie nalezena [14]. Ve vlasech dochází k usazování toxických prvků, zároveň lze analýzou zjistit, zda člověk přijímá více živočišnou nebo rostlinnou stravu [2]. Záleží na zastoupení mědi, molybdenu, zinku, selenu a stroncia. LA-ICP-MS lze využít taktéž k analýze obsidiánů a skleněných artefaktů. Obsidián je přírodní sklo (obsahuje mimo jiné SiO_2) vznikající sopečnou činností (někdy nazývané jako sopečné sklo). Obsidiány vznikají rychlým tuhnutím magmatu. Pro svoji tvrdost a chemické vlastnosti byly využívány jako pracovní nástroje. Byla provedena rozsáhlá studie obsidiánů pocházejících z raného neolitického období a artefakty pocházely z několika míst na Sardinii, Korsice a ze severní Itálie. Byla provedena komplexní analýza zdrojů obsidiánů a rekonstrukce obchodních cest, které se v té době využívaly – tyto informace poskytly obraz o propojenosti mezi různými kulturami, řemeslné specializaci i tehdejší osídlení [1], [15]. Pomocí LA-ICP-MS byly taktéž zkoumány vzorky obsidiánů z oblasti centrálního Mexika. Studie prokázala, že tato metoda je pro analýzu obsidiánů vhodná a poskytuje výsledky srovnatelné s výsledky neutronové aktivační analýzy [16]. Analýza skleněných artefaktů funguje na stejném principu jako analýza obsidiánů, neboť oba materiály mají velmi podobné chemické složení. Výroba skla začala již ve starověku – nejstarší skleněné artefakty byly nalezeny v Egyptě, jejich stáří odpovídá zhruba 4500 let [17]. Metoda LA-ICP-MS je schopna identifikovat vedlejší a stopové prvky, které se ve vzorku skla nacházejí. Informace získané z analýz různých vzorků pocházejících z různých období pomáhají určit postup a následné změny v technologii výroby skla. Tato technika byla použita například i k analýzám skla z Benátek. Od 12. století byla technologie výroby benátského skla utajená. V 1. polovině 16. století došlo k rozšíření těchto unikátních předmětů po celé Evropě. Stalo se tak na základě dovozu skla přímo z Benátek, kde bylo centrum výroby, nebo pocházelo z dílen,

kteře v té době vznikly a řidily se výhradně technologickým postupem v yrobly speciálně zaměřeným na benátské sklo [1], [18]. Pomocí LA-ICP-MS lze také zkoumat keramiku. Metoda je schopná poskytnout informace o chemickém a mineralogickém složení zkoumaného vzorku. Na v yrodu keramiky byly obvykle využívaný místní suroviny, které mají charakteristické zastoupení jednotlivých prvků - toho se využívá při ur čení zdroje hlíny, eventuálně lze vyvodit vztahy mezi minulými populacemi a směry migrace obyvatelstva [1]. Metoda LA-ICP-MS byla například použíta při analýze 287 keramických st epek poch azej ících z Papuy Nov e Guiney a posloužíla k ur čení místa v yrobly [19]. Dále byla provedena studie keramiky poch azej ící z Teotihuacan, coţ bylo ve své době ekonomické centrum cent r aln iho Mexika. Byla využita neutronová aktivační analýza (NAA), LA-ICP-MS, MS (termální ionizace) a petrografie. Studie prokázala, ůe většina keramiky pocházela z místních zdrojů a ůe komplementární metody mohou na základě kompozičních rozdílů l ep e vykreslit antropologický význam [20]. Analýze byla také podrobena malovaná keramika z Canosy. Studium bylo zaměřeno na identifikaci pouţit eho přírodního pigmentu a na technologii v yrobly těchto předmětů. Analyzované předměty slouţily p ředev ším při pohřbívání, nebyly ur čeny ke kaţdodenn imu pouţit i. K analýze byla pouţita Ramanova mikrospektroskopie a LA-ICP-MS. Výsledky měření prokázaly, ůe  erven y a hnědý/ ern y pigment obsahuje ůelezo a mangan, dále bylo potvrzeno, ůe Canosa byla (několik století p řed n. l.) významným centrem spojuj ící Bl ízky východ s cent r aln i Itálií a Evropou [21]. Na základě výsledků měření pomocí LA-ICP-MS byly dle místa vzniku (Anglie,   ina, Japonsko) rozlišeny st epek porcelánu, mimo to je tato metoda vhodná pro ověření pravosti daného artefaktu od padělku. Kromě LA-ICP-MS se pro prokázání autentičnosti artefaktu využívá termoluminiscence a rentgenová fluorescenční spektrometrie, ov šem metoda LA-ICP-MS (na rozdíl od XRF) m uţe analyzovaný předmět nen avratn e poškodit, ale spotřeba vzorku je velmi malá [22]. Dal ším artefaktem, na který lze aplikovat LA-ICP-MS, je p isemn e dědictví. Zde se zkoumá zejména distribuce ůeleza, mědi a manganu, prvků přítomných v inkoustech. Vlivem jejich katalytické aktivity dochází k urychlování degra a n ich procesů, co  ved e k ni čení dochovaných písemností (někdy označováno jako koroze inkoustu) [23]. Z archeologického hlediska má nesm rn e velký význam studium kovů. Je zkoumán nejen původ kovů, ale také jejich zpracování a výrobní technologie použitá na v yrodu kovových předmětů. Z toho lze dále usuzovat, kudy vedly obchodní cesty mezi starověkými civilizacemi. Zároveň je kladen důraz na potvrzení ( i vyvrácení) pravosti nalezených artefaktů. Rozsáhlé studie byly

zaměřeny zejména na zlato, stříbro a železo (v poslední době je často prováděna i analýza mědi a jejích slitin) [1]. Nedávno probíhal výzkum v jihovýchodní Kambodži, podařilo se zachránit poslední nedotčené hroby jednoho z nejbohatších prehistorických míst v jihovýchodní Asii. Mnoho hrobů obsahovalo zlaté a stříbrné ozdoby, které poté byly analyzovány pomocí LA-ICP-MS. Měření poskytlo informace nejen o obsahu majoritních prvků, ale byla zjištěna i přítomnost vedlejších a stopových prvků. Analýza prokázala, že kromě zlata a stříbra artefakty obsahují i nízké koncentrace mědi a další stopové prvky (Pt, Bi, Ir) [24]. Technikou LA-ICP-MS lze zkoumat i kamenný materiál. Touto metodou byla například zkoumána monumentální hrobka amerického námořního důstojníka Jeffersona Page. Kámen byl vyroben z jednoho typu bělavého mramoru a byla na něm provedena studie, jak je kámen ovlivňován povětrnostními podmínkami a rozpadovými jevy [25]. Dalším předmětem výzkumu bývají velice často pigmenty. Jejich analýza může prokázat, zda je dílo autentické. Pigment, ať už přírodní, či syntetický je charakteristický nejen pro umělce, který jej používá, ale i pro unikátního výrobce daného pigmentu. Složení pigmentu je rovněž závislé na původu jeho vzniku [1]. LA-ICP-MS byla spolu s rentgenovou fluorescenční spektrometrií použita k analýze modrých pigmentů dekorujících valencijskou keramiku. Měření prokázalo, že pigmenty na keramice z různých historických období, obsahovaly různé druhy kobaltových pigmentů. Zároveň došlo k porovnání obou metod – obě techniky se ukázaly jako vhodné pro tuto analýzu. Přenosná rentgenová fluorescenční spektrometrie je zcela nedestruktivní, levná a spolehlivá metoda. LA-ICP-MS nabízí naproti tomu nižší meze detekce a lepší prostorové rozlišení, ovšem dochází k částečné destrukci analyzovaného vzorku [26]. Analýza glazur a pigmentů byla provedena také na keramice pocházející z Arizony z období Pueblo IV. Jako analyzátor byl při této studii použit průletový analyzátor (LA-ICP TOF). Měření pomohlo odhalit, jak probíhala řemeslná výroba, jak se časem změnila technologie výroby a jaká byla sociální organizace v té době [27].

Existuje také technika, která je na rozhraní mezi prvkovou a molekulovou analýzou. Touto metodou se dají zkoumat i molekuly, ale zjišťuje se zastoupení prvků. Jedná se o izotopovou analýzu, která poskytuje informace o poměru izotopů jednotlivých prvků. V praxi se tato technika využívá mimo jiné v potravinářství nebo při dopingových kontrolách. Stanovení poměru izotopů bylo například využito při studii starodávných vlněných vláken, která byla postavena na analýze poměrů izotopů stroncia ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$). Z archeologického

hlediska je analýza zastoupení těchto izotopů zajímavá, neboť může přispět k rozluštění migračních tras a to nejen lidských, ale také zvířecích [28].

Aplikace elementární analýzy na archeologické nálezy může poskytnout zásadní informace týkající se místa původu, suroviny, ze kterého je daný artefakt vyroben, použité výrobní technologii, dále je analýza schopna prokázat, zda je dílo autentické, nebo se jedná o padělek. Spolu s vyšetřením chemické kompozice lidských ostatků je toto měření klíčové k odhalení vztahů mezi dávnými populacemi a životním prostředím. Výsledky takto prováděných analýz jsou nesmírně cenné zejména pro archeology a historiky. Metodu LA-ICP-MS lze aplikovat na vzorek přímo bez jakékoli předúpravy zkoumaného vzorku. Vlivem laserové ablace dochází k narušení povrchu zkoumaného materiálu, ovšem ve většině případů není porušení viditelné pouhým okem. Celistvost zkoumaných archeologických nálezů tedy zůstává zachována a vzorek může být podroben dalšímu zkoumání. Výhoda této techniky rovněž spočívá v možnosti analyzovat jak homogenní, tak heterogenní vzorky. Vzhledem k široké škále artefaktů, na které lze techniku LA-ICP-MS uplatnit, má z hlediska prvkové analýzy v archeologických výzkumech obrovský význam [1].

2.3.2 Analýza molekul

Z hlediska archeologie je studium organických molekul stejně důležité jako prvková analýza. Typickým příkladem analýzy molekul je analýza amorfních organických reziduí, které se dochovaly například na stěně starodávné keramické nádoby. Mezi klíčové metody, poskytující možnost studia těchto látek organické povahy, patří spojení hmotností spektrometrie s chromatografií. Velice často využívanou technikou je GC/MS (gas chromatography/mass spectrometry). Informace získané touto metodou mohou odkrýt mnohá tajemství – například jak probíhala výroba potravin, kudy vedly obchodní cesty, zároveň lze vydedukovat, k čemu nádoba sloužila atd. Tato metoda byla například aplikována na studium organických látek dochovaných na stěnách starodávných keramických nádob. Zde byly organické pozůstatky uchovány jako zuhelnatěné zbytky nebo byly látky vstřebány keramickými nádobami. Výsledky měření odhalily, že analyzované organické zbytky na stěnách nalezených artefaktů byly jak živočišného, tak i rostlinného původu (například kakao, víno, pryskyřice atd.). Ovšem z prováděných analýz bylo zjištěno, že organická

rezidua živočišného původu se na stěnách keramických nádob nacházejí nejčastěji. Mezi odhalené živočišné organické zbytky patřila rezidua tuků koz, ovcí, prasat, koní, zároveň byla také identifikována přítomnost mléčných produktů, rybího tuku a včelího vosku. Na základě zastoupení mastných kyselin, monoacylglycerolů, diacylglycerolů, triacylglycerolů a sterolů lze rozlišit, zda je látka skutečně živočišného původu (eventuálně z tukových zásob kterého zvířete látka pochází) a zároveň lze identifikovat přítomnost mléčných produktů. Výsledky měření všech těchto materiálů jsou schopny vědcům poskytnout informace nejen o využívání přírodních látek napříč dějinami, ale dá se například zjistit i původ, způsob zpracování, spotřeby a skladování nebo princip biochemického procesu, kterým původní organická látka prošla [29]. GC/MS bylo využito i při studiu artefaktů z 13. století (hrnce, džbány a pánve) pocházejících z kostela Sant'Antimo v Piombinu v Itálii. Identifikace organických reziduí v různých nádobách odhalila, že některé organické pozůstatky byly živočišného původu, jiné byly původu rostlinného. Výsledkem bylo zjištění, že neexistuje přímý vztah mezi tvarem nádoby a jeho specifickým použitím. To znamenalo, že více nádob plnilo jednu funkci a nedocházelo k rozlišování, na co která nádoba přesně slouží. Výsledky této studie posloužily k lepšímu pochopení stravovacích návyků a používání keramických potřeb ve středověku v oblasti střední Itálie [30]. Technika GC/MS nemusí sloužit pouze k analýze organických reziduí dochovaných v nádobách na vaření. Byla provedena studie keramických nádob, které sloužily k uchování a přepravě vína (tzv. amfory). Analýza byla zaměřena na identifikaci kyseliny vinné, vinných markerů a jejich derivátů. Studie se týkala vín z oblasti Středozemního moře a bylo prokázáno, že ve vínech nebyly přítomny pouze hrozny, ale i jiné ovocné plody. Dále bylo zjištěno, že ve všech analyzovaných vzorcích vín se nachází kyselina vinná, jablečná, fumarová a jantarová. Na základě složení jednotlivých analyzovaných vzorků, lze od sebe vína odlišit a určit jejich původ [31]. Další velice zajímavou analýzou, kde našla uplatnění metoda GC/MS, byla studie bitumenu. Bitumen (resp. živice) je organická kapalina a jeho vznik je spojen s biodegradačními procesy ropy. Mezi nejznámější a nejčastěji se vyskytující formy živic patří dehet a asfalt. V antickém období měl bitumen obrovské využití - například jako těsnění na keramické nádoby a proutěné koše, lepidlo při výrobě šperků, lak na dřevo atd. Bitumen byl také objeven na starověkých egyptských mumiích, kde byl použit jako látka sloužící ke konzervaci těla. Původní předpoklad byl, že bitumen se nachází pouze v oblasti Mrtvého moře spadajícího pod Palestinu. Analýzou bitumenu pocházejícího z několika starověkých artefaktů z oblastí Mrtvého moře bylo skutečně

potvrzeno, že sloučeniny terpenů a steranů obsažené ve vzorcích, jsou svým charakterem opravdu typické pro Mrtvé moře. Teprve analýza mumie z Gebel Zeit potvrdila, že bitumen použitý při konzervaci tohoto těla pochází z domácích - egyptských - zdrojů. Bylo zjištěno, že Egypťané sice měli přístup k vlastním zdrojům bitumenu, ovšem často dávali přednost bitumenu dováženému od Mrtvého moře. Na základě výsledků měření bylo mapováno, kudy vedly pobřežní obchodní trasy [32]. Za pomoci plynové chromatografie byla též provedena analýza olejů nalezených v egyptských keramických lampách. Na základě výsledků měření vzorků a po porovnání s referenčními vzorky došli vědci k závěru, že organická rezidua nalezená v keramických nádobách byly pozůstatky olejů ze semen *Brassicaceae*. Oleje v nalezených egyptských lampách byly v dávné době používány ke svícení. Identifikace těchto látek z archeologického hlediska významně přispěla k poodhalení znalostí řemesel a technologií používaných v dávných dobách. Zároveň lze dle stupně degradace zkoumaných dochovaných látek usuzovat, jakými biologickými transformacemi látka za celou dobu prošla. Povaha látek, které vznikly biologickou přeměnou, závisí nejen na složení původního materiálu, ale také na charakteru nádoby, ve které se látka nacházela (tedy k jakým účelům nádoba sloužila) a na podmínkách, kterým byla nádoba vystavena a díky kterým se uchovala [33]. Identifikace organických látek za použití GC/MS byla také provedena v bronzových nádobkách, které sloužily k uchování léků. Organická rezidua odpovídala pozůstatkům dávných přípravků a byla nalezena na vnitřních stěnách nádob pocházejících z Říma. K charakterizaci anorganických látek, obsažených ve zkoumaném materiálu, byla aplikována rentgenová fluorescenční spektrometrie a Ramanova spektrometrie. Výsledky analýzy odhalily, že nádobky obsahovaly rezidua mastí a prášků. Byla potvrzena přítomnost včelího vosku, pryskyřice, tuků a sacharidů. Tato studie poskytla cenné informace o léčebných procedurách v historii Říma [34]. GC/MS posloužila k analýze prehistorických organických lepidel. Rezidua lepidel byla nalezena na keramických nádobách a na spojích nástrojů. Tato rozsáhlá studie zkoumala 90 vzorků z 8 míst, kde probíhaly archeologické vykopávky. Analýze byly podrobeny vzorky, které mapují období od neolitu do starší doby železné. Studií bylo například zjištěno, že nejčastěji používané lepidlo v neolitickém období bylo triterpenoidního původu a pocházelo z bílé březové kůry. Na výrobu lepidel byly samozřejmě využívány i jiné materiály - kůry jiných stromů nebo organické fosilní látky. V následujících historických obdobích byla kompozice lepidel, co se týče použitých výchozích materiálů, pestřejší. Výsledky měření artefaktů pocházejících z doby bronzové prokázaly přítomnost

diterpenové borovicové pryskyřice. Ve vzorcích dochovaných z doby železné bylo potvrzeno používání lepidel z březové kůry, které ovšem obsahovaly včelí vosk - ten sloužil jako změkčovadlo. Výzkumy tohoto typu jsou velice zajímavé jak pro archeology, tak pro historiky. Na základě výsledků analýzy lze usuzovat o vynalézavosti a manuální zručnosti řemeslníků v průběhu dějin [35]. Dalším výzkumem, kde bylo využito GC/MS při archeologických výzkumech, byla studie reziduí pocházejících z kosmetických a farmaceutických přípravků, příkladem mohou být masti a balzámy. Jelikož jde o velice složité směsi obsahující nejen látky organického, ale také anorganického původu, bylo při analýze použito více metod. Kromě GC/MS byla při analýze využita infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací, Ramanova spektrometrie, rentgenová difrakce a HPLC/MS. S cílem zlepšení celkové analytické strategie a ve snaze o co možná nejspřávnější charakterizaci takto složitých reziduí vědci vyrobili přesně ty samé farmaceutické produkty, které se vyráběly dříve, a spolu se vzorky je podrobili analýze. Postup při výrobě těchto replik probíhal přesně stejnou metodou, která byla používána v 17. století, na základě dochovaných dokumentů. Studie napomohla k objasnění a zrekonstruování starodávné lékařské a farmaceutické praxe [36]. Dále probíhala studie starších kosmetických a terapeutických nálezů. Kosmetická a farmaceutická rezidua lze prokázat na stěnách keramických, kamenných či skleněných nádob, které sloužily k jejich uchování. Studium těchto vzorků může napomoci při objasnění vzdělanosti starověkého obyvatelstva v oblasti chemie a farmacie, zároveň lze odpovědět na otázku, jakým způsobem tyto znalosti využili v praxi. Důležité informace mohou taktéž poskytnout samotné předměty nalezené v odkrytých hrobkách - typickým příkladem jsou hrobky v Egyptě, kde byly objeveny předměty sloužící k péči o pleť a nádobky na make-up. Z různých studií vyplývá, že kosmetické výrobky a líčidla v této starověké civilizaci nesloužily pouze ke každodenním estetickým procedurám, měly také náboženskou a lékařskou roli. Výsledky takovéto studie mají pro archeologická pracoviště obrovský význam, neboť pomáhají získávat přehled o víře, rituálech, zvycích a pohřebních obřadech, které provázely životy lidí ve starověkém Egyptě. Stejně jako tomu bylo v případě studia balzámů a mastí ze 17. století i v tomto případě jsou zkoumány složité směsi organických a anorganických látek. Na základě zjištění, že použití jediné metody by nemohlo odhalit složitou chemickou kompozici zkoumaných látek, bylo pro toto studium kromě GC/MS využito více metod. Kromě infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací (která je schopna podat informace jak o organické, tak minerální

složce obsažené ve vzorku) byla na vzorky aplikována Ramanova spektrometrie, rentgenová difrakce a HPLC/MS. Spojením chromatografických metod s hmotnostní spektrometrií mohly být ve vzorcích kosmetiky separovány (chromatografická část) a identifikovány (MS) biomateriály, příkladem mohou být pryskyřice, polysacharidy, organická barviva atd. Přitom analýza biomateriálů je velice obtížná vzhledem k tomu, že se jedná se o komplexní směsi nejrůznějších organických a anorganických látek s širokým rozsahem molekulových hmotností. Chemické složení kosmetických reziduí je závislé na původu – lze rozlišit, ze kterého živočicha či rostliny organická látka pochází. Využitím všech výše uvedených technik je možné zjistit, které látky měly ve starověku mimo jiné kosmetický a farmaceutický význam, eventuálně pro jaké rituály byly některé látky používány [37]. Dalším zajímavým objektem, který byl zkoumán GC/MS spolu s infračervenou spektrometrií, bylo unguentarium. Jedná se o malé skleněné či keramické nádobky, které v dávných dobách sloužily pro uchování kapalných a práškových látek. Zkoumaný artefakt byl vyroben z alabastru, pocházel z Egypta z období 150/125-100 před naším letopočtem. Nádobka byla ovšem nalezena na pohřebišti Etruscan v Chiusi (Toskánsko, Itálie). Analýza této historické památky byla zaměřena na odhalení chemického složení látek nacházejících se v nádobce. Uvnitř zkoumaného unguentaria se nalézaly pozůstatky masti, kterou v dávných dobách používali Etruskové. Vzhledem k tomu, že nádobka byla po celá staletí uložena v hrobce pod velkými nánosy hlíny, došlo ke zpomalení degradačních procesů a mast uvnitř unguentaria zůstala téměř v původním stavu. Na základě výsledků měření GC/MS a FTIR byly v masti identifikovány dva druhy pryskyřic a rostlinný olej (s největší pravděpodobností Moringa). Získané informace vypovídají o výchozích surovinách, zdrojích výchozích organických látek a stavu uchovávání materiálů, které Etruskové využívali v dávných dobách [38].

Další technikou, která může posloužit v analýze organických látek, je kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií. Stejně jako GC/MS, kapalinová chromatografie slouží k separaci látek a v hmotnostním spektrometru dochází k identifikaci těchto oddělených látek. V řadě studií byly využity obě tyto metody zároveň. Mimo jiné kapalinová chromatografie ve spojení s MS (HPLC-ESI-MS/MS) byla spolu s infračervenou spektrometrií použita při analýze archeologicky významné pryskyřice. Pryskyřice měla již ve starověku důležitou úlohu. Pro její nepropustnost ji již starověcí Řekové využívali k zavření amfor s vínem, které převáželi v lodích přes moře. Nejen, že víno neprosakovalo

a nedocházelo k jeho vylévání, ale pryskyřice zároveň umožňovala zachování vína (nedocházelo k jeho degradaci). Některé studie uvádí, že pryskyřice se v některých případech přidávala do vín úmyslně jako konzervační látka. Velice známé je řecké víno “Retsina“, do kterého je přidávána pryskyřice získávaná ze stromů borovice Aleppo. Na základě této studie lze vyhodnotit rozdíly mezi pryskyřicemi ve starověku a pryskyřicemi v dnešní době [39].

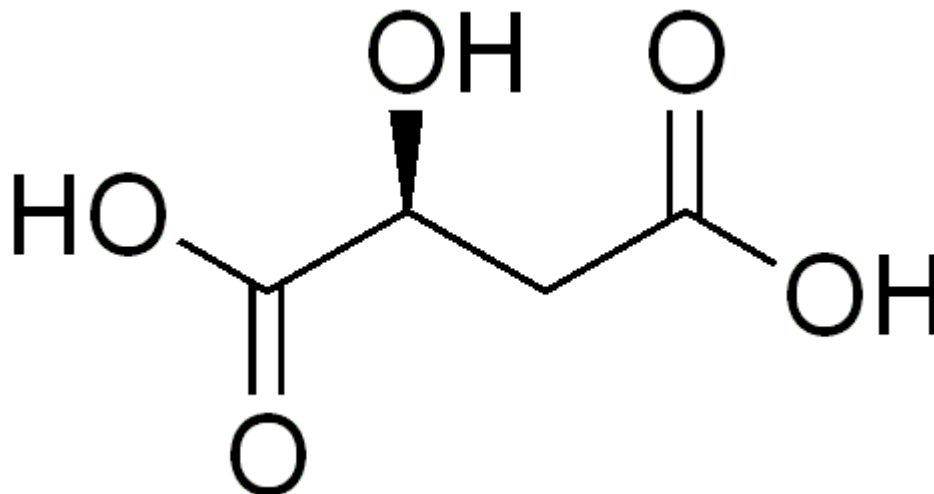
Další velice zajímavou metodou, která je schopna určit stáří objektu a má tedy pro archeologické výzkumy obrovský význam, je akcelerační hmotnostní spektrometrie (AMS). Nejdůležitějším nuklidem, který je touto technikou zkoumán, je radiouhlík ^{14}C . Na základě jeho zastoupení lze určit stáří zkoumaného artefaktu [40]. Metody AMS bylo využito k analýze historických památek nalezených poblíž Tell el-Daba, což je oblast delty řeky Nil. Výsledky naměřené pomocí AMS se ovšem úplně neshodovaly s obdobím, ze kterého měly předměty pocházet (na základě egyptské historické chronologie). Rozdíl mezi datováním podle zastoupení ^{14}C a archeologickými důkazy byly kolem 120 let [41].

Hmotnostní spektrometrii lze také využít k analýze mykologických kyselin, které jsou součástí mykobakterií. Buněčné obaly mykobakterií obsahují starověké původce tuberkulózy a lepry. K analýze byla použita technika MALDI TOF MS. Výsledky těchto měření mají obrovský význam pro biomolekulární paleopatologii a biomolekulární archeologii [42].

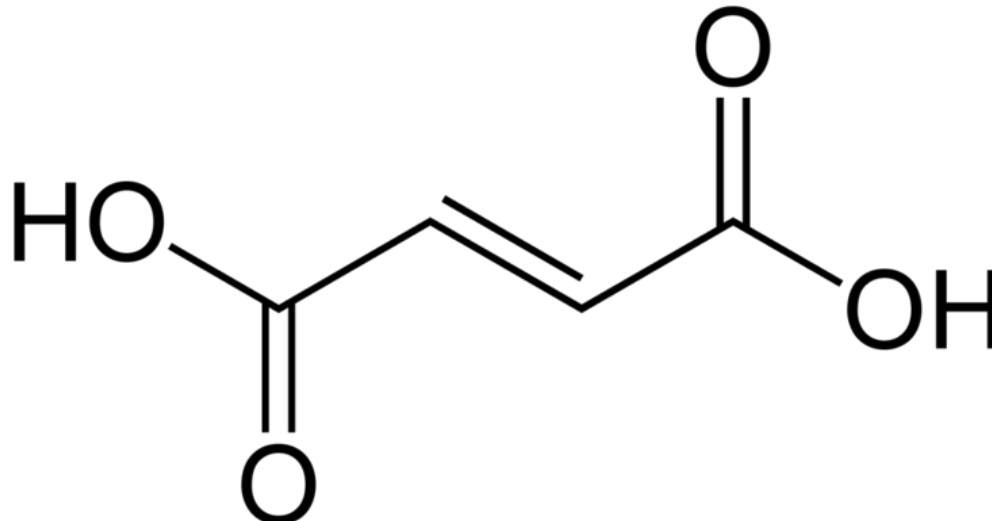
Nejen z hlediska archeologie je technika hmotnostní spektrometrie velice významnou metodou. Lze ji využít nejen k analýze jednotlivých prvků, ale ve spojení s dalšími analytickými metodami, ji lze využít i pro analýzu molekul.

Praktická část bakalářské práce byla na základě nalezených článků zaměřena na analýzu vína. Konkrétně byla sledována jablečná kyselina (Obr. 1), přesněji její degradační produkty vzniklé dehydratací, a fumarová kyselina (Obr. 2). Jedná se o látky, které mají stejný sumární vzorec ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$), zároveň podléhají stejné fragmentaci a není je možné rozlišit ani na základě vzniklého fragmentu. Produkty degradace mohou tak interferovat se signálem fumarové kyseliny. K jejich rozlišení nestačí pouze aplikace samotné hmotnostní spektrometrie, ale je nutné zkoumat možnost separace. Efektivní by mohla být iontová mobilita, která je přímo součástí hmotnostního spektrometru. Cílem práce bylo zjistit možnosti hmotnostní spektrometrie při odlišení uvedených látek za použití elektrospreje a

sondy ASAP (Atmospheric Solids Analysis Probe). Zkoumáno bylo využití fragmentace a iontové mobility. Analýze bylo rovněž podrobena víno (Frankovka) s cílem ověřit možnosti získání "otisku palce" daného vzorku.



Obr. 1: Jablečná kyselina



Obr. 2: Fumarová kyselina

3. Experimentální část

3.1 Přístrojové vybavení

Veškeré měření probíhalo na přístroji SYNAPT G2 – S (Waters, Manchester, Velká Británie). Měřilo se v záporném módu. Při použití metody ionizace elektrosprejem byl do přístroje kontinuálně zaváděn roztok vzorku průtokem 5 $\mu\text{l}/\text{min}$, při aplikaci metody ASAP byl použit 1 μl vzorku nanesený na skleněnou tyčinku. Při analýze ASAP technikou se vždy využíval teplotní gradient (v rozmezí 50 – 550 $^{\circ}\text{C}$). Navážené vzorky standardů byly rozpouštěny ve směsi voda - methanol (1 : 1, v/v). Kontinuální zavádění vzorků bylo realizováno lineární pumpou integrovanou do hmotnostního spektrometru.

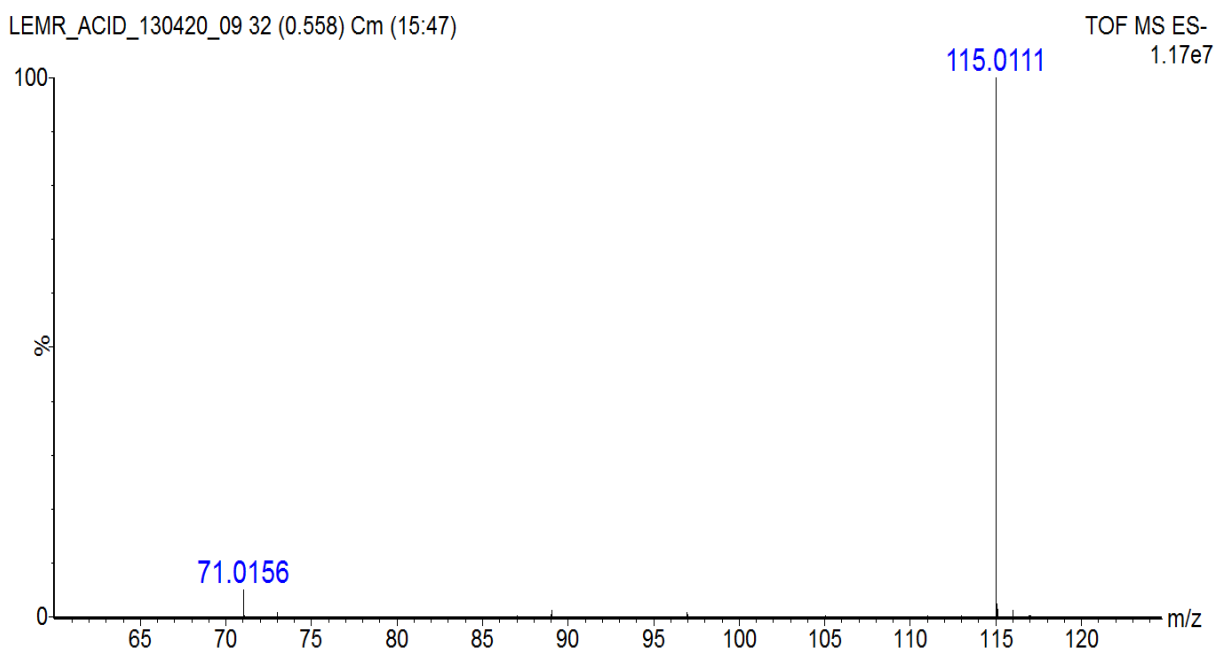
3.2 Chemikálie

Při přípravě vzorků bylo použito standardů jablečné a fumarové kyseliny. Standard jablečné kyseliny (p. a. (99%), $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$, monoizotopická hmotnost produktu dehydratace 116,0110, m/z 115,0031) a standard fumarové kyseliny (p. a. (99,5%), $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$, monoizotopická hmotnost 116,0110, m/z 115,0031) byly dodány společností Sigma Aldrich (Praha, Česká republika). Dále byl při přípravě vzorků potřebný methanol (HPLC SG, Lab_Scan, Gliwice, Polsko) a voda pro HPLC připravená systémem na úpravu vody (direct Q UV Millipore, MA, Bedford, USA). Vzorek vína (Frankovka) byl zakoupen v místní vinotéce.

4. Výsledky a diskuze

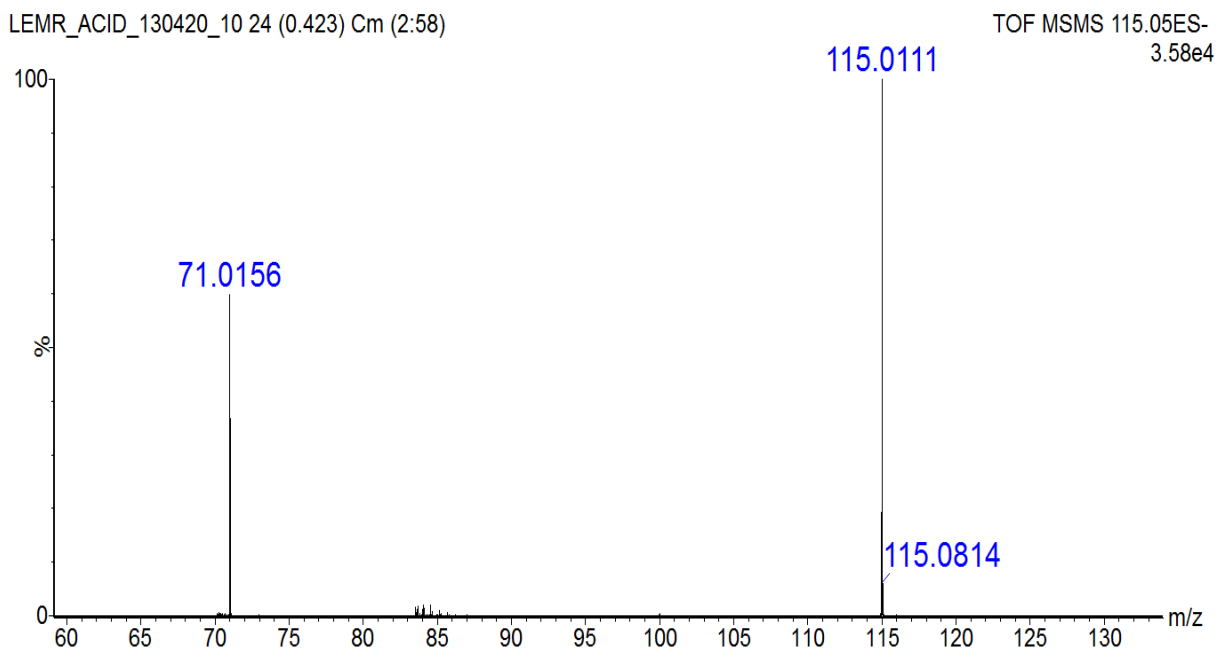
4.1 Analýza s využitím elektrospreje

Pro analyzované látky bylo testováno vhodné nastavení přístrojových parametrů s cílem dosáhnout co největší intenzity signálu deprotonovaných molekul kyselin. Zvolené nastavení bylo následující: napětí na sprejovací kapiláře -2,7 kV, teplota zdroje 100 °C, napětí na vstupním konusu 10 V, offset zdroje 20 V, teplota desolvačního plynu 200 °C, průtok plynu vstupním konusem 100 l/hod, průtok desolvačního plynu 600 l/hod, tlak zmlžujícího plynu 6 bar, kolizní energie v kolizní cele trap 1 eV, kolizní energie v kolizní cele transfer 1 eV, průtok kolizního plynu – argonu 2 ml/min, průtok dusíku v mobilitní cele 90 ml/min, výška vlny v mobilitní cele 40 V, její rychlost 1200 m/s (není-li uvedeno jinak). Nejprve byla provedena analýza vzorku degradačního produktu/ů (standard jablečné kyseliny o koncentraci 100 µg/ml methanol : voda = 1 : 1 (v/v), produkt dehydratace). V hmotnostním spektru lze pozorovat dva ionty (Obr. 3). Hodnota $m/z = 115,0111$ odpovídá deprotonované molekule produktu dehydratace, ion s poměrem $m/z = 71,0156$ odpovídá fragmentu, který vznikl odštěpením molekuly CO_2 z deprotonované molekuly degradačního produktu.



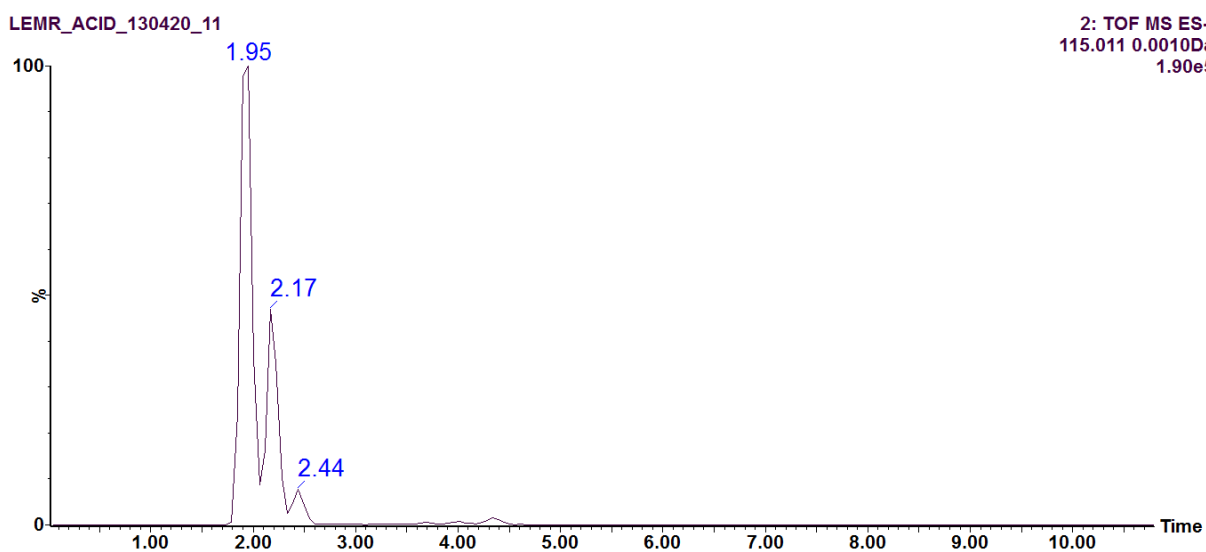
Obr. 3: Hmotnostní spektrum degradačního produktu standardu jablečné kyseliny, elektrosprej

Vznik fragmentu byl ověřen metodou MS/MS při použití kolizní energie 5 eV. Ve spektru lze pozorovat tři ionty (Obr. 4). Metoda MS/MS potvrdila přítomnost fragmentu degradačního produktu jablečné kyseliny ($m/z = 71,0156$). Ion, jehož $m/z = 115,0814$, je důsledkem chemického šumu.



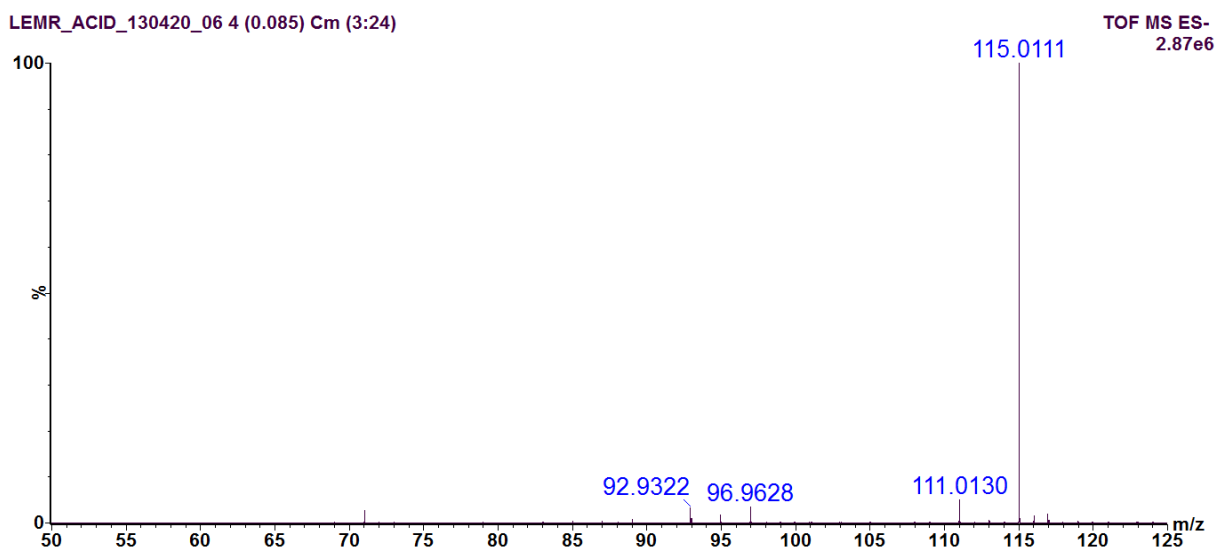
Obr. 4: Hmotnostní spektrum degradačního produktu standardu jablečné kyseliny, MS/MS

Degradační produkt standardu jablečné kyseliny byl podroben měření iontové mobility (Obr. 5). V hmotnostním spektru po mobilitní separaci lze pozorovat množství vzniklých iontů. Ion s $m/z 115,011$ patří deprotonované molekule degradačního produktu, ion s $m/z 71,0156$ je produktem jeho fragmentace. Doba pohybu iontu $m/z 115,011$ je patrná z Obr. 5. V mobilitním záznamu se objevují tři píky, což naznačuje přítomnost různých produktů degradace, ale se stejným sumárním vzorcem (viz odpovídající hmotnostní spektra níže). Tato skutečnost je zajímavá pro další výzkum (vliv experimentálních podmínek na zastoupení produktů degradace, výpočet jejich účinného průřezu a jeho porovnání s experimentem).

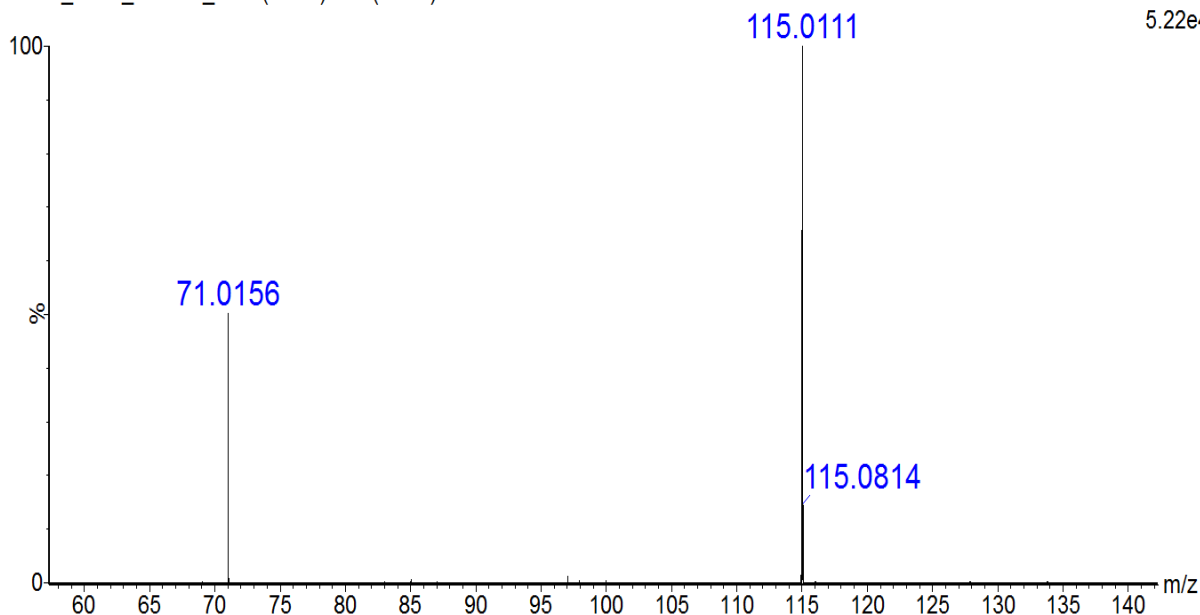


Obr. 5: Mobilitní záznam pro produkt degradace standardu jablečné kyseliny (ion m/z 115,011)

Obr. 6 znázorňuje zastoupení iontů ve vzorku standardu fumarové kyseliny o koncentraci 100 $\mu\text{g/ml}$ voda : methanol 1 : 1 (v/v). Ion s poměrem $m/z = 115,0111$ náleží deprotonované molekule fumarové kyseliny. Je zřejmé, že spektrum se podobá hmotnostnímu spektru produktu degradace standardu jablečné kyseliny o stejné koncentraci (viz Obr. 3), pouze účinnost ionizace fumarové kyseliny je menší (nižší absolutní intenzita signálu).

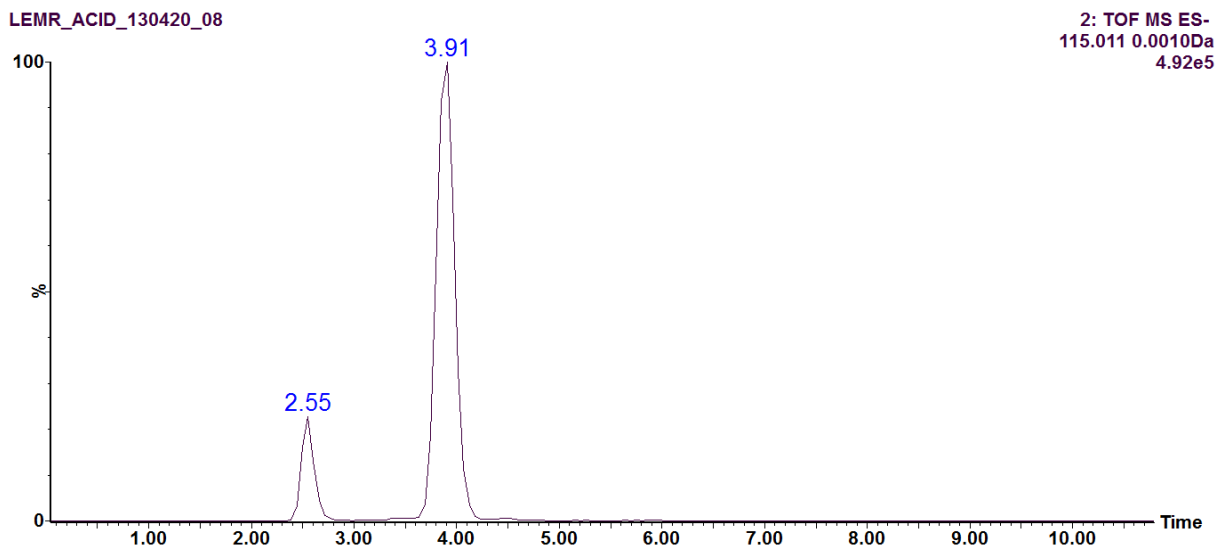


Obr. 6: Hmotnostní spektrum standardu fumarové kyseliny, elektrosprej

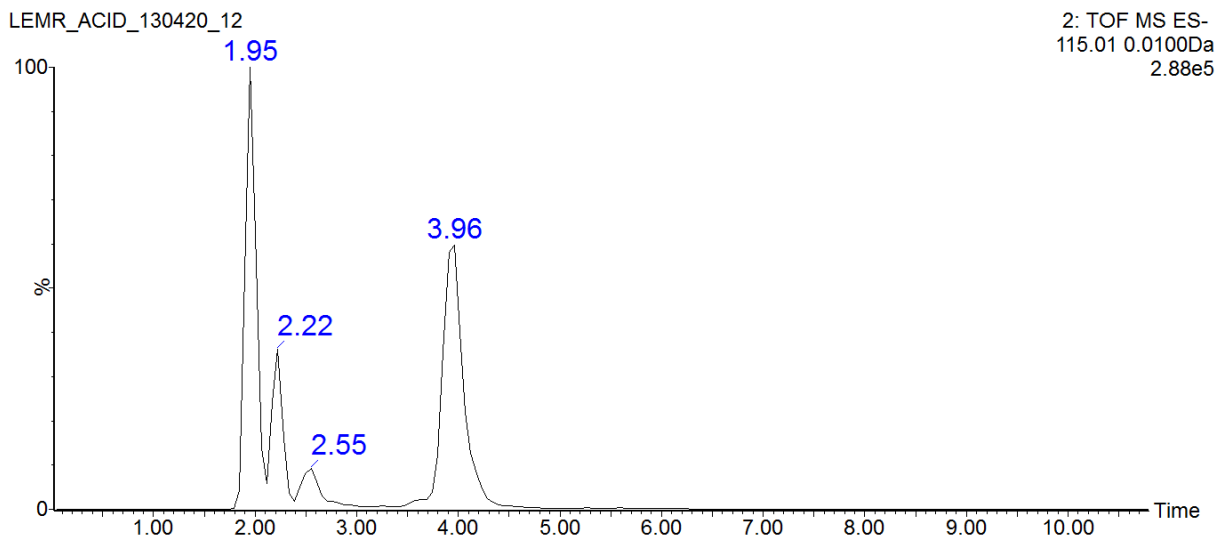


Obr. 7: Hmotnostní spektrum standardu fumarové kyseliny, MS/MS

Měření MS/MS potvrdilo přítomnost fragmentu, vznikajícímu eliminací CO_2 s m/z 71,0156. (Obr. 7). Ion s m/z 115,0111 patří deprotonované molekule fumarové kyseliny. Mobilitní záznam pro fumarovou kyselinu ukazuje odlišnou dobu pohybu iontu m/z 115,0111 u fumarové kyseliny (Obr. 8). Pozorovány jsou dva píky, což by odpovídalo dvěma konformacím fumarové kyseliny. Na základě MS a MS/MS spekter nelze produkty degradace jablečné kyseliny a fumarovou kyselinu rozlišit. Ovšem iontová mobilita látek se významně liší. V další části experimentu proběhla analýza vzorku, který obsahoval jablečnou i fumarovou kyselinu (Obr. 9). Koncentrace obou kyselin ve vzorku byla stejná (50 $\mu\text{g/ml}$). Vzhledem k menšímu účinnému průřezu iontů degradačních produktů, vykazují větší pohyblivost než ion fumarové kyseliny, tedy jejich ionty mají kratší dobu pohyblivosti.

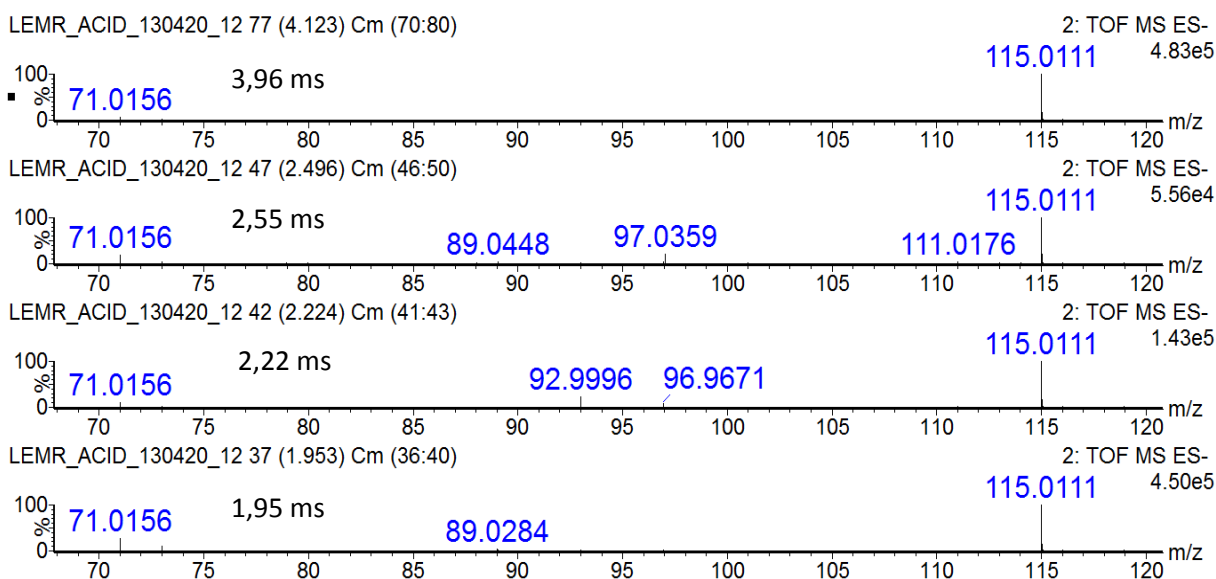


Obr. 8: Mobilitní záznam pro standard fumarové kyseliny (ion m/z 115,011)



Obr. 9: Produkty degradace jablečné kyseliny + fumarová kyselina, iontová mobilita

Obr. 10 znázorňuje zastoupení iontů v jednotlivých pících z Obr. 9. Ze získaných hmotnostních spekter je patrné, že vzorek obsahuje ionty o stejném poměru m/z (115,0111). Poměr m/z fragmentů rovněž nedovoluje jejich odlišení. Rozdílná je pouze iontová mobilita.

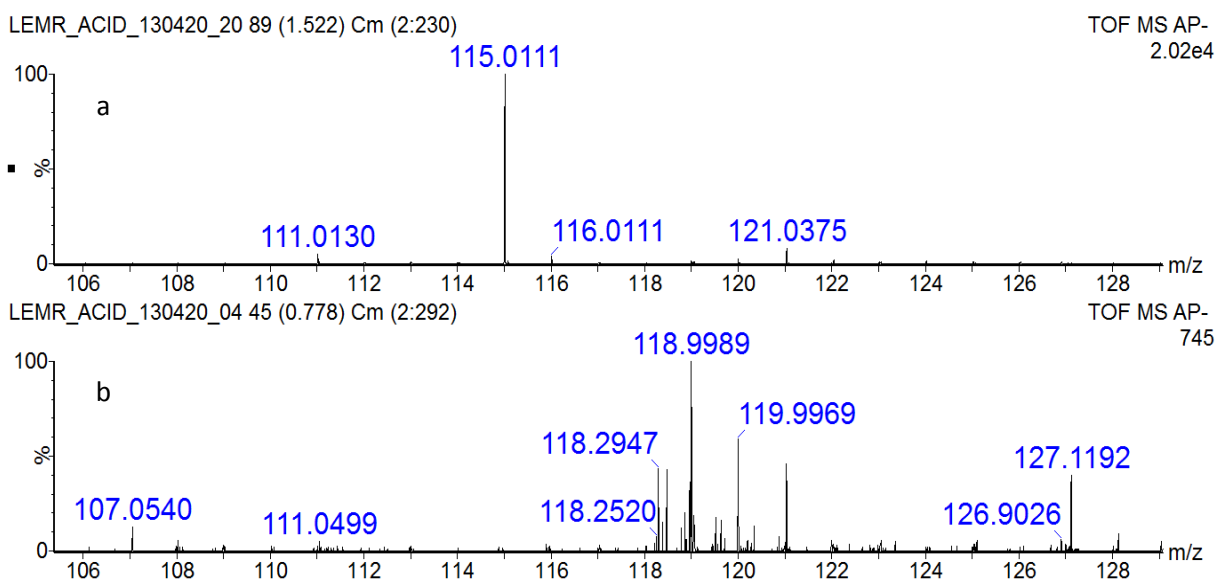


Obr. 10: Hmotnostní spektra směsi produktů degradace jablečné kyseliny a fumarové kyseliny, IMS

Lze shrnout, že kombinace separace iontovou mobilitou a následné fragmentace se ukázala jako vhodný přístup pro odlišení a identifikaci studovaných látek, a to i v jejich směsi.

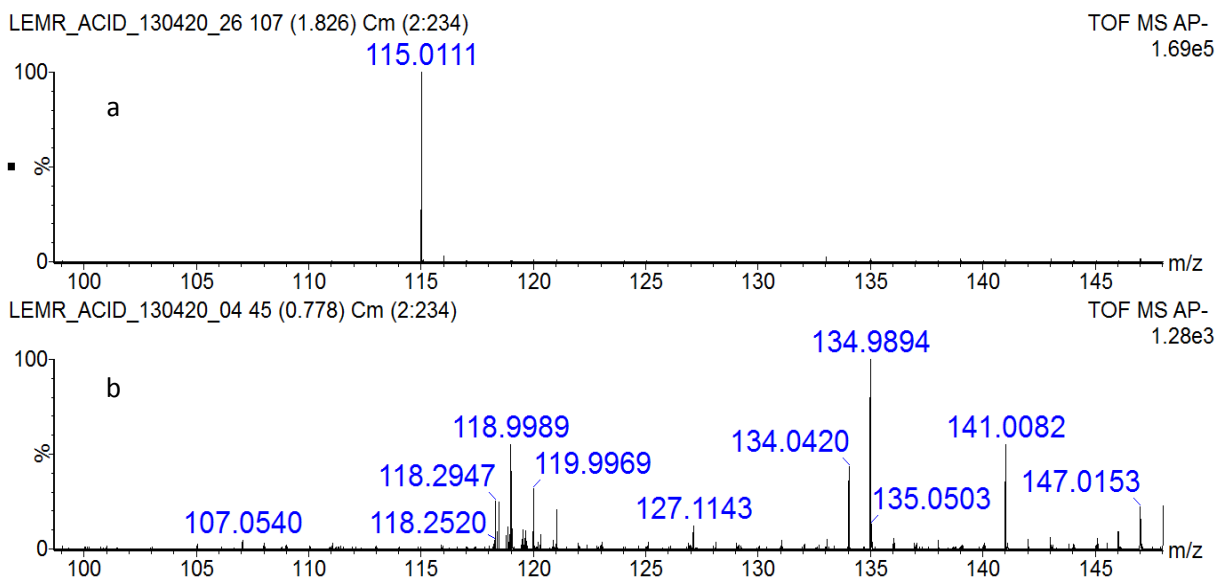
4.2 Analýza s využitím sondy ASAP

Rovněž pro sondu ASAP bylo testováno vhodné nastavení přístrojových parametrů. Zvolené parametry byly následující: výbojový proud 5 μ A, teplotní program uveden u jednotlivých experimentů, ostatní podmínky jako u elektrospreje. Stejně jako v případě použití elektrospreje byla nejprve provedena analýza vzorku standardů obou kyselin (Obr. 11 a 12). Koncentrace kyselin byla 1 mg/ml a na přímou sondu byl nanášen 1 μ l tohoto roztoku. V případě degradačních produktů jablečné kyseliny byl použit teplotní gradient od 100 °C do 450 °C. Teplotní program byl zvolen na základě série měření, kdy byl sledován vliv změny teploty na vzhled spektra. Zvolený gradient byl odstartován po půl minutě, během které byl vzorek vysušen při 100 °C. Ion s poměrem $m/z = 115,0111$ náleží produktům degradace. Slepý vzorek tento ion neobsahoval (Obr. 11).



Obr. 11: Hmotnostní spektrum a) produktu degradace jablečné kyseliny a b) slepého vzorku, ASAP

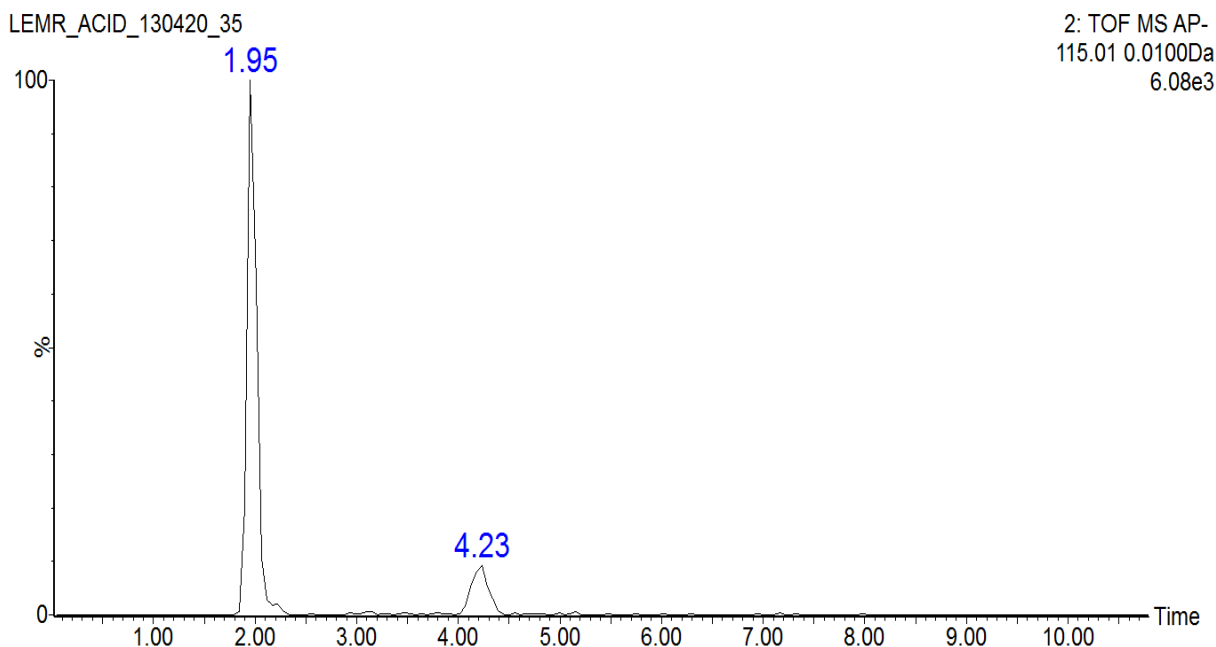
Obdobně probíhala analýza vzorku standardu fumarové kyseliny a slepého vzorku (Obr. 12). Koncentrace fumarové kyseliny ve vzorku byla 1 mg/ml a pro analýzu byl použit 1 μ l. Výsledné spektrum fumarové kyseliny obsahovalo deprotonovaný ion kyseliny s poměrem m/z rovným 115,0111. Slepý pokus tento ion neobsahoval.



Obr. 12: Hmotnostní spektrum a) fumarové kyseliny a b) slepého vzorku, ASAP

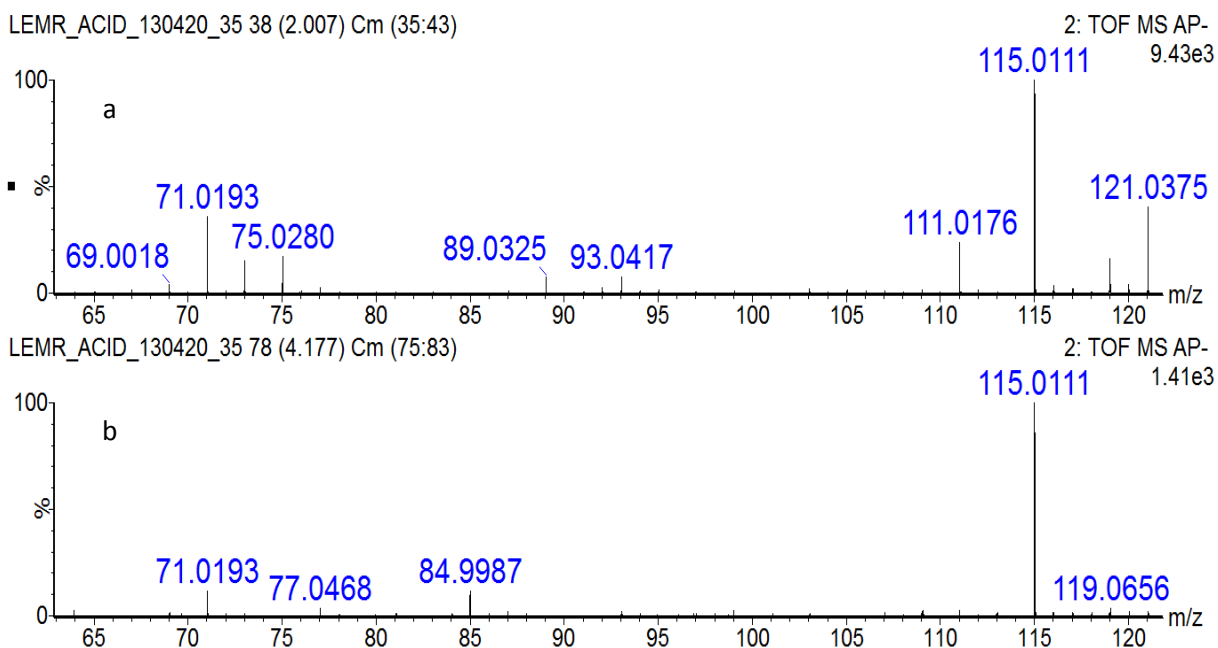
U obou látek byla proměřena i iontová mobilita. Vzhledem k nižší transmisi iontů bylo nutné použít v těchto experimentech koncentrovanější roztoky kyselin (5 mg/ml methanol : voda 1 : 1, v/v). Mobilitní separace byla zachována, ale pro ion fumarové kyseliny byla pozorována delší doba pohybu 4,23 ms místo 3,96 ms. Tento posun by mohl být způsoben ohřevem iontu, tedy zvýšením jeho vnitřní energie a v důsledku jinou konformací.

Dále byla provedena analýza vzorku, který obsahoval obě sledované kyseliny – tedy jablečnou a fumarovou kyselinu. Koncentrace kyselin ve vzorku nebyla stejná. Koncentrace jablečné kyseliny byla 0,05 mg/ml, koncentrace fumarové kyseliny byla 2,5 mg/ml. Důvodem bylo zjištění, že při stejné koncentraci je odezva fumarové kyseliny výrazně nižší (možná konkurence při ionizaci). Na sondu byl nanášen 1 μ l vzorku. První pík souvisí s jablečnou kyselinou, druhý pík náleží fumarové kyselině (viz Obr. 13). Z výsledků měření vyplývá, že látky jsou separovány na základě mobility bez vlivu ionizační techniky. Ve spektru má ion produktu degradace mnohem větší intenzitu než ion fumarové kyseliny a to i přesto, že koncentrace jablečné kyseliny v analyzovaném vzorku byla menší než koncentrace fumarové kyseliny. Teplotní gradient byl 100 – 450 °C.



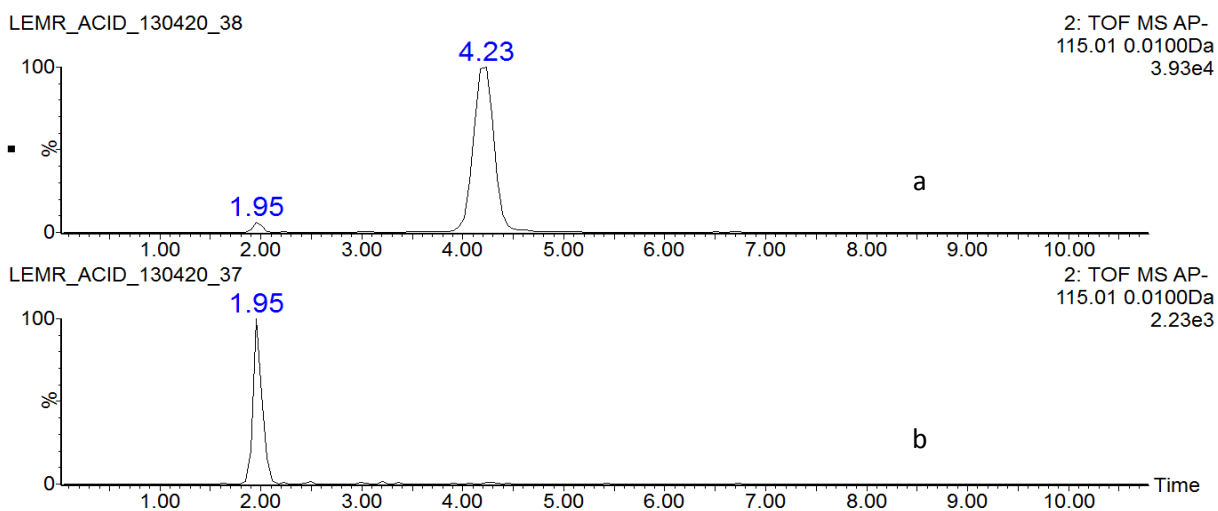
Obr. 13: Mobilitní záznam směsi jablečné kyseliny a fumarové kyseliny, ASAP

Hmotnostní spektra pro látky rozdělené iontovou mobilitou jsou na Obr. 14. Potvrdilo se, podobně jako u ESI, že lze úspěšně separovat látky se stejným sumárním vzorcem a následně potvrdit jejich identitu fragmentačním spektrem.



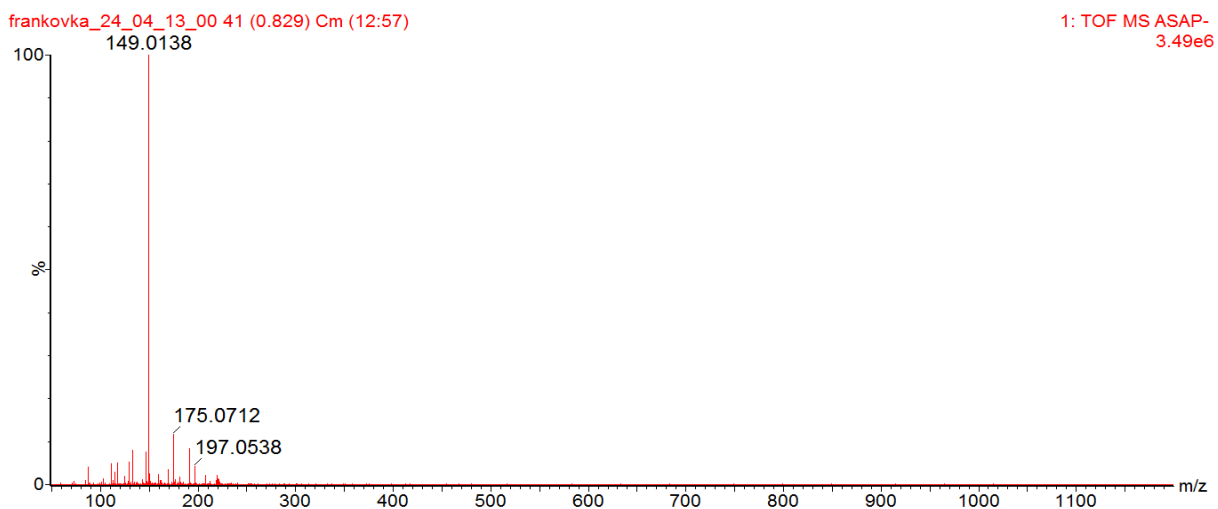
Obr. 14: Hmotnostní spektrum směsi po separaci iontovou mobilitou a) produkt degradace jablečné kyseliny, b) fumarová kyselina, ASAP

Další měření iontové mobility probíhalo při rozdílném nárůstu teploty (Obr. 15). Koncentrace jablečné kyseliny ve zkoumaném vzorku byla 0,24 mg/ml, koncentrace fumarové kyseliny ve vzorku byla 4,8 mg/l. Z prvního mobilního záznamu je patrné, že odezva fumarové kyseliny byla větší, jak odpovídá i její vyšší koncentraci ve vzorku. U druhého mobilního záznamu (nižší teplota) lze naopak pozorovat větší odezvu pro vzorek jablečné kyseliny i přesto, že její obsah ve vzorku byl nižší než koncentrace fumarové kyseliny. Rozdíl v odezvách látek byl způsoben použitým teplotním programem. Zatímco pík související s jablečnou kyselinou je vyšší při postupném zahřívání, pík fumarové kyseliny je vyšší při použití rychlého nárůstu teploty. Měření při prudkém nárůstu teploty bylo provedeno z důvodu zlepšení signálu fumarové kyseliny.

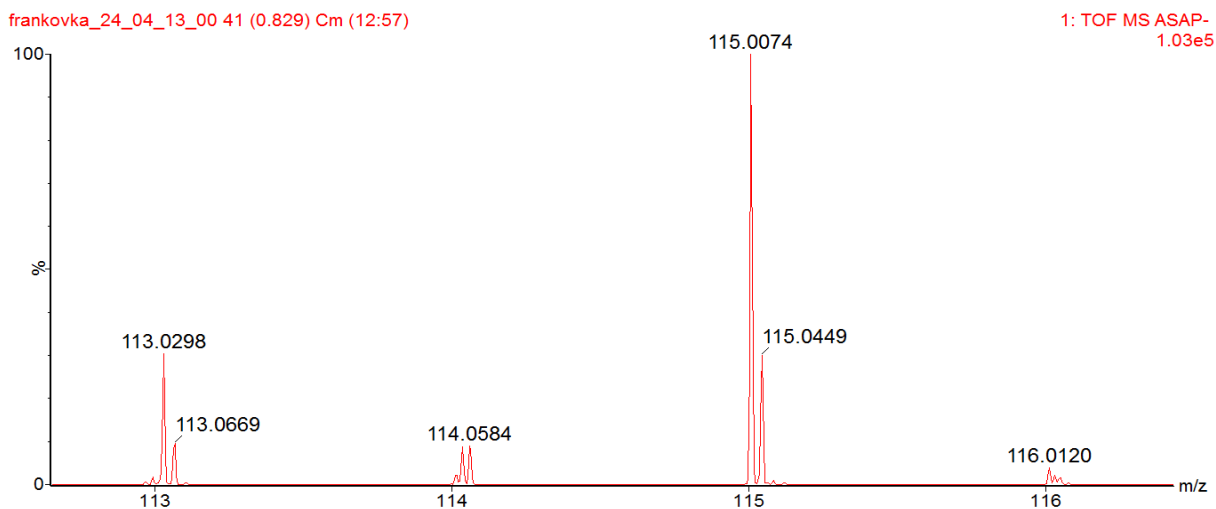


Obr. 15: Mobilitní záznam směsi jablečné kyseliny a fumarové kyseliny, a) nárůst teploty ze 100 °C na 550 °C, b) ze 100 °C na 450 °C, ASAP

Po analýze standardů jablečné kyseliny, fumarové kyseliny a jejich směsi, byla metoda ASAP použita pro analýzu vína. Zkoumaným vzorkem byla Frankovka (Obr. 16). Teplotní gradient dosahoval teploty 550°C. Z výsledného hmotnostního spektra je patrné, že vzorek vína obsahoval velké množství nejrůznějších látek. Ve spektru byl nalezen ion, jehož poměr m/z odpovídal přibližně hodnotě 115,01 (Obr. 17). Předpokladem pro další analýzu bylo, že se jedná o ion související s jednou ze studovaných kyselin.

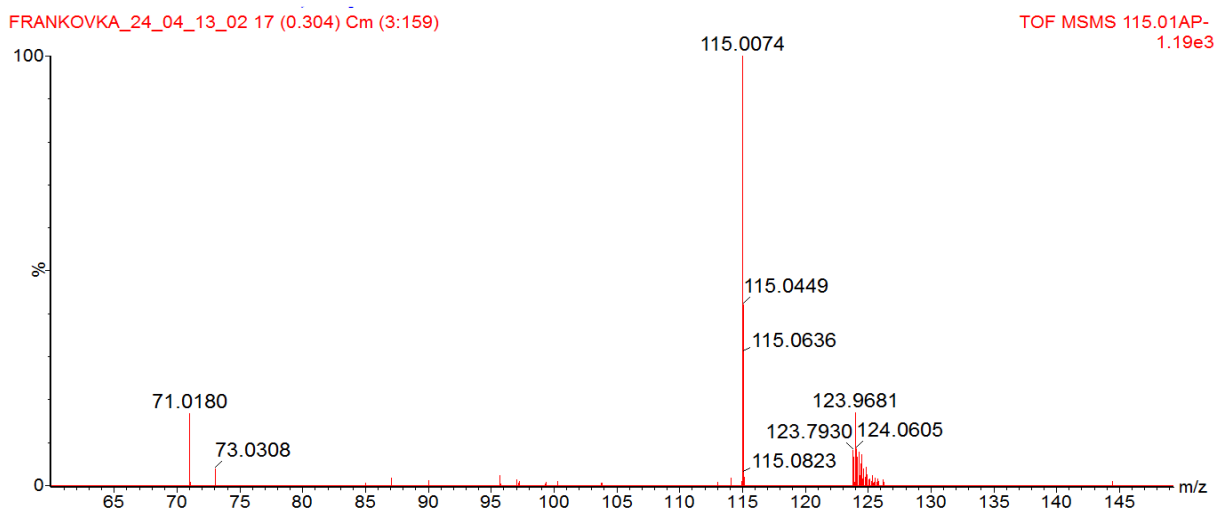


Obr. 16: Hmotnostní spektrum vína, ASAP



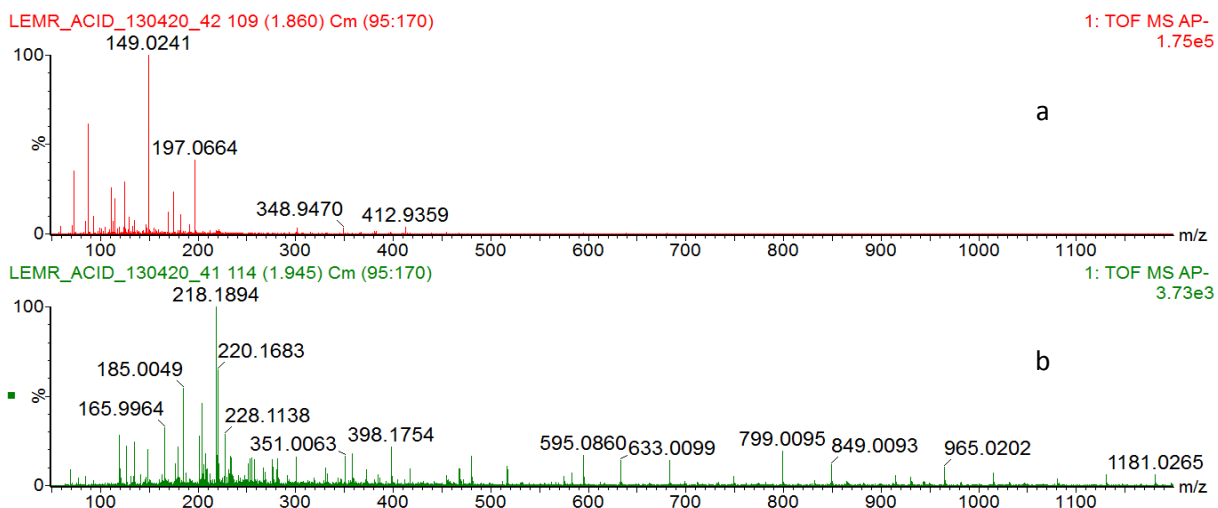
Obr. 17: Hmotnostní spektrum vína, hledaný ion m/z 115, ASAP

Dalším krokem bylo provedení ASAP MS/MS analýzy. Důvodem byla snaha zjistit, zda nalezený ion poskytuje (stejně jako standardy kyselin) fragment, jehož poměr m/z by odpovídal ztrátě CO₂ (Obr. 18). Analýzou bylo zjištěno, že sledovaný ion tento fragment poskytuje (m/z 71,0180).



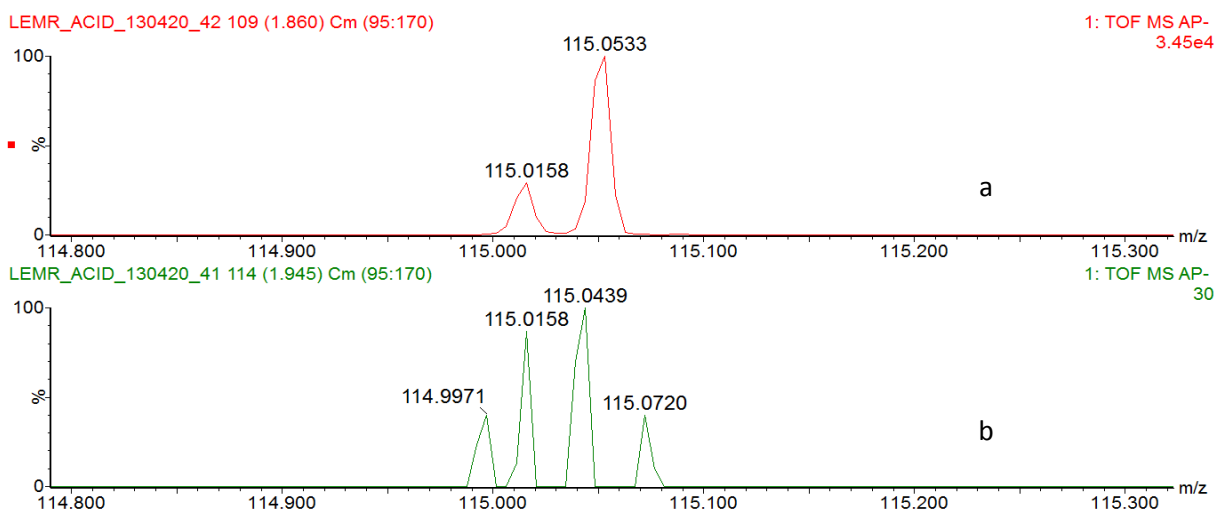
Obr. 18: Hmotnostní spektrum hledaného iontu ve víně, MS/MS, ASAP

Následně byla provedena ASAP IMS analýza vína a slepého vzorku při teplotním gradientu 50 - 550°C (Obr. 19).



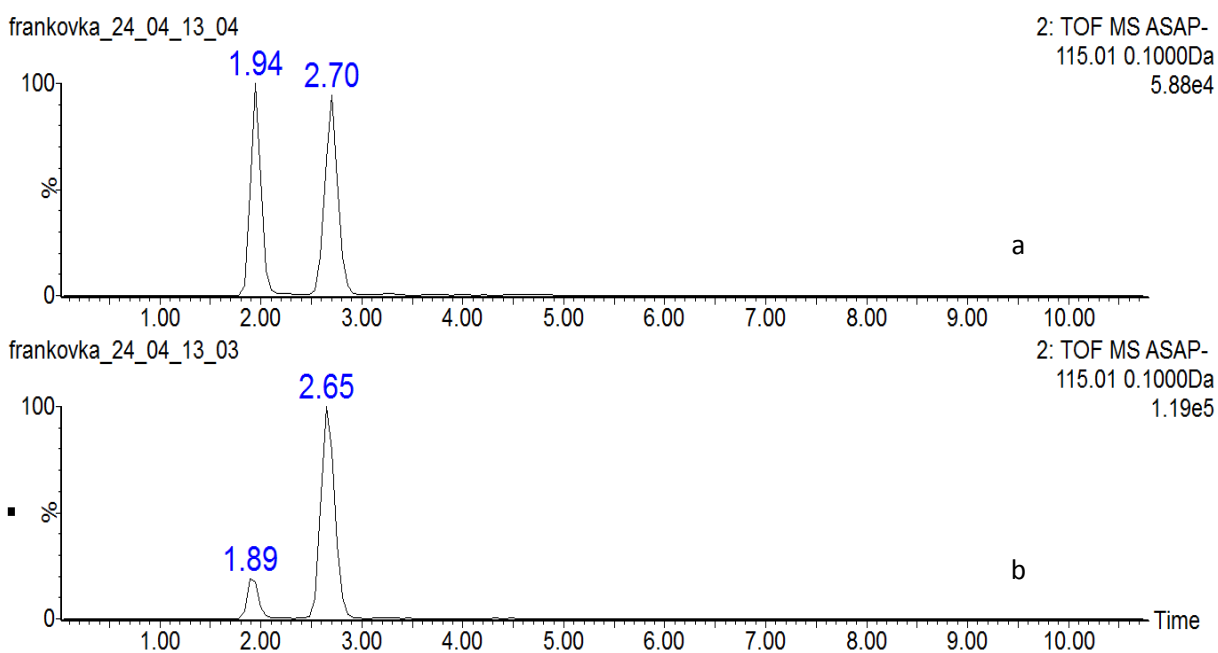
Obr. 19: Hmotnostní spektrum a) vína a b) slepého vzorku, iontová mobilita, ASAP

V naměřeném ASAP IMS spektru jsme hledali ion, jehož poměr m/z by se pohybovat kolem hodnoty 115,01 (Obr. 20).

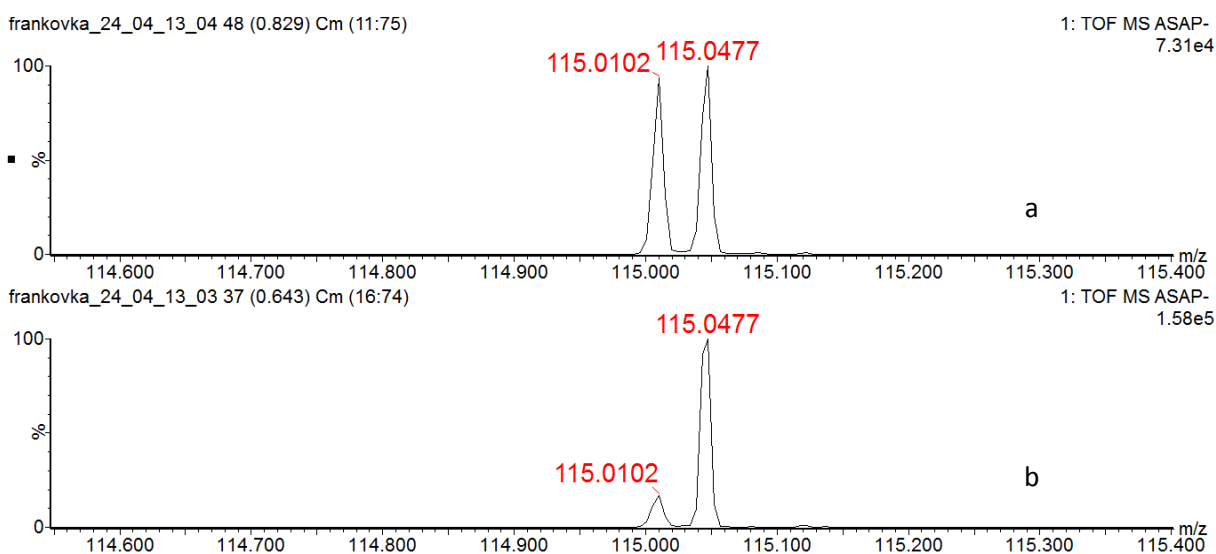


Obr. 20: Hmotnostní spektrum po separaci iontovou mobilitou a) vína, b) slepého vzorku

Jelikož po provedené analýze bylo zřejmé, že vzorek vína poskytuje signál odpovídající jablečné kyselinu (její přítomnost ve víně je očekávána), signál iontu m/z 115 byl pozorován v čase 1,94 ms, byla provedena ASAP analýza vína bez a s přidavkem standardu (Obr. 21). Pík v čase 1,94 ms odpovídá sledovanému degradačnímu produktu jablečné kyseliny (produktu dehydratace). Pík v čase 2,70 ms náleží jiné látce s blízkou hodnotou m/z (viz dva ionty na Obr. 20a). Ke vzorku vína byl přidán standard jablečné kyseliny (k 1 μ l vína bylo přidáno 0,25 μ l jablečné kyseliny o koncentraci 1 mg/l). Vzhledem k nárůstu píku v čase 1,94 ms (Obr. 21a), souvisí tento pík skutečně s jablečnou kyselinou. Detail hmotnostního spektra vína bez přidavku a po přidavku standardu dle očekávání potvrzuje navýšení signálu produktu dehydratace (Obr. 22).

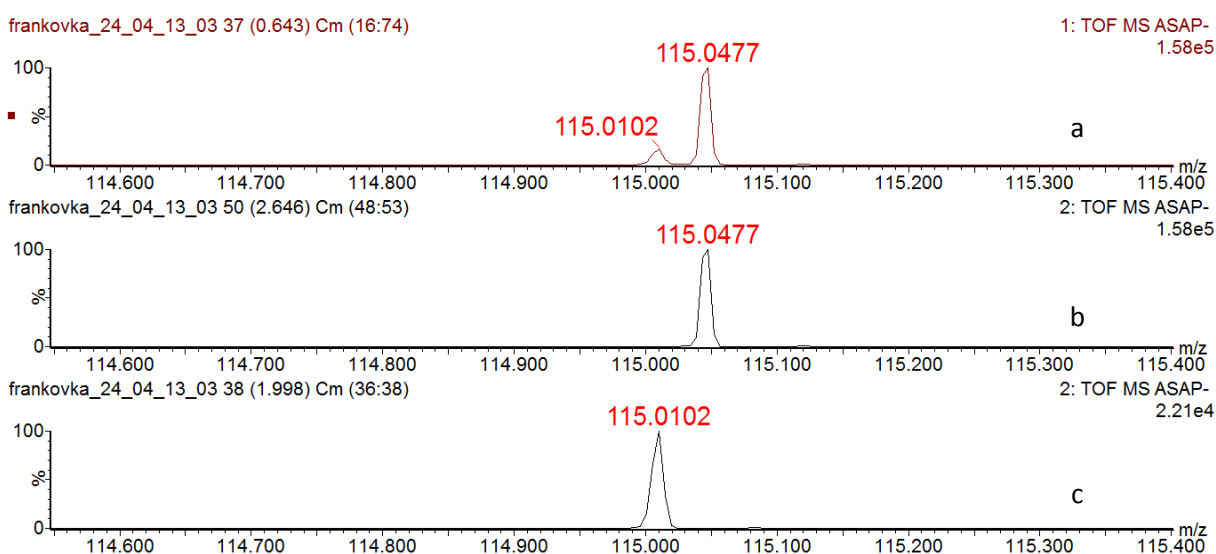


Obr. 21: Mobilitní záznam iontu m/z 115.01 ve vzorku vína, a) s přidavkem jablečné kyseliny, b) bez přidavku, ASAP



Obr. 22: Detail hmotnostního spektra vzorku vína, a) s přidavkem jablečné kyseliny, b) bez přidavku, ASAP

Úspěšnou mobilní separaci lze doložit i hmotnostními spektry získanými pro jednotlivé mobilní píky. Ve spektru bez mobilní separace se objevují dva ionty s blízkou hodnotou m/z (obr. 23a). Po mobilní separaci spektrum pro pík v čase 2,65 ms odpovídá interferující látce (obr. 23b), pík v čase 1,89 ms pak sledovanému produktu dehydratace (obr. 25c).



Obr. 23: Hmotnostní spektrum a) iontů při m/z 115 bez mobilní separace, b) po mobilní separaci pro interferující látku (2,65 ms), c) po mobilní separaci pro ion produktu dehydratace jablečné kyseliny (1,89 ms), ASAP

5. Závěr

Vzhledem k nepřehlednému množství artefaktů, které lze podrobit výzkumu, je nezbytné najít vhodnou metodu, kterou by bylo možné na dané předměty aplikovat. V teoretické části byly shrnuty techniky, které lze použít pro analýzu nalezených artefaktů. Zároveň byly popsány analýzy, při nichž bylo využito především hmotnostní spektrometrie. Studie byly vybrány tak, aby postihly aplikaci MS na co nejširší škálu archeologických artefaktů. Dokládají značný význam této analytické metody pro zkoumání naší historie.

Experiment byl zaměřen na identifikaci a separaci fumarové kyseliny a degradačních produktů jablečné kyseliny. Důvodem je fakt, že obě kyseliny jsou v souvislosti s analýzou vína důležité. Například fumarová kyselina může být markerem vína ve starých nádobách. Jablečná kyselina patří k významně zastoupeným organickým kyselinám ve víně. Její signál resp. signál produktů její dehydratace může interferovat s fumarovou kyselinou (ta by se mohla i samotnou dehydratací tvořit, což však nebylo alespoň ve významnější míře během experimentů pozorováno). Sledované látky (m/z 115.0111) mají stejný sumární vzorec a poskytují stejný fragment, nelze je tedy odlišit hmotnostní spektrometrií. Pro řešení tohoto problému byla úspěšně využita iontová mobilitní separace. Látky je možné odlišit a potvrdit jejich identitu na základě doby pohybu, po separaci iontů pak zjištěním jejich přesné a správné hmotnosti a fragmentačního spektra. Ionizace látek byla prováděna elektrosprejem a přímou sondou ASAP. U ní byl zaznamenán značný vliv teplotního gradientu na vzhled spektra (odlišná efektivita vzniku iontu m/z 115.0111 pro produkt dehydratace jablečné kyseliny a fumarové kyseliny). Je zřejmé, že volbě teplotního gradientu je nutné věnovat náležitou pozornost a testovat jeho vliv na vzhled spektra.

Při analýze Frankovky technikou ASAP byla zkoumána zejména tvorba degradačních produktů jablečné kyseliny, které mimo jiné indikují přítomnost této kyseliny. Fumarová kyselina ve Frankovce identifikována nebyla. Přesto se ve vzorku nalézat mohla avšak pod mezí detekce. Z výsledku analýzy vyplývá, že měření pomocí přímé sondy ASAP je vhodné pro analýzu vín a může poskytnout „otisk prstu“ pro vzorek vína.

Citovaná literatura

- [1] Giussani B., Monticelli D., Rampazzi L.: Role of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry in cultural heritage research: A review. *Anal. Chim. Acta* **635**, 6-21(2008).
- [2] Pollard M., Batt C., Stern B, Young S. M. M.: *Analytical Chemistry in Archaeology*. Cambridge University Press, Cambridge 2007.
- [3] Aston M., Taylor T.: *Archeologický atlas*. Dorling Kindersley Limited, London 1998.
- [4] Nevin A., Spoto G., Anglos D.: Laser spectroscopies for elemental and molecular analysis in art and archaeology. *Appl. Phys. A* **106**, 339-361 (2012).
- [5] Bakraji E. H., Itlas M., Abdulrahman A., Issa H., Abboud R.: X-ray fluorescence analysis for the study of fragments pottery excavated at Tell Jendares site, Syria, employing multivariate statistical analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **3**, 455-460 (2010).
- [6] Tite M. S.: The technology of glazed islamic ceramics using data collected by the late Alexander Kaczmarczyk. *Archaeometry*, 329-339 (2011).
- [7] Moreno R. G., Strivay D., Gilbert B.: Maya blue-green pigments found in Calakmul, Mexico: a study by Raman and UV-visible spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.* **8**, 1050-1056 (2008).
- [8] Bloisi F., Ebanista C., Falcone L., Vicari L.: Infrared image analysis and elaboration for archaeology: The case study of a medieval "capsella" from Cimitile, Italy. *Appl. Phys. B* **1-2**, 471-479 (2010).
- [9] Emami M., Trettin R.: Mineralogical and chemical investigations on the ceramic technology in Coga Zanbil, (Iran, 1250 BC). *Period. Mineral.* **3**, 359-377 (2012).
- [10] Chen X., Qin Y., Li X. L.: Analysis of the Process of Chinese Purple Pigment Synthesis Using X-Ray Diffraction and Thermal Analysis Methods. *Spectrosc. Spect. Anal.* **4**, 1111-1113 (2012).

- [11] Vidová V., Lemr K., Havlíček V.: Současné trendy hmotnostní spektrometrie. Chem. Listy, 957-959 (2008).
- [12] Klouda P.: *Moderní analytické metody*,: nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 2003.
- [13] Becker J. S., Zoriy M., Becker J.S., J. Susan Dobrowolska J., Matusch A.: Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) in elemental imaging of biological tissues and in proteomicsw. J. Anal. Atom. Spectrom. **7**, 736-744 (2007).
- [14] Farrell J., Amarasiriwardena D., Goodman A. H., Arriaza B.: Bioimaging of trace metals in ancient Chilean mummies and contemporary Egyptian teeth by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). Microchem. J., 340-346 (2013).
- [15] Tykot R. H.: Geochemical analysis of obsidian and the reconstruction of trade mechanisms in the Early Neolithic period of the western Mediterranean. Acs. Sym. Ser., 169-184 (2002).
- [16] Carballo D. M., Carballo J., Neff H. Formative and Classic period obsidian procurement in central Mexico: A compositional study using laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. Lat. Am. Antiq. **1**, 27-43 (2007).
- [17] E. S. L. A. W. R. Vicenzi E. P.: Microbeam characterization of coming archeological reference glasses: New additions to the Smithsonian Microbeam Standard collection. J. Res. Natl. Inst. Stan. **6**, 719-727 (2002).
- [18] Dekorativní předměty [Online].
Dostupné z: <<http://dekorativnipredmety.cz/component/content/article/84>>.
[Přístup získán 16. 2. 2013].
- [19] Golitko M., Terrell J. E.: Mapping prehistoric social fields on the Sepik coast of Papua New Guinea: ceramic compositional analysis using laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. J. Archaeol. Sci. **12**, 3568-3580 (2012).

- [20] Alex B. A., Nichols D. L., Glascock M. D.: Complementary compositional analysis of formative period ceramics from the Teotihuacan valley. *Archaeometry*, 821-834 (2012).
- [21] De Benedetto G. E., Nicoli S., Pennetta, A., Rizzo D., Sabbatini L., Mangone A.: An integrated spectroscopic approach to investigate pigments and engobes on pre-Roman pottery. *J. Raman Spectrosc.* 6, 1317-1323 (2011).
- [22] Bartle E. K., Watling R. J.: Provenance determination of oriental porcelain using laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). *J. Forensic Sci.* 2, 341-348 (2007).
- [23] Wagner B., Bulska E.: On the use of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for the investigation of the written heritage. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **10**, 1325-1329 (2004).
- [24] Schlosser S., Reinecke A., Schwab R., Pernicka E., Sonetra S. Laychour V.: Early Cambodian gold and silver from Prohear: composition, trace elements and gilding. *J. Archaeol. Sci.* **9**, 2877-2887 (2012).
- [25] Miriello D., Ruffolo S. A., La Russa M. F., Crisci G. M., Pezzino A., Galluccio R., Barca D., Marasco E.: Diagnostics, deterioration and provenance of stone materials from the Jefferson Page tomb (Non-Catholic Cemetery of Rome, Italy). *Environ. Earth Sci.* **4**, 829-836 (2010).
- [26] Perez-Arategui J., Resano M., Garcia-Ruiz E., Vanhaeck, F., Roldan C., Ferrero J., Coll J.: Characterization of cobalt pigments found in traditional Valencian ceramics by means of laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry and portable X-ray fluorescence spectrometry. *Talanta* **5**, 1271-1280 (2008).
- [27] Duwe S., Neff H.: Glaze and slip pigment analyses of Pueblo IV period ceramics from east-central Arizona using time of flight-laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (TOF-LA-ICP-MS). *J. Archaeol. Sci.* 3, 403-414 (2007).

- [28] Frei K. M., Frei R., Mannering U., Gleba M., Nosch, M. L., Lyngstrom H.: Provenance of ancient textiles-a pilot study evaluating the strontium isotope system in wool. *Archaeometry*, 252-276 (2009).
- [29] Regert M.: Analytical strategies for discriminating archeological fatty substances from animal origin. *Mass Spectrom. Rev.* **2**, 177-220 (2011).
- [30] Salvini L., Pecci A., Giorgi G.: Cooking activities during the Middle Ages: organic residues in ceramic vessels from the Sant'Antimo Church (Piombino-Central Italy). *J. Mass Spectrom.* **1**, 108-115 (2008).
- [31] Pecci A., Giorgi G., Salvini L., Ontiveros M. A. C.: Identifying wine markers in ceramics and plasters using gas chromatography-mass spectrometry. *Experimental and archaeological materials. J. Archaeol. Sci.* **1**, 109-115 (2013).
- [32] Harrell J. A., Lewan M. D.: Sources of mummy bitumen in ancient Egypt and Palestine. *Archaeometry*, 285-293 (2002).
- [33] Colombini M. P., Modugno F., Ribechini E.: Organic mass spectrometry in archaeology: evidence for Brassicaceae seed oil in Egyptian ceramic lamps. *J. Mass Spectrom.* **7**, 890-898 (2005).
- [34] Stacey R. J.: The composition of some Roman medicines: evidence for Pliny's Punic wax?. *Anal. Bioanal. Chem.* **6**, 1749-1759 (2011).
- [35] Regert M.: Investigating the history of prehistoric glues by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* **3**, 244-254 (2004).
- [36] Colombini M. P., Modugno F., Gamberini M. C., Rocchi M., Baraldi C., Deviese T., Stacey R. J., Orlandi M., Saliu F., Riedo C., Chiantore O., Sciutto G., Catelli E., Brambilla L., Toniolo L., Miliani C., Rocchi P., Bleton J., Baumer U., Dieteman P., Pojana G.: A round robin exercise in archaeometry: analysis of a blind sample reproducing a seventeenth century pharmaceutical ointment. *Anal. Bioanal. Chem.* **6**, 1847-1860 (2011).

- [37] Ribechini E., Modugno F., Perez-Arantegui, J., Colombini M. P.: Discovering the composition of ancient cosmetics and remedies: analytical techniques and materials. *Anal. Bioanal. Chem.* **6**, 1727-1738 (2011).
- [38] Colombini M.P., Giachi G., Iozzo M., Ribechini E.: An Etruscan ointment from Chiusi (Tuscany, Italy): its chemical characterization. *J. Archaeol. Sci.* **7**, 1488-1495 (2009).
- [39] Zareva S., Kuleff I.: The application of the derivative IR-spectroscopy and HPLC-ESI-MS/MS in the analysis of archaeology resin. *Spectrochim. Acta Part A* **2**, 283-286 (2010).
- [40] Synal H. A., Schulze-Konig T., Seiler M., Suter M., Wacker L.: Mass spectrometric detection of radiocarbon for dating applications. *Nucl. Instrum. Meth. B*, 349-352 (2013).
- [41] Kutschera W., Bietak M., Wild E. M., Ramsey C. B., Dee M., Golser R., Kopetzky K., Stadler, P., Steier, P., Thanheiser U., Weninger F.: The chronology of tell el-daba: a crucial meeting point of c-14 dating, archaeology, and egyptology in the 2nd millennium BC. *Radiocarbon* **3-4**, 407-422 (2012).
- [42] Mark L., Gulyas-Fekete G., Marcsik A., Molnar E., Palfi G.: Analysis of ancient mycolic acids by using MALDI TOF MS: response to "Essentials in the use of mycolic acid biomarkers for tuberculosis detection" by Minnikin et al., 2010. *J. Archaeol. Sci.* **5**, 1111-1118 (2011).

Seznam použitých zkratk

OES – Optická emisní spektroskopie

AAS – Atomová absorpční spektroskopie

XRF – Rentgenová fluorescenční spektrometrie

XPS – Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

NAA – Neutronová aktivační analýza

IR – Infračervená spektrometrie

XRD – Rentgenová difrakce

TG-DTA – termogravimetrická-diferenční termická analýza

GC – plynová chromatografie

MS – hmotnostní spektrometrie

LA-ICP-MS – Laser ablation-inductively coupled plasma

HPLC – High-performance liquid chromatography

AMS – Akcelerační hmotnostní spektrometrie

ASAP – The Atmospheric Solids Analysis Probe

ESI - Elektrospej