

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie



Iontová pohyblivost s hmotnostní spektrometrií
ve forenzní analýze

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2015

Vypracovala: Sandra Benická

Obor: Analytická chemie

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

Konzultant: Mgr. Lucie Borovcová

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 vedoucímu mé diplomové práce prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph.D. za odborné vedení při práci. Dále velký dík patří Mgr. Lucii Borovcové za její pomoc při provádění experimentu a pomoc poskytnutou při vypracovávání. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během celého mého studia.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Sandra Benická
Název práce: Iontová pohyblivost s hmotnostní spektrometrií ve forenzní analýze
Typ práce: Diplomová
Pracoviště: Katedra analytické chemie
Vedoucí práce: prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.
Konzultant: Mgr. Lucie Borovcová
Rok obhajoby: 2015
Počet stran: 59
Počet stran příloh: 53
Jazyk: čeština

Souhrn:

Analýza drog představuje významnou oblast analytické chemie. Vývoj nových analytických postupů musí rychle reagovat na změny na drogové scéně, ke kterým patří i uvádění nových syntetických drog (New Designer Drugs, NDD) na ilegální trh. Pro tyto látky často nejsou k dispozici rutinní metody toxikologické analýzy. Teoretická část diplomové práce popisuje a hodnotí možnosti aplikace spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií (Ion Mobility Spectrometry – Mass Spectrometry, IMS-MS). Popsány byly různé druhy mobilních cel a jejich aplikace na biologické a chemické vzorky, přičemž přehled literatury byl zaměřen především na použití IMS-MS ve forenzní analýze (např. analýza drog, výbušnin, bojových chemických látek).

Experimentální část byla zaměřena na analýzu nových syntetických drog ze skupin kationů a fenylethylaminů. Porovnány byly dva iontové zdroje – elektrosprej a fotoionizace za atmosférického tlaku. Byly testovány nejvhodnější podmínky pro tento typ experimentů a ionizace elektrosprejem se ukázala jako vhodnější řešení pro analýzu NDD. V dalším experimentu byly při použití ESI testovány možnosti iontové mobility při separaci izobarických látek ze studované skupiny drog. Zkoušeny byly tři různé driftové plyny (N_2 , CO_2 , Ar) ve snaze ovlivnit selektivitu separace. Separace izobarických látek však nebyla dostatečná pro jejich jednoznačné odlišení. Použití IMS ale vedlo k potlačení chemického šumu, což umožnilo analýzu vzorků moče po její velmi jednoduché úpravě (ředění methanolem, odstředění a filtrace).

NDD byly zjišťovány ve vzorcích moči připravených jejich přidávkem v koncentračním rozmezí $1\text{ ng} - 1\text{ }\mu\text{g/ml}$. Ze získaných výsledků byly odhadnuty detekční limity všech 21 nových syntetických drog v rozmezí $0,001 - 0,25\text{ }\mu\text{g/ml}$. Nejen díky jednoduché předúpravě vzorků lidské moči je spojení spektrometrie iontové pohyblivosti a hmotnostní spektrometrie považováno jako ideální technika pro rychlou analýzu NDD. Důležité jsou nízké detekční limity a především vysoká selektivita stanovení. Oproti rutinním iontově mobilním kontrolám známých z mezinárodních letišť má kombinace IMS-MS vysoký potenciál v toxikologické analýze, byť je časově i finančně náročnější.

Klíčová slova: Nové syntetické drogy, iontová mobilita, hmotnostní spektrometrie, elektrosprej, fotoionizace za atmosférického tlaku

Summary:

The analysis of drugs represents an important application area of bioanalytical chemistry. The development of new and fast analytical approaches should reflect the emerging changes on drug market including new designer drugs. For this drug category, no routine, fast or reliable analytical tools have been available until recently.

The theoretical thesis part was dedicated to ion mobility mass spectrometry (IMS-MS). Various mobility cell designs were disclosed and recent biological and chemical applications summarized. This part was also focused to forensic chemistry mainly covering drug, explosive and chemical warfare agent analyses.

The experimental part was dedicated to new designer drug analysis with special emphasis to cathinones and phenylethylamines. The efficiencies of electrospray and photoionization at atmospheric pressure were compared. The experimental conditions were carefully tuned and electrospray ionization was defined as the most efficient ionization technique. The application of ion mobility spectrometry in isobaric distinguishing of new designer drugs was the next step. Nitrogen, carbon monoxide and argon were probed in separation studies. Although the distinction of isobaric pairs was not fully achieved by ion mobility, the chemical noise was significantly attenuated. Ion mobility spectrometry hence was successfully applied in direct urinal analysis employing just a simple sample treatment including urine dissolution in methanol, centrifugation and filtration.

New designer drugs were determined in urine in 1 ng – 1 µg/ml working concentration range. The limit of detection of 21 drugs varied between 0,001 – 0,25 µg/ml. Ion mobility mass spectrometry was defined as a viable tool for fast screening of new designed drugs because of its speed, simple sample cleanup, low detection limit and high selectivity. The thesis concludes that contrary to routine airport ion mobility monitoring the ion mobility mass spectrometry has high potential in toxicology analysis irrespective of the fact that it is more costly and laborious.

Keywords: New designer drugs, ion mobility, mass spectrometry, electrospray, Atmospheric Pressure Photoionization

Obsah:

1. Úvod	8
2. Teoretická část	9
2.1. Analyzátoři v iontové mobilní spektrometrii	9
2.2. Spojení iontové mobilní spektrometrie s hmotnostní spektrometrií (IMS-MS).....	13
2.3. Příklady použití metody IMS-MS	15
2.4. Iontová mobilita ve spojení s hmotnostní spektrometrií ve forenzní analýze	18
2.5. Iontová mobilita ve forenzní analýze	22
3. Experimentální část	27
3.1. Přístrojové vybavení a chemikálie.....	27
3.2. Pracovní postup	30
3.2.1. Postup analýz na přístroji Synapt G-2s	30
3.2.2. Postup přípravy vzorků.....	31
3.3.1. Podmínky ionizace nových syntetických drog	31
4. Výsledky a diskuze.....	33
4.1. Srovnání elektrospreje a fotoionizace za atmosférického tlaku	33
4.2. Měření nových syntetických drog pomocí iontové mobility.....	35
4.3. Analýza moči – měření a vyhodnocení kalibračních řad	40
5. Závěr.....	51
6. Citovaná literatura	52
7. Přílohy	I

1. Úvod

Iontová mobilita ve spojení s hmotnostní spektrometrií (IMS-MS) je technika, kterou lze využívat pro kvalitativní a kvantitativní analýzu látek. Samotná hmotnostní spektrometrie je schopná nejen identifikovat neznámou látku, ale umožňuje rovněž určit izotopové složení prvků v analyzovaném vzorku a zároveň je schopna podávat informace o struktuře analyzované látky. Iontová mobilita do spojení IMS-MS vnáší možnost separace – například izomerních látek. Toto technické spojení umožňuje rychlou a specifickou analýzu, která našla využití v mnoha odvětvích.

Jednou z oblastí, kde je technika IMS-MS v posledních letech využívána, je analýza forenzních materiálů. Výzkum je zaměřen především na analýzu drog a zneužívaných léčiv, výbušnin a bojových chemických látek. Momentálním trendem a cílem vědců je zdokonalit tuto techniku natolik, aby umožnila rychlou, jednoduchou a levnou analýzu, která by se mohla rozšířit například při letištních kontrolách a sloužila k odhalení pašovaných látek a k lepší ochraně obyvatelstva před možnými teroristickými útoky.

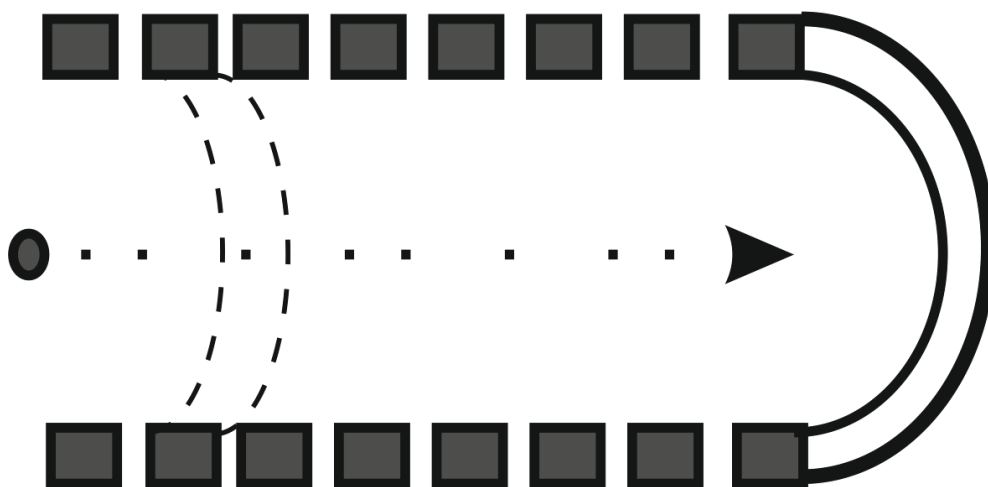
Cílem práce bylo najít vhodné podmínky pro měření 21 nových syntetických drog metodou IMS-MS. Zhodnoceny byly možnosti dvou ionizačních technik - elektrospreje (ESI) a fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI). Možnost separace izobarických látek byla testována pomocí iontové mobility, přičemž byly použity jako driftový plyn dusík, argon a oxid uhličitý. Ze získaných poznatků o chování analytů byly navrženy vhodné experimentální podmínky dovolující analyzovat vzorky moče, přičemž byly odhadnuty limity detekce pro studované látky v této matici.

2. Teoretická část

2.1. Analyzátoři v iontové mobilní spektrometrii

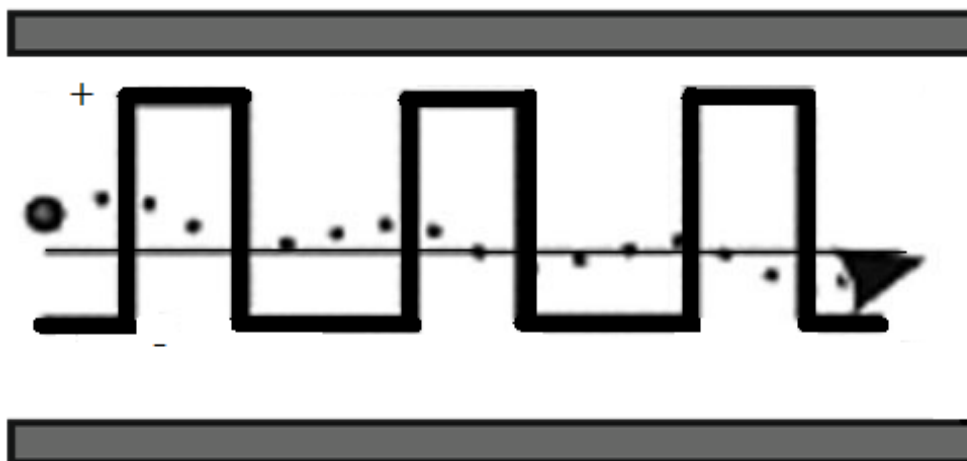
Iontová mobilní spektrometrie (IMS) patří mezi separační metody. Ionty jsou separovány na základě jejich pohybu v plynné fázi v driftovém plynu v mobilní cele, na kterou je aplikováno elektrické pole. Rychlost pohybu závisí na velikosti náboje, hmotnosti a velikosti průřezu částice. To znamená, že čím je větší plocha průřezu iontu, tím větší je počet kolizí s driftovým plynem, zároveň roste čas, který ion potřebuje, aby urazil vzdálenost do detektoru. Tedy ionty s větším průřezem dorazí do detektoru později než ty, které mají menší plochu průřezu. Rozdíly v iontové mobilitě jsou základem pro jejich oddělení. Ionty o stejné hmotnosti, ale s různým tvarem molekuly, mohou být rovněž odděleny IMS¹. Díky tomu lze IMS využít i pro separace izomerů, čehož nelze dosáhnout u všech separačních technik². Obecně se metoda IMS uplatňuje při bezpečnostních prověrkách (odhalování výbušnin a drog) a monitoringu životního prostředí¹. Zároveň je technika IMS často používána ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS)².

Technických řešení IMS analýzy je několik. Nejjednodušším typem je DT-IMS (iontová mobilita v driftové trubici). Při DT-IMS analýze je vzorek zaváděn do driftové trubice spolu s driftovým plynem při použití relativně nízkého napětí. Driftový plyn protéká trubicí v opačném směru, než je směr migrace ionizovaných částic. Menší ionty budou méně brzděny přiváděným driftovým plynem a budou detektorem detekovány dříve². Tato metoda se ukázala jako vhodná pro měření aerosolu – zejména monitorování vzorků životního prostředí a kontrolu výrobních procesů³. Dalším příkladem aplikace IMS-MS byla analýza strukturních izomerů monosacharidů – konkrétně 16 methyl-D-glukopyranosidů a čtyři methyl-N-acetyl hexosaminy. Ionizace byla prováděna elektrosprejem a mobilní analyzátoři byly použity dva – DT (ESI-AP-DTIM-TOF MS) a TWIMS (Traveling Wave Ion Mobility Separator, separace iontovou mobilitou s využitím putující vlny, Synapt G2). Všechny sloučeniny byly zkoumány jako sodné adukty. Většina analyzovaných látek vykazovala různé driftové časy v obou systémech v závislosti na rozdílech v jejich stereochemické a anomerní konfiguraci. Studie prokázala, že technika IMS-MS s použitím různých analyzátorů, je vhodná pro řešení rozdílů ve stereochemii mezi adukty $[M+Na]^+$ monosacharidových methylesterů glykosidů. Zároveň bylo potvrzeno získání různých výsledků v závislosti na použitém mobilním analyzátoru⁴.



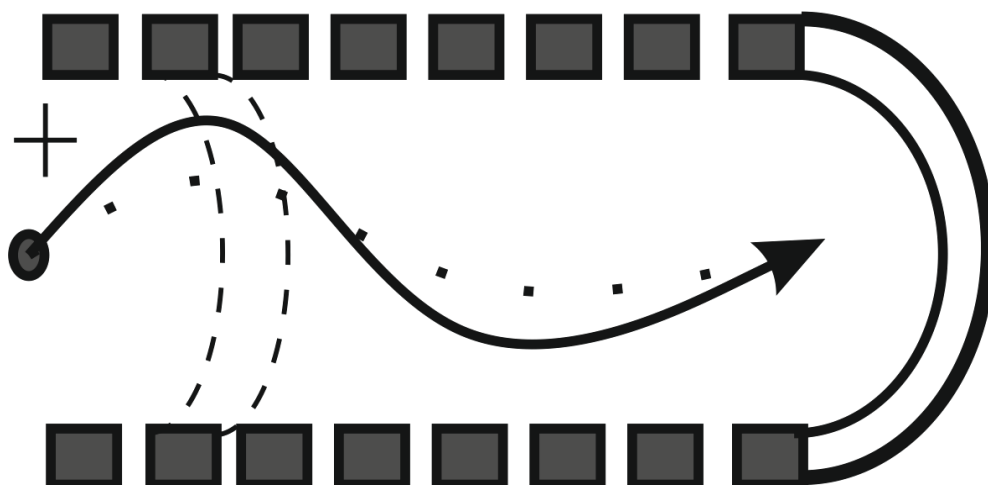
Obr. 1: Iontová mobilita v driftové trubici (DT-IMS)².

Dalším typem analyzátoru u iontové mobilitní spektrometrie je FAIMS (iontová mobilita s využitím asymetrické vlny s vysokou intenzitou elektrického pole; nebo DMS - diferenciální mobilitní spektrometr). V tomto analyzátoru jsou ionty proudem nosného plynu vedeny do oblasti s elektrodami. Ionty jsou po různou dobu vystaveny různé intenzitě elektrického pole. Asymetrický průběh je dán vysokým potenciálem elektrického pole po krátkou dobu, následuje nízký potenciál elektrického pole po delší čas. Tento proces působí jako iontový filtr, kdy dochází k účinnému výběru vhodných iontů. Válcové uspořádání elektrod je obvyklé pro FAIMS, paralelní deskové uspořádání je většinou označováno jako DMS². Při analýze komplexních biologických vzorků s nízkými hladinami analytů metodou LC-MS/MS je často nutné zvýšení selektivity. FAIMS a DMS zlepšilo LC-MS/MS analýzu separací iontů v plynné fázi během několika milisekund⁵. Oba analyzátory lze zároveň aplikovat při zkoumání vzorků ve farmacii – využití nacházejí při kontrole kvality a monitorování procesů probíhajících ve farmaceutickém průmyslu. Konkrétně je ověřována čistota výrobního zařízení (sledování aktivních farmaceutických látek (API), které by mohly kontaminovat budoucí farmaceutické výrobky), dále jsou prováděny přímé analýzy složení vyráběných látek a není opomíjena ani péče o zdraví a bezpečnost pracovníků. Cílem zapojení FAIMS a DMS je zvýšení celkové efektivity výroby⁶.



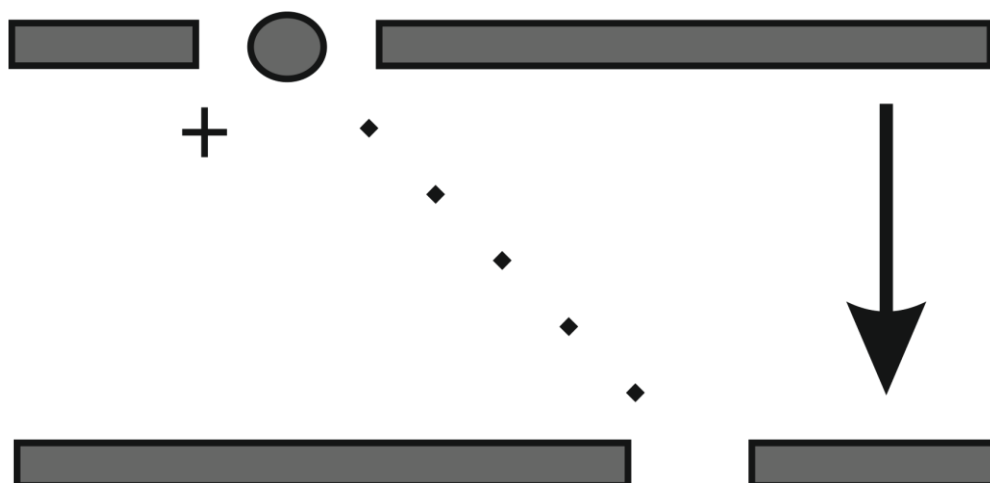
Obr. 2: Iontová mobilita s využitím asymetrické vlny s vysokou intenzitou elektrického pole (FAIMS)/ diferenciální mobilitní spektrometr (DMS)².

TWIMS je analyzátor iontové mobilitní spektrometrie, kde separace iontů probíhá na základě jejich mobility v řadě napěťových pulzů na pohybující se vlně (traveling wave)². TWIMS ve spojení s hmotnostní spektrometrií bylo využito při identifikaci izomerních oligosacharidů v komplexních směsích. Konkrétně byla tato technika aplikována při identifikaci různých isomerních směsí polygalakturonové kyseliny, zároveň sloužila k určení jejich struktury. Došlo k úspěšnému rozlišení izomerů s různými stupni polymerace a byly analyzovány všechny stupně methyl-esterifikace⁷. Další práce, při které byl aplikován TWIMS, se týkala analýzy metaloproteinů. Prováděna byla metaloproteinová speciální analýza mědi, olova a selenu, docházelo ke komplexaci kovů s dvěma konformačními stavy hovězí karboanhydrasy. Použití iontové mobility umožnilo vizualizaci dvou různých konformačních stavů stejného proteinu, které mají stejnou hodnotu m/z . TWIMS ve spojení s hmotnostní spektrometrií byla shledána jako vhodná metoda pro studium kovů vázaných na protein v různých oxidačních stavech⁸. Využití TWIMS analyzátoru spočívá i v jeho začlenění do LC-MS analýzy proteinových biomarkerů v klinických vzorcích - v lidské plazmě. Zařazením TWIMS dochází ke zlepšení separace a zvýšení citlivosti⁹.



Obr. 3: Separace iontovou mobilitou s využitím putující vlny (TWIMS)².

Posledním typem analyzátorů používaných v iontové mobilitní spektrometrii je diferenciální mobilitní analyzátor (DMA). Využívá kombinace rychlého proudu driftového plynu a elektrického pole a pouze ionty s určitou mobilitou procházejí výstupní štěrbinou na detektor². Diferenciální mobilitní analyzátor ve spojení s elektrosprejem (ESI-DMA) je univerzální technika a má širokou škálu aplikací. Zajímavá je oblast výzkumu biomolekul a nanočástic, kdy lze charakterizovat částice s rozměry v jednotkách až stovkách nanometrů. Aplikací ESI-DMA metody lze získat distribuci velikostí těchto částic během několika málo minut. Mezi látky, které byly charakterizovány výše uvedenou metodou, se řadí polymery, proteiny, viry, bakteriofágy a konjugáty nanočástic a biomolekul¹⁰. Pro analýzu pohyblivosti proteinů a proteinových multimerů byl použit diferenciální mobilitní analyzátor spojený s TOF-MS (analyzátor doby letu). Ionizace proteinů probíhala pomocí elektrospreje. Pomocí DMA-MS nebylo obtížné rozlišit nespecifické proteinové agregáty, které vznikly v důsledku použití elektrospreje, a multimery, k jejichž tvorbě došlo přednostně v roztoku¹¹. Další práce, při které bylo použito DMA, byla analýza ve vodě suspendovaných nanočástic zlata. V ESI-DMA (dochází k elektrorozprášení Au nanočástic) analyzátoru dochází k separaci nanočástic v plynné fázi podle jejich velikosti. Detekce byla prováděna pomocí ICP-MS (hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem), který poskytuje informace o elementárním složení. Metodu lze využít ke kvantitativní analýze¹².



Obr. 4: Diferenciální mobilní analyzátor (DMA)².

2.2. Spojení iontové mobilní spektrometrie s hmotnostní spektrometrií (IMS-MS)

Dnes technikou, které je věnována pozornost, je spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií (IMS-MS). Iontová mobilita zde slouží k separaci jednotlivých analytů na základě jejich driftových časů, což umožňuje rozlišovat látky podobné struktury. Příkladem mohou být analýzy izomerů, izobarů a izotopomerů. Propojení s hmotnostní spektrometrií vede k identifikaci a lepší charakterizaci iontů. Spojení IMS-MS je vhodné pro separaci a identifikaci složitějších směsí či strukturně podobných látek². V současné době existují čtyři velcí výrobci, kteří komerčně vyrábějí a dodávají přístroj, který využívá spojení IMS-MS. Jedná se o firmy Waters, Agilent, Thermo Scientific a AB Sciex.

Firma Waters uvedla na trh spojení iontové mobility na principu putující vlny s hmotnostním spektrometrem Q-TOF. Kolizí indukovanou disociací lze provádět před i za mobilní celou. Prvním přístrojem na trhu značky Waters byl SYNAPT MS series – HDMS¹³. Pokročilejší verzí je přístroj SYNAPT G2 – Si High Definition Mass Spectrometry sloužící k analýze komplexních vzorků a vzorků obsahujících izobarické látky. Má široké využití – např. zobrazování v biologickém výzkumu a charakterizace nejrůznějších chemických materiálů. Zároveň je výhodné použití pro farmaceutické aplikace. Využití nachází například při charakterizaci malých molekul a lipidů¹⁴.

Konkrétním příkladem, kdy byl při experimentu aplikován přístroj SYNAPT G2 firmy Waters, byla analýza porfyrinů. Nadměrná tvorba, hromadění a vylučování porfyrinů spolu s kyselinou 5-aminolevulovou (ALA) a porfobilinogenem (PBG) jsou charakteristické pro onemocnění porfyrie. Tato nemoc je způsobena vadami enzymu v biosyntéze hemu. Kromě kyseliny 5-aminolevulové a porfobiligenu byla provedena separace, identifikace a detekce mesoporfyrinu, koproporfyrinu I, penta-, hexa- a heptakarboxylové kyseliny porfyrinu I a uroporfyrinu I. Ionizace byla provedena elektrosprejem. Použitá technika se jevila jako zajímavá z hlediska screeningu porfyrie, jelikož umožňuje oddělení meziproductů a metabolitů biosyntézy hemu¹⁵. Neméně zajímavým výzkumem byla analýza distribuce a změny proteinů v průběhu stárnutí chrupavky. Použit byl systém MALDI SYNAPT HDMS. Cílem studie bylo zjištění, jaké jsou peptidové profily v procesu stárnutí a při osteoartróze (OA). Zkoumána byla distribuce proteinů v koňské chrupavce - v mládí, stáří a při osteoartróze. Identifikace proteinů byla provedena pomocí databázového vyhledávání. Analýza prokázala rozdíly v intenzitě identifikovaných peptidů. Na základě peptidového zastoupení, byla provedena diskriminace mladé, staré a osteoartrózní koňské chrupavky. Mimo jiné studie ukázala, že největší intenzita fibronektinových peptidů se nachází v OA chrupavce. Tato technika poskytuje možnost studování stárnutí chrupavky a do budoucna může pomoci pochopit, proč je stárnoucí chrupavka více náchylná k osteoartróze¹⁶.

Další společností, která dodává techniku využívající spojení IMS-MS, je firma Agilent. Na trhu je k dispozici přístroj The Agilent 6560 Ion Mobility Quadrupole Time-of-Flight (IM-QTOF) spojující driftovou trubici s hmotnostním analyzátozem Q-TOF¹⁷. Zařízení umožnilo například měření srážkových průřezů (CCS = collision cross-section), které sloužily k identifikaci a charakterizaci analyzovaných látek. Měření probíhalo v dusíku. V tomto experimentu bylo naměřeno celkem 594 hodnot CCS pro molekuly, které náleží do čtyř chemicky odlišných tříd – jednalo se o kvartérní amoniové soli, peptidy, lipidy a sacharidy. Tato technika umožnila měření relativně velké škály velikostí molekul (cca 150-450 Å²) a také široký rozsah hmotností (150-2200 Da)¹⁸.

Další dvě uvedené firmy nabízejí spojení FAIMS (DMS) s hmotnostní spektrometrií. Zařízení SelexION firmy AB Sciex bylo využito například při analýze pesticidů v potravinách. Potravinové vzorky čaje byly nejprve separovány kapalinou chromatografií a následně detekovány pomocí AB SCIEX QTRAP 6500 hmotnostního spektrometru

vybaveného elektrosprejem. SelexION technologie (typově se jednalo o DMS uspořádání), zde posloužila k odstranění interference matrice a umožnila detekci ve složitých směsích¹⁹. Dalším neméně zajímavým experimentem, kde byl aplikován SelexION, byla analýza v oblasti životního prostředí. Sledovány byly nejen metabolity spolu s degradačními produkty, ale identifikovány byly rovněž zcela nečekané znečišťující látky. Měření bylo nejprve prováděno technikou LC-MS/MS. Data získaná z provedené analýzy jsou ovšem velice bohatá na informace a není jednoduché rozlišit, zda daný ion náleží matrici či samotnému analytu. Z tohoto důvodu byla dále aplikována, jako součást systému LC-IMS-MS/MS, diferenciální mobilitní spektrometrie v podobě zařízení SelexION ve spojení s AB SCIEX TripleTOF systémem. Spojení těchto technik umožnilo screening látek znečišťujících životní prostředí, které se ve zkoumaných vzorcích neočekávaně objevily²⁰.

Firma Thermo Scientific nabízí spojení FAIMS s hmotnostní spektrometrií. Bylo testováno, zda je možné realizovat vícesložkovou bioanalytickou metodu za použití LC/ESI-FAIMS-MS/MS. Experiment byl demonstrován na látce nefazodon a jeho dvou metabolitech. Tyto molekuly sloužily jako modelové sloučeniny. Na základě získaných výsledků byla zavedena bioanalytická metoda pro podobné sloučeniny²¹. Dalším případem, kdy byla použita technika LC-FAIMS-MS/MS, přičemž spojení FAIMS-MS pocházelo od firmy Thermo Scientific, byla kvantitativní bioanalýza kandidáta peptidového léčiva v krysí plazmě. Díky zapojení iontové mobility došlo k potlačení chemického/endogenního šumu pozadí a bylo dosaženo lepších výsledků než při použití metody LC-MS/MS²².

2.3. Příklady použití metody IMS-MS

Je celá řada oborů, kde se spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií uplatňuje. Zajímavou aplikací metody IMS-MS je analýza chirálních látek. Při obvyklém hmotnostně spektrometrickém experimentu nelze optické izomery odlišit, mají stejný sumární vzorec i stejně fragmentují. Naproti tomu IMS dokáže s využitím přídavku chirální látky do driftového plynu tyto látky v relativně krátkém čase separovat. Díky spojení IMS-MS je možná separace i identifikace látek s podobnou strukturou^{2, 23}. Příkladem může být IMS-MSⁿ analýza izomerních prekurzorů oligosacharidů. Separace iontovou mobilitou během krátké doby přinesla informace o jejich anomerních konfiguracích, jejich větvení a vazebných

pozicích. Studie izomerů pomocí spojení IMS-MSⁿ je schopna řešit problémy, které by samotná MSⁿ účinně řešit nemohla²⁴.

Další významnou aplikací je komplexní analýza složitých biologických molekul. Příkladem může být studie zaměřená na peptidy, kdy se pracovalo se třemi různými zařízeními pro iontovou mobilitu ve spojení s MS. Užitečným zařízením při určování struktury se ukázala lineární driftová trubice (DT). Druhým použitým zařízením bylo TWIMS, kde separace probíhá v řadě napěťových pulzů na pohybující se vlně (traveling wave IMS, zde označeno TWIG – „Travelling wave ion guide“). Vzhledem k vysoké propustnosti a vyšší citlivost má tato metoda velký potenciál v oblasti proteomiky, neboť je schopna analyzovat biologicky významné množství vzorku. Posledním zařízením bylo FAIMS, které se prokázalo jako vhodné pro analýzu a separaci peptidových směsí. Vlivem ohřevu iontů (v důsledku vysoké intenzity elektrického pole) lze zkoumat rozvinutí sekundární nebo terciární struktury peptidů a proteinů²⁵.

Zajímavou aplikací byla rovněž studie zabývající se metabolickým profilováním lidské krve. Experiment byl proveden spojením iontové mobility s hmotnostním spektrometrem s vysokou rozlišovací schopností vybaveným elektrosprejem. Vzorek krve byl nejprve smíchan s methanolem, odstředěn a poté následovala samotná analýza. Profilování metabolomu lidské krve trvalo cca 30 minut. Při analýze bylo detekováno přibližně 1100 iontů metabolitů a separováno bylo celkem 300 isomerních metabolitů. Zjištěny byly různé aminokyseliny (například arginin, tryptofan), puriny a pyrimidiny, sacharidy (ribosa, glukosa, atd.), fosfáty cukrů (glukosa-6-fosfát, fruktosa-6-fosfát), steroidy (deriváty estrogenu), dále byly identifikovány nukleotidy, žlučové kyseliny (například kyselina deoxycholová), glycerofosfolipidy, acyly mastných kyselin (prostaglandin D2, E2, I2, atd.), fosfolipidy, sfingolipidy, isoprenoidy a další látky. Výhodou této techniky je, že výše uvedené látky a různé metabolické meziprodukty mohou být současně detekovány a separovány ve 2D IMS-MS analýze. Technika IMS-MS se ukázala jako vhodná s potenciálem pro použití v oblasti studia metabolomiky²⁶.

Technika IMS-MS se v současné době jeví jako velice slibná metoda pro analýzu látek ve velmi složitých směsích. Příkladem může být analýza, kdy byly porovnávány dva druhy nafty. Práce byla prováděna na zařízení ASAP (The Atmospheric Solids Analysis Probe) ve spojení s IMS-MS. Cílem práce bylo ukázat nový směr při kvalitativním srovnání složitých směsí. Výsledkem měření byla identifikace dvou sérií polycyklických aromatických

heterocyklů obsahujících síru – jednalo se o ionty alkyl-benzothiofenu (alkyl-BT) a alkyl-dibenzothiofenu (alkyl-DBT). Spojení ASAP-IMS-MS se ukázalo jako vhodný analytický nástroj pro identifikaci a kontrolu specifických látek nacházejících se v komplexních směsích²⁷. Dalším zajímavým experimentem byla analýza lehkých, středních a těžkých surových ropných olejů. Analýza byla provedena technikou IMS-MS a za pomoci iontové cyklotronové rezonance s Fourierovou transformací (FTICR). Výsledky měření přinesly informace o distribuci uhlovodíků obsahujících heteroatom. Technika IMS-MS poskytuje jedinečné „otisky prstů“ pro rychlou identifikaci. Výsledky experimentu potvrdily nárůst složitosti od lehkých až po těžké surové oleje. Z naměřených iontových mobilit byla odhalena vysoká strukturní rozmanitost pro C_nH_hXY ($XY = N_1, S_1, N_1, O_1, NS, SO_{1-2}, NO_{1-2}$ atd). Zároveň docházelo ke změnám struktury od planárního uspořádání ke kompaktnější 3D struktuře s rostoucí hmotností²⁸.

Další zajímavou aplikací metody IMS-TOFMS spojenou s ionizací elektrosprejem byla analýza uranylových sloučenin. Tyto látky spadají spíše do oboru jaderných forezních věd a na jejich výzkum se většinou využívá alfa záření, gama záření a hmotnostní spektrometrie, které předchází rozsáhlá předúprava vzorku a čištění. I přesto, že tyto metody poskytují informace o izotopovém složení a koncentraci, tak v počátečních fázích analýzy nepodávají informace z chemického hlediska. Oproti tomu kombinace IMS-TOFMS chemické informace poskytuje a zároveň je schopna identifikovat zkoumaný analyt. Ionty uranylových sloučenin dávaly odezvu v pozitivním i negativním módu ionizace. Výsledky naměřené v negativním ionizačním módu, kde byly přítomny anionty Cl^- , NO_3^- a CH_3COO^- , umožnily jednoznačnou identifikaci uranylových sloučenin. Je možné od sebe navzájem rozlišit uranyl acetát, uranyl nitrát a uranyl chlorid. Naměřené hodnoty z pozitivního módu ionizace ukázaly významný vliv rozpouštědla na tvorbu iontů analytu. Metoda ESI-IMS-TOFMS je vhodná k získání chemických informací o sloučeninách, proto je a bude předmětem zájmu pracovníků v oblasti jaderné bezpečnosti a jaderných forezních věd²⁹.

Metodou IMS-MS byla rovněž zkoumána sada dvaceti nukleotidů RNA. Důvodem je stále vyšší počet nových RNA léčiv. Neustále jsou hledány nové přístupy, které by zlepšily vývoj a kontrolu kvality těchto materiálů. K tomu je nutná rychlá a přesná analýza. Při tomto experimentu se pracovalo v záporném módu při nano-elektrosprejové ionizaci s tandemovou hmotnostní spektrometrií s iontovou mobilitní spektrometrií (nESI-MS/MS-IMS-MS). Metoda sekvenování RNA je založena na schopnosti iontové mobility oddělit a izolovat

skupiny iontů, které vznikly při kolizi indukované disociaci. Jejich oddělení a izolace byla možná na základě počtu nábojů, které ionty nesou. Měření umožnilo zjednodušení interpretace dat. Získané výsledky zároveň vedou k vyššímu sekvenčnímu pokrytí (menší chyby v přiřazení sekvencí) a k potvrzení molekulové hmotnosti³⁰.

Neméně zajímavou oblastí, kde se může metoda IMS-MS uplatnit, je lékařství. Konkrétně byla provedena studie na výskyt a distribuci N-glykanů. Při nástupu onemocnění (například rakovina) a dalších fyziologických stavů dochází k aberantní glykosylaci lidských glykoproteinů. Glykany mohou být markery onemocnění, či cílem terapeutických léčiv. To je důvodem pro sledování výskytu N-vázaných glykanů v lidském séru u zdravých a nemocných pacientů. Distribuci molekulových hmotností glykanů ukazuje hmotnostní spektrum, rozdělení iontových mobilit dává informace o konformačním a izomerním složení glykanů. Ze získaných dat lze odlišit zdravé pacienty od pacientů nemocných (mezi nemocnými pacienty byli lidé trpící rakovinou nebo cirhózou jater). Kritériem rozlišení zdravých pacientů od nemocných byla distribuce iontové mobility pro jednotlivé poměry m/z iontů⁴⁴.

Kombinace iontové mobilitní spektrometrie s hmotnostní spektrometrií má širokou škálu použití. V následující kapitole bude zvlášť popsáno využití této techniky v oblasti forenzních aplikací.

2.4. Iontová mobilita ve spojení s hmotnostní spektrometrií ve forenzní analýze

Forenzní analýza zahrnuje celou řadu podoborů, kde se spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií využívá. IMS-MS lze analyzovat nejen biomolekuly, ale rovněž i výbušniny, degradační produkty bojových chemických látek a drogy³¹. Další možností aplikace je výzkum farmaceutických léčiv, pesticidů a detekce při imunoanalýze². Navíc tato technika umožňuje odhalit tyto látky, přestože se nacházejí ve stopovém množství³¹.

Metody IMS-MS se často využívá v laboratořích, kde je prováděna analýza složitých komplexních směsí a je nutné rychle získat výsledná data. Příkladem mohou být forenzní laboratoře, kde je separace složitých drogových směsí metodou plynové nebo kapalinové chromatografie zdlouhavá. Zde se v některých případech vyplácí zavedení techniky IMS-MS, která kromě poskytnutí výsledků během několika málo vteřin, navíc potlačuje chemické interference. Konkrétním příkladem může být analýza kokainu, resp. falšované směsi

kokainu. Na tuto analýzu byla použita diferenciální mobilní spektrometrie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Pouličně prodávaný kokain většinou obsahuje množství příměsí, které kokain „znehodnocují“. Dochází k částečnému nahrazování kokainu látkami, které napodobují účinky drogy. Příkladem může být kofein. Ten je přidáván z důvodu svého „nabuzujícího“ účinku na centrální nervovou soustavu. Kromě kofeinu mezi přidávané látky patří lidokain, prokain, benzokain, levamisol, tetramisol, hydroxyzin, xylazin a další, což může být charakteristické pro konkrétní zdroj drogy. Často jsou do kokainu přidávána také ředidla. Ta na rozdíl od kofeinu nenapodobují biologický účinek drogy. Slouží pouze ke zvětšení objemu výrobku a tedy lepší ekonomice prodejce. Mezi hojně používaná ředidla se řadí kyselina boritá, sacharosa, laktosa, kreatin, hydrogenuhličitan sodný atd. Analýza různých vzorků kokainu, určení jejich složení a vzájemné porovnání výsledků získaných DMS-MS může objasnit, zda vzorky pocházejí ze stejného zdroje, či nikoli³². Spojení ESI-FAIMS-MS rovněž umožnilo provést experiment, při kterém byl sledován a identifikován morfin a kodein ve vzorku lidské moči. Jako driftový plyn byl použit dusík s přídavkem hélia, což vedlo k vyšší citlivosti. Limity detekce v lidské moči byly stanoveny na 60 ng/ml pro morfin a 20 ng/ml pro kodein. Výhodou této techniky je fakt, že detekčních limitů bylo dosaženo bez nutnosti přečistění, derivatizace nebo chromatografické separace analyzovaných vzorků před analýzou³³. Dalším příkladem je analýza šesti syntetických drog a kokainu. Zkoumány byly především limity detekce pro jednotlivé drogy. Jako hmotnostní analyzátor byl v tomto případě použit průletový analyzátor (TOF). Ze syntetických drog se jednalo o tyto látky: Methylon, 4-MEC (4'-methylethkatinon), 3,4-MDPV (3,4-methylendioxyprovaleron), JWH-210 [4 ethyl-naftalen-1-yl-(1-pentylindol-3-yl)methanon], JWH-250 (2-(2-methoxyfenyl)-1(1-pentyl-1 H-indol-3-yl) ethanon], a JWH-203 [1-pentyl-3-(2'-chlorfenylacetyl) indol]. Všechny vzorky byly podrobeny ionizaci elektrosprejem (ESI) a chemické ionizaci za atmosférického tlaku (APCI). Ze studie vyplynulo, že pro analýzu stopového množství samotného kokainu je vhodnější použít ionizaci elektrosprejem. U syntetických drog se naopak osvědčilo zavedení chemické ionizace za atmosférického tlaku – měření vykazovalo lepší detekční limity než u ESI³⁴. Následující studie zkoumala separaci opiátů a primárních metabolitů. Ionizace vzorku byla prováděna elektrosprejem a analýze bylo podrobena celkem sedm opiátů. Jednalo se o molekuly normorfinu, norcodeinu, codeinu, morfinu, 6-monoacetyl codeinu (MAC), 6-monoacetyl morfinu (MAM) a molekulu heroinu. Měření prokázalo oddělení dvou izomerů (morfinu a norcodeinu) na základě jejich

mobilitních časů. Dále byly potvrzeny dobré separační schopnosti IMS-MS, které umožňují oddělit opiáty a jejich metabolity a dovolují jejich identifikaci³⁵. Analýze bylo rovněž podrobena pět benzodiazepinů. Konkrétně se jednalo o diazepam, oxazepam, chlórdiazepoxid, lorazepam a bromazepam. Všechny uvedené látky obsahují ve své struktuře atomy dusíku, oxazepam a lorazepam navíc obsahují hydroxylovou skupinu. Benzodiazepiny jsou vysoce účinná psychofarmaka a velice často jsou zneužívány jako drogy. Ionizace byla prováděna elektrosprejem. Ve spektru oxazepamu a lorazepamu byly pozorovány dva dominantní ionty. Jedná se o protonizovanou molekulu a dehydratační produkt. IMS-MS se jeví jako vhodná metoda pro identifikaci a separaci všech pěti benzodiazepinů a má potenciál pro analýzu dalších léčiv³⁶. Rovněž technika ionizace desorpčním elektrosprejem (DESI) ve spojení s IMS-TOFMS byla využita pro přímou analýzu účinných látek ve farmaceutických vzorcích. Velkou výhodou zapojení DESI je fakt, že není nutná předúprava analyzovaného vzorku, ionty jsou generovány přímo z tablet a krémových přípravků. Studie byla prováděna na tabletách léků předepisovaných i volně prodejných. Mezi 22 úspěšně detekovaných vzorků patřil například amfetamin (methylenfenidát), antidepresiva (venlafaxin), barbituráty (kyselina barbiturová), sedativa (alprazolam) a narkotika (3-methylmorfin). Vzhledem k rychlé detekci analyzovaných účinných složek několik tvrdých a měkkých lékových forem (například u léků Vicodin, Zantac, NyQuil a Icy Hot), má metoda IMS-MS velký potenciál pro použitelnost ve farmaceutickém screeningu a vývoji lékových forem³⁷. V klinických a forenzních toxikologických laboratořích je prováděna rovněž izolace a kvantifikace metabolitů drog. V následující analýze byla aplikována diferenciální IMS ve spojení MS/MS, přičemž jako iontový zdroj sloužil nano-elektrosprej. Konkrétně se jednalo o analýzu pěti metabolitů běžných drog - norfentanylu (metabolit fentanylu), nordiazepamu (metabolit diazepamu), benzoylecgoninu (metabolit kokainu), 6-acetylmorfinu (metabolit heroinu) a morfinu glukuronidu (metabolit morfinu). Metabolity byly přidány do vzorků moči a izolovány pomocí SPE (solid phase extraction). Lineární dynamický rozsah této techniky byl 100 pg/ μl až 10 ng/μl. Provedeným experimentem byla prokázána vhodnost metody pro kvantitativní analýzu metabolitů izolovaných ze vzorků moči³⁸.

Dalším forenzním odvětvím, kde se může uplatnit spojení IMS-MS, je analýza výbušnin. Výzkumy se zaměřují nejen na nalézání nových, inovativních způsobů detekce nebezpečných látek, ale i na vylepšení stávajících technik. Existuje mnoho analytických

metod, které lze k identifikaci a charakterizaci výbušnin využít³⁹. Iontová mobilita s použitím hmotnostního spektrometru jako detektoru závisí mimo jiné na způsobu ionizace. Ionizace elektronem, fotoionizace, chemická ionizace, doutnavý výboj – to jsou ionizační způsoby, kdy je použití IMS-MS vhodné. Hmotnostní spektrometr při analýzách tohoto typu slouží jako detektor komplexních výbušnin⁴⁰. Obecně je hmotnostní spektrometr jedním z nejčastěji využívaných zařízení při těchto analýzách. Výhodou MS je rychlá analýza, která je při řešení kritických situacích nezbytná. Příkladem, kdy by spojení IMS-MS bylo vhodné, mohou být bezpečnostní prohlídky na letištích, kdy jsou kontrolováni všichni cestující, jejich příruční zavazadla, odbavené zavazadlo a nákladní kontejnery. V současné době je ve většině případů při detekci nebezpečných látek aplikována samotná iontová mobilita. Výhodou spojení s MS je rovněž možnost detekovat nízké hladiny velkého množství výbušných materiálů a mnoho dalších nebezpečných chemikálií^{39, 41}. Při analýze výbušnin je zapotřebí věnovat zvýšenou pozornost správnému odběru vzorku – zejména u méně těkavých vzorků. Výbušniny se dělí do tří skupin podle tlaku jejich par a volatility. Do první třídy náleží vysoce těkavé výbušniny, které mají rovnovážnou koncentraci jejich par rovnou či vyšší než 1 ppm (například nitroglycerin). Druhá třída je určena explozivním látkám, kde se koncentrace pohybuje kolem hodnoty 1 ppb (např. trinitrotoluen). Koncentrace pohybující se v jednotkách ppt řadí látky do třetí skupiny, příkladem může být hexogen⁴⁰. Příkladem použití techniky IMS-MS může být analýza pěti druhů celkem běžných výbušnin – cyklonitu (RDX), trinitrotoluenu (TNT), pentaerythritol tetranitrátu (PETN), cyklotetramethyltetranitraminu (HMX) a 2,4-dinitrotoluenu (DNT). Jako iontový zdroj byl aplikován koronový výboj. Při studii byla potvrzena identita jednotlivých látek a stávajících iontových druhů ($\text{RDX}\cdot\text{NO}_3^-$, TNT^- , $\text{PETN}\cdot\text{NO}_3^-$, $\text{HMX}\cdot\text{NO}_3^-$ a DNT^-). Zároveň byly zjištěny detekční limity, které se při této analýze pohybovaly v rozmezí 0,1 – 10 ng. V samotné IMS analýze při použití dusíku jako driftového plynu, vykazovala analýza nižší citlivost detekce (oproti vzduchu). Výsledkem byly 10-krát horší detekční limity. Ze studie vyplynulo, že koronový výboj není nejlepším ionizačním prostředkem vzhledem k citlivosti při analýze výbušnin. Přesto má tato technika výhody v jednoduchém ovládní a nízkých nákladech⁴².

Za použití techniky FAIMS-MS byly separovány, detekovány a identifikovány některé bojové chemické látky (CWA) v potravinářských produktech. Zkoumanými vzorky byla balená voda, řepkový olej, kukuřičná mouka a med. Jednalo se o modelové vzorky, na kterých bylo testováno, zda by tato technika byla schopna nebezpečné látky odhalit v případě, že by

došlo ke skutečné kontaminaci. Pracovalo se v pozitivním i negativním módu a ionizace byla prováděna za atmosférického tlaku pomocí ESI a APCI (chemická ionizace za atmosférického tlaku), přičemž ionizace APCI poskytovala lepší poměr signál/šum. V potravinách byl nalezen soman (GD), sarin (GB), tabun (GA), cyklohexyl sarin (GF) a čtyři produkty hydrolýzy, dále byla potvrzena přítomnost kyseliny ethylfosfonové (EPA), kyseliny methylfosfonové (MPA), pinacolyl methylfosfonové kyseliny (Pin MPA) a isopropyl methylfosfonové kyseliny (IMPA). Limity detekce pozorovaných CWA v obohacených vzorcích potravin se pohybovaly v rozmezí 3-15 ng/ml v balené vodě, 1-33 ng/ml u řepkového oleje, 1-34 ng/g v kukuřičné mouce a 13-18 ng/g v medu. Detekční limity u zkoumaných hydrolytických produktů byly mnohem vyšší a v některých potravinářských výrobcích (ve vzorku oleje a medu) nebyly dané látky vůbec zjištěny⁴³.

IMS-MS zařízení lze rovněž miniaturizovat. Spojen byl planární diferenciální mobilitní spektrometr (DMS) s miniaturizovaným hmotnostním spektrometrem (konkrétně Mini 10). Jako zdroj ionizace byl použit nano-ESI. Přístroj byl využit k analýze psychotropního léčiva morfinu a diazepamu přítomného ve vzorcích lidské moči. Zároveň byla provedena separace a identifikace těchto látek, které mají blízkou molekulovou hmotnost (morfin $M = 285,34$; diazepam $M = 284,70$)⁴⁵.

2.5. Iontová mobilita ve forenzní analýze

Iontová mobilitní spektrometrie se nemusí uplatňovat pouze ve spojení s hmotnostní spektrometrií, ale lze ji zároveň aplikovat jako samostatnou separační techniku. Jelikož jde o rychlou, přenosnou a vysoce citlivou techniku, která nevyžaduje složitou předúpravu vzorku, je metoda IMS z hlediska forenzní analýzy vhodná pro detekci výbušnin nebo ji lze využít jako screeningové zařízení pro odhalení nelegálních drog⁴⁶. Konkrétním případem použití IMS byla analýza kokainu a jeho metabolitů, benzoylekgoninu a cocaethylenu v moči. Při této studii byla iontová mobilita spojena s extrakcí pevnou fází (SPE). Výsledkem měření bylo zjištění, že spojení SPE a IMS snižuje detekční limity metabolitů drog v analyzované moči. Detekční limity naměřené pro benzoylekgonin a cocaethylen byly 10 ng/ml, resp. 4 ng/ml. Zároveň bylo zjištěno, že po předchozí SPE přítomnost nežádoucích příměsí ve vzorku moči neovlivňuje detekci metabolitů kokainu⁴⁷. Další výzkum se zabýval analýzou efedrinu v moči. Ze vzorku moči byla tato látka, která se používá při výrobě pervitinu, získána mikroextrakcí pevnou fází (SPME). Vlákno s extrahovaným analytem je následně

zahříváno, dochází k desorpci zkoumaného analytu a následné IMS analýze. Mez detekce efedrinu v moči byla stanovena na 50 ng/ml. Metoda SPME-IMS se ukázala jako spolehlivá technika pro detekci a kvantifikaci efedrinu v biologické matrice⁴⁸. Na základě šetření The National Forensic Laboratory Information System (USA) bylo zjištěno, že 80% vzorků ohlášených státními a federálními soudními laboratořemi za posledních 7 let se týká drog a pomocných látek, které jsou do drog přidávány. Výzkum se zaměřil na osm sledovaných látek. Jednalo se o methamfetamin, 3,4-methylendioxyamfetamin hydrochlorid (MDMA), kokain, heroin, fentanyl, hydrocodon, oxycodon a alprazolam. Kromě analýzy samotných látek byl proveden experiment, kdy byly smíchány dvě sledované látky a stanovoval se poměr, ve kterém mohly být obě látky detekovány ve vzorku. IMS analýza může být rovněž použita k identifikaci mnoha pomocných látek v komplexních vzorcích. Analyzovány byly směsi obsahující sledovanou a pomocnou látku. Zkoumáno bylo, jaké množství pomocné látky je nezbytné, aby se narušila detekce sledované látky. Dále od sebe pomocí IMS analýzy lze odlišit volně prodejné tabletové léky (například na nachlazení, chřipku a proti alergiím) od tablet, které obsahují výše uvedené sledované látky. Technika IMS představuje značnou výhodu oproti barevným testům pro analýzu drog. Výjimku tvoří pouze barevné testy na THC, důvodem je nespolehlivost detekce této látky technikou IMS⁴⁹. Další neméně zajímavou studií byla analýza hub zabavených při běžné hraniční kontrole. Analýze byly podrobeny klobouky a třeně hub. Provedená IMS analýza prokázala přítomnost halucinogenních látek - psilocybinu a psilocinu. Houby byly nakonec identifikovány jako druh *Psilocybe subcubensis*³¹. Dalším experimentem týkající se analýzy směsi drog byla studie, kdy byla použita technika vysoce účinné iontové mobilní spektrometrie (High-performance IMS - HPIMS) s ionizací elektrosprejem (ESI). HPIMS umožňuje přímo detekovat a identifikovat celou řadu drog, například i směs opiátů v moči bez předúpravy vzorku. Konkrétně byla provedena analýza směsi kodeinu a morfinu v moči. Spojení ESI-HPIMS je vhodné pro klinické použití, zejména pro analýzy drog v rámci toxikologie⁵⁰. V lidských vlasech byly sledovány MDMA (3,4-methylendioxyamfetamin – látka známá jako "extáze") a MDEC (3,4-methylendioxyamfetamin) řadící se mezi tzv. nové syntetické drogy. Vzorky vlasů byly promyty 0,1% dodecylsulfátem sodným, ultrazvukovány ve směsi methanol:voda (odstranění povrchových nečistot), rozemletím převedeny na prášek, který byl následně rozpuštěn v 5 mol/l NaOH v methanolu (v ultrazvuku na vodní lázni, 45 °C). Jako vnitřní standard byl

použit trihexylamin (THA). Vyvinutá metoda je rychlá, citlivá a vhodná pro screening uvedených látek⁵¹.

Analýzy prováděné iontovou mobilní spektrometrií se nemusí týkat pouze drog. Velice zajímavým případem byla analýza vlasů, na nichž byly sorbovány běžně se vyskytující výbušniny. Mezi sorbované látky patřil 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), nitroglycerin (NG) a ethylendinitrát (EGDN). Při analýze byla prováděna přímá detekce iontovým mobilním spektrometrem GE Ion Track v E-módu (pro výbušniny, kalibrován na TNT). Další látku - triaceton triperoxid (TATP) - bylo obtížné odhalit pomocí IMS v E-režimu, nakonec byla zjištěna v N-módu (pro narkotika, kalibrováno na kokain). Otestovány byly tři způsoby zavedení vzorku do IMS zařízení, kde následně probíhala desorpce par. První možností bylo přímé zavádění vlasu do zařízení. Dále byly prováděny stěry vlasů a „kontaminované“ tampony byly zavedeny do IMS. Posledním testovaným způsobem zavádění vzorku bylo umístění acetonitrilových výtažků z vlasů na vzorkovače a jejich následné umístění do přístroje. Na samotnou analýzu byly použity vlasy různých barev (černá, hnědá a blond). Výsledkem měření bylo zjištění, že látky TNT, NG a EGDN byly identifikovány v E-režimu u všech tří způsobů zavádění vzorku do IMS zařízení. TATP může být v E-režimu detekován pouze za předpokladu použití extrakce acetonitrilem. V tomto případě ovšem musí být vlasy vystaveny parám TATP po dobu 16-ti dnů – důvodem je nižší citlivost. V N-módu (pro narkotika) byl TATP z vlasů detekován u všech tří způsobů zavedení vzorku⁵². Iontová mobilní spektrometrie je v dnešní době významnou metodou, která je využívána při letištních kontrolách. Příruční zavazadla cestujících na letištích podstupují screening na výbušniny. Povrch zavazadla je přejížděn malým filtrem, který se ihned poté vloží do IMS zařízení a je zahájena analýza. Pro analýzu pentaerytritolu tetranitrátu (PETN) a cyklotetramethylen tetranitrátu (HMX) byl spektrometr upraven tak, aby mohlo být naprogramováno topné těleso desorbéru. Bylo prokázáno, že programování teploty ve spojení s chemometrií je užitečný nástroj pro oddělování analytů od interferencí. Na základě těchto modifikací, mohou být látky podobné velikosti a náboje separovány na základě jejich teploty odpařování. Těkavost přidává další rozměr k analýze, která umožňuje rozlišení složek směsi. Nevýhodou se ovšem stala délka analýzy. Zatímco tradiční analýza by měla trvat přibližně 5 sekund, analýza při tomto experimentu trvala 20 sekund⁵³.

Iontová mobilní spektrometrie ve forenzní analýze nemusí nacházet uplatnění pouze při analýzách výbušnin a drog. IMS lze aplikovat rovněž při analýzách ovzduší, respektive

při detekci nebezpečných bojových chemických látek a vysoce toxických průmyslových látek, které se do ovzduší dostaly. V poslední době stoupá poptávka po miniaturizovaných nízkonákladových IMS zařízeních. Byla navržena a vyrobena miniaturní nízkonákladová IMS. Přístroj je schopen identifikovat v ovzduší jednotlivé látky, jejichž koncentrace se pohybují v řádech několika ppb. Mezi látky, které je zařízení schopno identifikovat, patří sarin, tabun, soman, US-VX, yperit, dusíkatý yperit a lewisit. Z předchozích testů bylo zjištěno, že nižší koncentrace yperitu, dusíkatého yperitu a lewisitu nejsou detekovatelné ve vlhkém prostředí. I přes určité nedokonalosti (například není možná identifikaci látky v přítomnosti interferencí), metoda IMS se jeví jako vhodná pro monitorování okolního vzduchu v reálném čase⁵⁴.

Dalším zajímavým experimentem byla analýza bojových chemických látek (CWA), respektive látek simulujících tyto sloučeniny, jejich degradačních produktů i produktů hydrolyzy. Studie zahrnovala sérii analýz z povrchů s použitím termální desorpce ve spojení s iontovou mobilní spektrometrií (TD-IMS). Použité simulující materiály napodobovaly chemickou strukturu reálných bojových chemických látek. Analýze bylo podrobena celkem 20 sloučenin. Jednalo se pět simulantů CWA, dva degradační produkty bojových chemických látek a 13 produktů hydrolyzy CWA. Mezi pět napodobenin bojových chemických látek patřil dimethyl-methylfosfonát (DMMP), pinacolyl-methylfosfonát (PMP), diethyl-fosforamidát (DEPA), 2-chlorethyl-ethylsulfid (2-CEES) a 2-(butylamino)ethanthiol (2-BAET). Analýza pomocí TD-IMS může být využívána pro detekci bojových chemických látek a jejich degradačních produktů na různých površích⁵⁵. Cílem další práce bylo provést detekci bojových chemických látek, respektive jejich prekurzorů a degradačních produktů. Mezi analyty použité při tomto experimentu patřil diisopropyl-methylfosfonát (DIMP), diethyl-methylfosfonát (DEMP) a dimethyl-methylfosfonát (DMMP). Před samotnou IMS analýzou bylo provedeno zakoncentrování látek mikroextrakcí tuhou fází (SPME), přičemž byla testována a zhodnocena dvě vlákna s různou stacionární fází. Jednalo se o polydimethylsiloxan (PDMS) (tloušťka vrstvy 100 μm) a polydimethylsiloxan divinylbenzen (PDMS/DVB) (s tloušťkou vrstvy 65 μm). Z naměřených výsledků vyplynulo, že lepších extrakčních výtěžků bylo dosaženo použitím PDMS vláken. Metoda SPME-IMS je aplikovatelná pro rychlý screening prekurzorů a produktů rozkladu znečišťujících látek v půdě⁵⁶.

Iontová mobilitní spektrometrie našla uplatnění při analýze střelného prachu. Konkrétně byla provedena analýza ethyl centralitu (1,3-diethyl-1,3-difenylmočovina) a difenylaminu (DPA), což jsou stabilizátory bezkouřového střelného prachu. Zkoumány byly spolu s nitroso- a nitro- deriváty difenylaminu. Výsledkem byla detekce všech mono- a di-nitroderivátů difenylaminu. IMS technika byla následně úspěšně testována na reálných vzorcích střelného prachu. V porovnání s běžně používanou TLC metodou a HPLC technikou s detektorem s diodovým polem se iontová mobilitní spektrometrie prokázala jako citlivější screeningová metoda (oproti TLC o 2-3 řády, u HPLC o jeden řád) a je vhodná k detekci a identifikaci organických složek bezkouřového střelného prachu⁵⁷.

Současné aplikace zahrnují rovněž monitorování životního prostředí a stále častěji dochází k uplatnění těchto technik při kontrolách kvality léčiv. IMS lze použít jako samostatnou metodu nebo ve spojení s dalšími metodami. Techniky SPME-IMS, ESI-IMS či spojení IMS-MS slouží především k detekci a identifikaci široké škály léčiv. Konkrétním příkladem mohou být prováděné analýzy paracetamolu, aspirinu, kodeinu, benzodiazepinů a dalších látek. Jedna studie rovněž sledovala obsah parabenů, což jsou konzervační činidla hojně využívaná v kosmetice a farmaceutických přípravcích⁵⁸.

Praktická část diplomové práce vycházela z nalezených článků a týkala se aplikace spojení iontové mobilitní spektrometrie s hmotnostní spektrometrií na nové syntetické drogy (NDD). Cílem bylo najít vhodné podmínky pro screening těchto látek. Byly prováděny analýzy na porovnání dvou iontových zdrojů – elektrospreje a fotoionizace za atmosférického tlaku. Dále bylo testováno použití tří různých driftových plynů při mobilitní separaci analyzovaných látek. V závěru experimentální část byly sestrojeny kalibrační křivky, které sloužily pro odhad detekčních limitů pro zkoumané nové syntetické drogy.

3. Experimentální část

3.1. Přístrojové vybavení a chemikálie

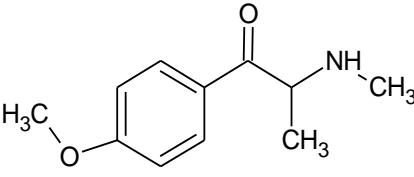
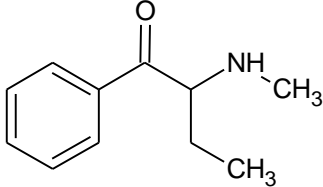
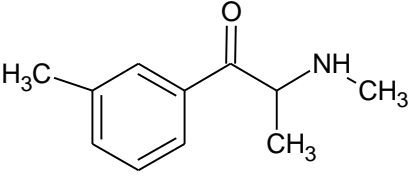
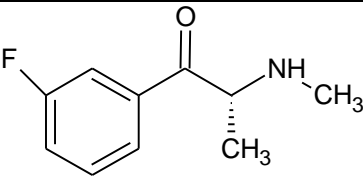
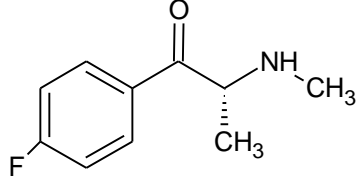
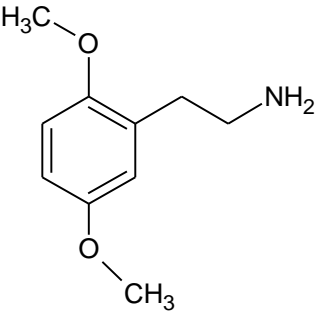
K vlastnímu měření vzorků nových syntetických drog byl použit *SYNAPT G-2s spektrometr* (Waters, Manchester, UK) s iontovým zdrojem – ESI (ionizace elektrosprejem) a APPI (fotoionizace za atmosférického tlaku).

K přípravě vzorků byly použity analytické váhy (*Mettler Toledo*) centrifuga Jouan MR23i (*Thermo Scientific*) a diskové mikrofiltry (PP, 0,22 µm) (*Chromservis s.r.o.*).

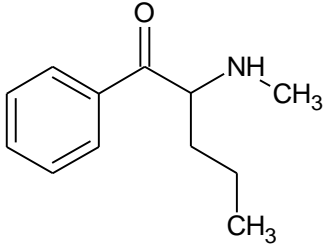
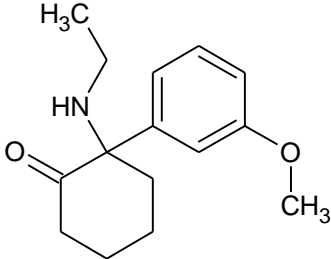
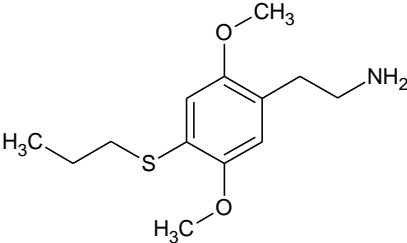
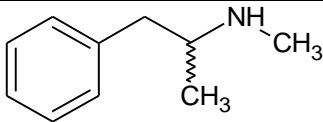
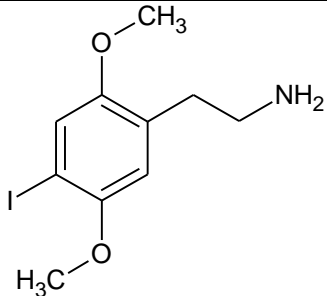
Použité chemikálie: methanol (HPLC SG, Lab_Scan, Gliwice, Polsko), destilovaná voda pro HPLC připravená systémem na úpravu vody (direct Q UV Millipore, MA, Bedford, USA), toluen, aceton a anisol (všechny dodány společností Sigma Aldrich, Praha, ČR).

Na experimenty s reálnými vzorky byla použita lidská moč. Při přípravě vzorků se použilo 21 standardů drog (Tab. I.). 18 nových syntetických drog (NDD) bylo dodáno společnostmi Lipomed AG (*Arllesheim, Switzerland*) a Cayman Chemical (*Ann Arbor, Michigan, USA*). Zbylé drogy - Pentedron, MEX a EPH byly poskytnuty od Celní správy ČR.

Mol. hmot. [g/mol] / Sumární vzorec	Zkratka	Triviální název	Systematický název	Struktura
221,252 C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	bk- MBDB	Butylon	1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)butan-1-on	
221,252 C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	MDEC	Ethylon	(RS)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(ethylamino)propan-1-on	
193,242 C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	BDB	1,3 – Benzodioxolyl -butanamin	1-(1,3)-benzodioxol-5-yl) butan-2-amin	

193,242 $C_{11}H_{15}NO_2$	PMMC	Methedron	(<i>RS</i>)-1-(4-methoxyphenyl)-2-(methylamino)propan-1-on	
177,242 $C_{11}H_{15}NO$	MABP	Bufedron	2-(methylamino)-1-phenylbutan-1-on	
177,242 $C_{11}H_{15}NO$	3-MMC	3 – Methyl - methkatinon	2-(methylamino)-1-(3-methylphenyl)-1-propanon	
181,206 $C_{10}H_{12}FNO$	3-FMC	3 – Fluoro - methkatinon	(<i>RS</i>)-1-(3-fluorophenyl)-2-methylaminopropan-1-on	
181,206 $C_{10}H_{12}FNO$	4-FMC	Flefedron	(<i>RS</i>)-1-(4-fluorophenyl)-2-methylaminopropan-1-on	
181,232 $C_{10}H_{15}NO_2$	2-C-H	-	2,5-dimethoxyfenethylamin	

<p>259,02 C₁₀H₁₄NO₂Br</p>	2-C-B	-	2-(4-brom-2,5-dimethoxyfenyl)ethylamin	
<p>191,269 C₁₂H₁₇NO</p>	4-MEC	4-Methyl-ethkatinon	(<i>RS</i>)-2-ethylamino-1-(4-methylfenyl)propan-1-on	
<p>179,102 C₁₀H₁₃NO₂</p>	MDA	3,4-Methylen-dioxy-amfetamin	(<i>R</i>) 1-benzo[1,3]dioxol-5-yl)propan-2-amin	
<p>207,226 C₁₁H₁₃NO₃</p>	bk-MDMA	Methylon	(±)-2-methylamino-1-(3,4-methylenedioxyfenyl)propan-1-on	
<p>149,190 C₉H₁₁NO</p>	CAT	Katinon	(<i>S</i>)-2-amino-1-fenyl-1-propanon	
<p>281,392 C₁₉H₂₃NO</p>	NRG-1	Nafyron	(<i>RS</i>)-1-naftalen-2-yl-2-pyrrolidin-1-ylpentan-1-on	
<p>247,33 C₁₅H₂₁NO₂</p>	EPH	Ethylfenidát	(<i>RS</i>)-ethyl 2-fenyl-2-piperidin-2-yl-acetát	

191,269 C ₁₂ H ₁₇ NO	-	Pentedron	(±)-1-fenyl-2-(methylamino) pentan-1-on	
247,333 C ₁₅ H ₂₁ NO ₂	MEX	Methoxet-amin	(<i>R/S</i>)-2-(3-methoxyfenyl)-2-(ethylamino)cyklohexanon	
255,376 C ₁₃ H ₂₁ NO ₂ S	2-C-T-7	-	2,5-dimethoxy-4-propylthiofenethylamin	
149,232 C ₁₀ H ₁₅ N	MAP	(<i>S</i>)-(+)- Methamfet-amin	(<i>2S</i>)- <i>N</i> -methyl-1-fenyl-2-propanamin	
307,128 C ₁₀ H ₁₄ NO ₂ I	2-C-I	-	2,5-dimethoxy-4-jodofenethylamin	

Tab. I: Seznam měřených nových syntetických drog.

3.2. Pracovní postup

3.2.1. Postup analýz na přístroji Synapt G-2s

Roztoky standardů nových syntetických drog byly při ionizaci elektrosprejem dávkovány do iontového zdroje přímou infuzí, průtokem 10 µl/min. Při použití fotoionizace za atmosférického tlaku bylo prováděno dávkování vzorků taktéž přímým nástřikem,

průtokem 50 µl/min. V případě reálných vzorků moče byla použita technika FIA, kdy do proudu mobilní fáze (CH₃OH:H₂O) bylo dávkováno 10 µl vzorku. Průtok mobilní fáze byl 0,25 ml/min.

3.2.2. Postup přípravy vzorků

Vzorky všech 21 nových syntetických drog byly připraveny ze *zásobních roztoků standardů* těchto látek o koncentraci 1 mg/ml. Na analytických vahách byl s analytickou přesností navážen 1 mg vzorku, který byl převeden do 1 ml roztoku obsahující směs CH₃OH:H₂O (50:50, v:v). Při experimentech se pracovalo s *pracovními roztoky* o koncentraci 1 µg/ml. U APPI bylo do *pracovního roztoku* přidáno navíc 5% dopantu (toluen, aceton, anisol).

V případě reálného vzorku byl *pracovní roztok* připraven o stejné koncentraci (1 µg/ml) ve směsi methanol:moč (50 : 50, v/v).

Kalibrační roztoky byly připraveny metodou postupného ředění v rozsahu 1 µg/ml; 0,5 µg/ml; 0,25 µg/ml; 0,1 µg/ml; 0,01 µg/ml; 0,001 µg/ml.

Všechny reálné vzorky byly centrifugovány po dobu 10 min. (10 °C, 14000G) a přefiltrovány přes diskový mikrofiltr (0,22 µm, PP).

3.3.1. Podmínky ionizace nových syntetických drog

Zdroj: ESI	Napětí na kapiláře (kV)	1,25
	Vzorkovací konus (V)	30
	Offset zdroje (V)	80
Teploty:	Zdroj (°C)	100
	Desolvatace (°C)	400
Průtok plynů:	Průtok plynu konusem (l/h)	100
	Desolvatační plyn (l/h)	600
	Nebuliser (bar)	6

Při spojení s IMS byly nastaveny navíc tyto parametry:

	N₂	CO₂	Ar
Rychlost vlny (m/s):	2200	1100	1100
RF napětí:	250	150	150
Velikost vlny (V):	40	40	40
Kontrola průtoku plynů – IMS:	40	40	40

Ke změnám hodnot u rychlosti vlny dochází z důvodu většího odporu oxidu uhličitého a argonu proti analyzovaným molekulám. Díky této změně nastává posunutí okna driftového času.

Fragmentační spektra vznikla kolizní indukovanou disociací při použití argonu jako kolizního plynu.

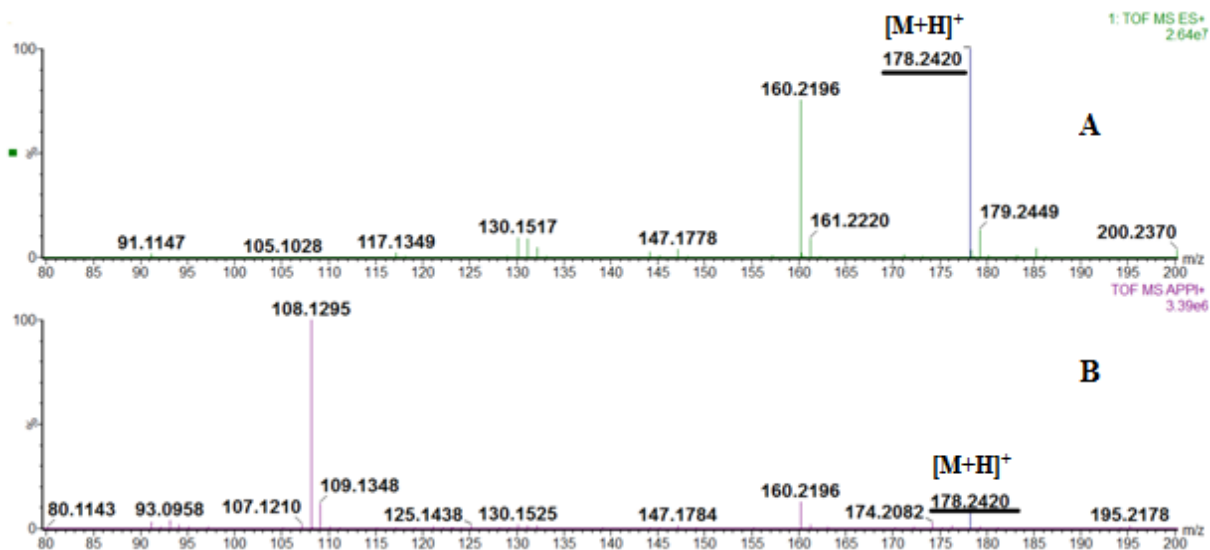
Zdroj: APPI	Napětí (kV)	1,00
	Vzorkovací konus (V)	35
	Offset zdroje (V)	80
Teploty:	Zdroj (°C)	100
	Sonda (°C)	550
Průtok plynů:	Průtok plynu konusem (l/h)	40
	Desolvatační plyn (l/h)	800

4. Výsledky a diskuze

4.1. Srovnání elektrospreje a fotoionizace za atmosférického tlaku

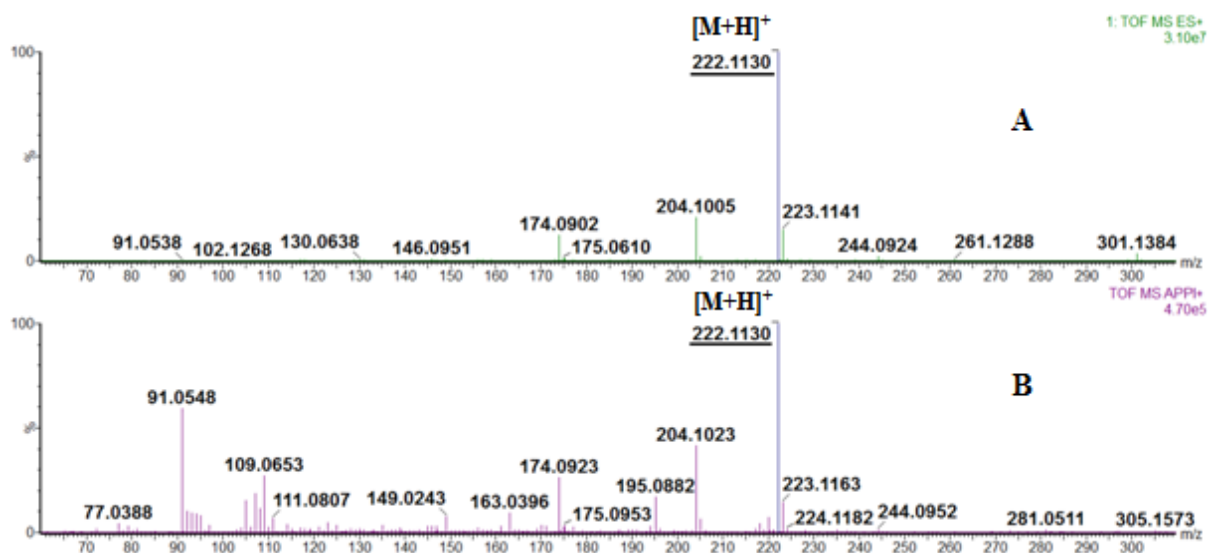
Pro účely ionizace látek ze skupiny nových syntetických drog byly porovnávány dva iontové zdroje – elektrosprej a fotoionizace za atmosférického tlaku. Byla sledována efektivita ionizace (Obr. 5, 6, 7) danou ionizační technikou za vzniku protonované molekuly případně kation-radikálu. Fotoionizace za atmosférického tlaku byla prováděna se třemi dopanty – toluen, aceton, anisol (viz kap. 3.2.2.). Při použití acetonu a toluenu jako dopantu byly výsledky měření totožné z hlediska intenzity spektra. Anisol se ukázal jako nevhodný, protože se roztok vzorku po smísení s ním dělil na dvě fáze.

Obr. 5 zobrazuje spektra standardu nové syntetické drogy – MABP o koncentraci 1 $\mu\text{g/ml}$. Z porovnání spekter je zřejmý významný rozdíl v intenzitách prekurzorového iontu. Při ionizaci elektrosprejem je prekurzorový ion $[\text{M}+\text{H}]^+$ dominantním iontem ve spektru oproti APPI, kde je ionizace této drogy méně efektivní a protonovaná molekula má nízkou intenzitu. Protonovaná forma molekuly standardu MABP při obou typech ionizace značně fragmentuje. Hlavní fragment při m/z 160,2196 odpovídá ztrátě H_2O .



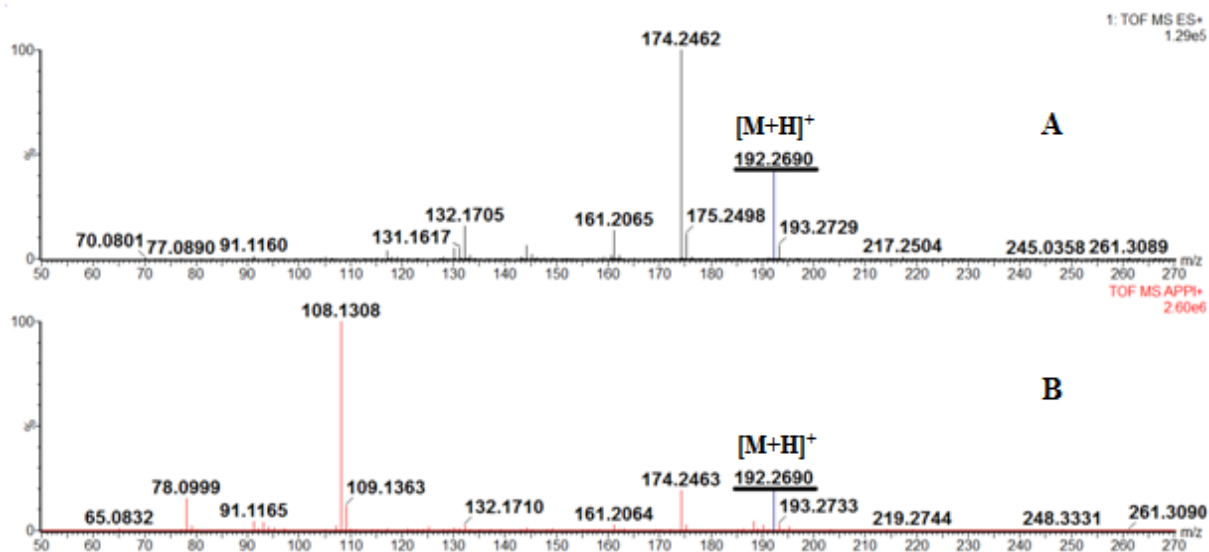
Obr. 5: Hmotnostní spektrum – MABP ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v), $c = 1 \mu\text{g/ml}$:
A) ionizace elektrosprejem, B) fotoionizace za atmosférického tlaku.

Obr. 6 demonstruje zlepšení poměru signálu k šumu při použití ionizace elektrosprejem. V obou spektrech lze pozorovat ion $[M+H]^+$ $m/z = 222,1130$. I u této drogy dochází k fragmentaci, kdy opět dochází k oštěpení H_2O ze struktury. Intenzita signálu protonované molekuly je při ionizaci elektrosprejem významně vyšší. Nižší intenzita v APPI vede k relativně menšímu odstupům signálu analytu od iontů pozadí.



Obr. 6: Hmotnostní spektrum – MDEC ve směsi $CH_3OH : H_2O$ (1 : 1, v/v), $c = 1 \mu g/ml$: A) ionizace elektrosprejem, B) fotoionizace za atmosférického tlaku.

Obr. 7 znázorňuje spektra pro látku Pentedron. Ve spektrech lze pozorovat ion $[M+H]^+$, který v obou případech není nejintenzivnějším iontem ve spektru. Ve spektru A je nejintenzivnější fragment s hodnotou $m/z = 174,1027$, který z $[M+H]^+$ vznikl odštěpením molekuly vody. Poměr parentního iontu s iontem fragmentu je přibližně 1 : 2. Základním iontem ve spektru získaném pomocí APPI je ion pozadí.



Obr. 7: Hmotnostní spektrum – Pentedron ve směsi CH₃OH : H₂O (1 : 1, v/v), c = 1 µg/ml: A) ionizace elektrosprejem, B) fotoionizace za atmosférického tlaku.

Lze shrnout, že elektrosprej poskytuje vyšší odezvy protonovaných molekul, při ionizaci APPI nebyly pozorovány kation radikály, které by mohly vykazovat jinou iontově mobilitní separaci. APPI tak nepřinesla žádnou výhodu oproti ESI, která byla na základě výše uvedených poznatků zvolena pro další experimenty.

Bylo uvedeno několik ukázek spekter vzniklých při ionizaci ESI, spektra všech standardů nových syntetických drog (fullscany) – viz Přílohy (kap. 7. i., Obr. 17 – 37).

4.2. Měření nových syntetických drog pomocí iontové mobility

Všech 21 nových syntetických drog a odpovídající směsi izobarických látek byly podrobeny IMS-MS analýze ve třech různých plynech – dusíku, oxidu uhličitém a argonu. U každého vzorku bylo sledováno základní hmotnostní spektrum, prováděna izolace a následně i fragmentace protonované molekuly. Kolizní energie v daném mobilitním plynu byla volena tak, aby prekurzorový ion byl v rozmezí 30-50% celkové intenzity (viz Tab. II.).

plyn	N ₂	CO ₂	Ar
bk-MBDB	17,5	16	11
MDEC	18,5	17	14

BDB	10	7	4
PMMC	13,5	11,5	5
MABP	14,5	13	6
3-MMC	13,5	12	5,5
3-FMC	14,5	13	6
4-FMC	14	12	4
2-C-H	9,5	5	4
bk-MBDB + MDEC	18	16,5	13
BDB+ PMMC	13,5	11,5	4
MABP + 3-MMC	14	12	4
3-FMC + 4-FMC + 2-C-H	14	12	5
3-FMC + 4-FMC	14,5	11,5	4
3-FMC + 2-C-H	15	13	5
4-FMC + 2-C-H	13,5	11,5	4
2-C-B	4	11	4
4-MEC	14	14	6
MDA	3	3	-
bk-MDMA	15	15,5	5
CAT	4,5	8	3
NRG	28*	26	23
2-C-I	10	4	-
MAP	10	-	-
2-C-T-7	4,5*	3	-
Pentedron	15	13,5	6,5
EPH	20	19	18
MEX	15	14	6

Tab.II.: Hodnoty použitých kolizních energií v daném plynu, fragmentace byla prováděna po mobilní separaci (rychlost vlny 2200 m/s, výška vlny 40 V, * snížena hodnota rychlosti vlny na 1800 m/s).

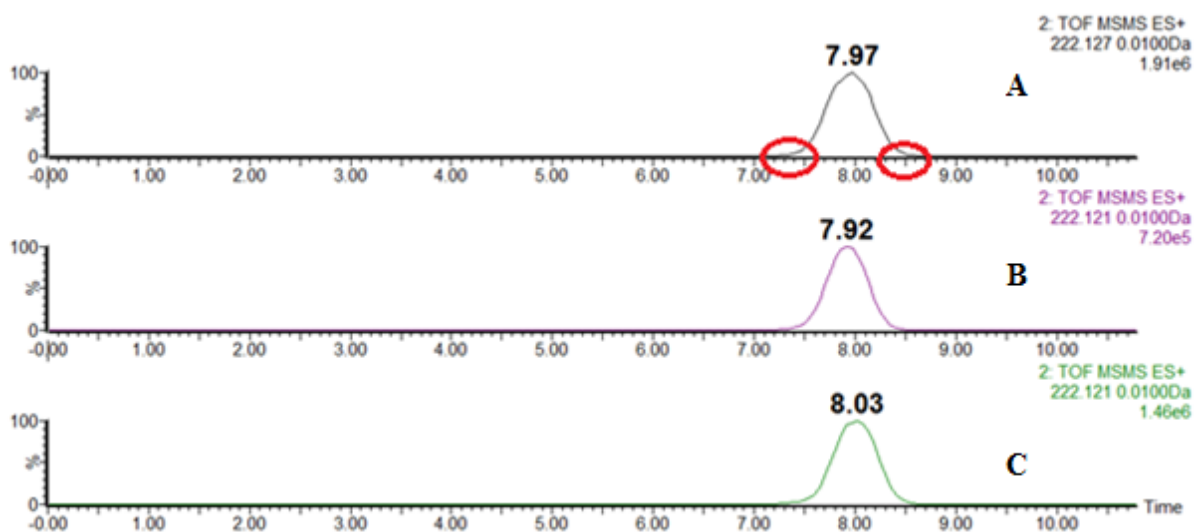
Z výsledků měření je patrné, že se hodnoty kolizních energií jednotlivých drog liší v závislosti na stabilitě prekurzorového iontu. Zároveň se výrazně liší kolizní energie

při použití různých driftových plynů, což může souviset s odlišnou aktivací iontů ještě před kolizní celou v cele mobilní. Roli by mohl hrát také rozptyl iontů, tedy jejich odlišná transmise v různých plynech ovlivňující počet iontů v kolizní cele.

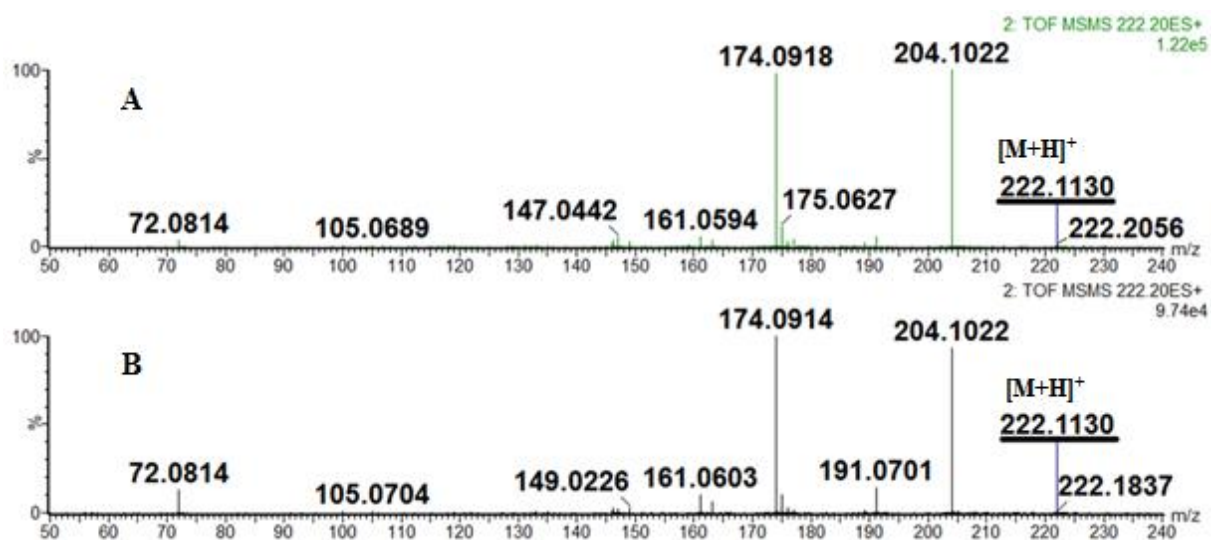
	Driftový čas v N₂	Driftový čas v CO₂	Driftový čas v Ar
Ethylon (MDEC)	7,32	7,38	8,03
Butylon (bk-MBDB)	7,38	7,43	7,92
3-Methylmethkatinon (3-MMC)	6,35	6,35	7,11
Bufedron (MABP)	6,13	6,13	6,78
3-fluoromethkatinon (3-FMC)	6,08	6,02	7,11
4-fluoromethkatinon (4-FMC)	6,02	5,97	7,05
2,5-Dimethoxyfenethylamin (2-C-H)	6,51	N/A	7,27
1,3-Benzodioxolylbutanamin (BDB)	6,78	N/A	7,65
Methedron (PMMC)	6,67	6,56	7,43

Tab. III.: Driftové časy izobarických NDD ve třech driftových plynech.

Přestože se driftové časy pro jednotlivé izobarické látky a jejich směsi mírně liší, nelze je ve směsi odseparovat. Na druhou stranu lze pozorovat odlišnosti fragmentačních spekter na začátku a konci mobilního píku směsi, což jistou separaci naznačuje (Obr. 8). Fragmentační spektra (Obr. 9) se liší fragmentem 191,0701 pro MDEC a bk-MBDB. Pro látku bk-MBDB je tento fragment několikanásobně významnější.



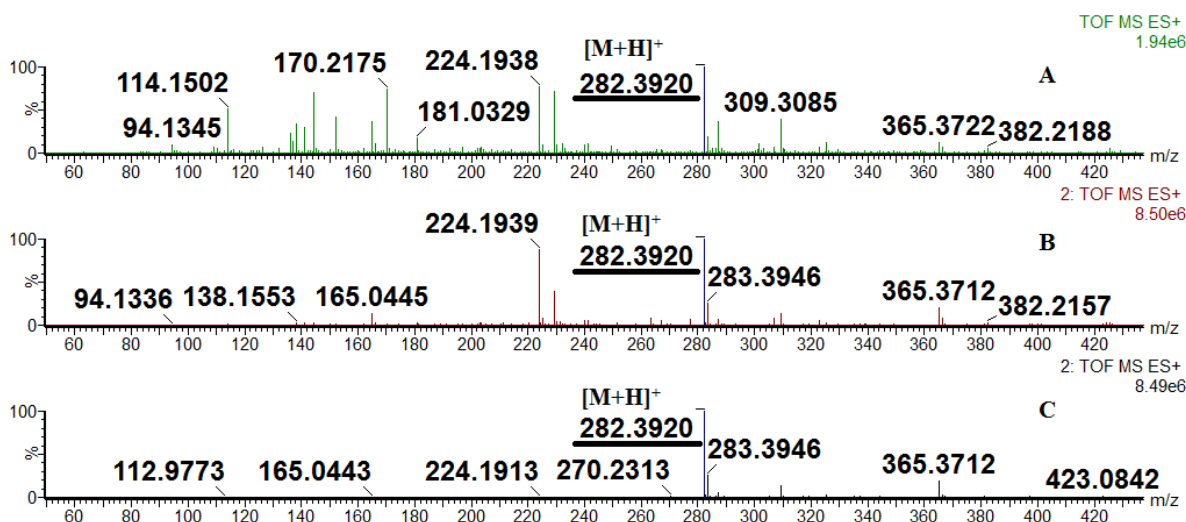
Obr. 8: Mobilogramy pro A) směs MDEC a bk-MBDB, B) MDEC, C) bk-MBDB (všechny vzorky ve směsi CH₃OH : H₂O (1 : 1, v/v), c = 1 µg/ml, driftový plyn Ar).



Obr. 9: MS/MS spektra standardů po separaci jejich směsi iontovou mobilitou (spektra odpovídají počátku (A) a konci (B) mobilního píku (viz obr. 8A)), roztoky byly připraveny ve směsi CH₃OH : H₂O (1 : 1, v/v), c = 1 µg/ml: A) MDEC, B) bk-MBDB.

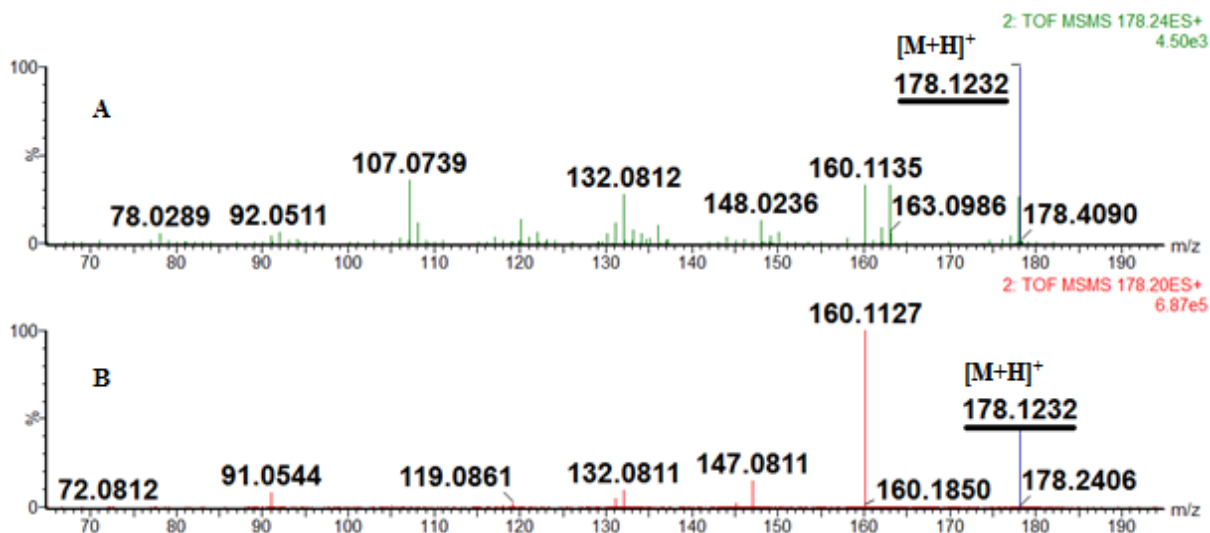
Je zřejmé, že z hlediska identifikace může iontová mobilita nabídnout možnost měření srážkových průřezů, ale ve skupině studovaných nových syntetických drog neposkytuje dostatečnou separaci pro odlišení izobarických látek, a to ani v jednom ze tří použitých

driftových plynů. Přesto může být přínosná pro analýzu NDD. Technika spojující iontově mobilní separaci s hmotnostní spektrometrií dovoluje významně potlačit chemický šum a tudíž měřit látky v komplexní matici s minimální úpravou vzorku. Z hlediska aplikace na reálné vzorky je důležité, aby nedocházelo k přílišnému potlačení ionizace analytů, ale po úspěšné ionizaci lze v principu ionty interferujících látek oddělit od iontů analytů pomocí iontové mobility. Tímto směrem byly zaměřeny další experimenty a potlačení chemického šumu lze demonstrovat na porovnání hmotnostních spekter bez použití iontové mobility a s použitím iontové mobility (Obr. 10). Je zřejmé, že separace odstranila řadu iontů pozadí pocházejících z matrice (moče).



Obr. 10: Hmotnostní spektrum – NRG-1 v moči (1 µg/ml, ředění methanolem 1 : 1, v/v): A) v moči bez iontové mobility, B) v moči s iontovou mobilitou (fullscan) – průměrné spektrum přes celý rozsah driftového času, C) v moči s iontovou mobilitou (fullscan po izolaci $[M+H]^+ = 282,3920$) – průměrné spektrum přes mobilní pík látky NRG-1.

Dalším příkladem je srovnání fragmentačních spekter nové syntetické drogy v moči o koncentraci 1 ng/ml a standardu o koncentraci 1 µg/ml (Obr. 11). Obě fragmentační spektra obsahují hlavní fragment m/z 160,11, který odpovídá odštěpení H₂O z protonované molekuly m/z = 178,1232. Koncentrace 1 ng/ml je dostatečně nízká, aby byla zajímavá pro identifikaci NDD v moči. Přítomnost analytu bylo možné odhalit, byť již při této koncentraci se nebylo možné vyhnout relativně vyššímu pozadí ve spektru.

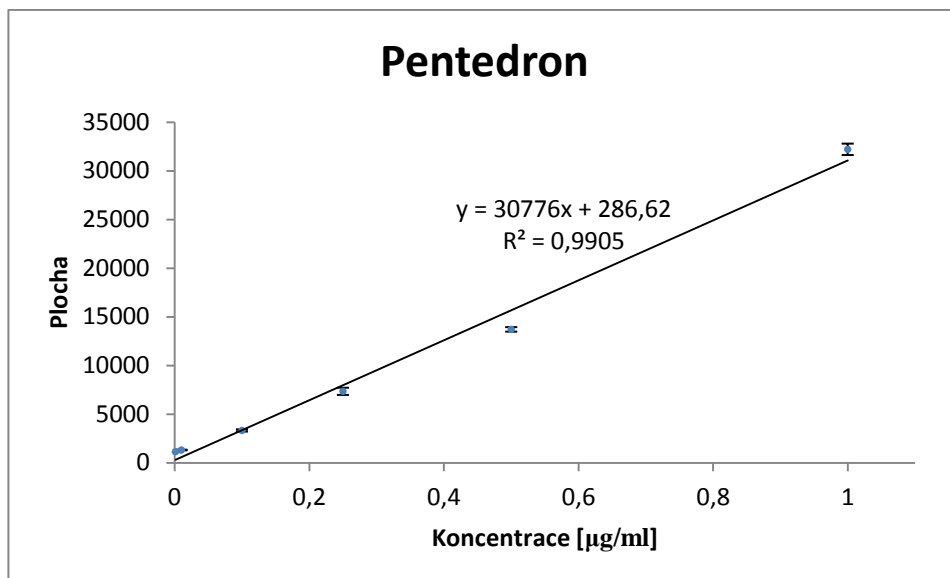


Obr. 11: IMS-MS/MS s fragmentací: A) MABP v moči (1ng/ml, ředění methanolem 1 : 1, v/v); B) MABP roztok standardu (c = 1 µg/ml, ve směsi CH₃OH : H₂O (1 : 1, v/v)), driftový plyn N₂.

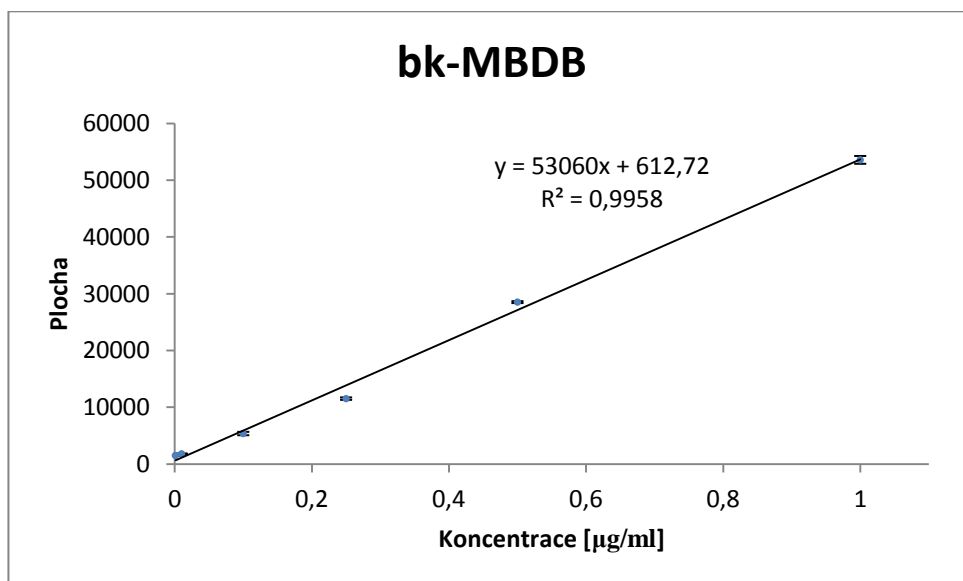
4.3. Analýza moči – měření a vyhodnocení kalibračních řad

Na základě výsledků z výše uvedených experimentů bylo provedeno s využitím IMS-MS proměření kalibračních závislostí nových syntetických drog v moči po jejím ředění methanolem (1 : 1, v/v). Kalibrační řada zahrnovala koncentrace 1 µg/ml; 0,5 µg/ml; 0,25 µg/ml; 0,1 µg/ml; 0,01 µg/ml a 0,001 µg/ml, které byly připraveny postupným ředění. Vzorek byl poté odstředěn a zflitrován (viz. kap. 3.2.2.). Každý vzorek byl posléze analyzován pětkrát (mobilogramy a izolační spektra NDD ve vzorku moči pro koncentrace 0,01 µg/ml a 0,001 µg/ml – viz Přílohy – kap. 7. ii., Obr. 38 – 79).

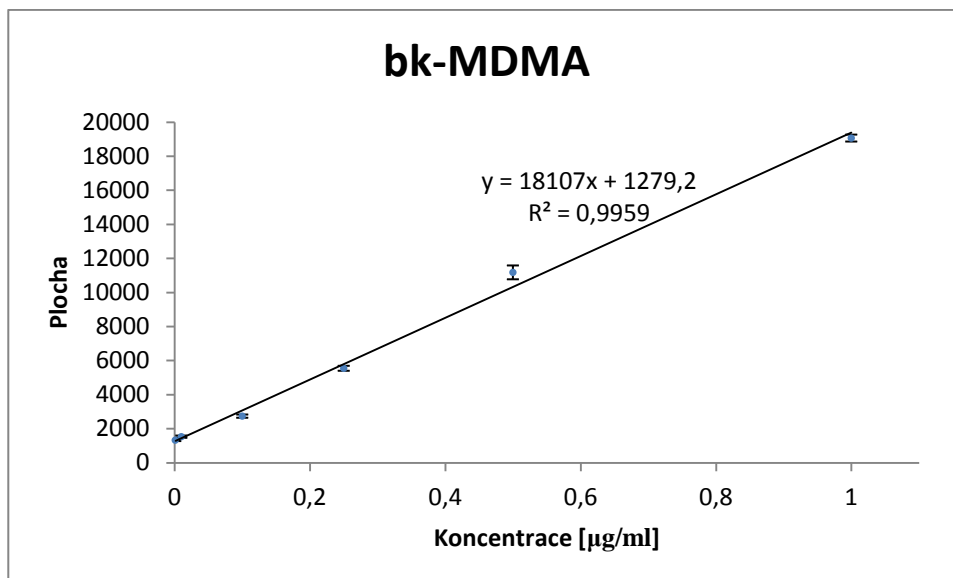
Mobilitní píky byly získány pro protonované molekuly analytů, přičemž měření bylo prováděno v pozitivním módu kvadrupólem a následnou mobilitní separací. Průměrovaná plocha píků včetně chybových úseček (pět měření) byla vynášena do grafu v závislosti na koncentraci.



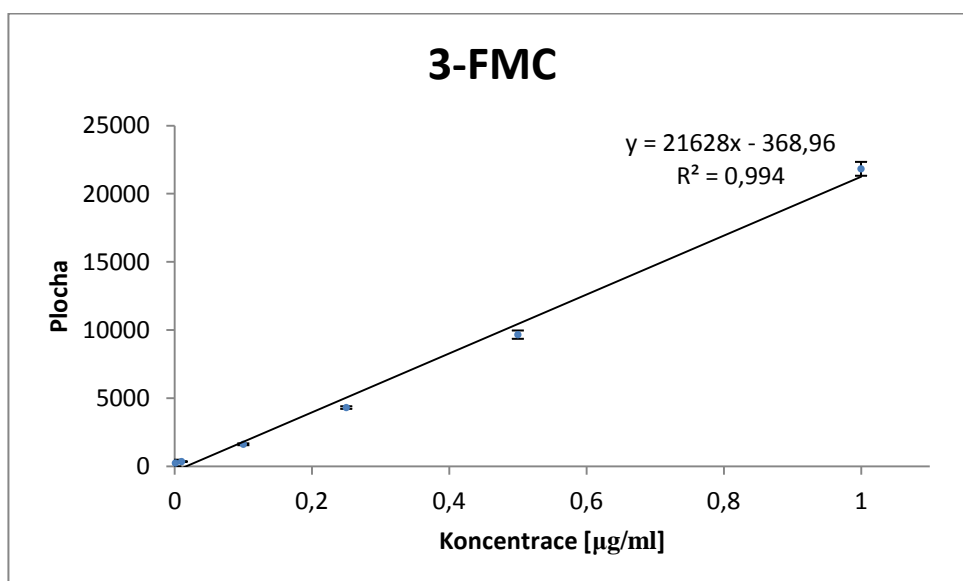
Graf č. 1: Kalibrační závislost pro vzorek Pentedron v rozsahu koncentrací 0,001 - 1 $\mu\text{g/ml}$ (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).



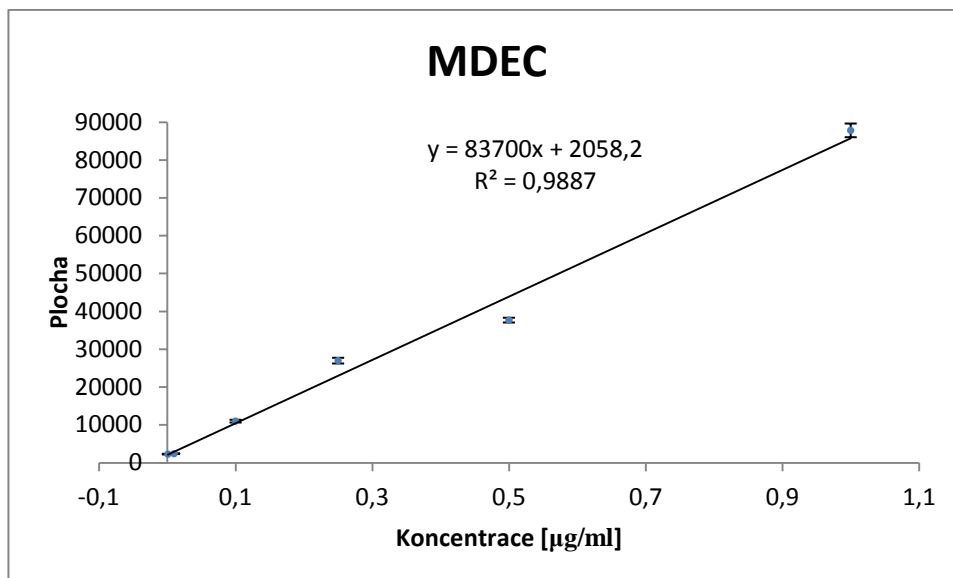
Graf č. 2: Kalibrační závislost pro vzorek bk-MBDB v rozsahu koncentrací 0,001 - 1 $\mu\text{g/ml}$ (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).



Graf č. 3: Kalibrační závislost pro vzorek bk-MDMA v rozsahu koncentrací 0,001 - 1 µg/ml (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).

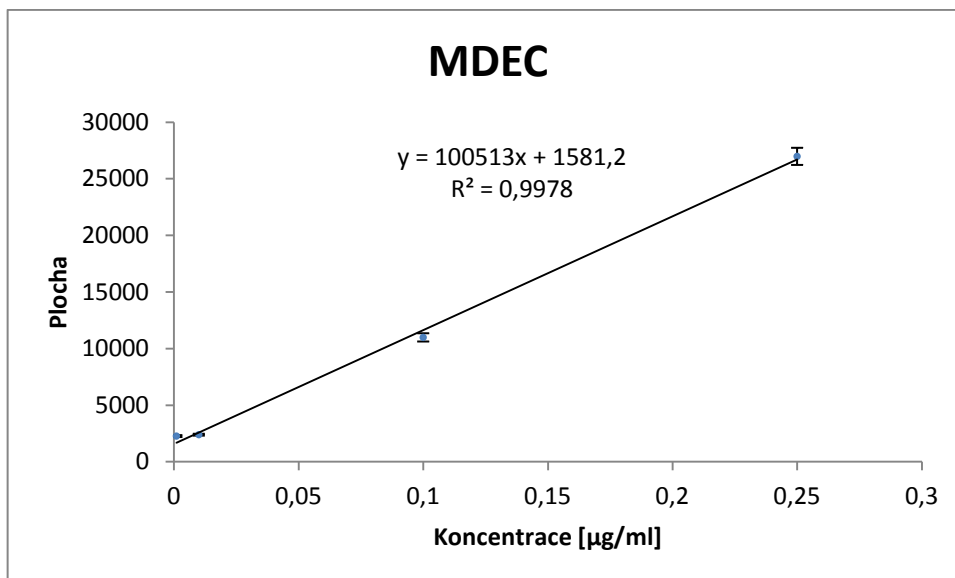


Graf č. 4: Kalibrační závislost pro vzorek 3-FMC v rozsahu koncentrací 0,001 - 1 µg/ml (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).



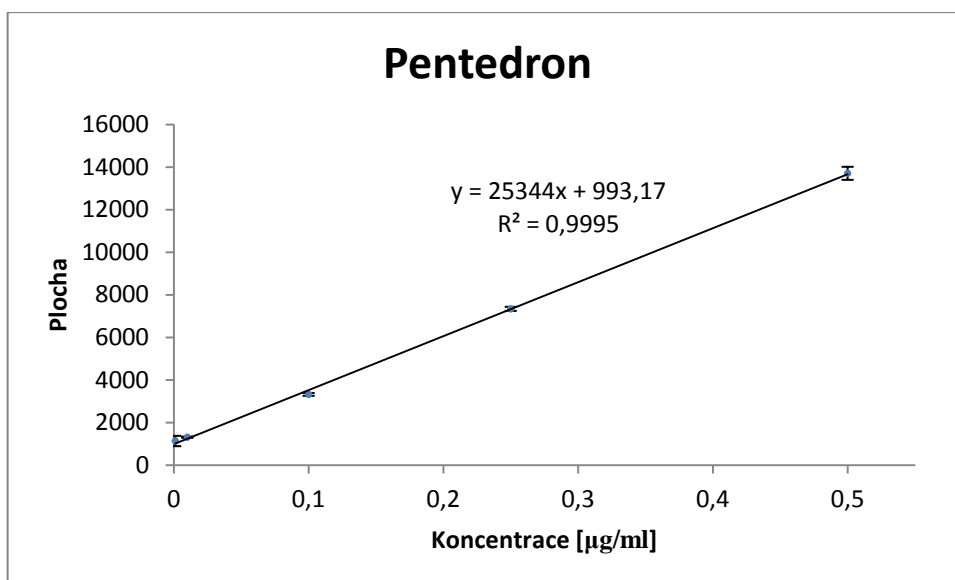
Graf č. 5: Kalibrační závislost pro vzorek MDEC v rozsahu koncentrací 0,001 - 1 $\mu\text{g/ml}$ (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).

V důsledku toho, že ionizace elektrosprejem vykazuje užší lineární dynamický rozsah, při vyšších koncentracích docházelo k odklonu od lineární závislosti a u některých zástupců nových syntetických drog došlo ke zlepšení hodnoty R^2 v případě, že byly odstraněny některé z bodů odpovídající nejvyšším koncentracím. Příkladem může být kalibrační závislost u látky MDEC (viz Graf č. 6). Po odebrání dvou bodů s nejvyššími koncentracemi (0,5 $\mu\text{g/ml}$ a 1 $\mu\text{g/ml}$), se hodnota R^2 zvýšila na 0,9978 (z původních $R^2 = 0,9887$).



Graf č. 6: Kalibrační závislost pro vzorek MDEC v rozsahu koncentrací 0,001 - 0,25 $\mu\text{g/ml}$ (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).

Další novou syntetickou drogou, u které došlo ke zlepšení hodnoty R^2 po odebrání kalibračního bodu, byla látka Pentedron. Při odebrání bodu s koncentrací 1 $\mu\text{g/ml}$, se hodnota R^2 z původní hodnoty 0,9905 zvýšila na hodnotu $R^2 = 0,9995$ (viz Graf č. 7).



Graf č. 7: Kalibrační závislost pro vzorek Pentedron v rozsahu koncentrací 0,001 - 0,5 $\mu\text{g/ml}$ (chybové úsečky odpovídají hodnotám směrodatných odchylek).

Cílem práce bylo zhodnotit detekční limity a možnosti identifikace sledovaných NDD na nízkých koncentračních hladinách (pod 100 ng/ml moči). Identifikace nových syntetických drog v moči byla založena na porovnání fragmentačních spekter standardů (viz Přílohy - kap. 7. iii., Obr. 80 - 100) s fragmentačními spektry nových syntetických drog v moči, přičemž za mez detekce je označena skutečně měřená koncentrace, kdy bylo možné získat dostatečně kvalitní fragmentační spektrum (viz Tab. IV.).

Název	Nejnižší detekovaná koncentrace [$\mu\text{g/ml}$]	Porovnávané hodnoty m/z z fragmentačních spekter
NRG-1	0,001	282,3920 211,2670 141,1737
Pentedron	0,01	192,2690 174,2461 161,2057
MDEC	0,001	222,2520 204,2303 174,2009
bk-MBDB	0,01	222,2520 204,2302 174,2009
EPH	0,01	248,3300 174,2464 84,1377
bk-MDMA	0,01	208,2260 190,2042 160,1754
MABP	0,01	178,2420 160,2195 132,1692
CAT	0,25	150,1900

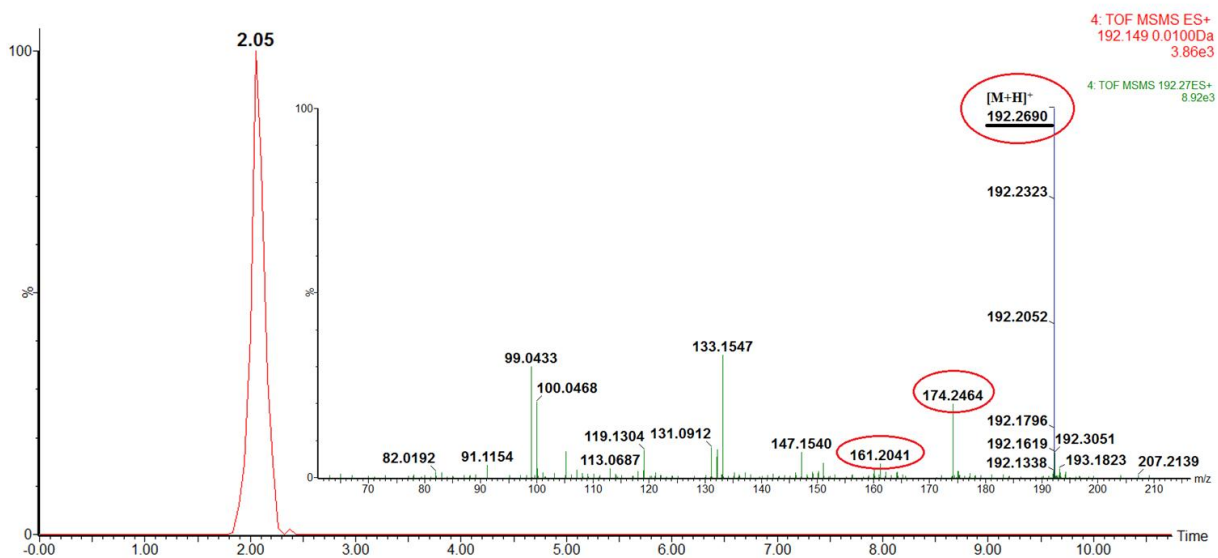
		132,1677 105,1388
MEX	0,1	248,3330 203,2451 175,2312
4-MEC	0,001	192,2690 174,2464
MDA	0,25	180,1020 163,0752 133,0643 105,0696
BDB	0,25	194,2420 177,2042 135,1304
3-MMC	0,001	178,2420 160,2195 145,1859 119,1655
PMMC	0,001	194,2420 176,2199 135,1669
2-C-H	0,25	182,2320 165,1944 150,1612
3-FMC	0,1	182,2060 164,1846 149,1517 123,1335
4-FMC	0,001	182,2060 164,1850 149,1519
2-C-B	0,001	260,0200

		242,9942 227,9708
MAP	0,1	150,2320 132,1928 91,1179
2-C-I	0,25	308,1280 291,0955 276,0660 164,1439
2-C-T-7	0,001	256,3760 239,2155 224,1852

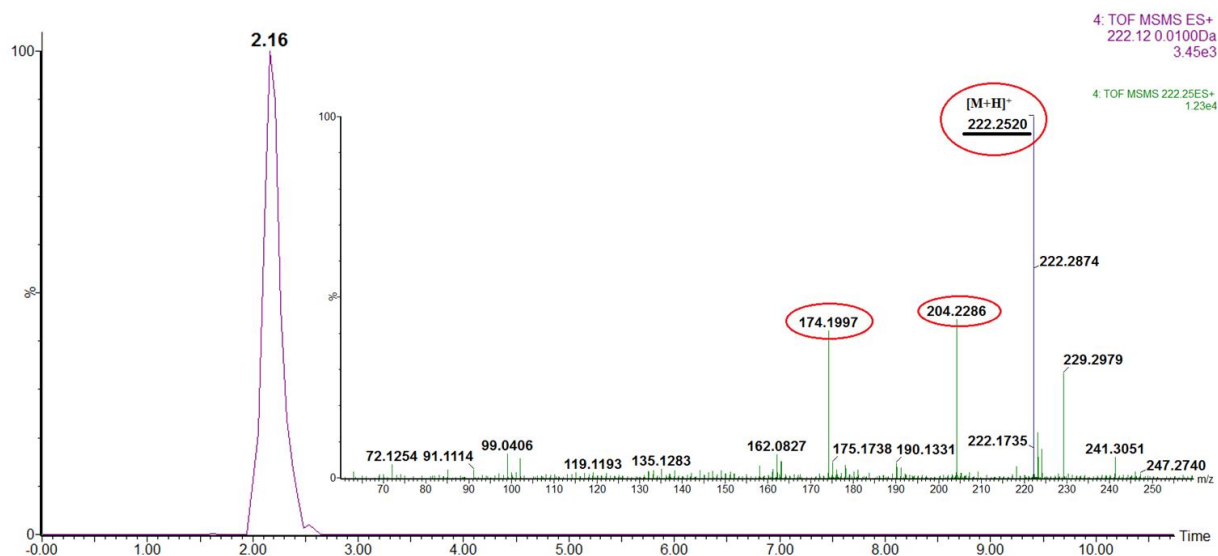
Tab. IV.: Koncentrační hladiny poskytující fragmentační spektrum použitelné k identifikaci a porovnávané hodnoty m/z produktových iontů.

Odhad detekčních limitů byl proveden pro všech 21 nových syntetických drog. Výsledky jsou shrnuty v Tab. IV. a příklady spekter ukázány na Obr. 12 – 16 (zbylých 16 NDD – viz Přílohy (kap. 7. iii., Obr. 101 - 121). Na obrázku je zobrazen mobilní pík sledované látky a fragmentační spektrum dané látky. Ve fragmentačním spektru jsou označené ionty, které byly porovnávány s ionty ve spektrech standardů. Na základě přítomnosti/nepřítomnosti daných iontů v jednotlivých koncentračních úrovních došlo k odhadu detekčních limitů koncentračních hladin dovolujících identifikaci.

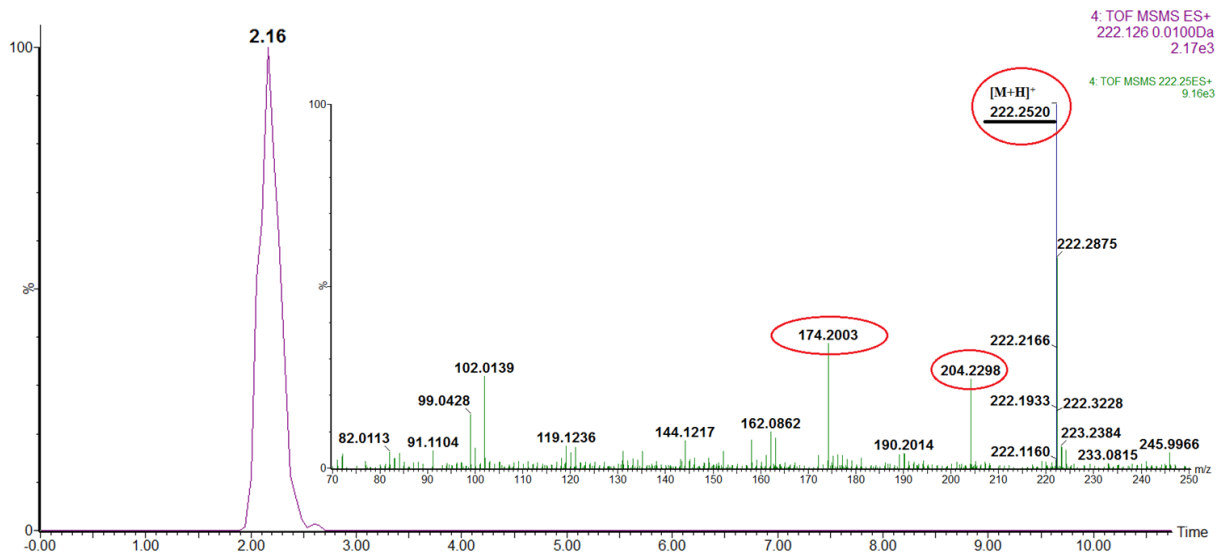
U většiny látek je dominantní prekurzorový ion, výtěžek fragmentů by bylo možné ještě zvýšit změnou kolizní energie nebo průtoku kolizního plynu.



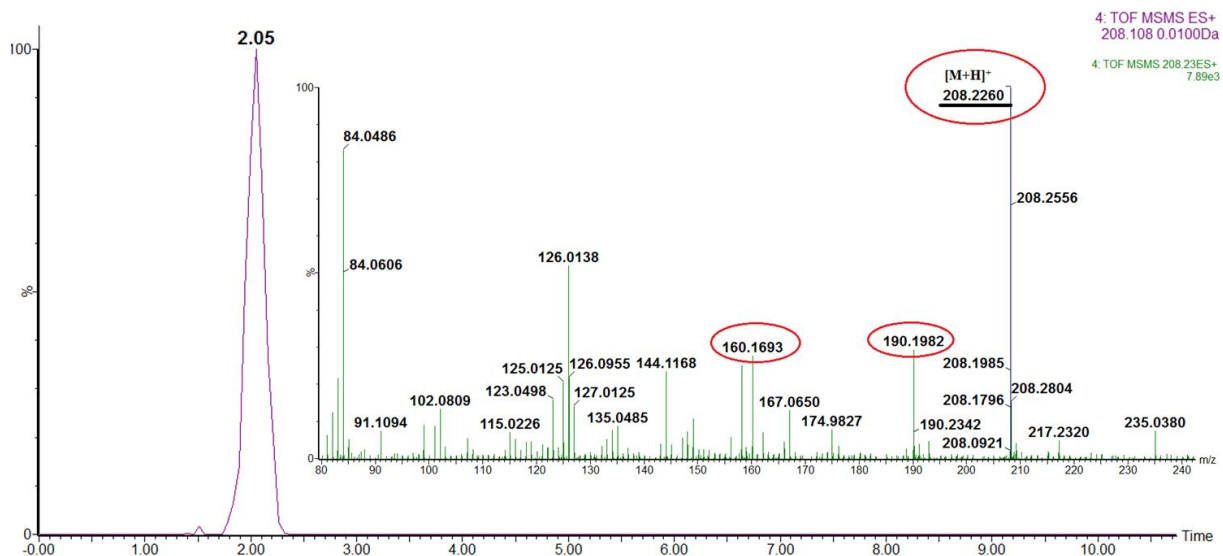
Obr. 12: Mobilogram a fragmentační spektrum látky Pentedron ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 192,2690.



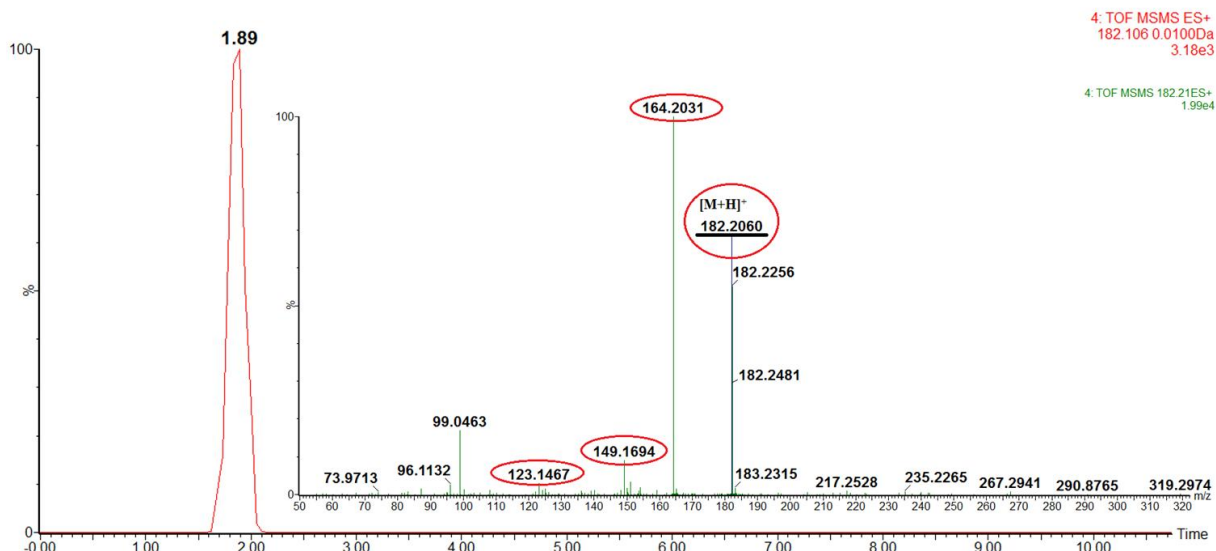
Obr. 13: Mobilogram a fragmentační spektrum látky MDEC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 222,2520.



Obr. 14: Mobilogram a fragmentační spektrum látky bk-MBDB ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 222,2520.



Obr. 15: Mobilogram a fragmentační spektrum látky bk-MDMA ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 208,2260.



Obr. 16: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 3-FMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,1 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2060.

Provedené experimenty ukázaly, že metoda IMS-MS je vhodná pro analýzu nových syntetických drog. Z odhadu koncentračních hladin vhodných pro identifikaci a ostatních naměřených výsledků lze říci, že použitá analytická technika se může uplatnit při screeningu NDD, a to nejen substancí, ale i ve vzorcích moče. Velkou výhodou je rychlost prováděné analýzy a jednoduchá předúprava analyzovaných vzorků.

5. Závěr

Řada příkladů z literatury dokládá aplikovatelnost spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií v analýze nejrůznějších typů vzorků (např. bojové chemické, výbušniny atd.)

Experimentální část byla zaměřena na analýzu nových syntetických drog. Cílem bylo zhodnotit spojení IM-MS pro použití v rychlém a jednoduchém screeningu vybraných nových syntetických drog ze skupiny katinonů a fenylethyl aminů.

Srovnání dvou ionizačních technik – elektrospreje a fotoionizace za atmosférického tlaku – ukázalo, že vhodnější pro analýzu nových syntetických drog je ionizace elektrosprejem. Elektrosprej poskytl oproti APPI vyšší odezvy protonovaných molekul, lepší odstup signálu od chemického šumu. Pro potřeby odlišení izobarických látek byla testována iontová mobilita s využitím tří driftových plynů – Ar, CO₂, N₂. Přestože se driftové časy pro jednotlivé izobarické látky a jejich směsi mírně liší, nelze je ve směsi odseparovat, pouze lze pozorovat odlišnosti ve fragmentačních spektrech získaných z počátku a konce mobilitního píku. I když jednoznačné odlišení izobarických látek není možné a v případě potřeby bude nutné využít jinou separační metodu, iontově mobilitní separace s hmotnostní spektrometrií dovoluje významně potlačit chemický šum, a tudíž měřit látky v komplexní matici s minimální úpravou vzorku. Analýza nových syntetických drog ve vzorcích moči byla prováděna v rozmezí koncentrací 1 ng – 1 µg/ml. Na základě porovnání shodných fragmentů (posouzení kvality fragmentačních spekter získaných při analýze vzorků moči) byly odhadnuty koncentrační hladiny dovolující identifikaci NDD. Pro látky NRG-1, MDEC, 4-MEC, 3-MMC, PMMC, 4-FMC, 2-C-B a 2-C-T-7 byla tato hladina 0,001 µg/ml, pro látky Pentedron, bk-MBDB, EPH, bk-MDMA, MABP 0,01 µg/ml a pro MEX, 3-FMC a MAP 0,1 µg/ml. Nejvyšší koncentrační hladiny (0,25 µg/ml) byla zjištěna pro CAT, MDA, BDB, 2-C-H a 2-C-I.

Ze získaných výsledků lze usuzovat, že metoda IMS-MS je vhodná pro rychlý screening látek typu nových syntetických drog. Výhodou této techniky je rychlost prováděné analýzy, jednoduchá předúprava analyzovaných vzorků moče a dostatečně nízké koncentrační hladiny pro identifikaci studovaných NDD.

6. Citovaná literatura

- 1 „Separation Science“ [Online].
Dostupné z: <http://www.sepscience.com/Techniques/MS/Articles/1473-/MS-Solutions-25-Ion-Mobility-Spectrometry-A-Primer>.
[Přístup získán 15. 8. 2014].
- 2 Laphorn C., Pullen F., Chowdhry B. Z.: Ion mobility spectrometry-mass spectrometry (IMS-MS) of small molecules: Separating and assigning structures to ions. *Mass Spectrom. Rev.* **1**, 43-71 (2013).
- 3 Patent WO2013173320-A1, Oberreit D. R., Hogan C. J.: Measuring aerosol involves introducing a sample aerosol into a drift tube of an ion mobility spectrometer, introducing a carrier gas into the drift tube of the ion mobility spectrometer, and applying a capturing electric field. 14. 5. 2013.
- 4 Li H. L., Giles K., Bendiak B., Kaplan K., Siems W.F., Hill H. H.: Resolving Structural Isomers of Monosaccharide Methyl Glycosides Using Drift Tube and Traveling Wave Ion Mobility Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **7**, 3231-3239 (2012).
- 5 Puves R.W.: Enhancement of biological mass spectrometry by using separations based on changes in ion mobility (FAIMS and DMS). *Anal Bioanal Chem* **1**, 35-42 (2013).
- 6 O'Donnell R. M., Sun X., Harrington P.B.: Pharmaceutical applications of ion mobility spectrometry. *Trac-Trend Anal Chem* **1**, 44-53 (2008).
- 7 Huang J. H., Bakx E. J., Gruppen H., Schols H. A.: Characterisation of 3-aminoquinoline-derivatised isomeric oligogalacturonic acid by travelling-wave ion mobility mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Sp* **20**, 2279-2285 (2013).
- 8 Pessoa G. D., Pilau, E. J., Gozzo F. C., Arruda M. A. Z.: Ion mobility spectrometry focusing on speciation analysis of metals/metalloids bound to carbonic anhydrase. *Anal Bioanal Chem* **24**, 7653-7660 (2013).

- 9 Daly C. E., Ng L. L., Hakimi A., Willingala R, Jones D. R., Jones D. J. L.: Qualitative and Quantitative Characterization of Plasma Proteins When Incorporating Traveling Wave Ion Mobility into a Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Workflow for Biomarker Discovery: Use of Product Ion Quantitation As an Alternative Data Analysis Tool for Label Free Quantitation. *Anal Chem* **4**, 1972-1979 (2014).
- 10 Guha S., Li M. D., Tarlov M. J., Zechariah M. R.: Electrospray-differential mobility analysis of bionanoparticles. *Trends Biotechnol* **5**, 291-300 (2012).
- 11 Hogan C. J., de la Mora J. F.: Ion Mobility Measurements of Nondenatured 12-150 kDa Proteins and Protein Multimers by Tandem Differential Mobility Analysis-Mass Spectrometry (DMA-MS). *J Am Soc Mass Spectr* **1**, 158-172 (2011).
- 12 Elzey S., Tsai D. H., Yu L. L., Winchester M. R., Kelley M. E., Hackley V. A.: Real-time size discrimination and elemental analysis of gold nanoparticles using ES-DMA coupled to ICP-MS. *Anal Bioanal Chem* **7**, 2279-2288 (2013).
- 13 „Waters“ [Online].
Dostupné z: http://www.waters.com/waters/en_US/SYNAPT-MS-series---HDMS-upgrade-/nav.htm?cid=10099686.
[Přístup získán 24. 8. 2014].
- 14 „Waters“ [Online].
Dostupné z: http://www.waters.com/waters/en_US/MALDI-SYNAPT-G2-Si-High-Definition-Mass-Spectrometry/nav.htm?cid=134740682.
[Přístup získán 24. 8. 2014].
- 15 Benton C. M., Lim C. K., Moniz C., Jones D. J. L.: Travelling wave ion mobility mass spectrometry of 5-aminolaevulinic acid, porphobilinogen and porphyrins. *Rapid Commun Mass Sp* **4**, 480-486 (2012).
- 16 Peffers M. J., Cillero-Pastor B., Eijkel G. B., Clegg P. D., Heeren R. M. A.: Matrix assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging identifies markers of ageing and osteoarthritic cartilage. *Arthritis Res Ther* **3**, R110 (2014).

- 17 „The Agilent“ [Online].
Dostupné z: <http://www.chem.agilent.com/Library/technicaloverviews/Public/5991-3244EN.pdf>.
[Přístup získán 28. 8. 2014].
- 18 May J. C., Goodwin C. R., Lareau N. M., Leaptrot K. L., Morris C. B., Kurulugama R. T., Mordehai A., Klein C., Barry W., Darland E., Overney G., Imatani K., Stafford G. C., Fjeldsted J. C., McLean J. A.: Conformational Ordering of Biomolecules in the Gas Phase: Nitrogen Collision Cross Sections Measured on a Prototype High Resolution Drift Tube Ion Mobility-Mass Spectrometer. *Anal Chem* **4**, 2107–2116 (2014).
- 19 Borton C., Kern R., Schreiber A.: Elimination of matrix effects and interferences when performing high sensitivity and high selectivity LC-MS/MS screening. *Abstr Pap Am Chem S*, AGRO-269 (2014).
- 20 Schreiber A., Campbell L.: New detection methods for emerging environmental pollutants using LC-MS/MS and differential mobility separation. *Abstr Pap Am Chem S*, ENVR-59 (2014).
- 21 Wu S. T., Xia Y. Q., Jemal M.: High-field asymmetric waveform ion mobility spectrometry coupled with liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC/ESI-FAIMS-MS/MS) multi-component bioanalytical method development, performance evaluation and demonstration of the constancy of the compensation voltage with change of mobile phase composition or flow rate. *Rapid Commun Mass Sp* **22**, 3667-3676 (2007).
- 22 Xia Y.Q., Wu S. T., Jemal M.: LC-FAIMS-MS/MS for Quantification of a Peptide in Plasma and Evaluation of FAIMS Global Selectivity from Plasma Components. *Anal Chem* **18**, 7137–7143 (2008).
- 23 Enders J.R., McLean J. A.: Chiral and structural analysis of biomolecules using mass spectrometry and ion mobility-mass spectrometry. *Chirality* **1 E**, E253-E264 (2009).
- 24 Zhu M. L., Bendiak B., Clowers B., Hill H. H.: Ion mobility-mass spectrometry analysis

- of isomeric carbohydrate precursor ions. *Anal Bioanal Chem* **7**, 1853-1867 (2009).
- 25 Harvey S. R., MacPhee C. E., Barran P. E.: Ion mobility mass spectrometry for peptide analysis. *Methods* **4**, 454-461 (2011).
 - 26 Dwivedia P., Schultz A. J., Hill H. H.: Metabolic profiling of human blood by high-resolution ion mobility mass spectrometry (IM-MS). *Int J Mass Spectrom* **1-3**, 78-90 (2010).
 - 27 Maire F., Neeson K., Denny R., McCullagh M., Lange C., Afonso C., Giusti P.: Identification of ion series using ion mobility mass spectrometry: The example of alkyl-benzothiophene and alkyl-dibenzothiophene ions in diesel fuels. *Anal Chem* **11**, 5530-5534 (2013).
 - 28 Fernandez-Lima F. A., Becker C., McKenna A. M., Rodgers R. P., Marshall A. G., Russell D. H.: Petroleum Crude Oil Characterization by IMS-MS and FTICR MS. *Anal Chem* **24**, 9941-9947 (2009).
 - 29 Crawford C. L., Fugate G. A., Cable-Dunlap P. R., Wall N. A., Siemsa W. F., Hill H. H.: The novel analysis of uranyl compounds by electrospray-ion mobility-mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom*, 21-26 (2012).
 - 30 Fisher H. C., Smith M., Ashcroft A. E.: De novo sequencing of short interfering ribonucleic acids facilitated by use of tandem mass spectrometry with ion mobility spectrometry. *Rapid Commun Mass Sp* **20**, 2247-2254 (2013).
 - 31 Keller T., Keller A., Tutsch-Bauer E., Monticelli F.: Application of ion mobility spectrometry in cases of forensic interest. *Forensic Sci Int*, 130-140, 2006.
 - 32 Hall A. B., Coy S. L., Nazarov E. G., Vouros P.: Rapid Separation and Characterization of Cocaine and Cocaine Cutting Agents by Differential Mobility Spectrometry-Mass Spectrometry. *J Forensic Sci* **3**, 750-756 (2012).
 - 33 McCooeye M. A., Ells B., Barnett D. A., Purves R. W., Guevremont R. Quantitation of morphine and codeine in human urine using high-field asymmetric waveform ion

- mobility spectrometry (FAIMS) with mass spectrometric detection. *J Anal Toxicol* **2**, 81-87 (2001).
- 34 Sysoev A. A., Poteshin S. S., Chernyshev D. M., Karpov A. V., Tuzkov Y. B., Kyzmin V. V.: Analysis of new synthetic drugs by ion mobility time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Mass Spectrom* **2**, 185-192 (2014).
- 35 Matz L. M., Hill H. H.: Evaluation of opiate separation by high-resolution electrospray ionization-ion mobility spectrometry/mass spectrometry. *Anal Chem* **8**, 1664-1669 (2001).
- 36 Matz L. M., Hill H. H.: Separation of benzodiazepines by electrospray ionization ion mobility spectrometry–mass spectrometry. *Anal Chim Acta* **2**, 235–245 (2002).
- 37 Roscioli K. M., Tufariello J. A., Zhang X., Li S. X., Goetz G. H., Cheng G., Siemsb W. F., Hill H. H.: Desorption electrospray ionization (DESI) with atmospheric pressure ion mobility spectrometry for drug detection. *Analyst* **7**, 1740-1750 (2014).
- 38 Hall A. B., Coy S. L., Nazarov E., Vouros P.: Development of rapid methodologies for the isolation and quantitation of drug metabolites by differential mobility spectrometry – mass spectrometry. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* **3**, 151-156 (2012).
- 39 Caygill J. S., Davis F., Higson S. P. J.: Current trends in explosive detection techniques. *Talanta*, 14–29 (2012).
- 40 Ehlert S., Walte A., Zimmermann R.: Ambient Pressure Laser Desorption and Laser-Induced Acoustic Desorption Ion Mobility Spectrometry Detection of Explosives. *Anal Chem* **22**, 11047–11053 (2013).
- 41 Singh S., Singh M.: Explosives detection systems (EDS) for aviation security. *Signal Process* **1**, 31–55 (2003).
- 42 Lee J., Park S., Cho S. G., Goh E. M., Lee S., Koh S. S., Kim J.: Analysis of explosives using corona discharge ionization combined with ion mobility spectrometry–mass

- spectrometry. *Talanta*, 64-70 (2014).
- 43 Kolakowski B. M., D'Agostino P. A., Chenier C., Mester Z.: Analysis of Chemical Warfare Agents in Food Products by Atmospheric Pressure Ionization-High Field Asymmetric Waveform Ion Mobility Spectrometry-Mass Spectrometry. *Anal Chem* **21**, 8257-8265 (2007).
 - 44 Isailovic D., Kurulugama R. T., Plasencia M. D., Stokes S. T., Kyselova Z., Goldman R., Mechref Y., Novotny M. V., Clemmer D. E.: Profiling of human serum glycans associated with liver cancer and cirrhosis by IMS-MS. *J Proteome Res* **3**, 1109-1117 (2008).
 - 45 Tadjimukhamedov F. K., Jackson A. U., Nazarov E. G., Ouyang Z., Cooks R.G.: Evaluation of a Differential Mobility Spectrometer/Miniature Mass Spectrometer System. *J Am Soc Mass Spectr* **9**, 1477–1481 (2010).
 - 46 Demoranvillea L. T., Verkouteren J. R.: Measurement of drug facilitated sexual assault agents in simulated sweat by ion mobility spectrometry. *Talanta*, 375–380 (2013).
 - 47 Lu Y., O'Donnell R. M., Harrington P. B.: Detection of cocaine and its metabolites in urine using solid phase extraction-ion mobility spectrometry with alternating least squares. *Forensic Sci Int* **1-3**, 54-59 (2009).
 - 48 Lokhnauth J. K., Snow N. H.: Solid phase micro-extraction coupled with ion mobility spectrometry for the analysis of ephedrine in urine. *J Sep Sci* **7**, 612-618 (2005).
 - 49 Verkouteren J. R., Staymates J. L.: Reliability of ion mobility spectrometry for qualitative analysis of complex, multicomponent illicit drug samples. *Forensic Sci Int* **1-3**, 190–196 (2011).
 - 50 Midey A. J., Patel A., Moraff C., Krueger C. A., Wu C.: Improved detection of drugs of abuse using high-performance ion mobility spectrometry with electrospray ionization (ESI-HPIMS) for urine matrices. *Talanta*, 77–83 (2013).
 - 51 Keller T., Miki A., Regenscheit P., Dirnhofer R., Schneider A. Tsuchihashi H.: Detection

- of designer drugs in human hair by ion mobility spectrometry (IMS). *Forensic Sci Int* **1-2**, 55-63 (1998).
- 52 Oxley J. C., Smith J. L., Kirschenbaum L. J., Marimganti S., Vadlamannati S.: Detection of explosives in hair using ion mobility spectrometry. *J Forensic Sci* **3**, 690-693 (2008).
- 53 Buxton T. L., Harrington P. D.: Rapid multivariate curve resolution applied to identification of explosives by ion mobility spectrometry. *Anal Chim Acta* **2**, 269–282 (2001).
- 54 Zimmermann S., Barth S., Baether W. K. M., Ringer J.: Miniaturized low-cost ion mobility spectrometer for fast detection of chemical warfare agents. *Anal Chem* **17**, 6671-6676 (2008).
- 55 Kanua A. B., Haigh P. E., Hill H. H.: Surface detection of chemical warfare agent simulants and degradation products. *Anal Chim Acta* **1-2**, 148–159 (2005).
- 56 Rearden P., Harrington P. B.: Rapid screening of precursor and degradation products of chemical warfare agents in soil by solid-phase microextraction ion mobility spectrometry (SPME–IMS). *Anal Chim Acta* **1**, 13-20 (2005).
- 57 West C., Baron G., Minet J. J.: Detection of gunpowder stabilizers with ion mobility spectrometry. *Forensic Sci Int* **2-3**, 91–101 (2007).
- 58 O'Donnell R. M., Harrington P. B., Sun X.: Applications of ion mobility spectrometry and differential mobility spectrometry in drug screening and quality control of pharmaceuticals. *Abstr Pap Am Chem S*, CRM-041 (2007).

Seznam použitých zkratk

APCI - Atmospheric Pressure Chemical Ionization, chemická ionizace za atmosférického tlaku

APPI - Atmospheric Pressure Photoionization, fotoionizace za atmosférického tlaku

ASAP - The Atmospheric Solids Analysis Probe

CWA - Chemical warfare agents, bojové chemické látky

DESI - Desorption electrospray ionization, desorpční ionizace elektrosprejem

DMA - Differential mobility analyzer, diferenciální mobilitní analyzátor

DMS - Differential mobility spectrometry, diferenciální mobilitní spektrometr

DT - Drift tube, driftová trubice

ESI - Electrospray ionization, ionizace elektrosprejem

FAIMS - Field Asymmetric Ion Mobility Spectrometry, iontová mobilita s využitím asymetrické vlny s vysokou intenzitou elektrického pole

FTICR - Fourier transform ion cyclotron resonance, iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací

HPLC - High-performance liquid chromatography, vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IMS - Ion mobility spectrometry, iontová mobilitní spektrometrie

LC - Liquid chromatography, kapalinová chromatografie

LOD – Limit of detection, limit detekce

MALDI - Matrix-assisted laser desorption/ionization, desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice

MS - Mass spectrometry, hmotnostní spektrometrie

NDD - New designer drugs, nové syntetické drogy

SPE - Solid phase extraction, extrakce pevnou fází

SPME - Solid phase microextraction, mikroextrakce na pevné fázi

TD – Thermal desorption, termální desorpce

TLC – Thin layer chromatography, chromatografie na tenké vrstvě

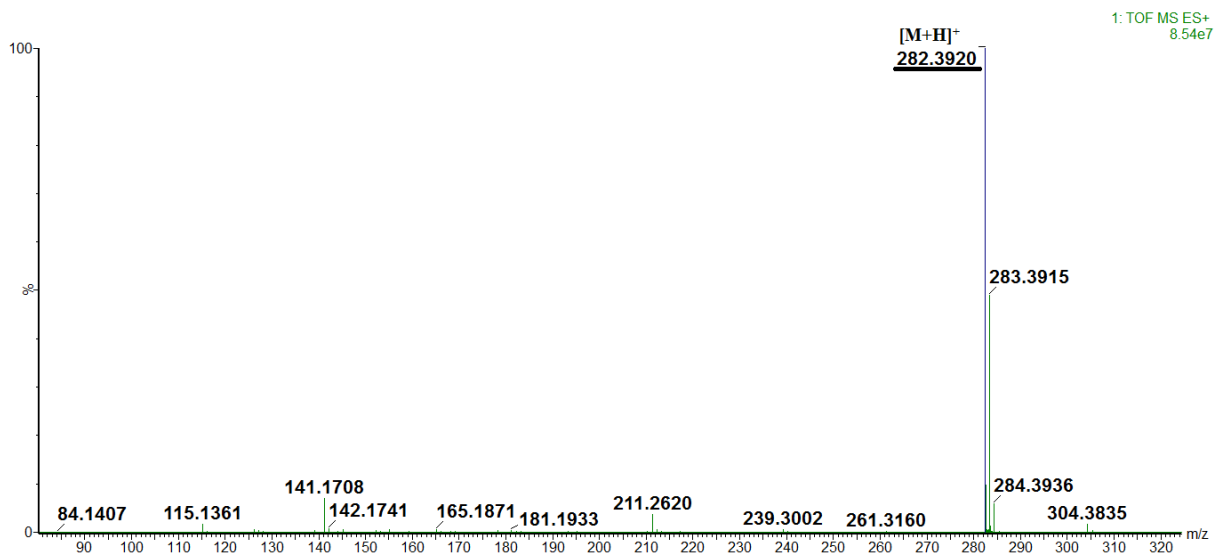
TOF – Time-of-flight, průletový analyzátor

TWIG - Travelling wave ion guide, iontová optika na principu putující vlny

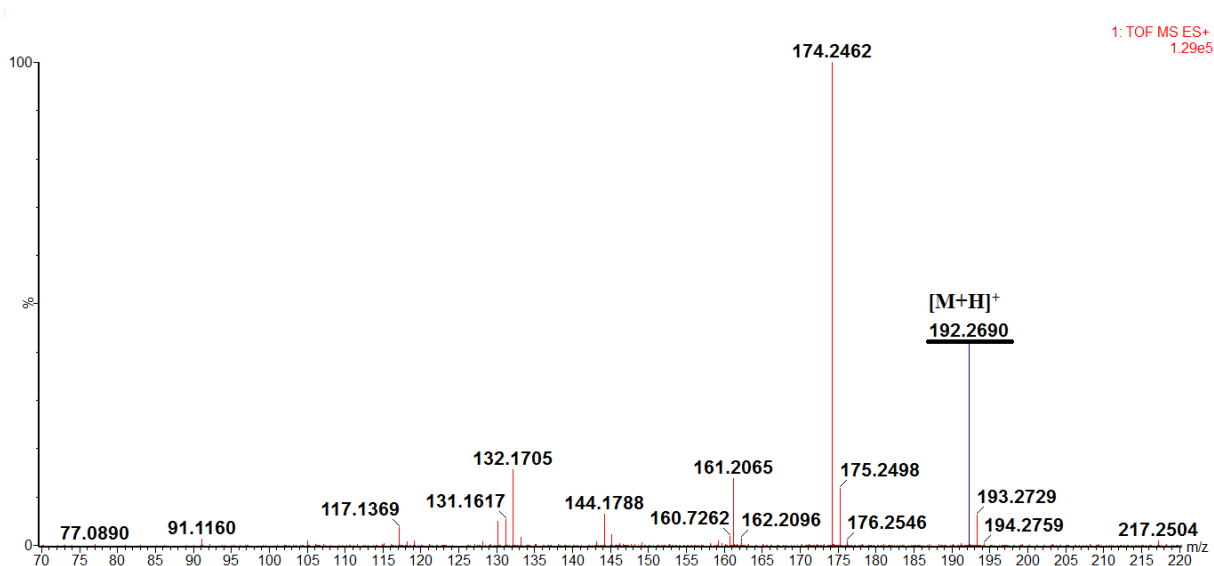
TWIMS – Travelling Wave Ion Mobility Separator, separace iontovou mobilitou s využitím putující vlny

7. Přílohy

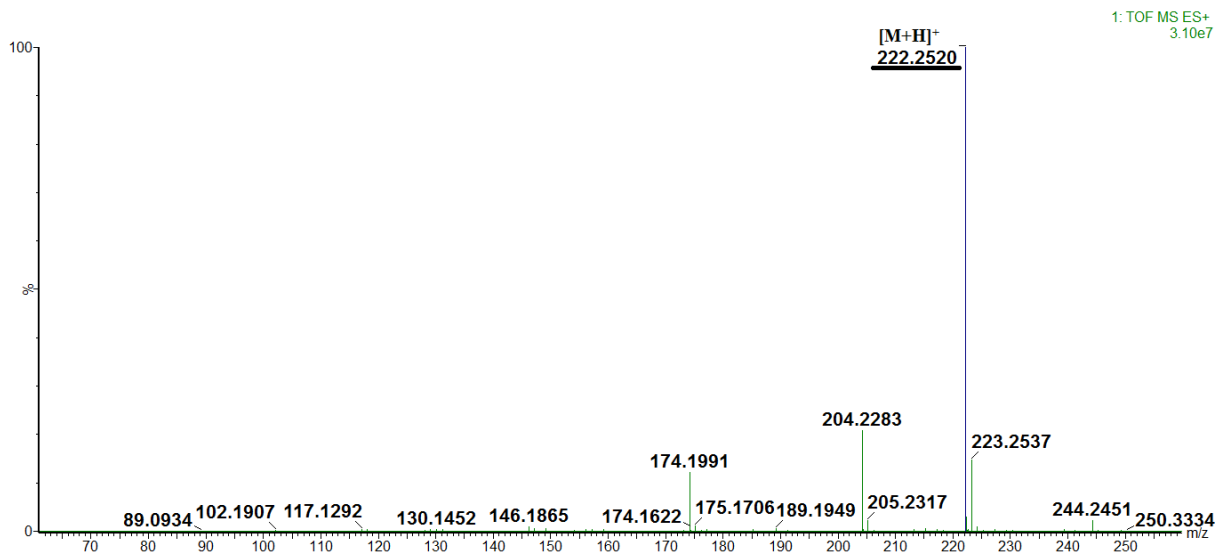
7. i. Spektra standardů nových syntetických drog (fullscan)



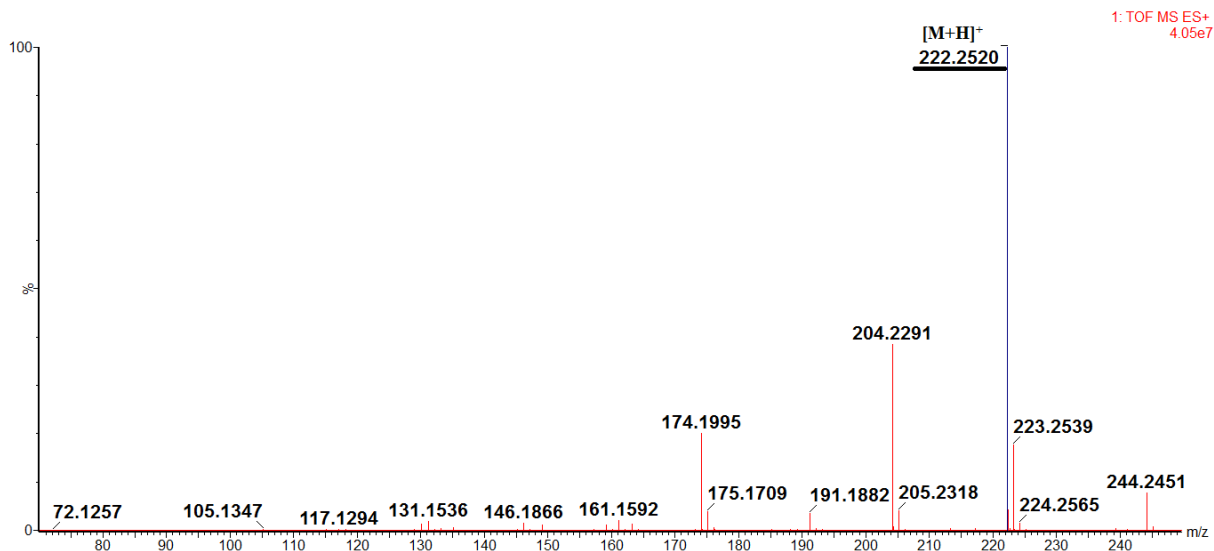
Obr. 17: Standardní roztok látky NRG-1, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 282,3920$.



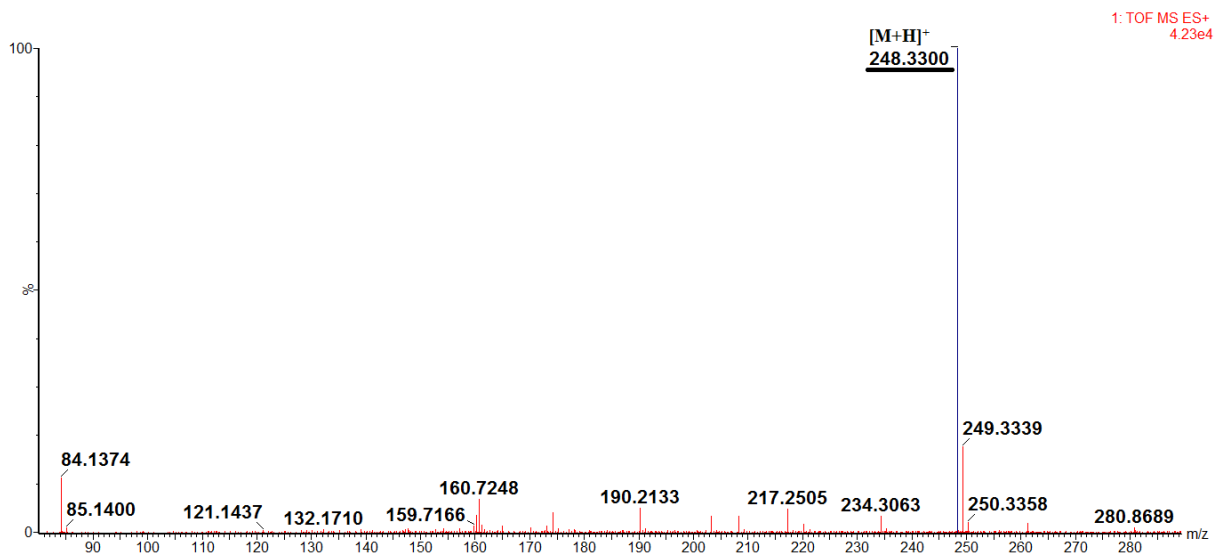
Obr. 18: Standardní roztok látky Pentedron, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 192,2690$.



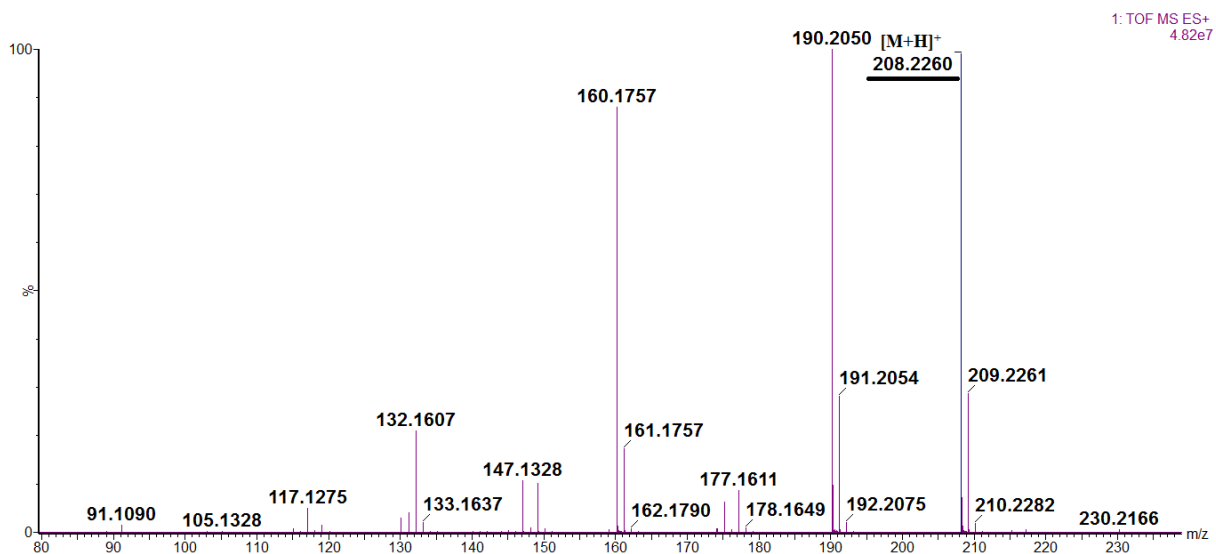
Obr. 19: Standardní roztok látky MDEC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222,2520$.



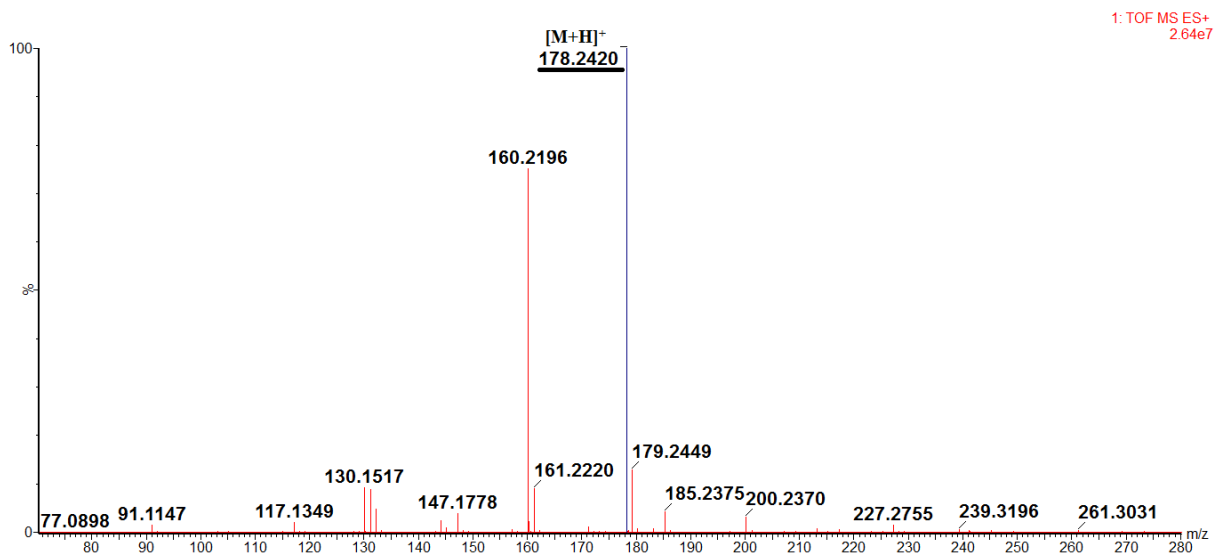
Obr. 20: Standardní roztok látky bk-MBDB, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222,2520$.



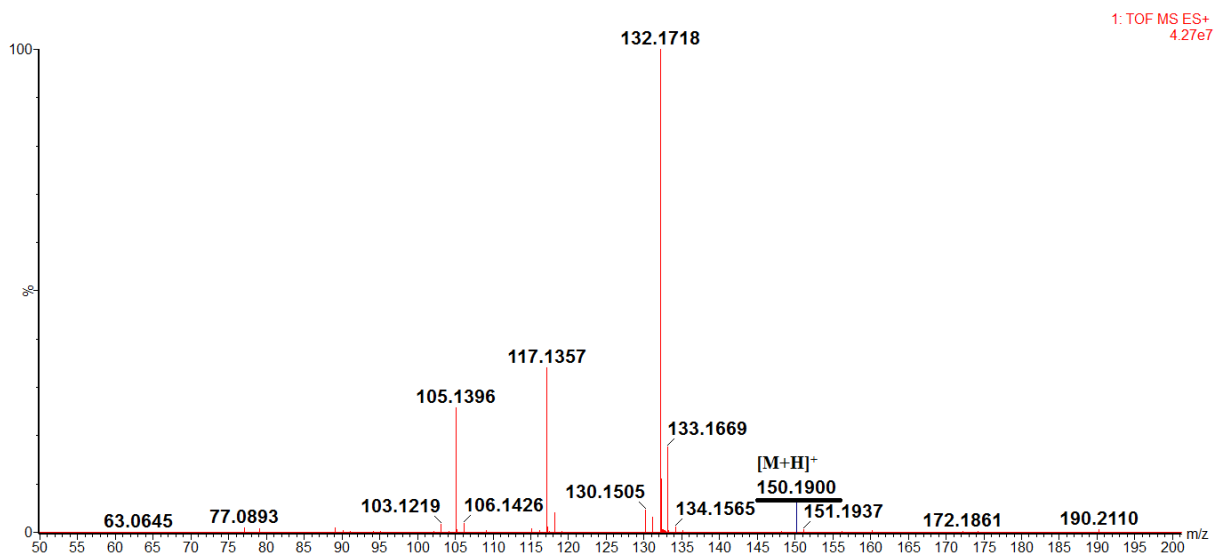
Obr. 21: Standardní roztok látky EPH, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 248,3300$.



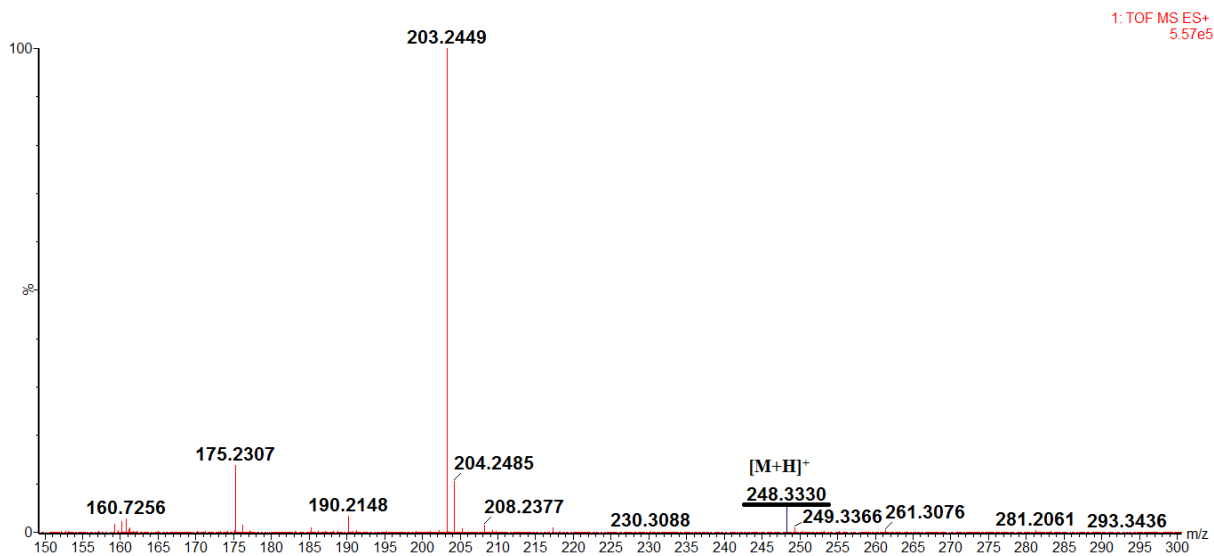
Obr. 22: Standardní roztok látky bk-MDMA, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 208,2260$.



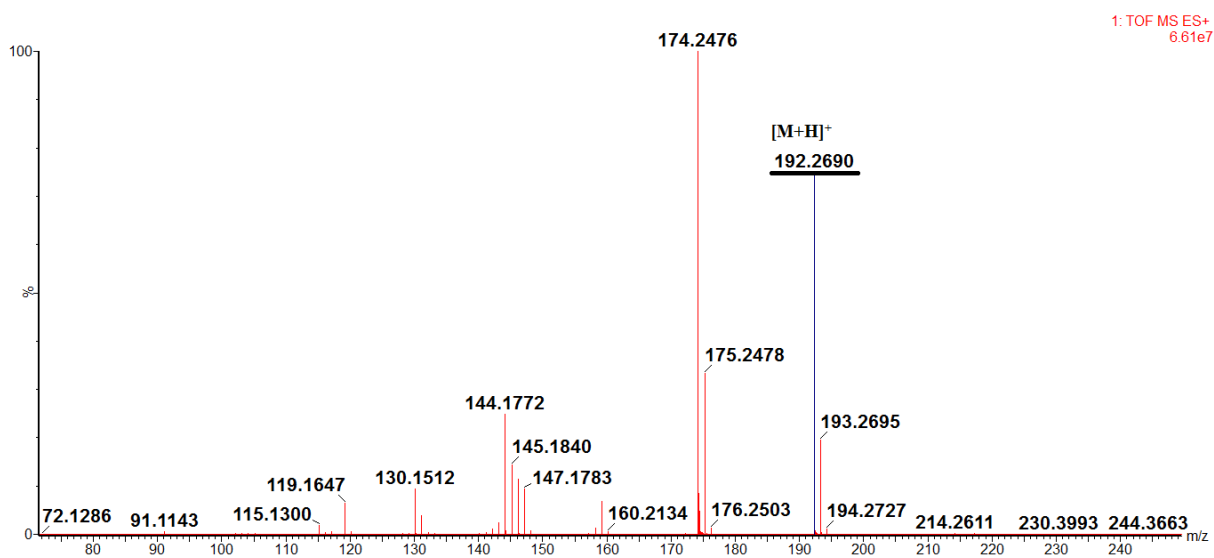
Obr. 23: Standardní roztok látky MABP, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178,2420$.



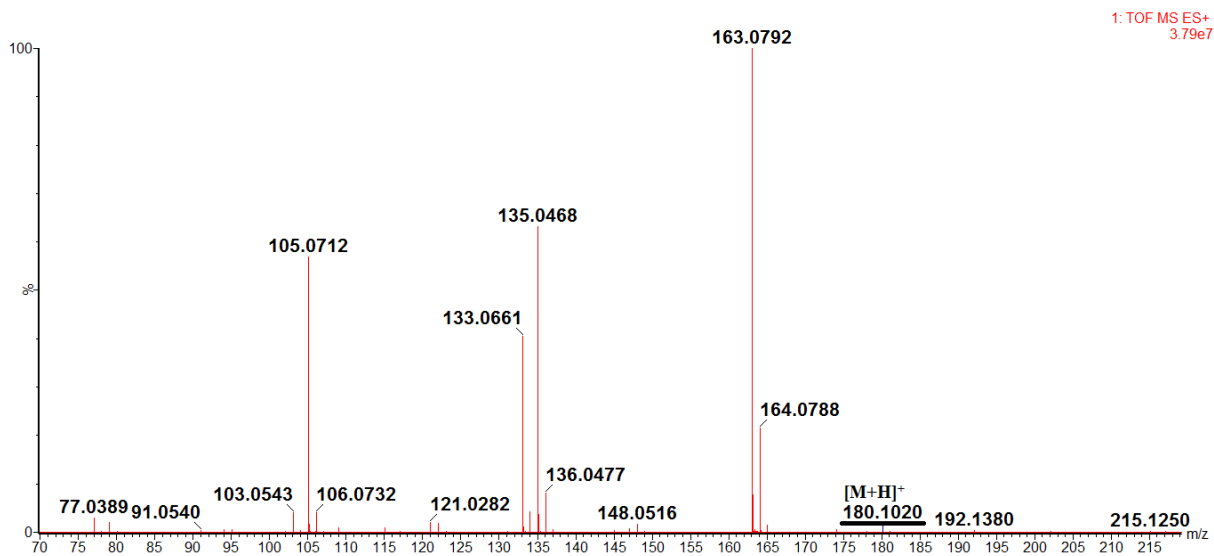
Obr. 24: Standardní roztok látky CAT, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 150,1900$.



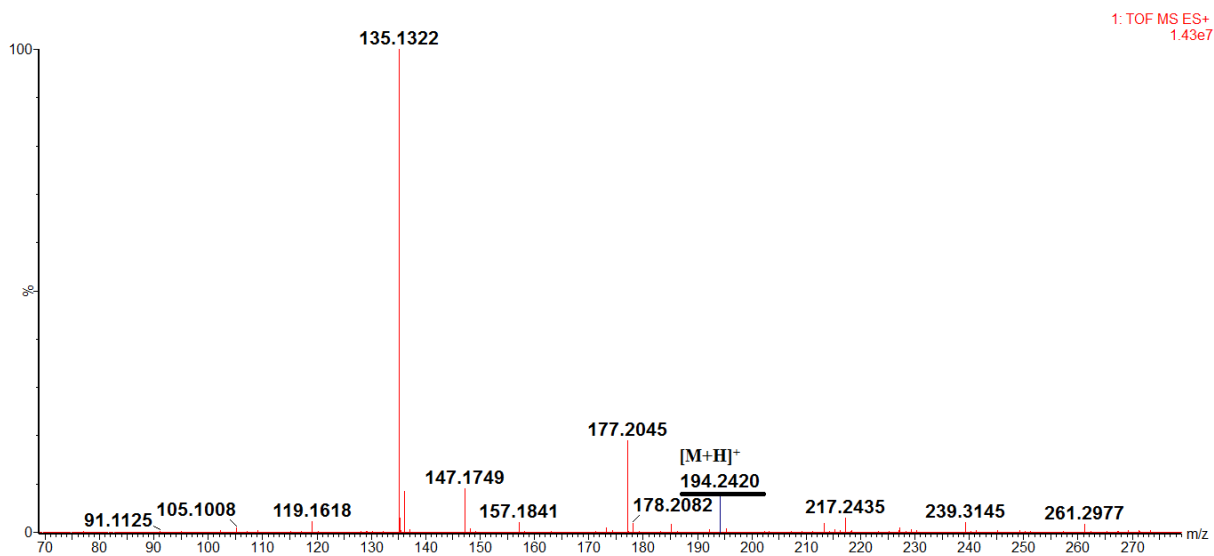
Obr. 25: Standardní roztok látky MEX, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 248,3330$.



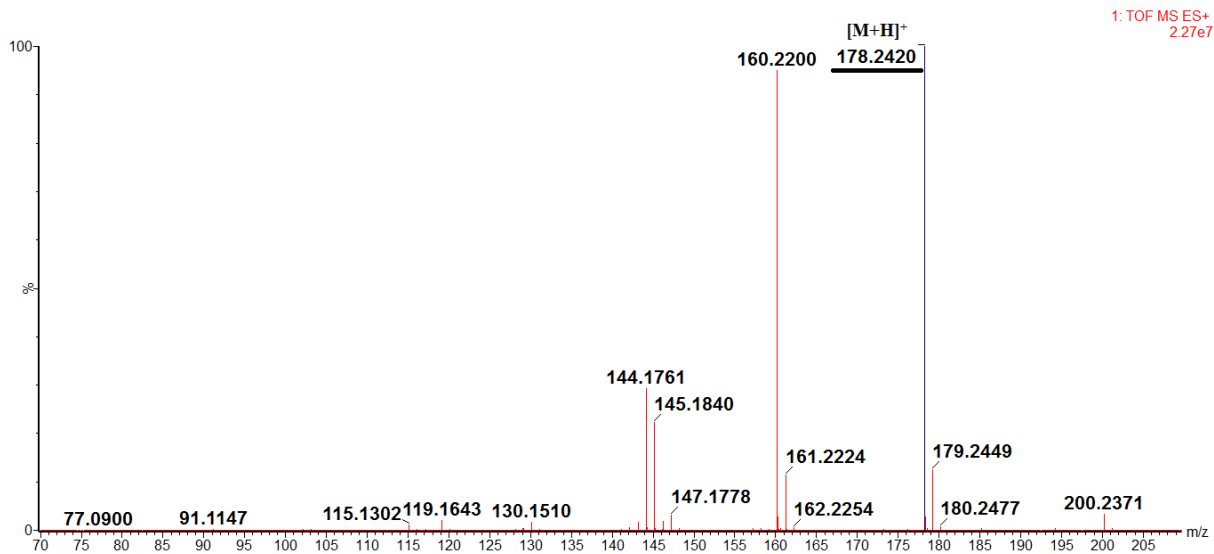
Obr. 26: Standardní roztok látky 4-MEC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 192,2690$.



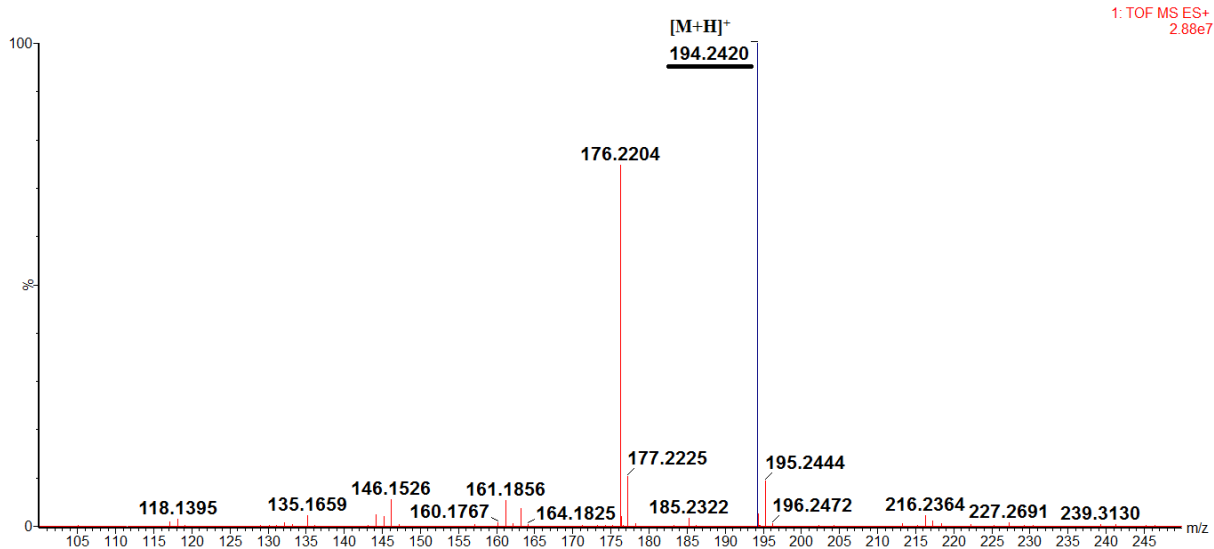
Obr. 27: Standardní roztok látky MDA, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 180,1020$.



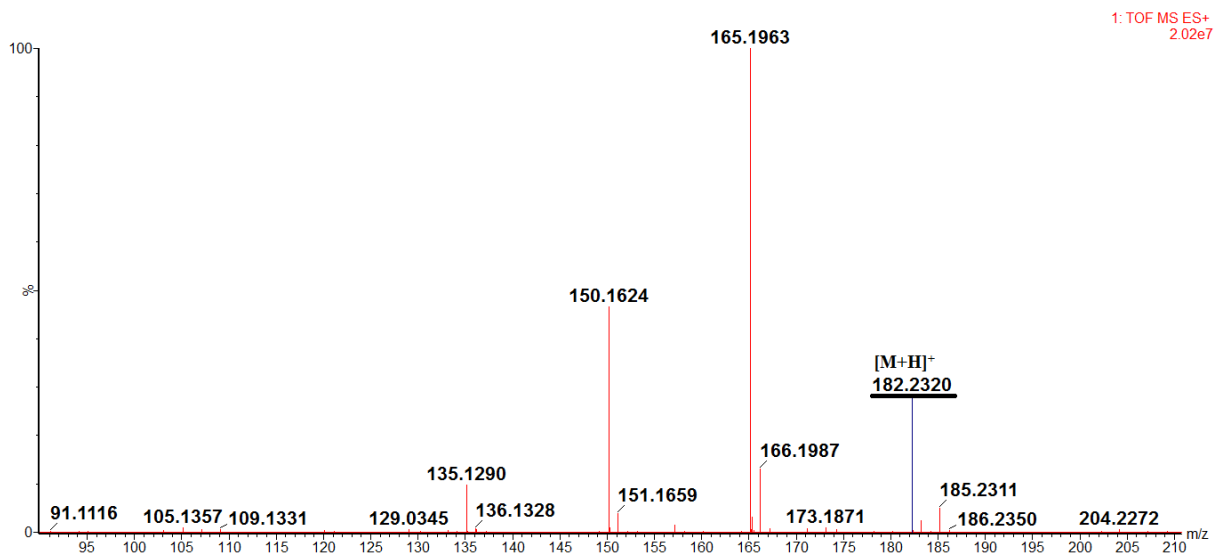
Obr. 28: Standardní roztok látky BDB, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



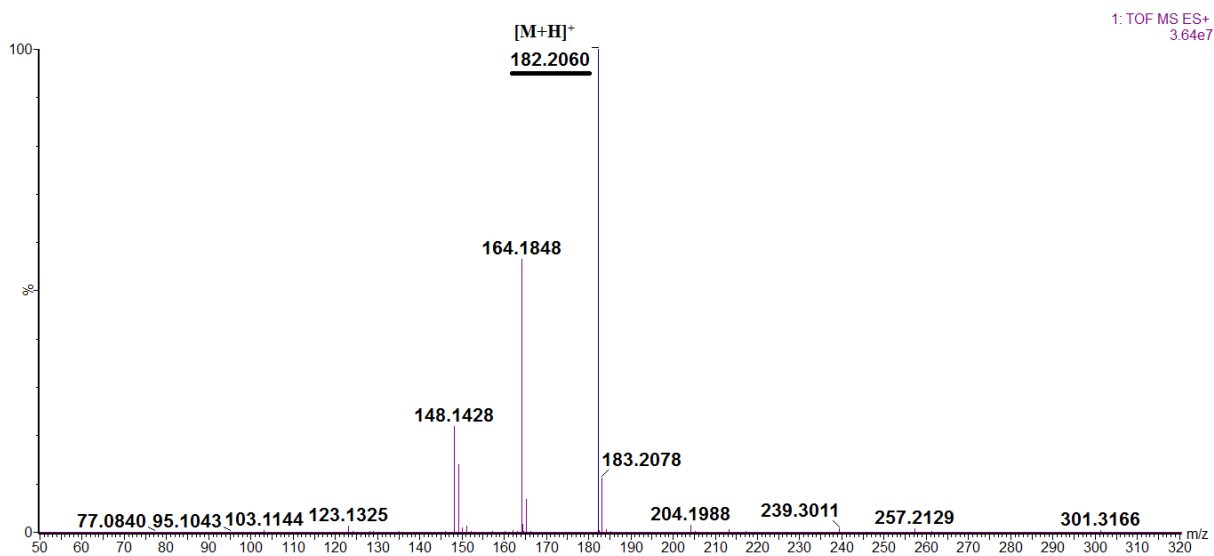
Obr. 29: Standardní roztok látky 3-MMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178,2420$.



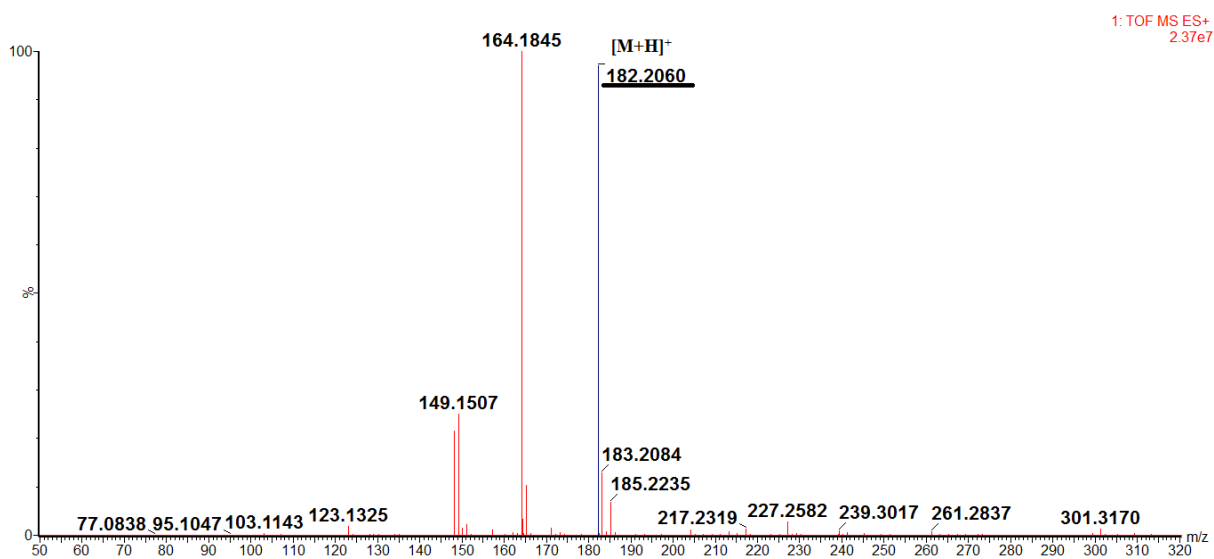
Obr. 30: Standardní roztok látky PMMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



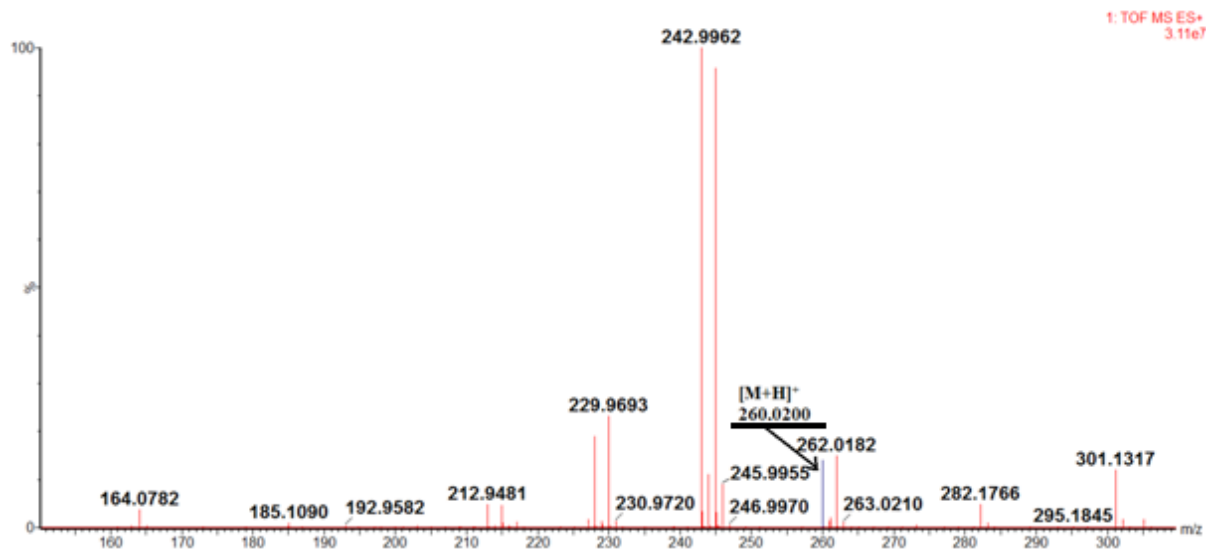
Obr. 31: Standardní roztok látky 2-C-H, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2320$.



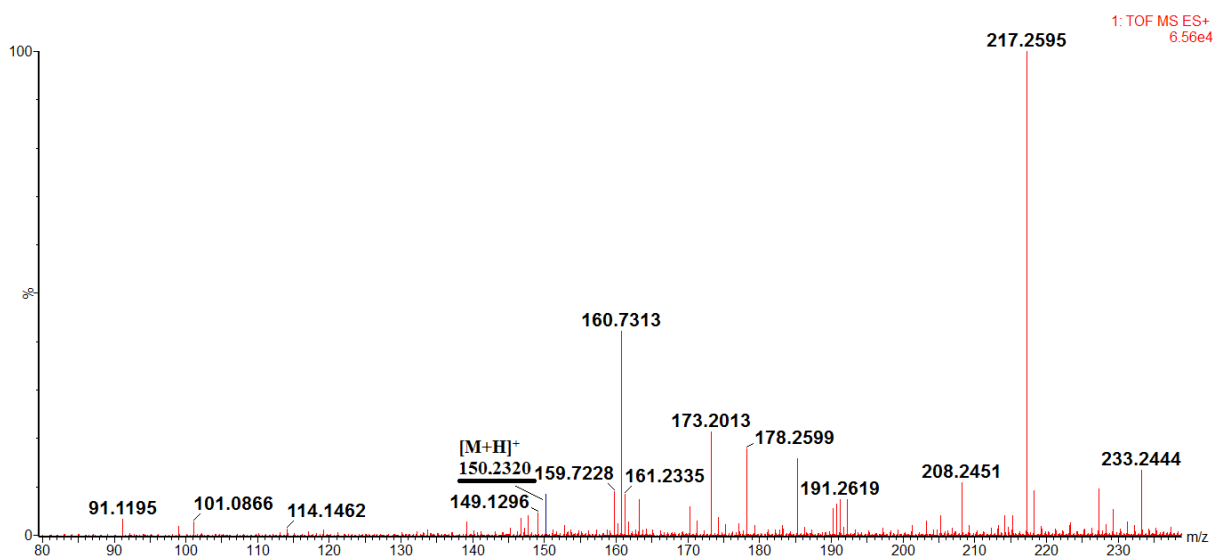
Obr. 32: Standardní roztok látky 3-FMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2060$.



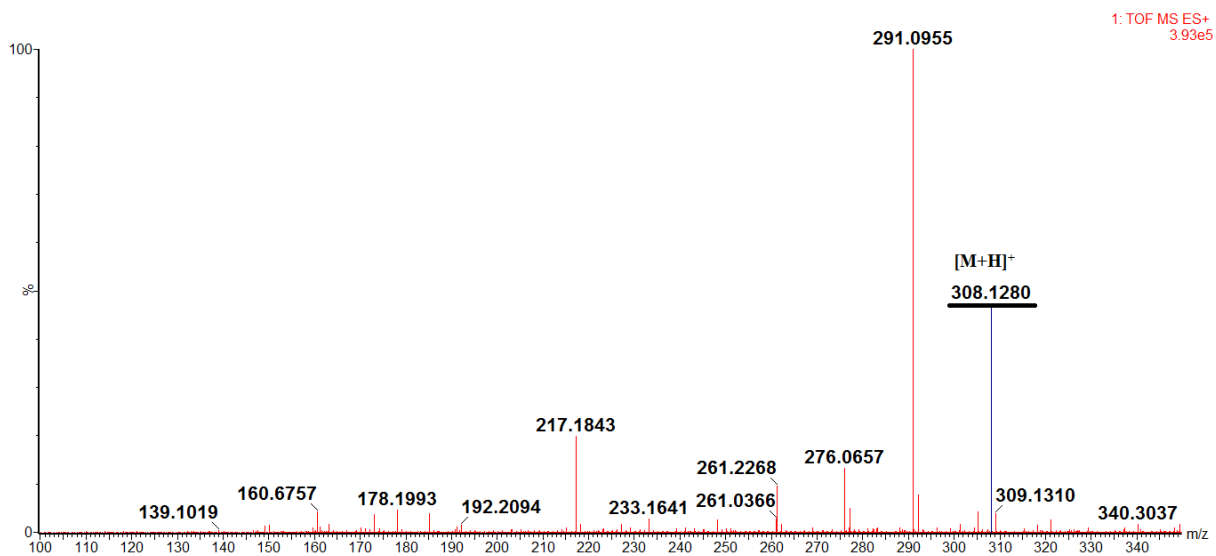
Obr. 33: Standardní roztok látky 4-FMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2060$.



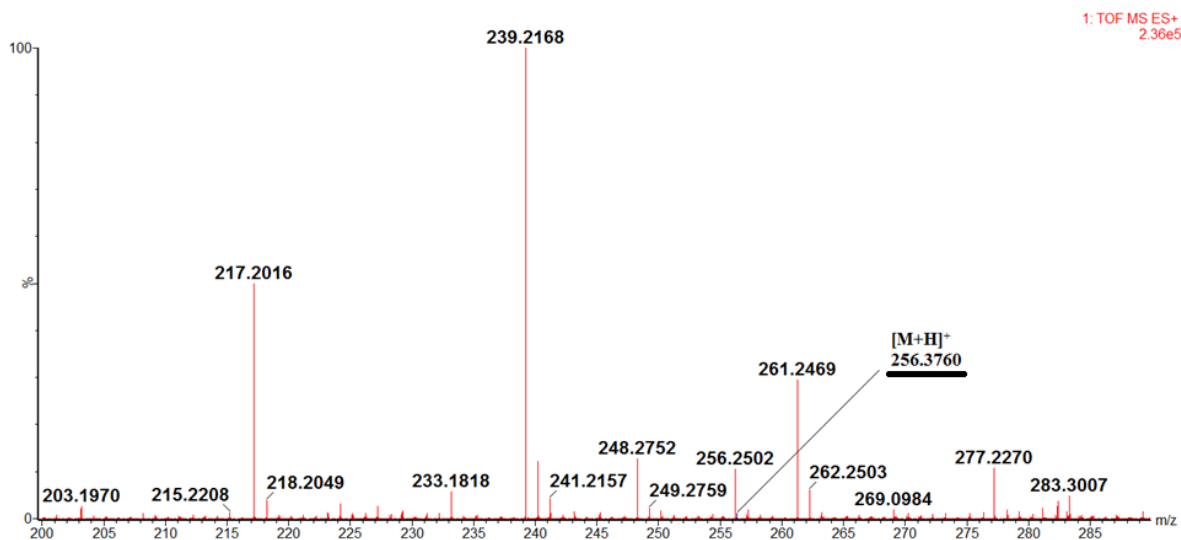
Obr. 34: Standardní roztok látky 2-C-B, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 260,0200$.



Obr. 35: Standardní roztok látky MAP, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 150,2320$.

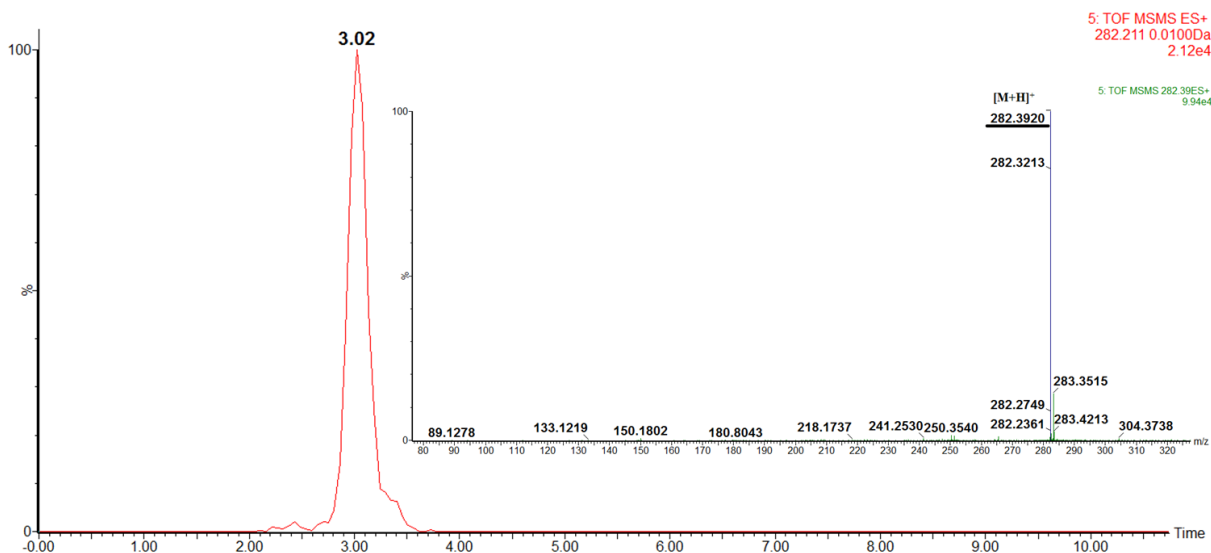


Obr. 36: Standardní roztok látky 2-C-I, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 308,1280$.

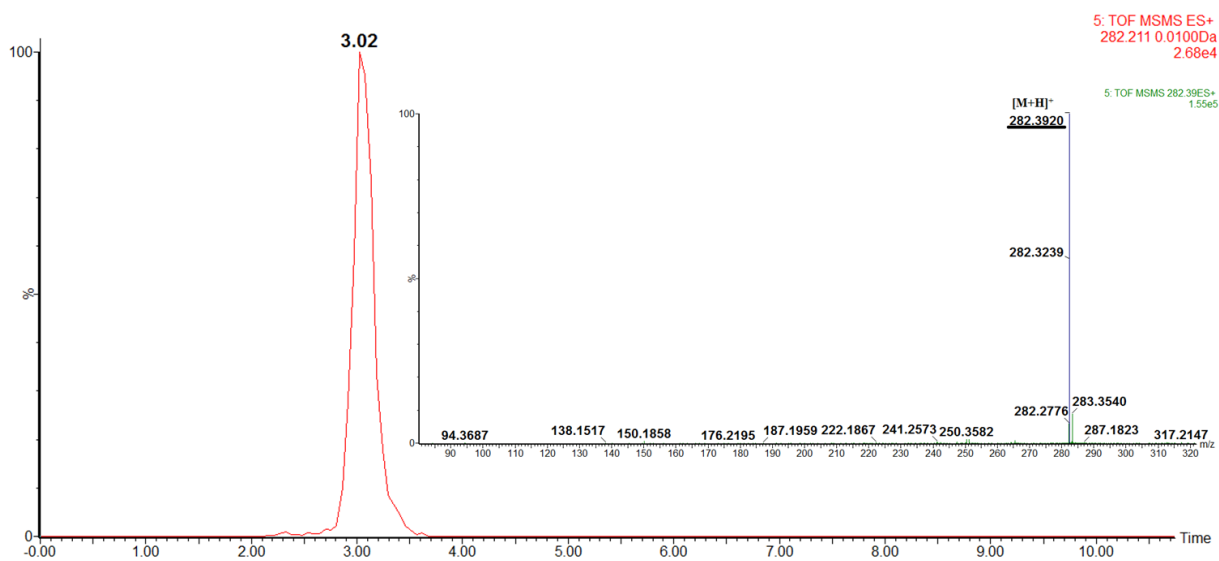


Obr. 37: Standardní roztok látky 2-C-T-7, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fullscan, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 256,3760$.

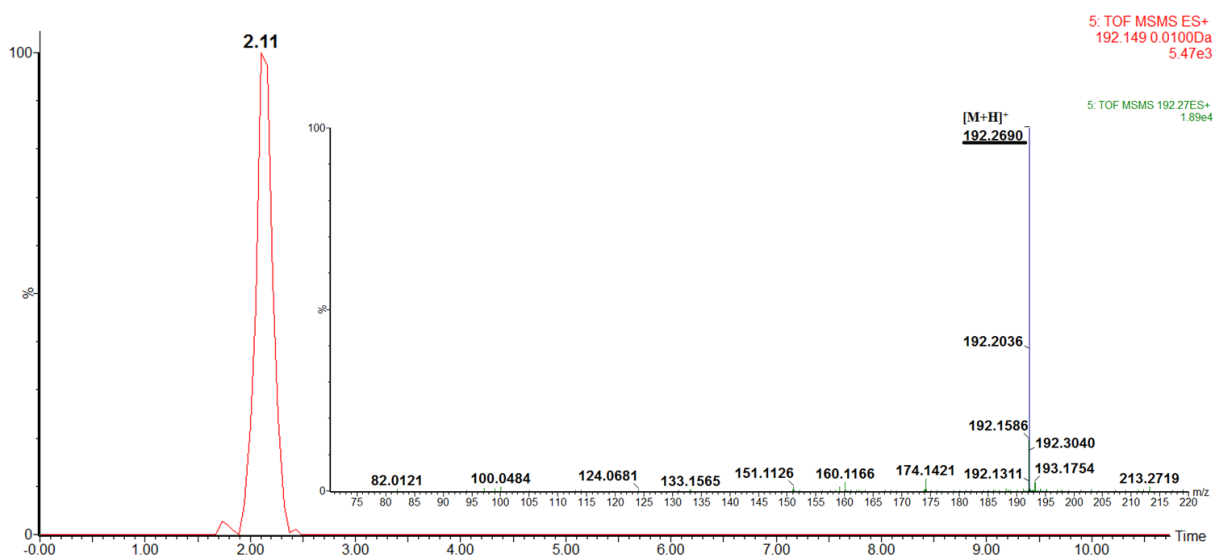
7. ii. Mobilogramy a izolační spektra nových syntetických drog ve vzorku moči



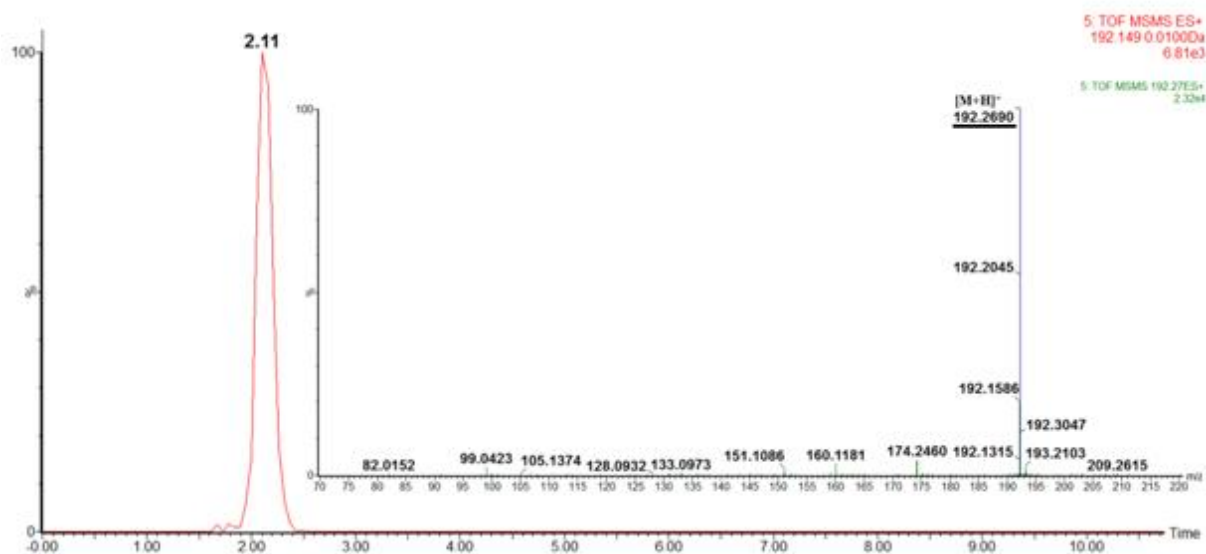
Obr. 38: Mobilogram a izolační spektrum látky NRG-1 ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{moč}$ (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 282,3920$.



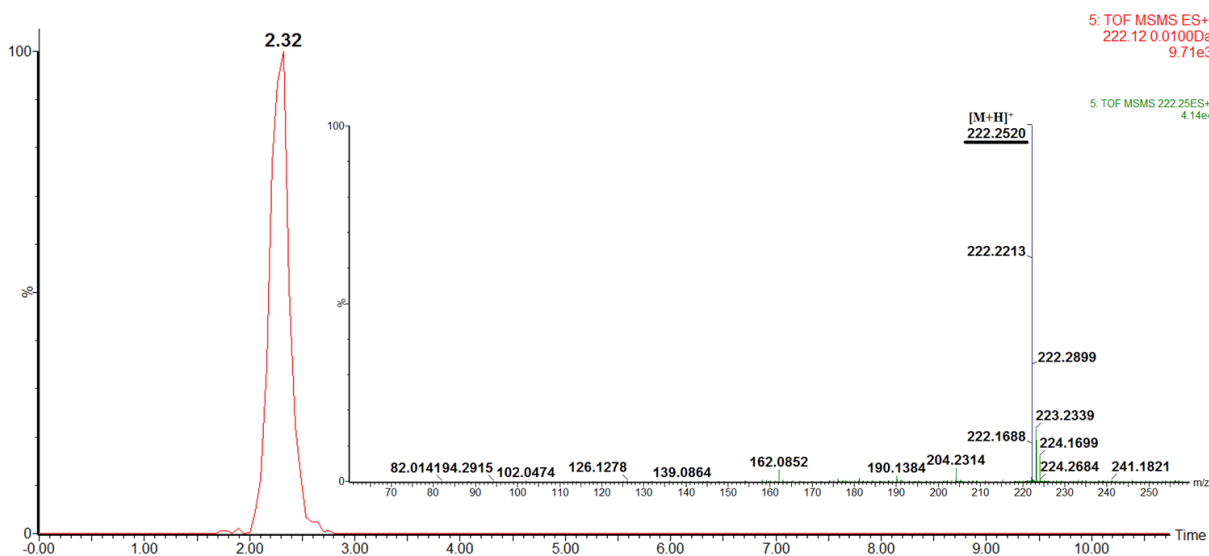
Obr. 39: Mobilogram a izolační spektrum látky NRG-1 ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 282,3920.



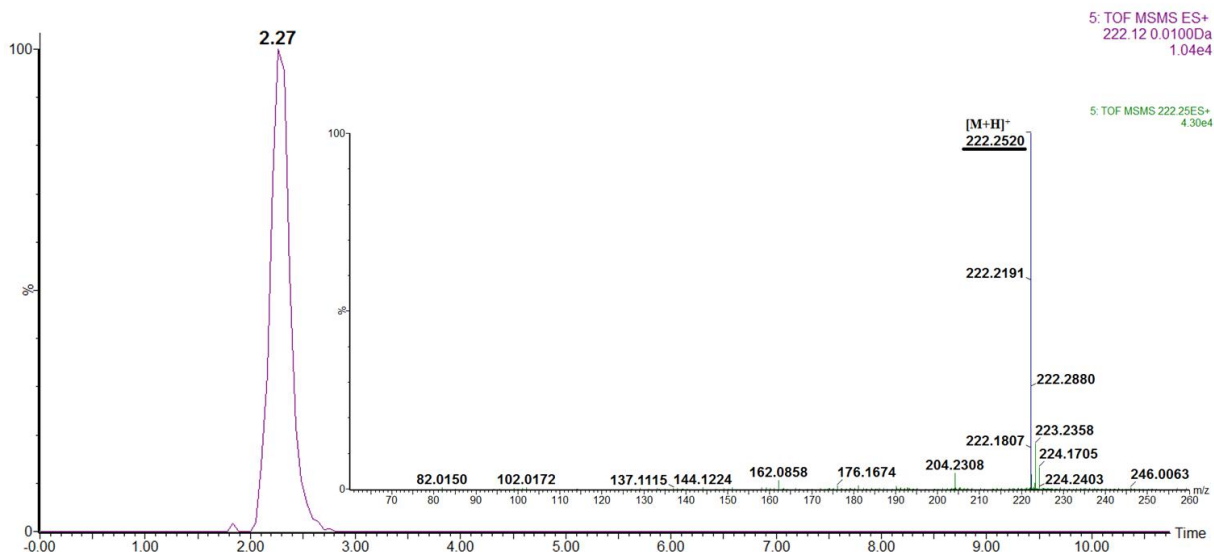
Obr. 40: Mobilogram a izolační spektrum látky Pentedron ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 192,2690.



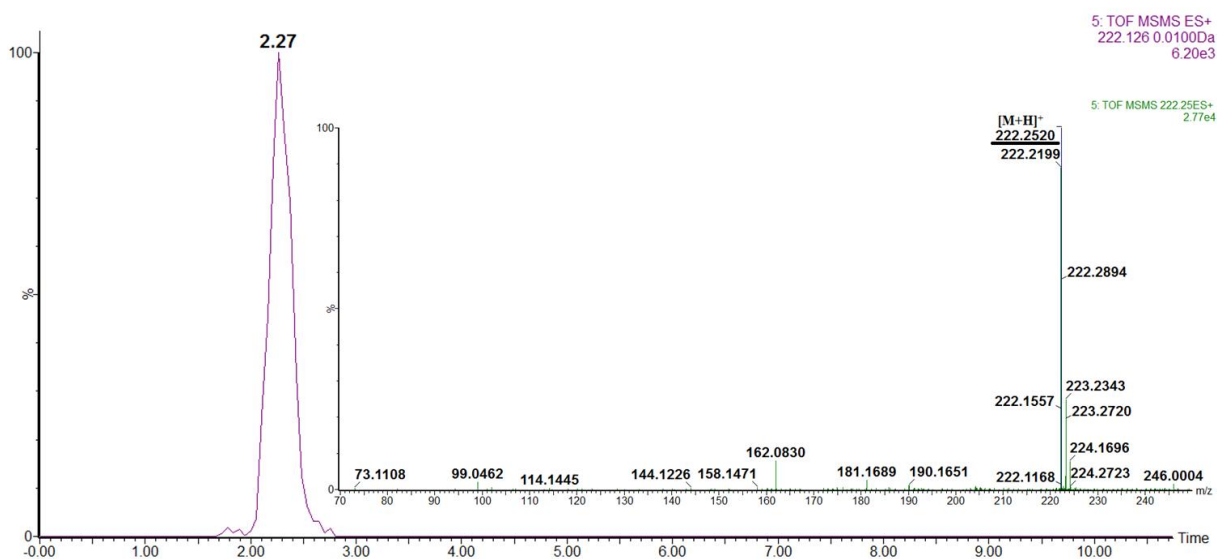
Obr. 41: Mobilogram a izolační spektrum látky Pentedron ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 192,2690.



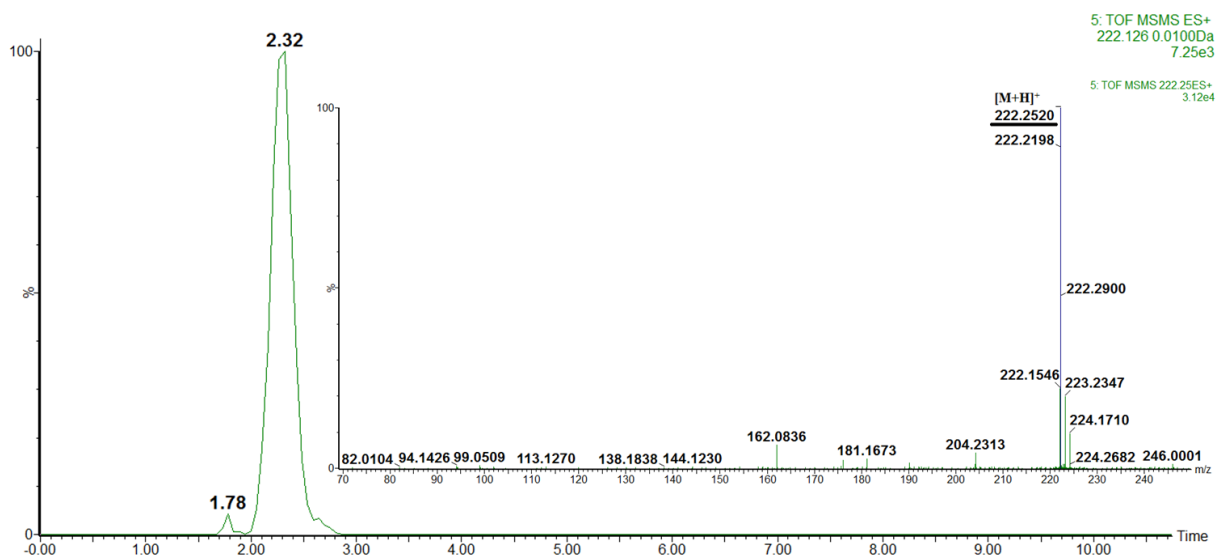
Obr. 42: Mobilogram a izolační spektrum látky MDEC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 222,2520.



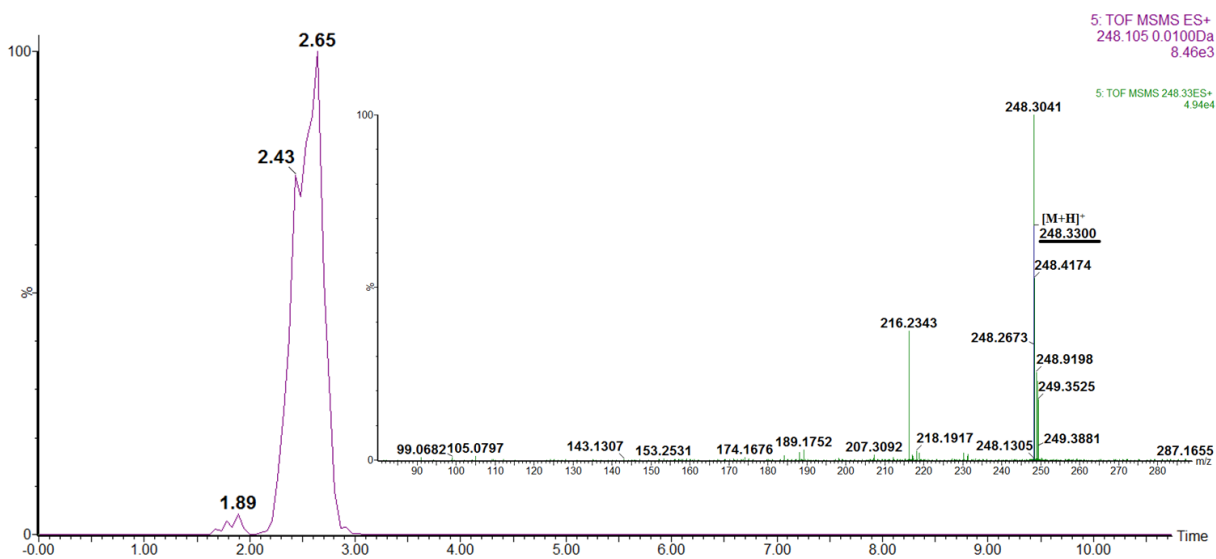
Obr. 43: Mobilogram a izolační spektrum látky MDEC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 222,2520.



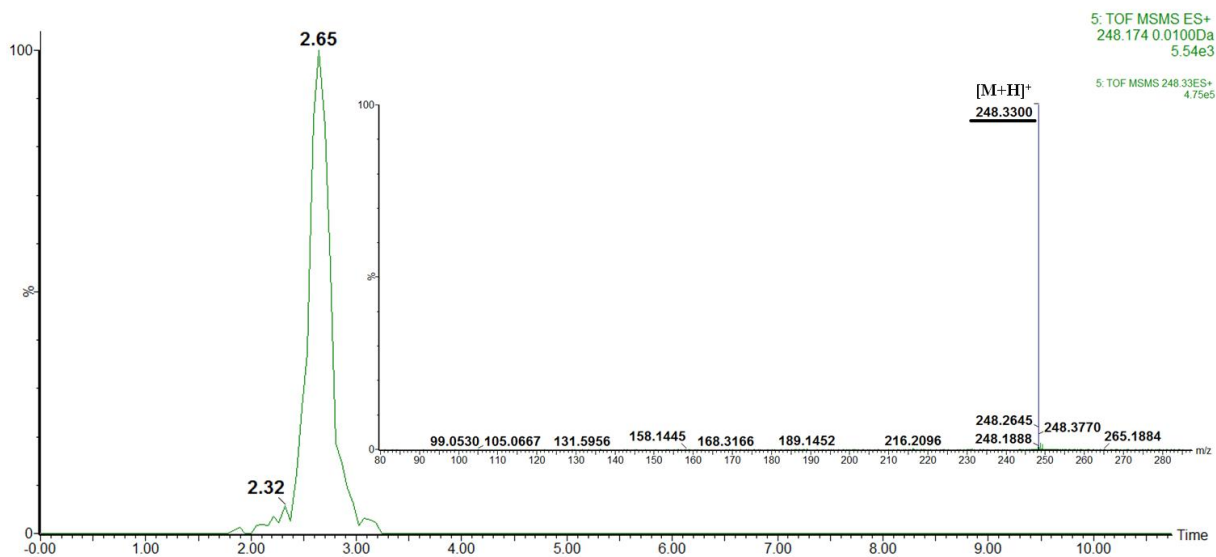
Obr. 44: Mobilogram a izolační spektrum látky bk-MBDB ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 222,2520.



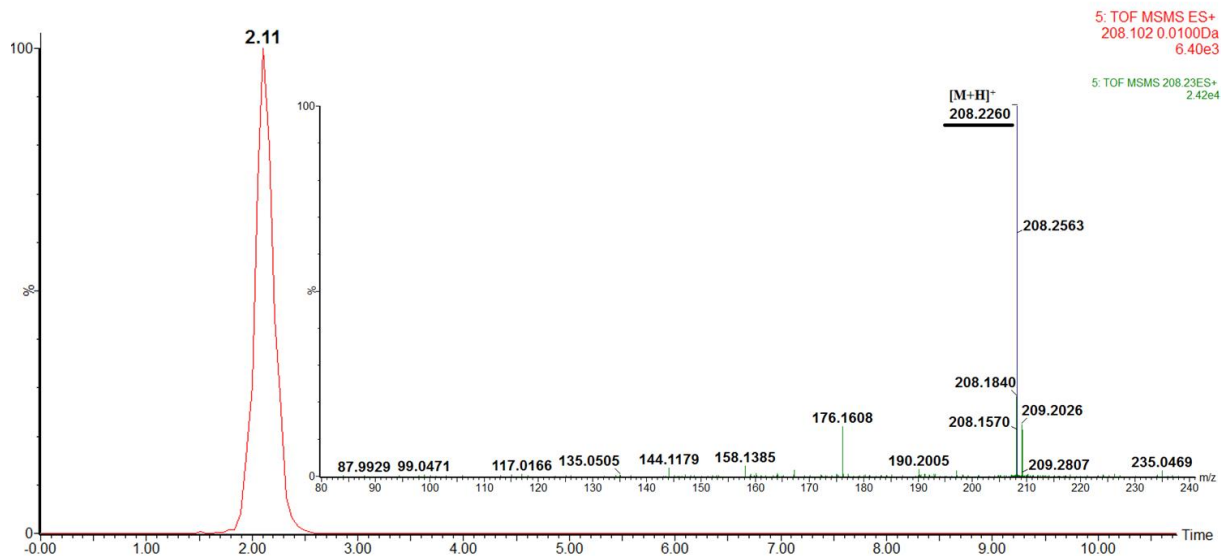
Obr. 45: Mobilogram a izolační spektrum látky bk-MBDB ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 222,2520.



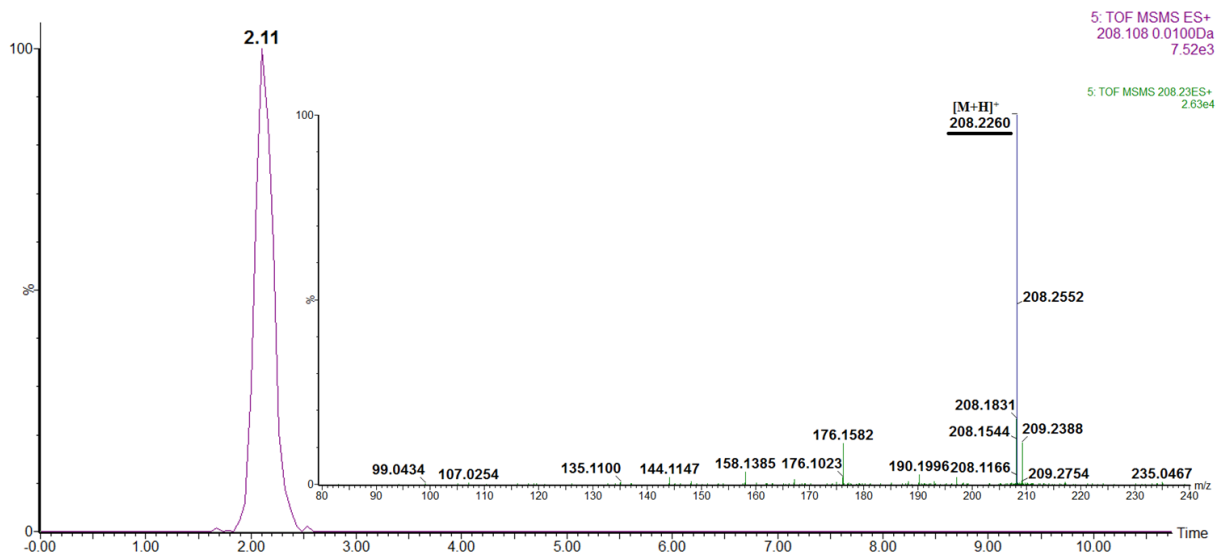
Obr. 46: Mobilogram a izolační spektrum látky EPH ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 248,3300.



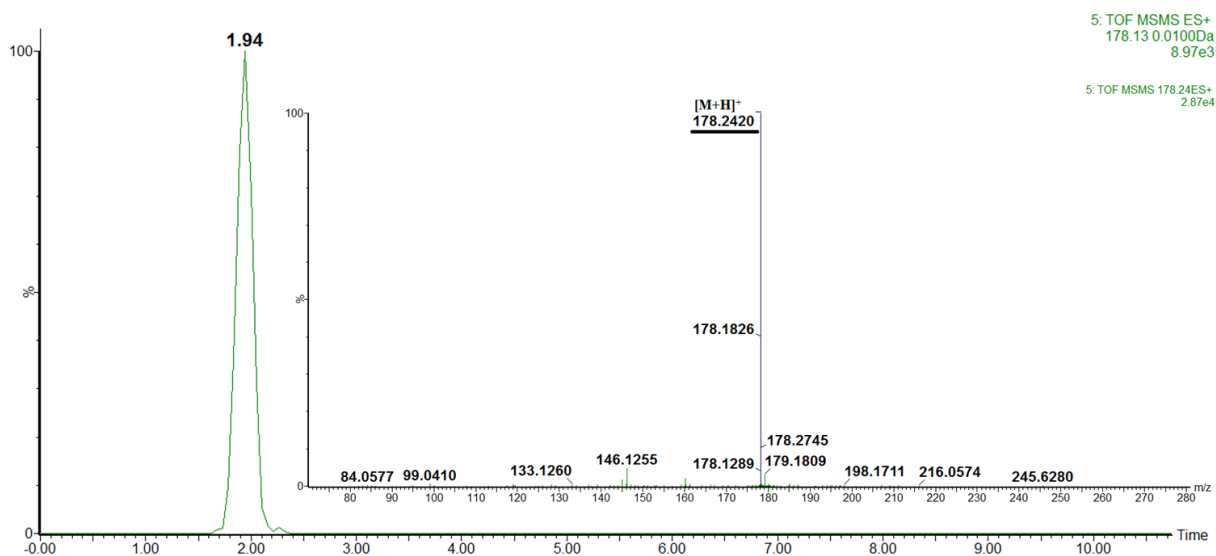
Obr. 47: Mobilogram a izolační spektrum látky EPH ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 248,3300.



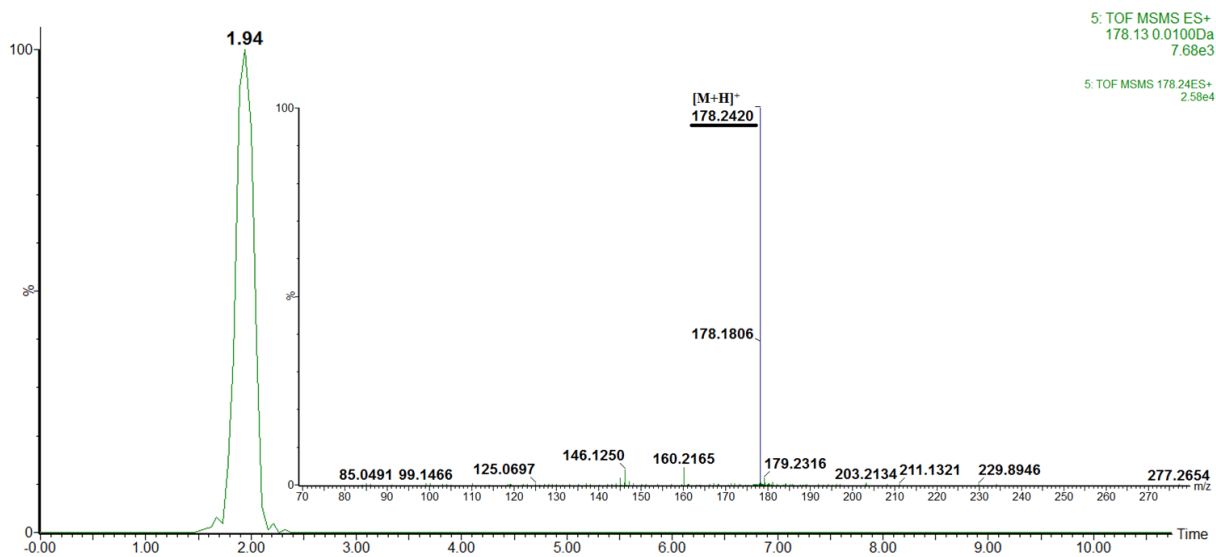
Obr. 48: Mobilogram a izolační spektrum látky bk-MDMA ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 208,2260.



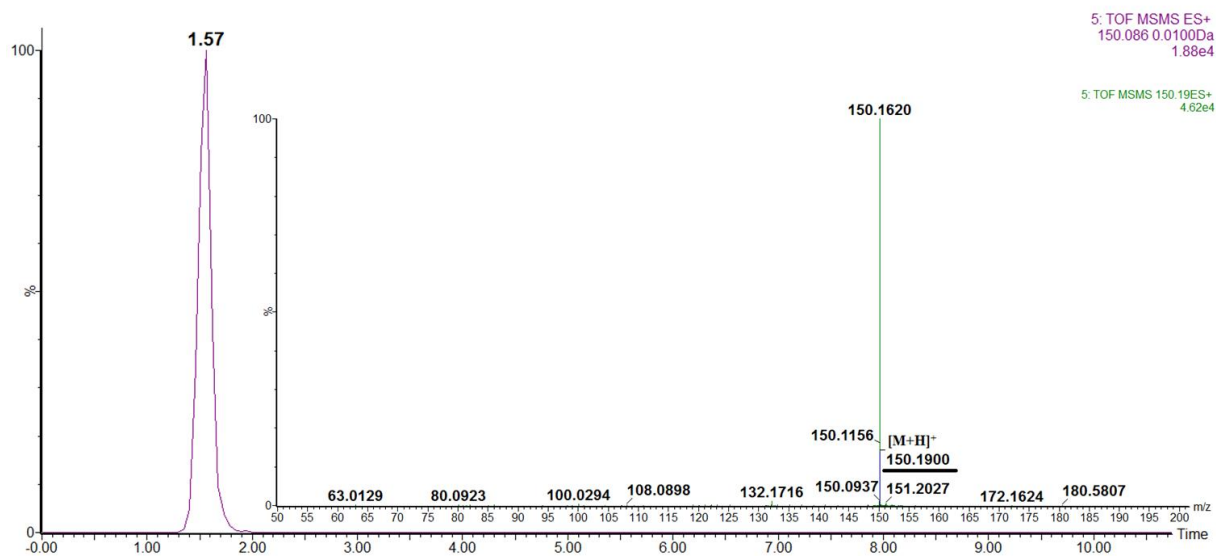
Obr. 49: Mobilogram a izolační spektrum látky bk-MDMA ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 208,2260.



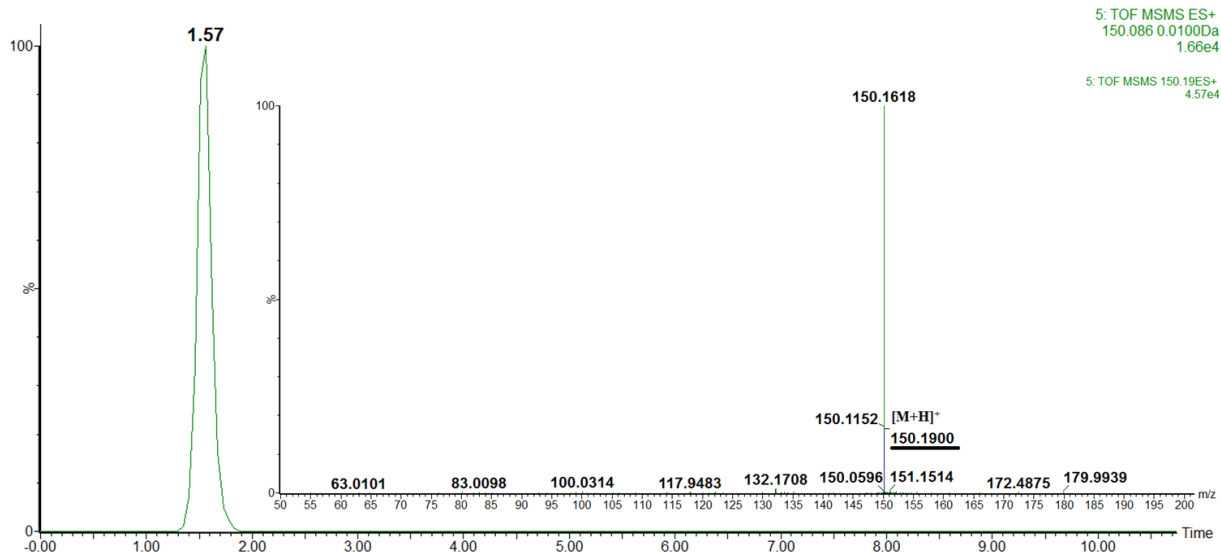
Obr. 50: Mobilogram a izolační spektrum látky MABP ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 178,2420.



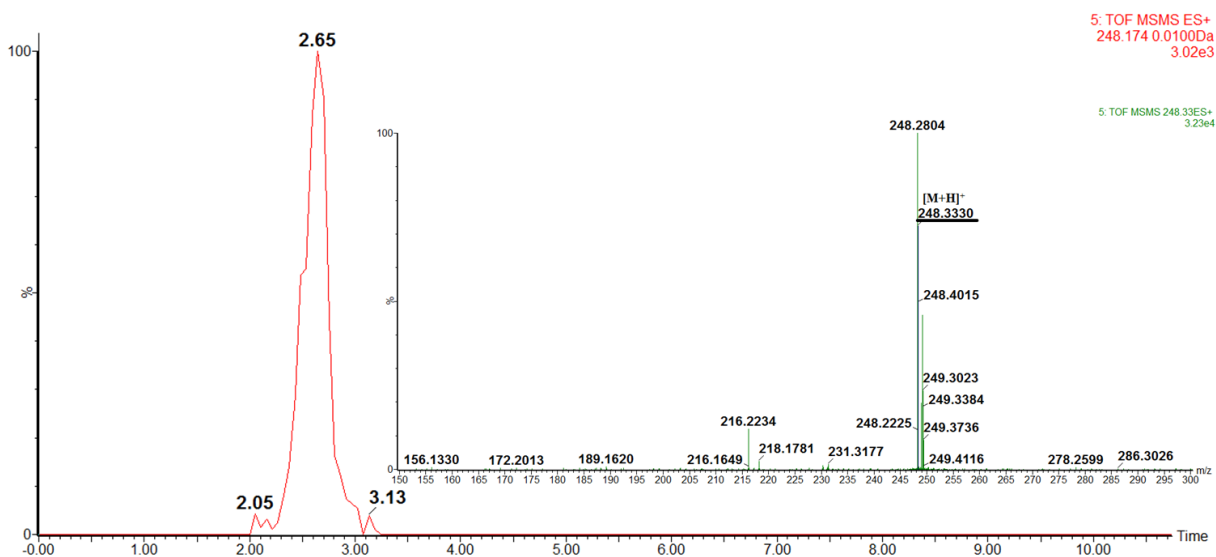
Obr. 51: Mobilogram a izolační spektrum látky MABP ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 178,2420.



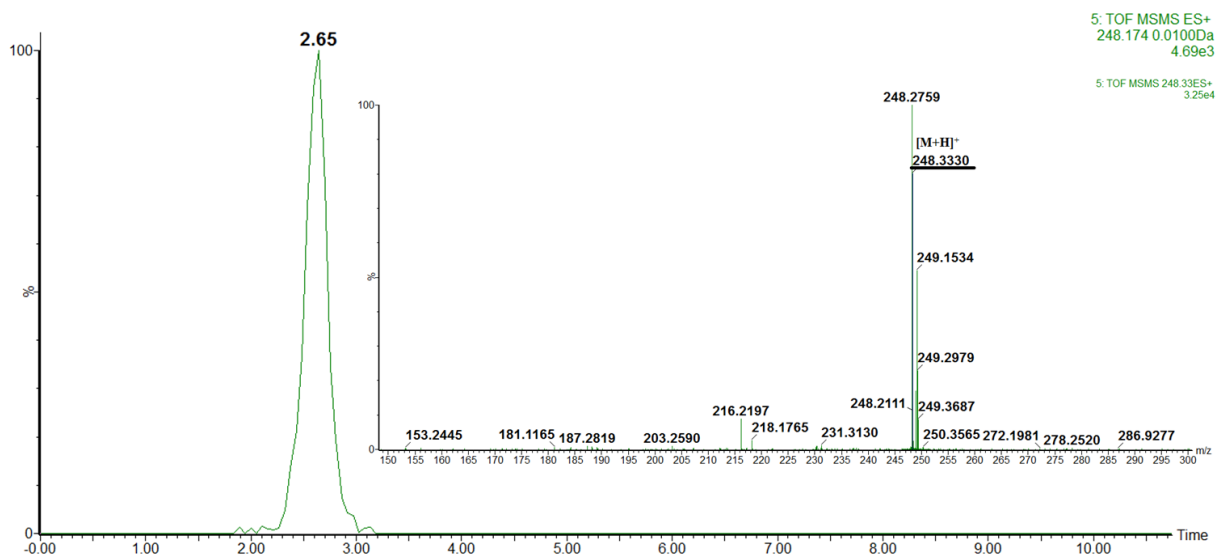
Obr. 52: Mobilogram a izolační spektrum látky CAT ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 150,1900.



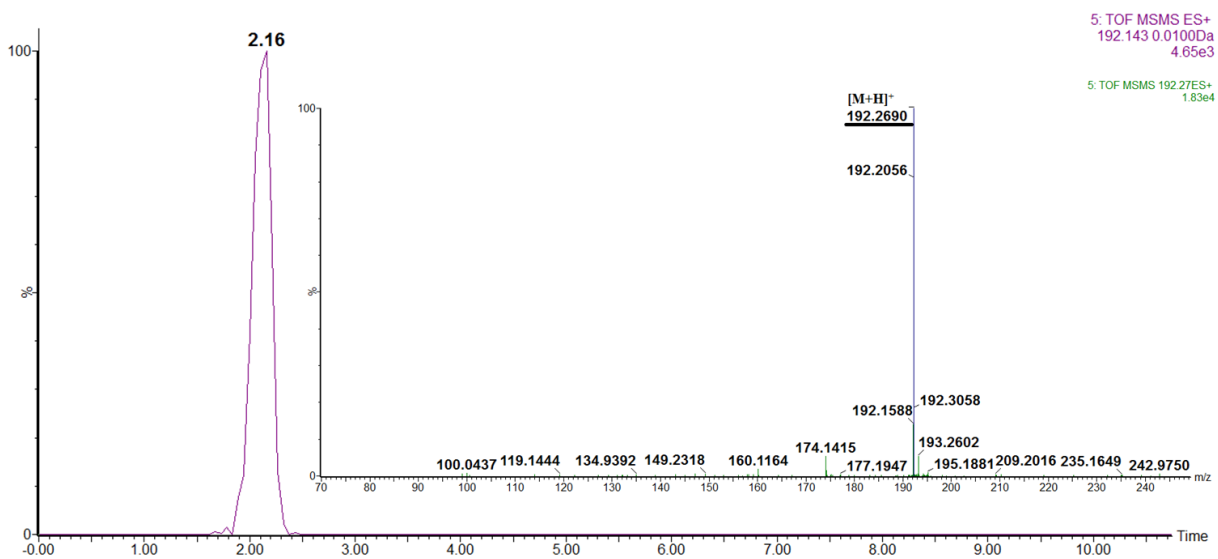
Obr. 53: Mobilogram a izolační spektrum látky CAT ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 150,1900.



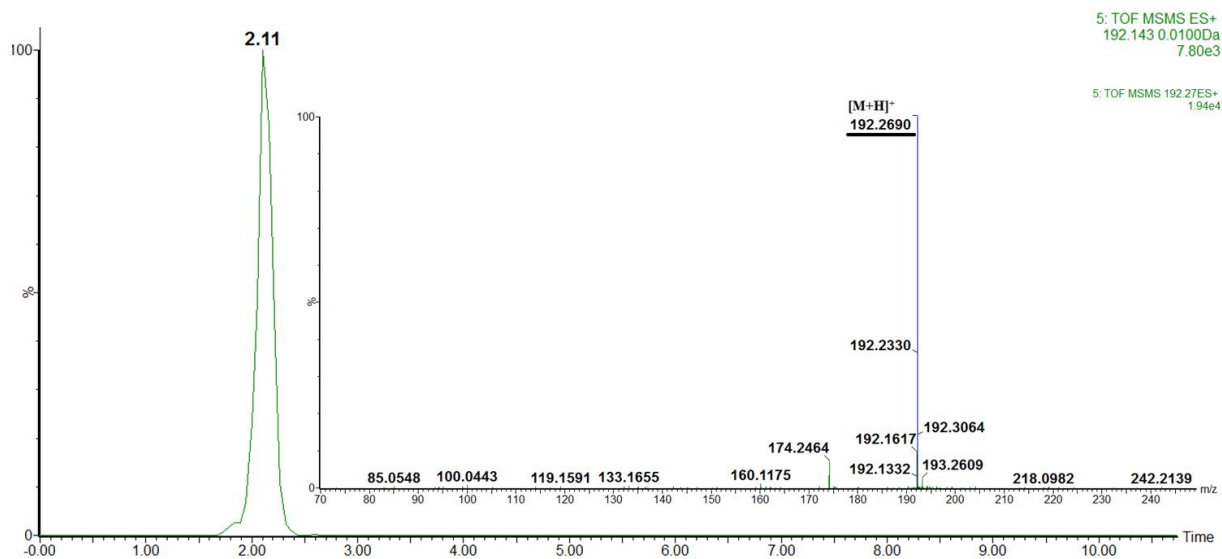
Obr. 54: Mobilogram a izolační spektrum látky MEX ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 248,3330.



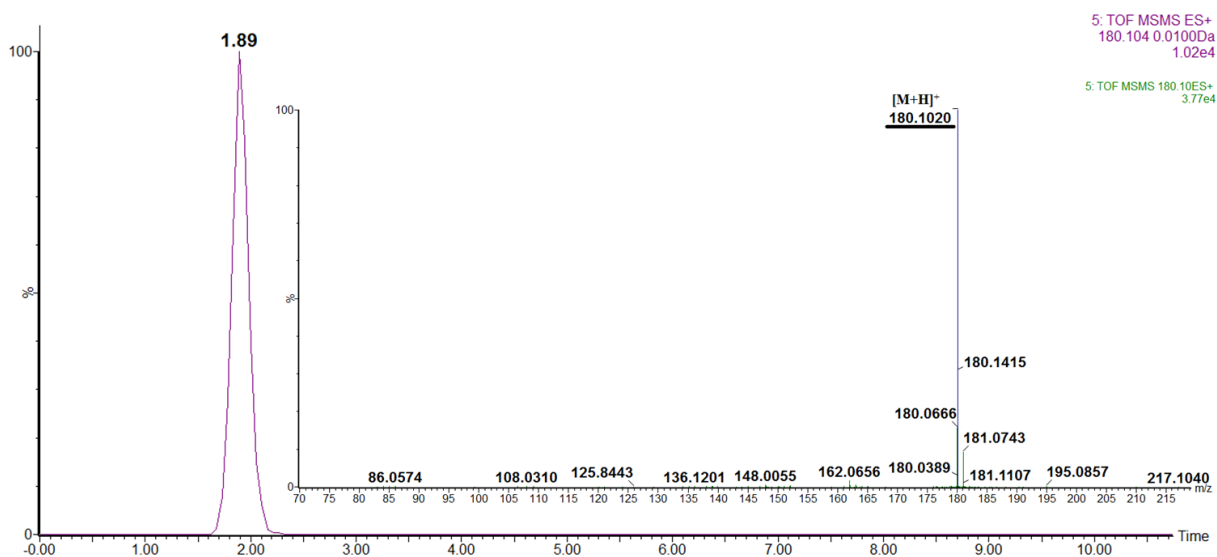
Obr. 55: Mobilogram a izolační spektrum látky MEX ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 248,3330.



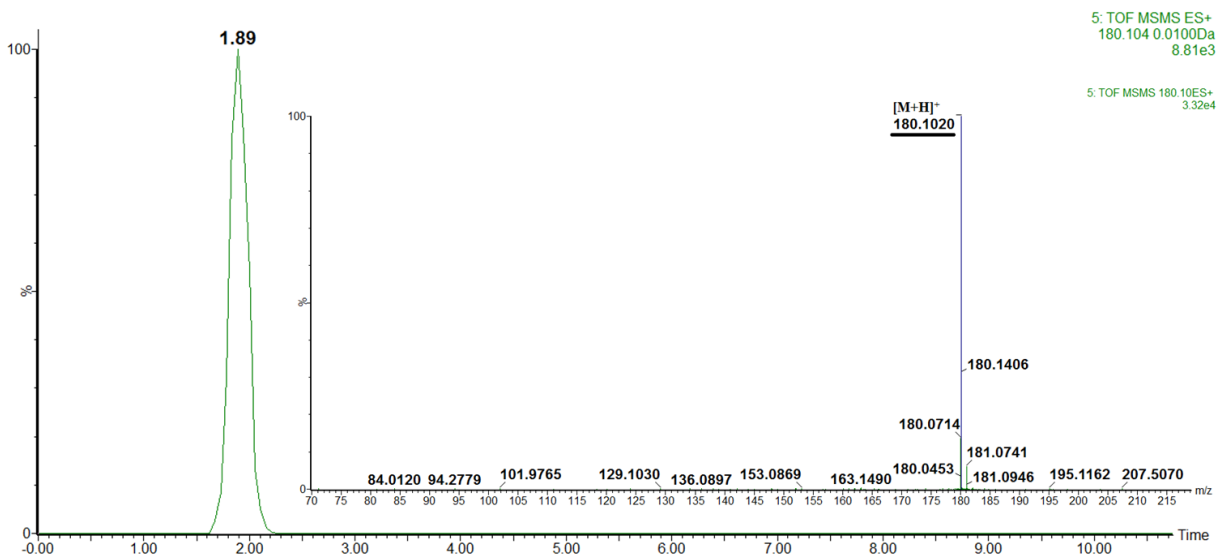
Obr. 56: Mobilogram a izolační spektrum látky 4-MEC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 192,2690.



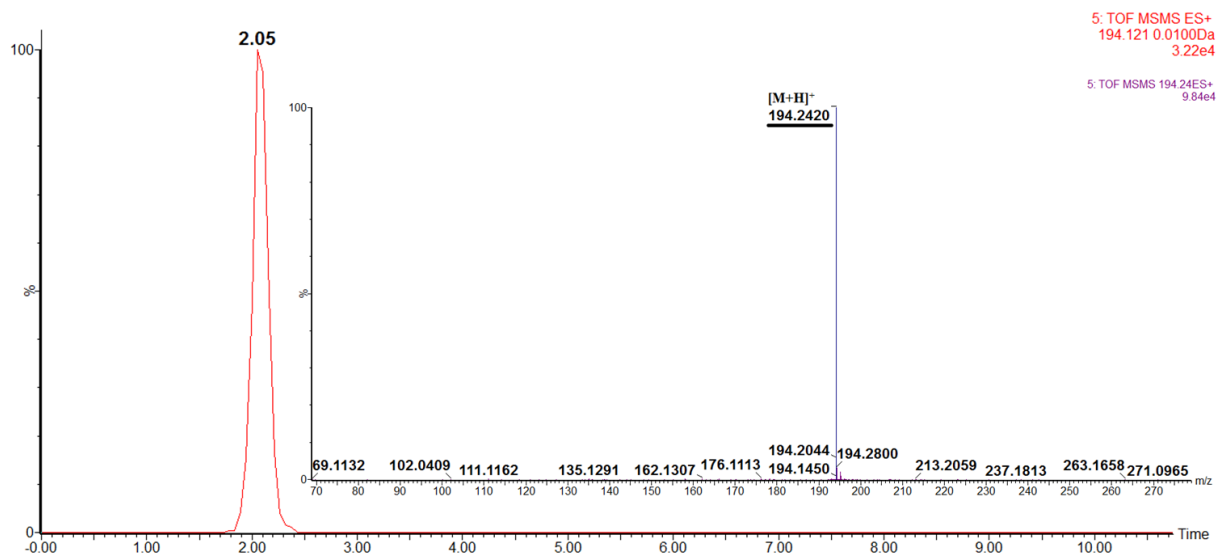
Obr. 57: Mobilogram a izolační spektrum látky 4-MEC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,01 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 192,2690$.



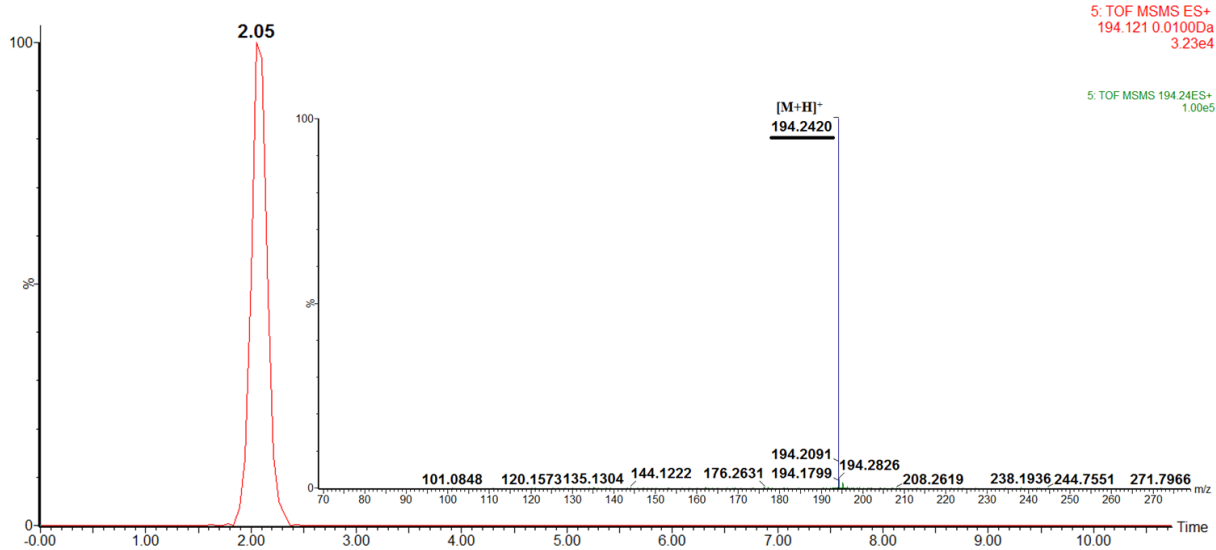
Obr. 58: Mobilogram a izolační spektrum látky MDA ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 180,1020$.



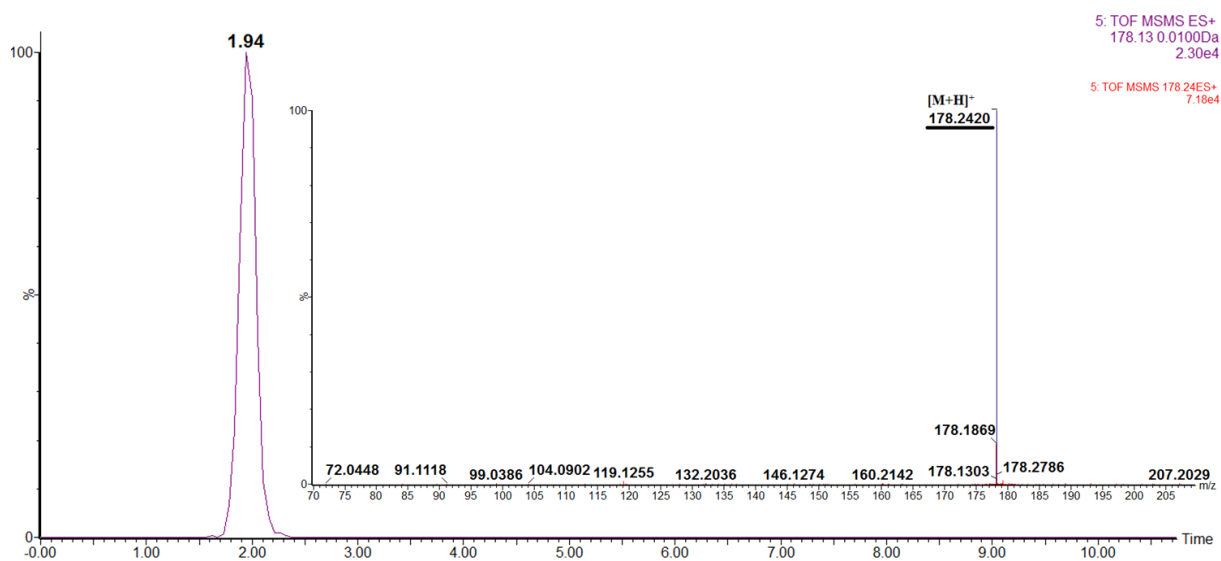
Obr. 59: Mobilogram a izolační spektrum látky MDA ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 180,1020.



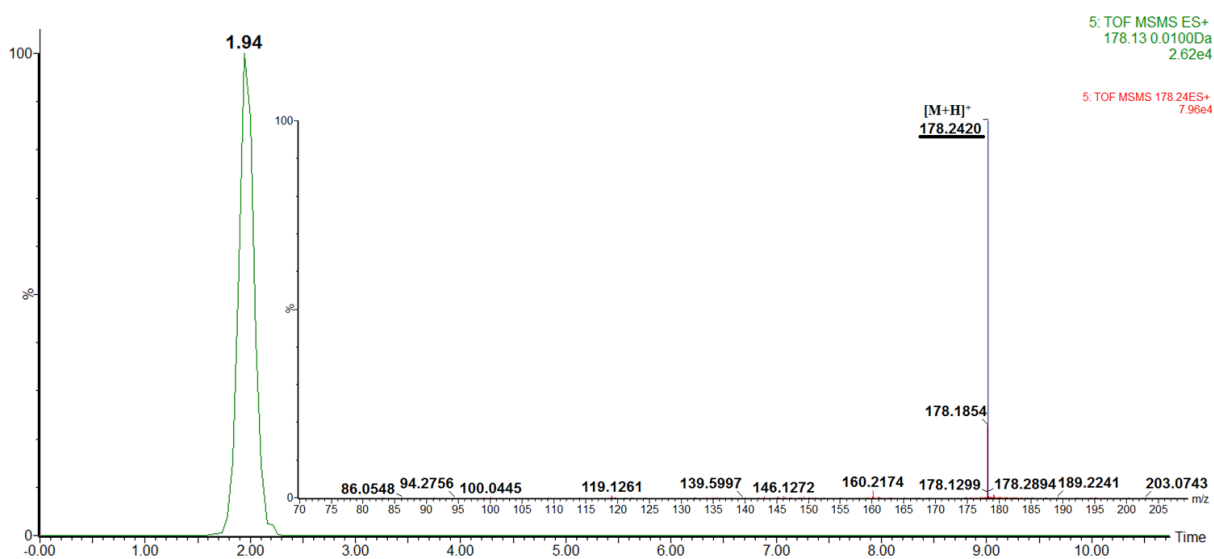
Obr. 60: Mobilogram a izolační spektrum látky BDB ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 194,2420.



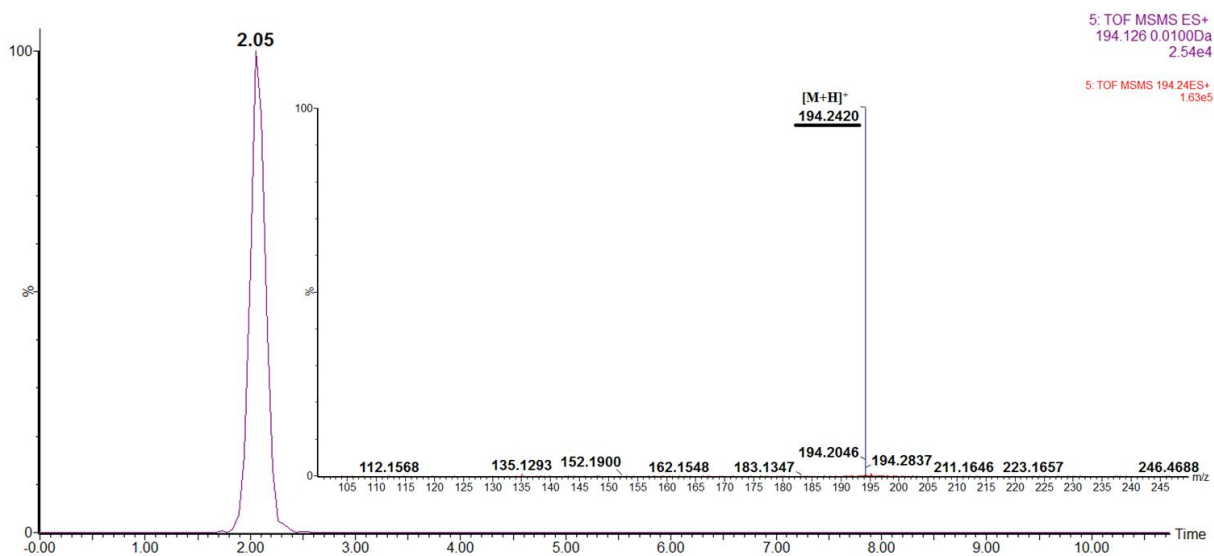
Obr. 61: Mobilogram a izolační spektrum látky BDB ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,01 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



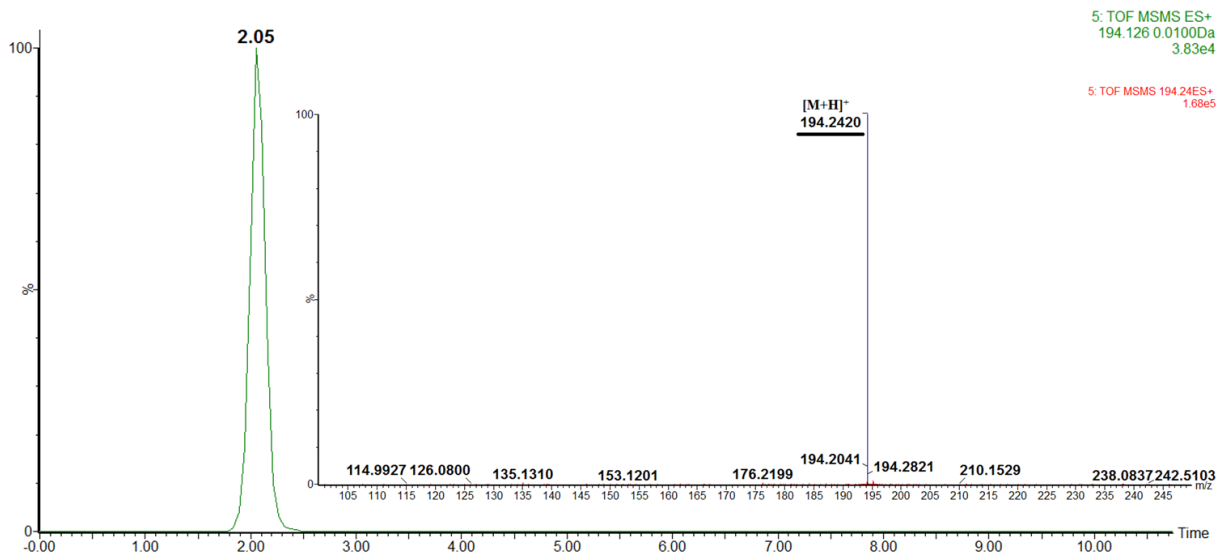
Obr. 62: Mobilogram a izolační spektrum látky 3-MMC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178,2420$.



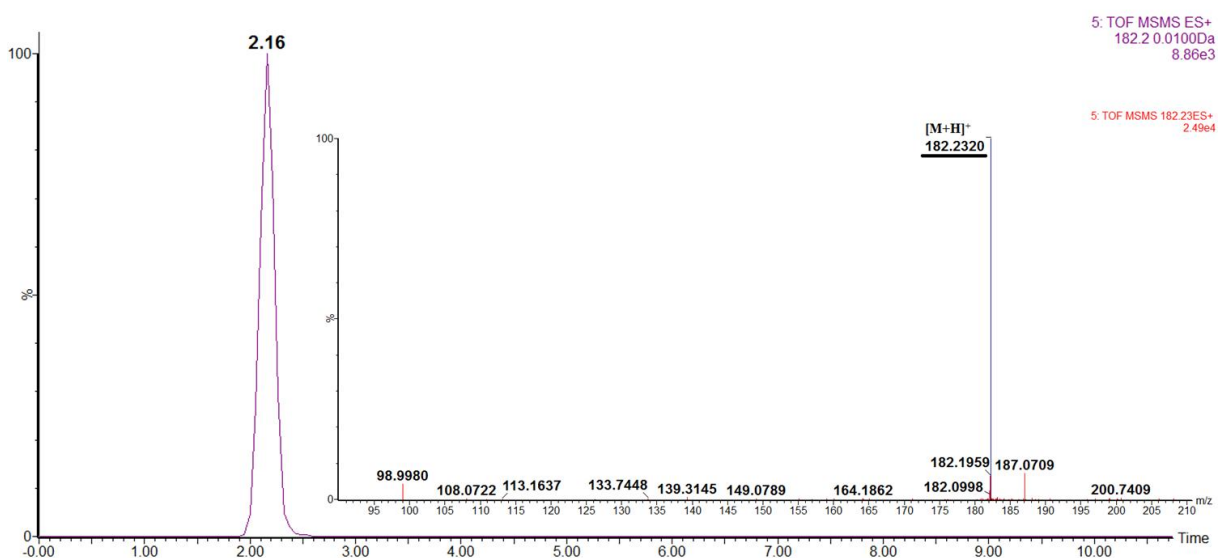
Obr. 63: Mobilogram a izolační spektrum látky 3-MMC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,01 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178,2420$.



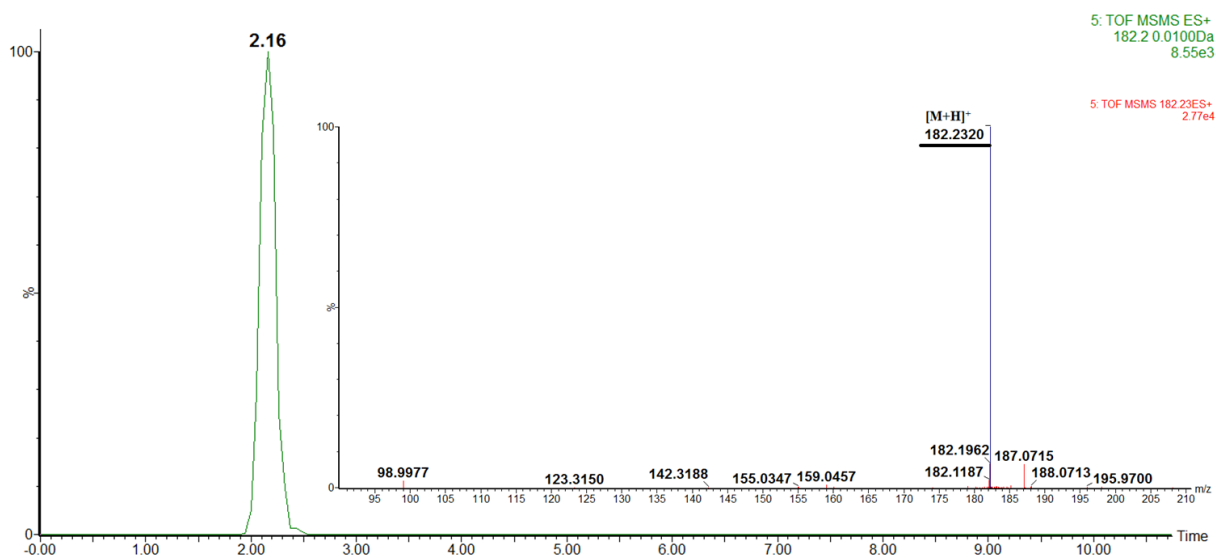
Obr. 64: Mobilogram a izolační spektrum látky PMMC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



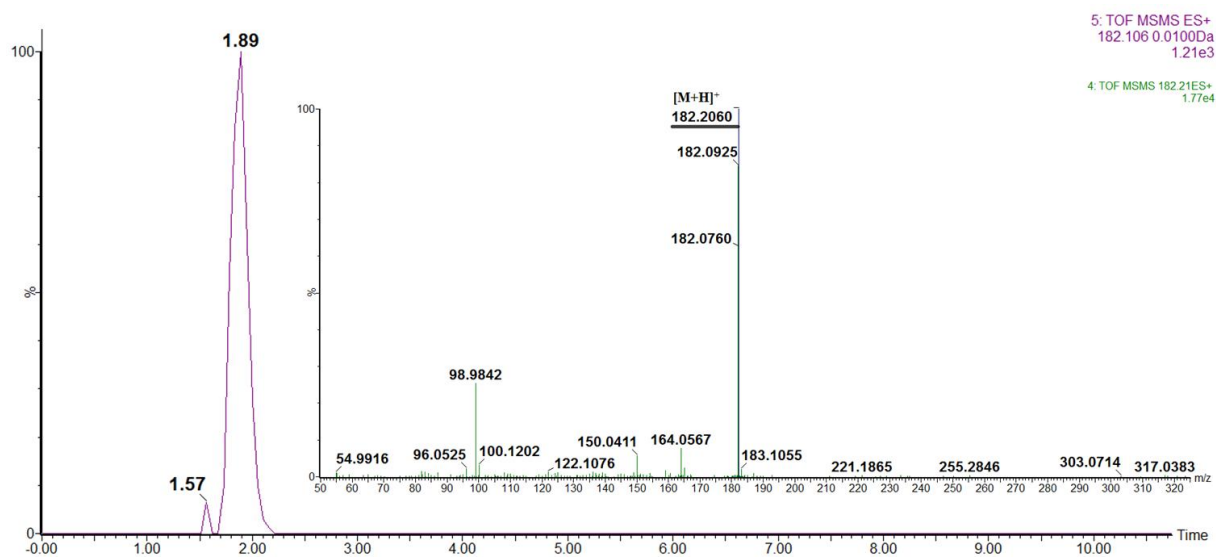
Obr. 65: Mobilogram a izolační spektrum látky PMMC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,01 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



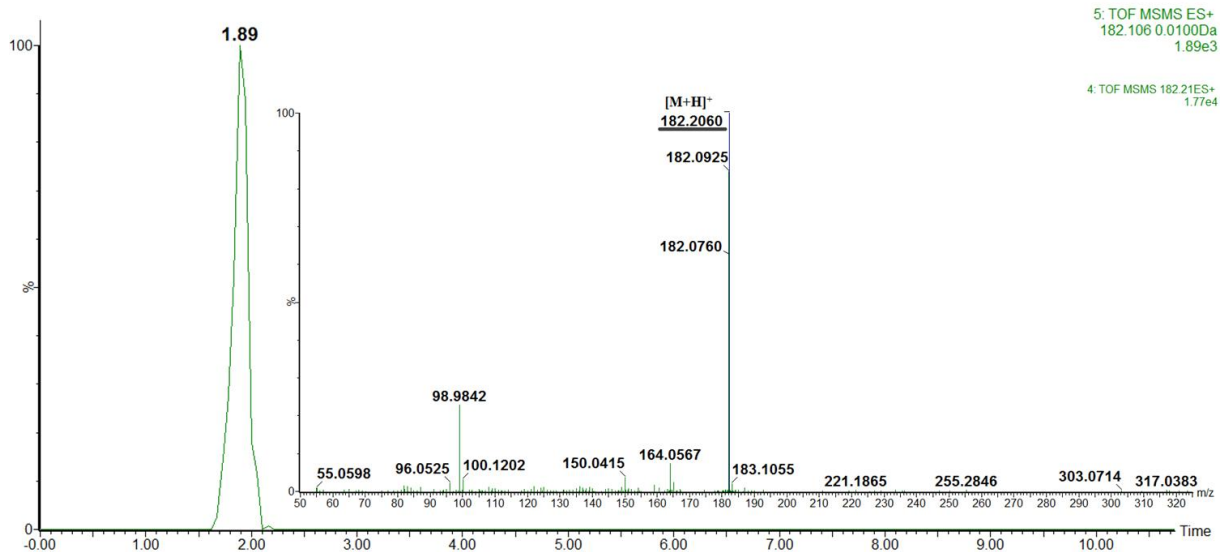
Obr. 66: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-H ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2320$.



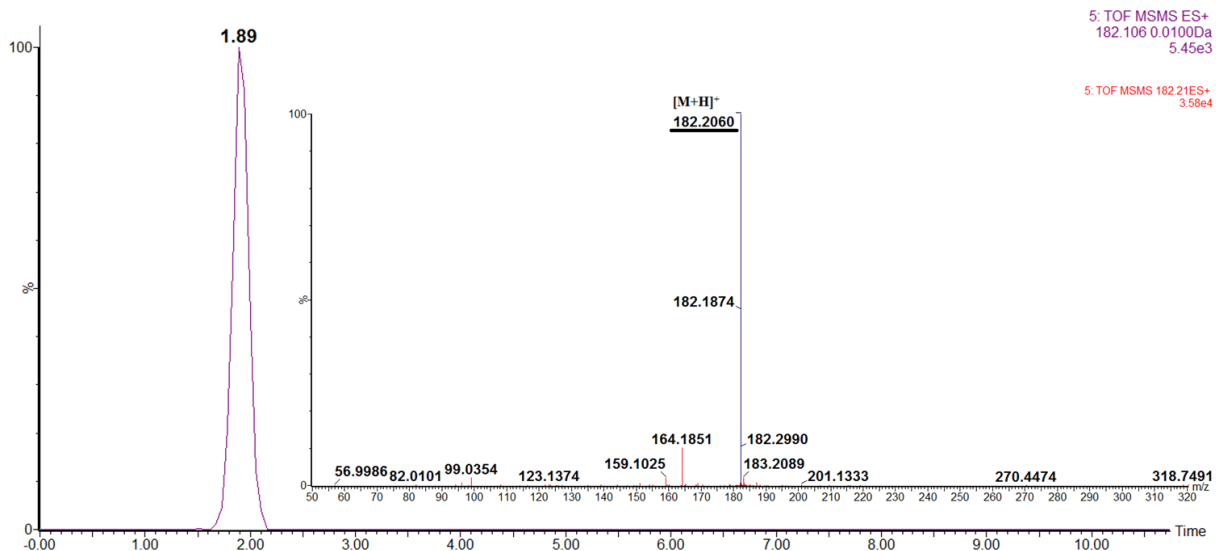
Obr. 67: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-H ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2320.



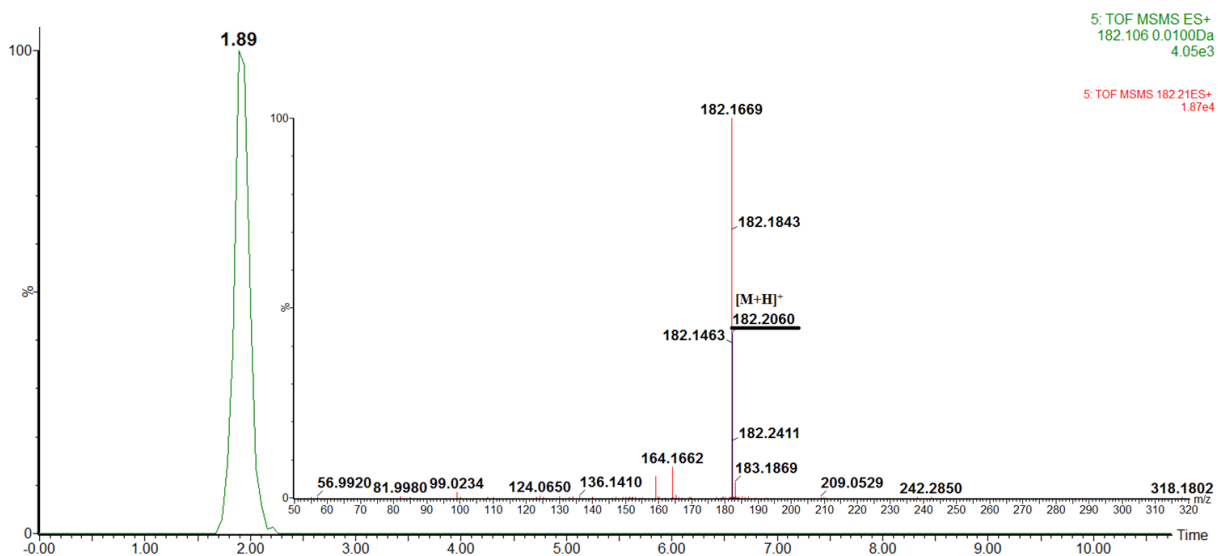
Obr. 68: Mobilogram a izolační spektrum látky 3-FMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2060.



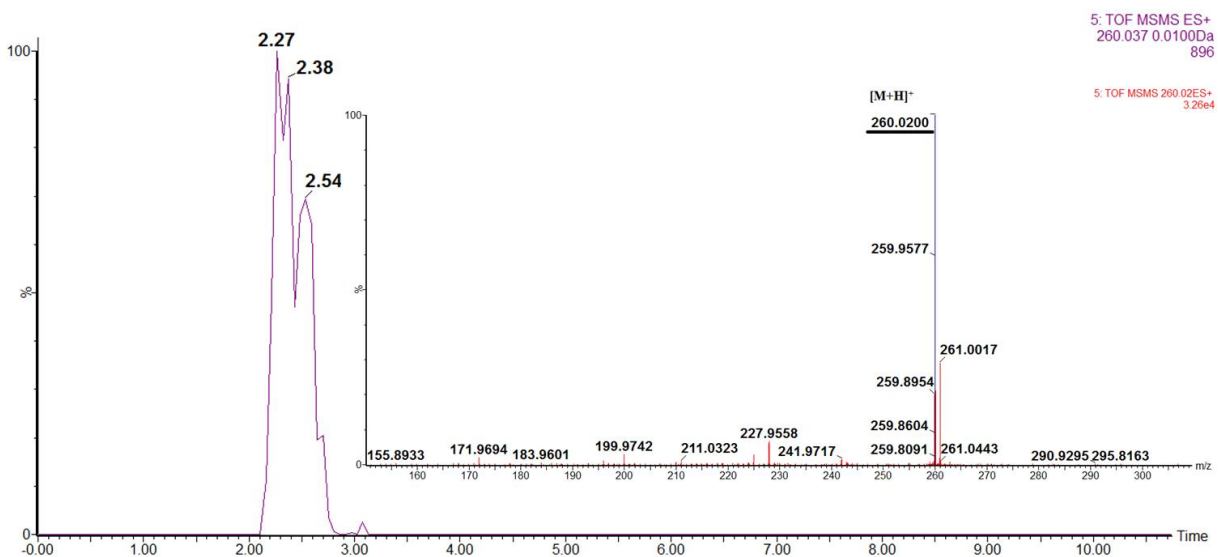
Obr. 69: Mobilogram a izolační spektrum látky 3-FMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2060.



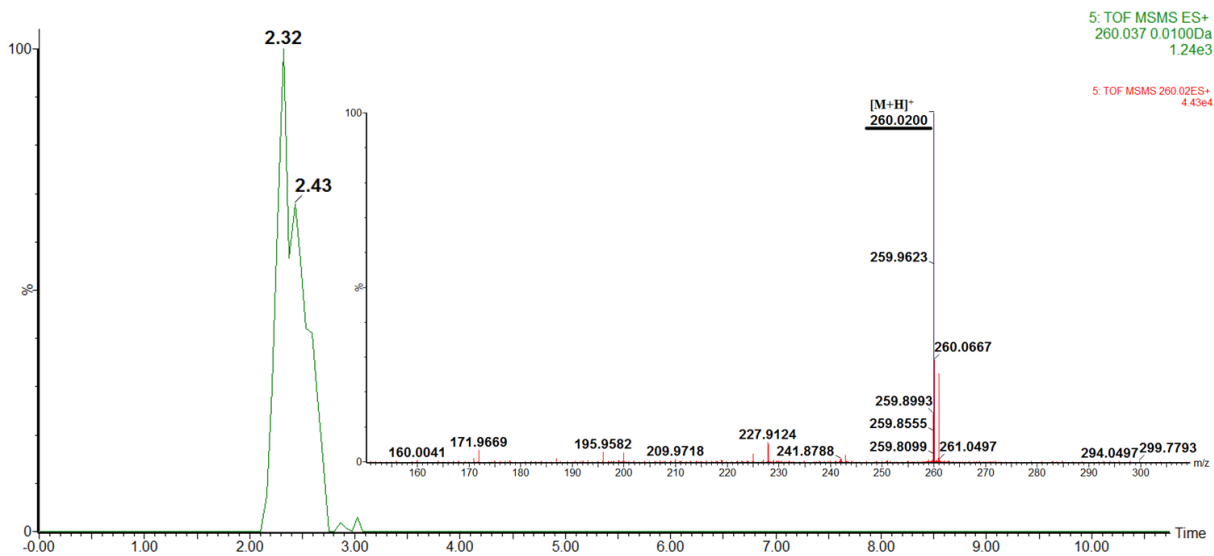
Obr. 70: Mobilogram a izolační spektrum látky 4-FMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2060.



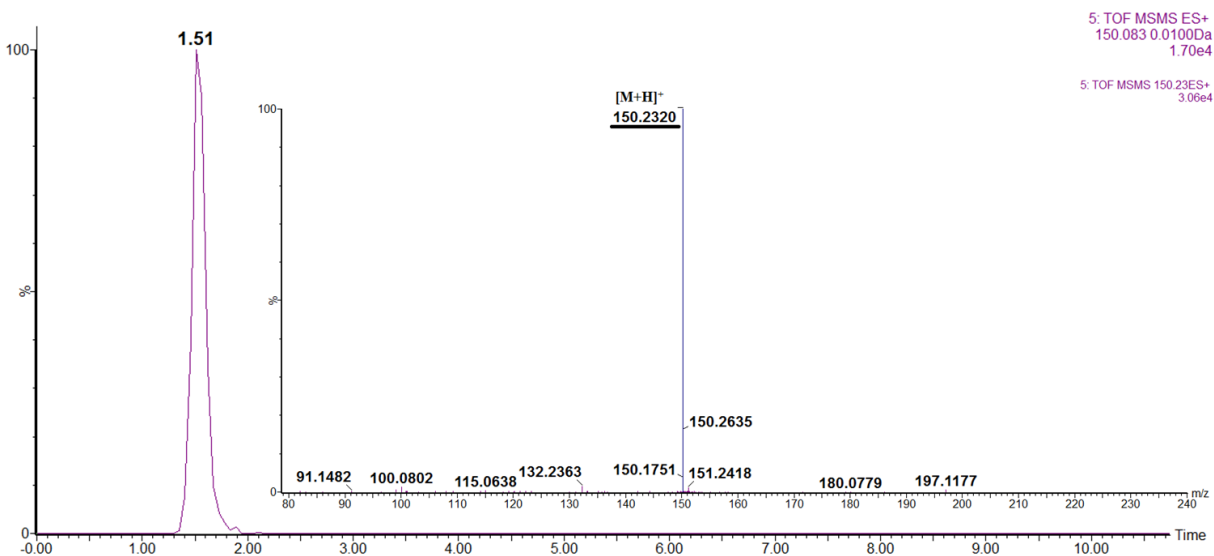
Obr. 71: Mobilogram a izolační spektrum látky 4-FMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2060.



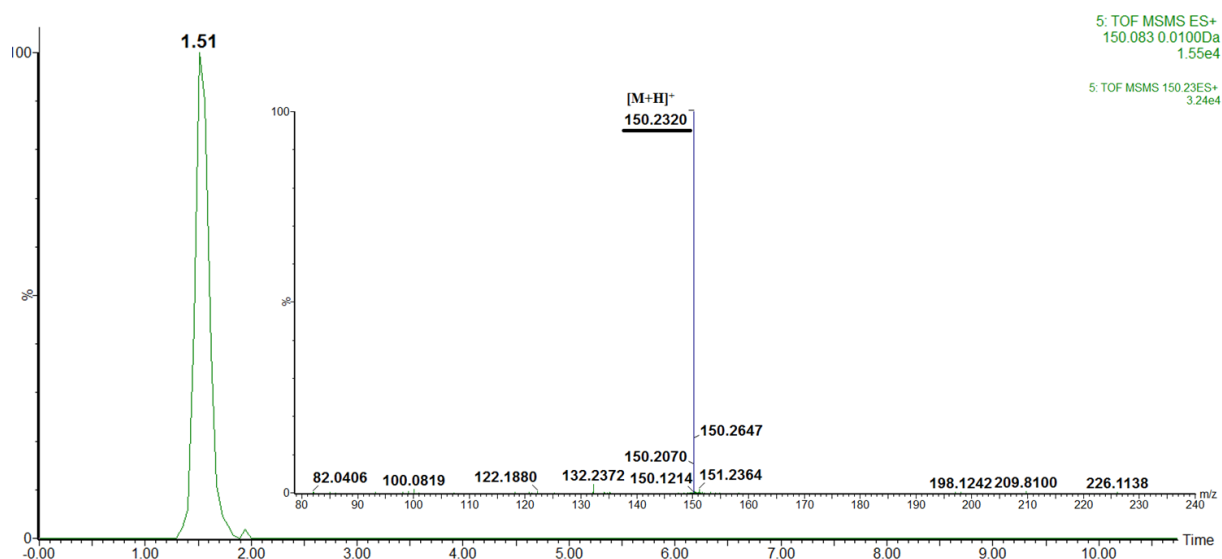
Obr. 72: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-B ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 260,0200.



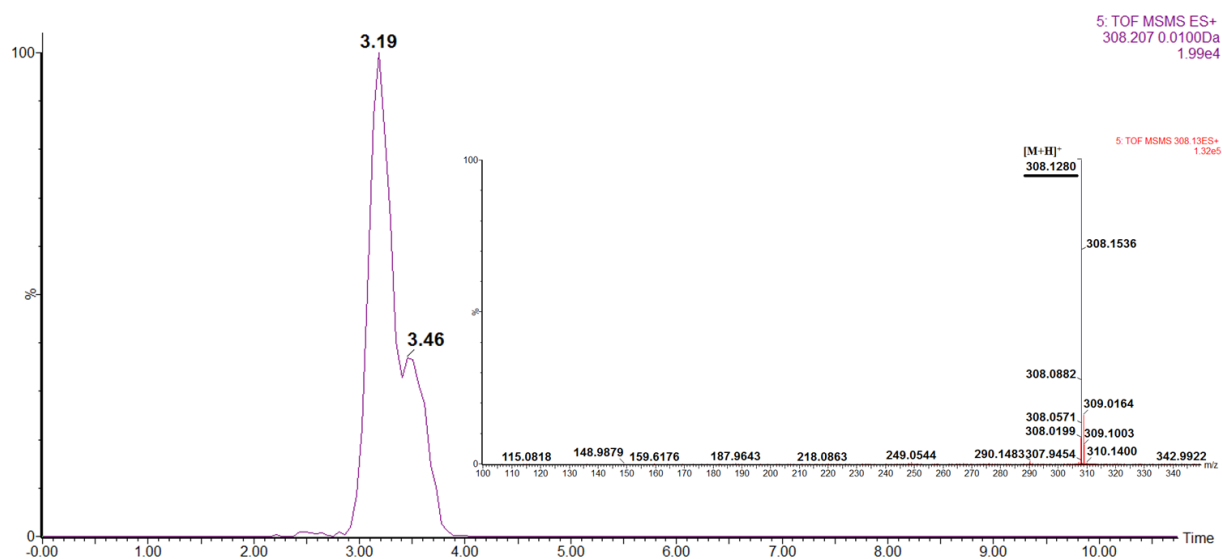
Obr. 73: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-B ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 260,0200.



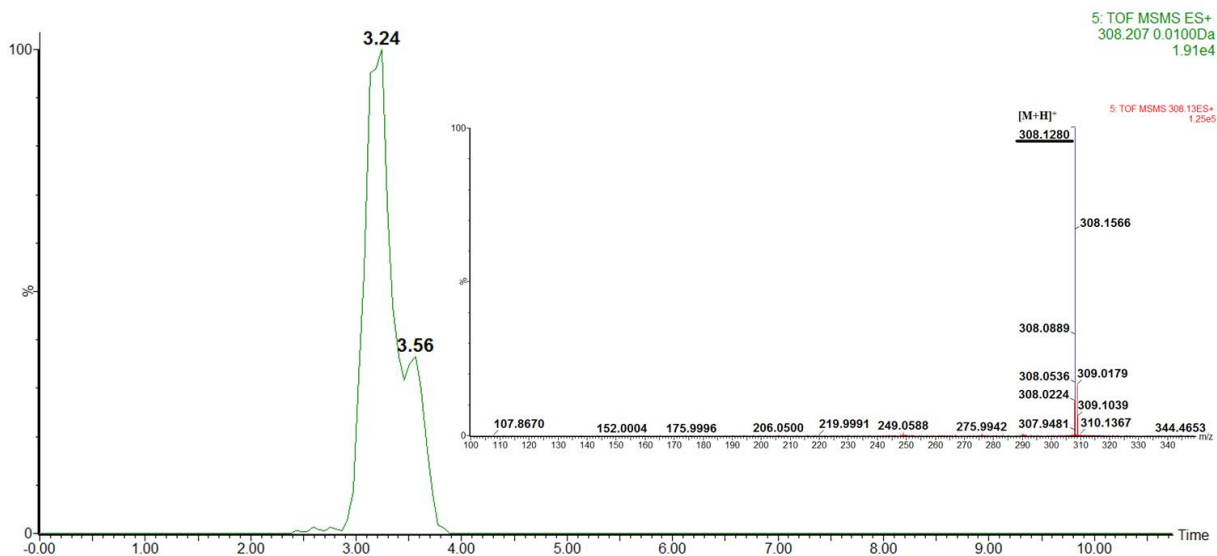
Obr. 74: Mobilogram a izolační spektrum látky MAP ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 150,2320.



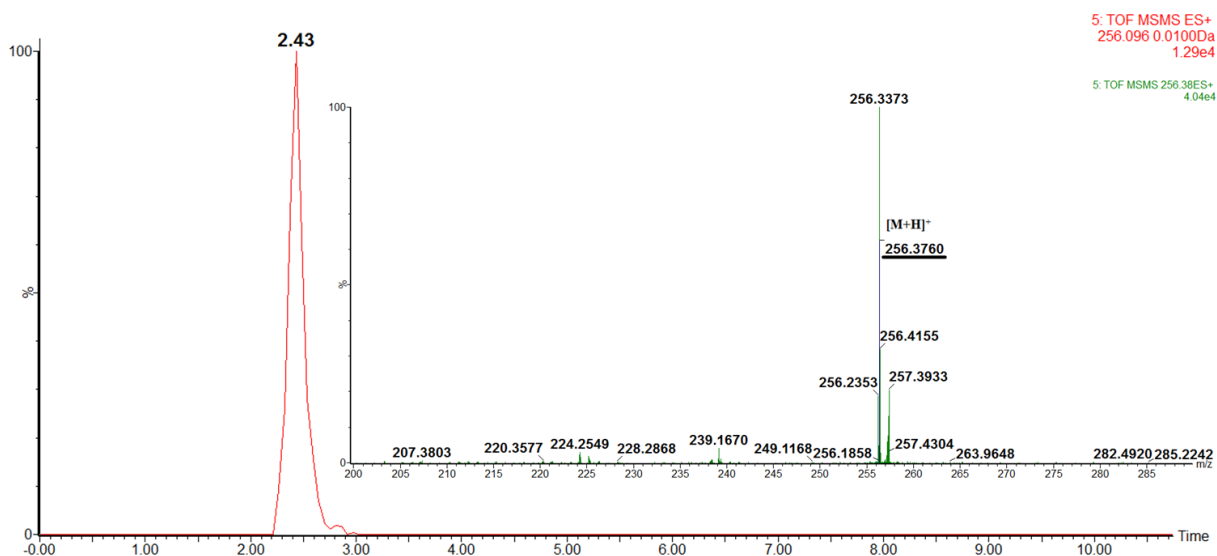
Obr. 75: Mobilogram a izolační spektrum látky MAP ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 150,2320.



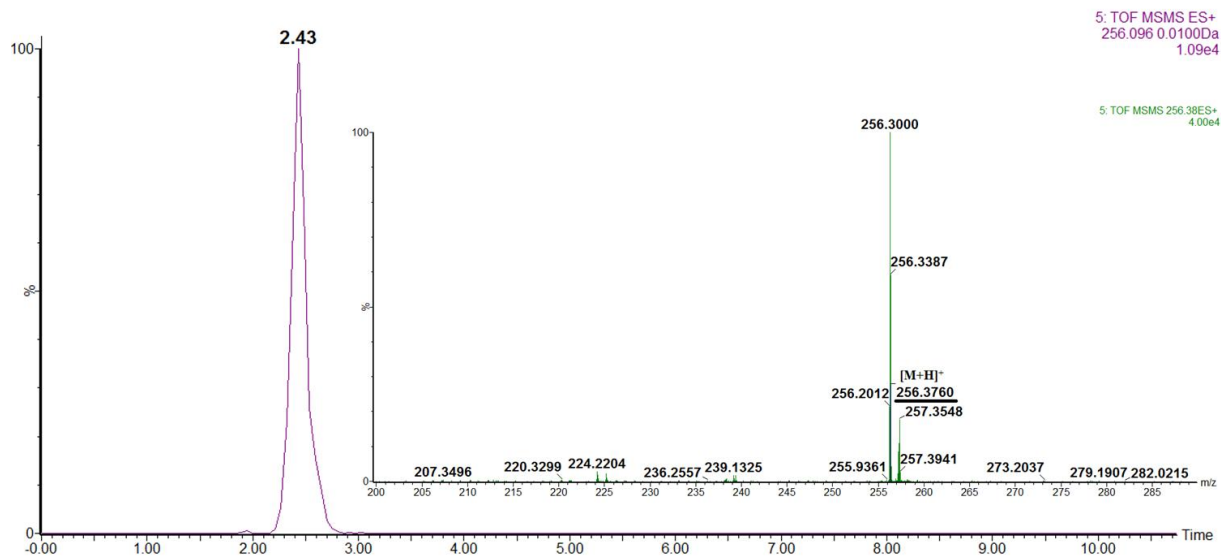
Obr. 76: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-I ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 308,1280.



Obr. 77: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-I ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 308,1280.

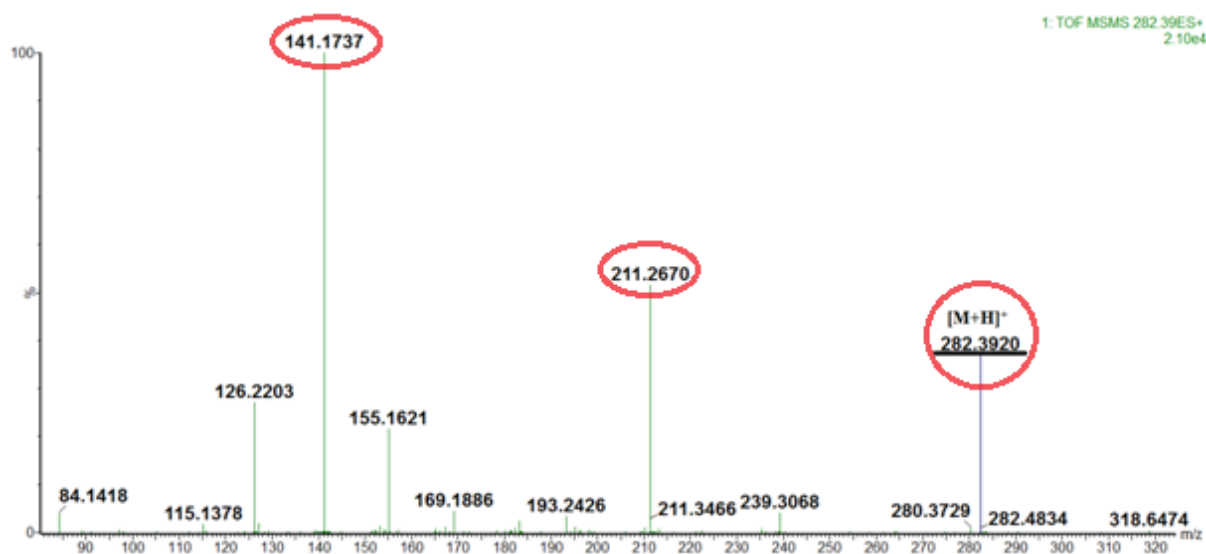


Obr. 78: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-T-7 ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 256,3760.

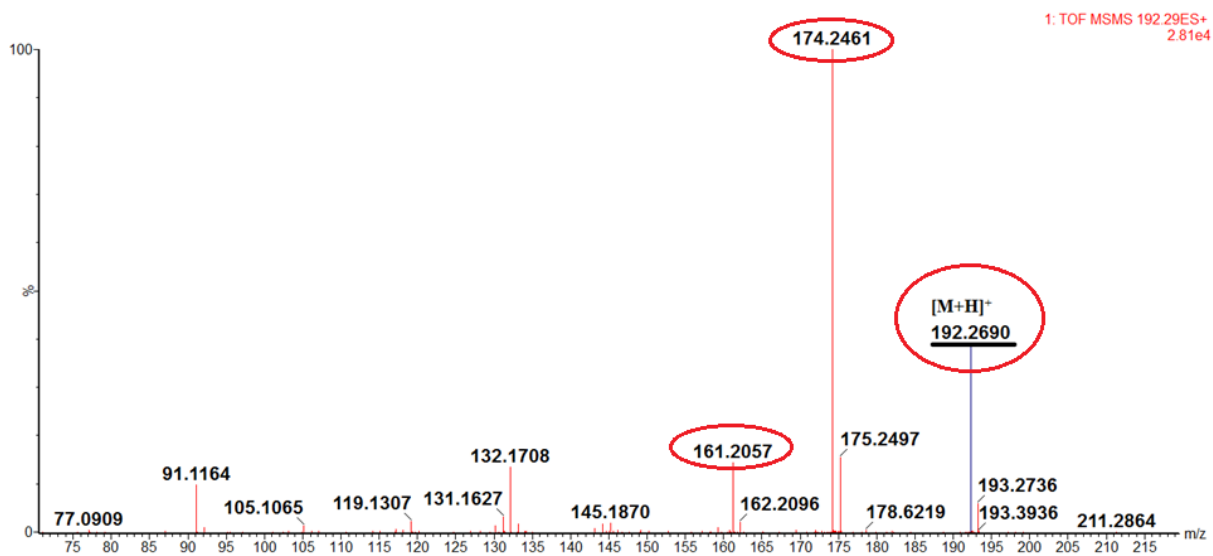


Obr. 79: Mobilogram a izolační spektrum látky 2-C-T-7 ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 256,3760.

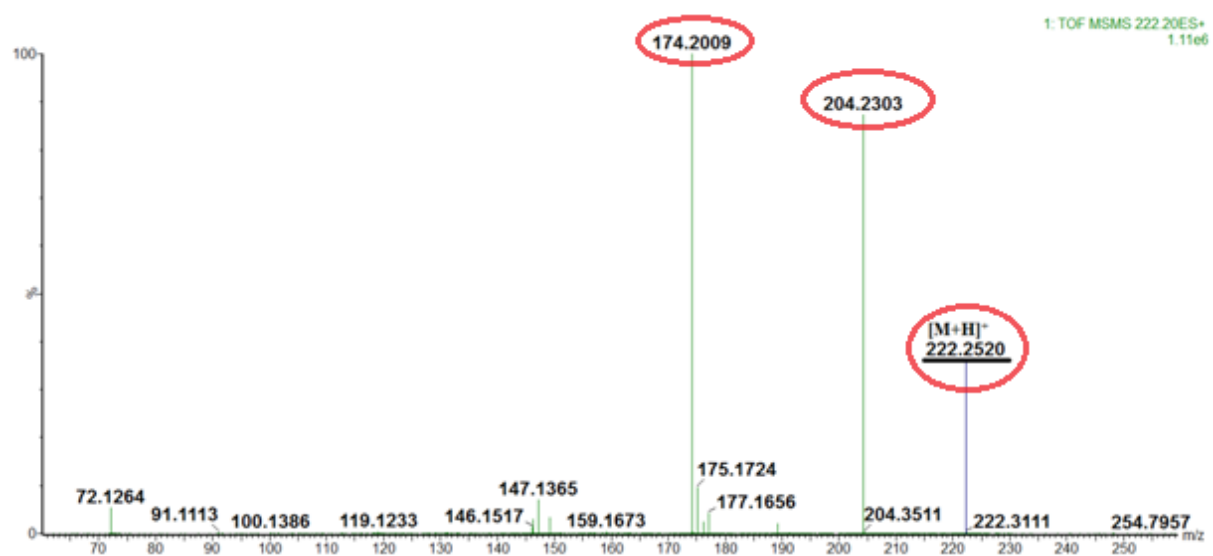
7. iii. Spektra standardů nových syntetických drog (fragmentace)



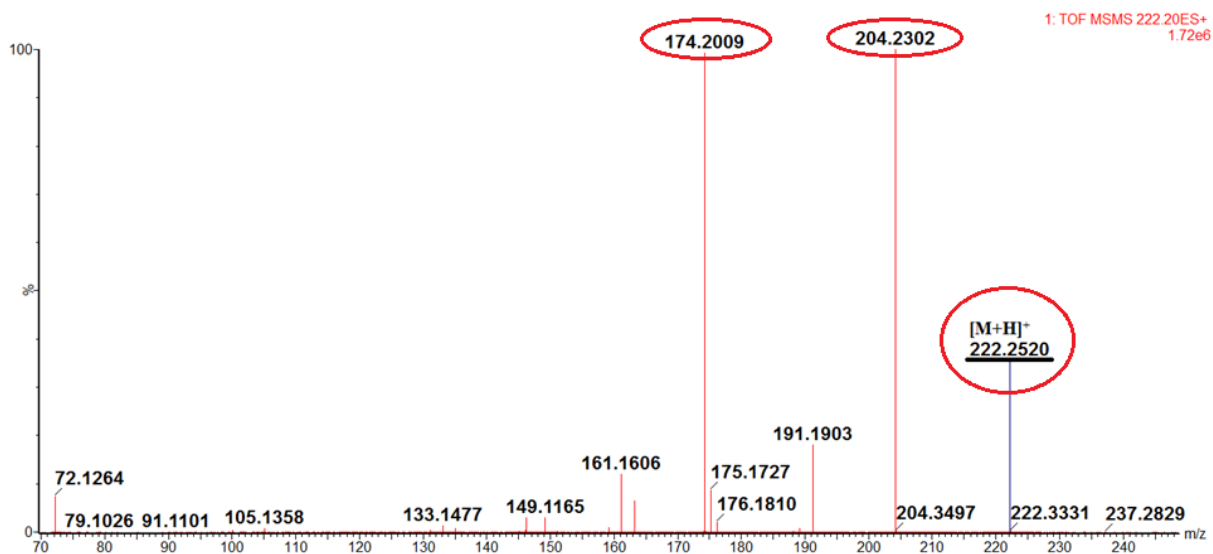
Obr. 80: Standardní roztok látky NRG-1, c = 1 µg/ml (ve směsi CH₃OH : H₂O (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, [M+H]⁺ = 282,3920.



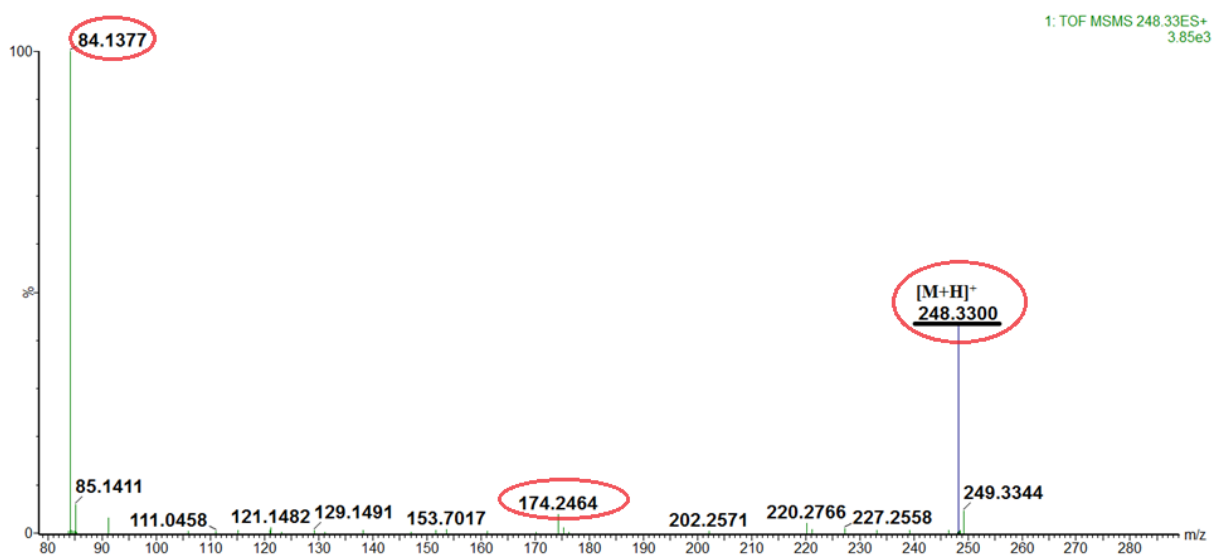
Obr. 81: Standardní roztok látky Pentedron, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 192,2690$.



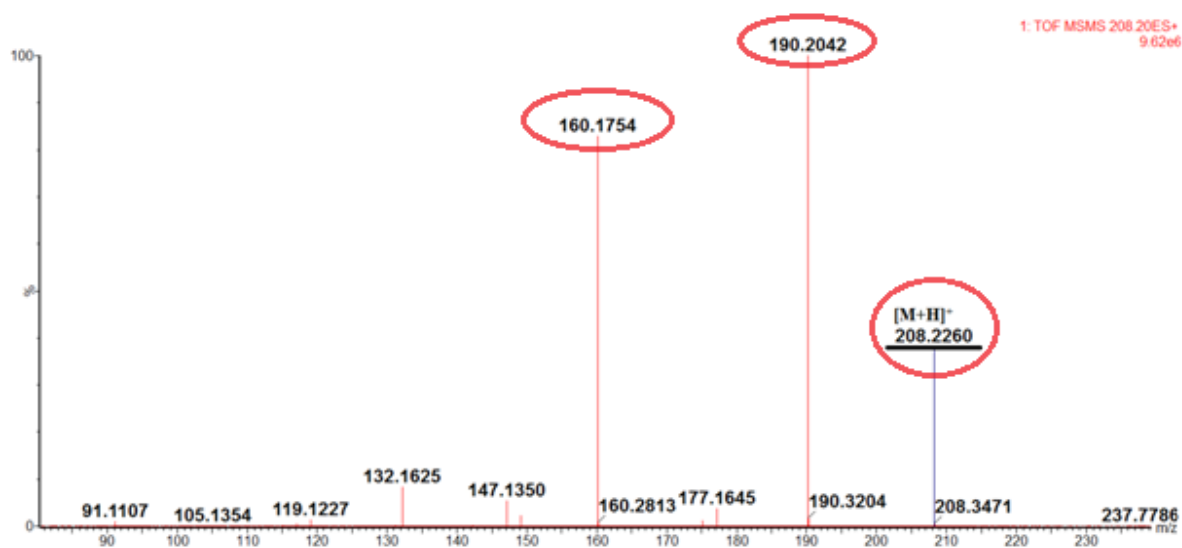
Obr. 82: Standardní roztok látky MDEC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222,2520$.



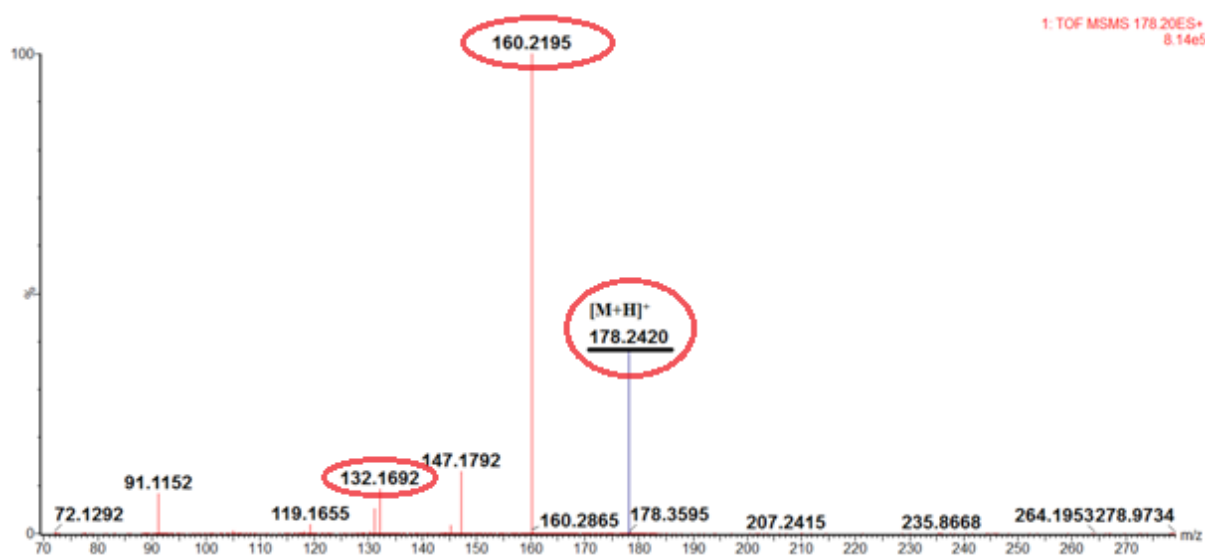
Obr. 83: Standardní roztok látky bk-MBDB, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222,2520$.



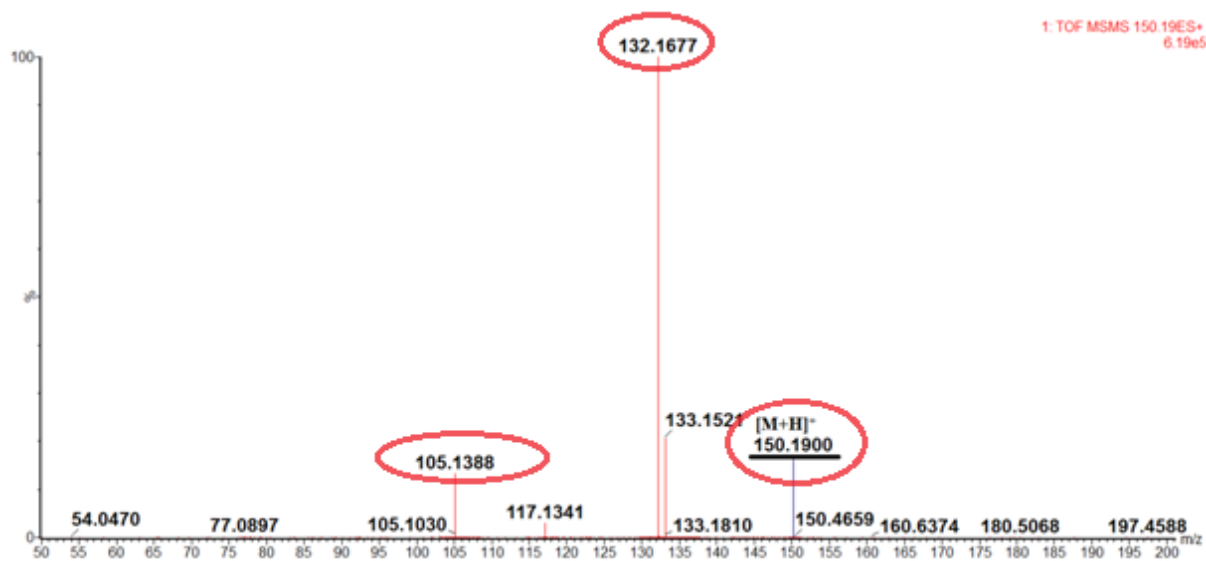
Obr. 84: Standardní roztok látky EPH, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 248,3300$.



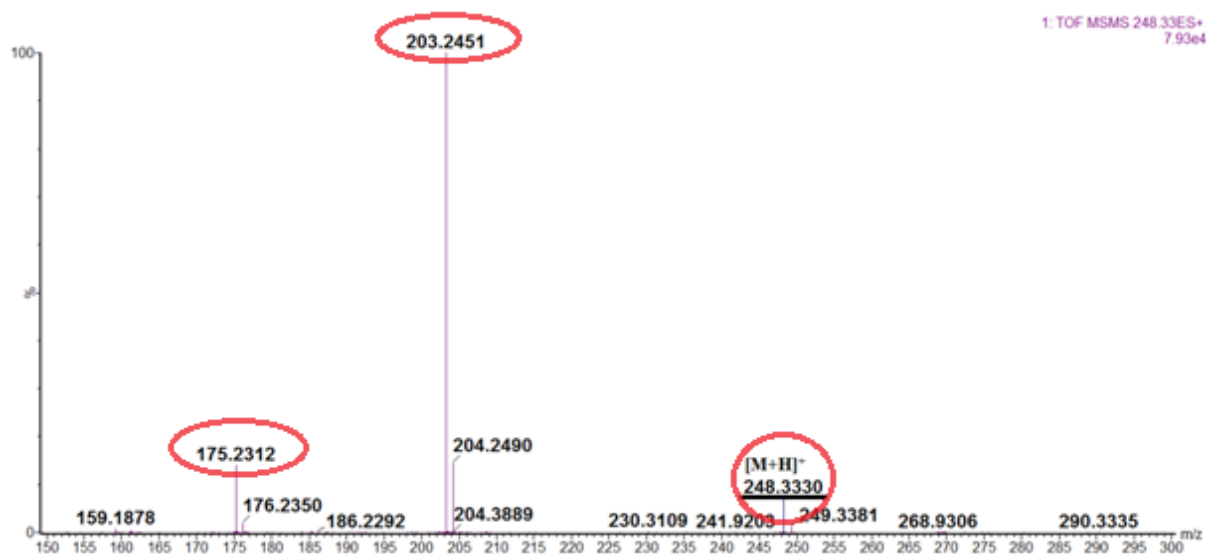
Obr. 85: Standardní roztok látky bk-MDMA, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 208,2260$.



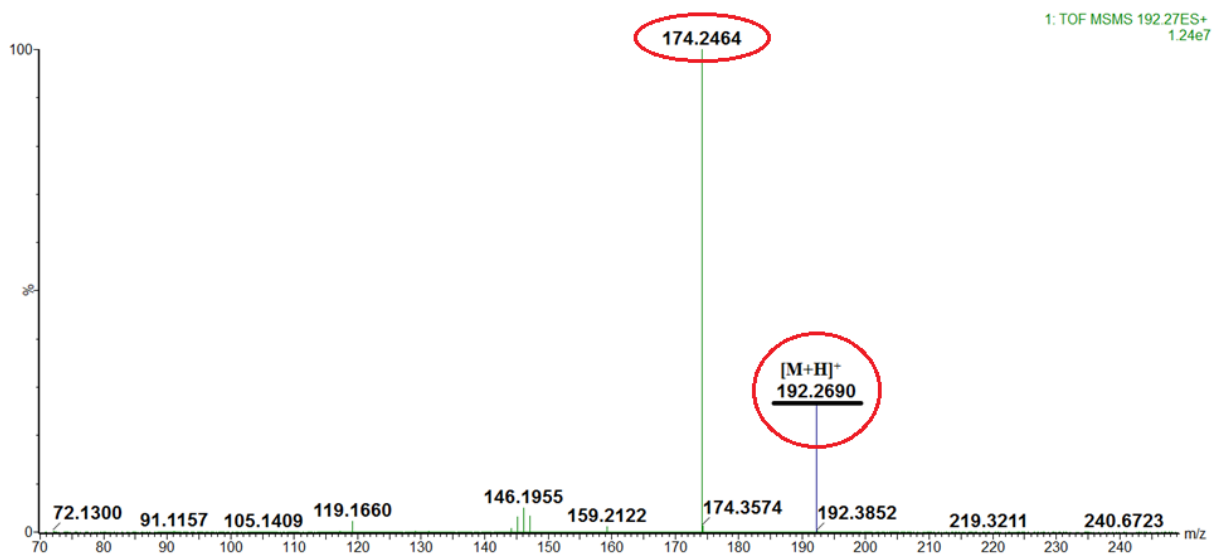
Obr. 86: Standardní roztok látky MABP, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178,2420$.



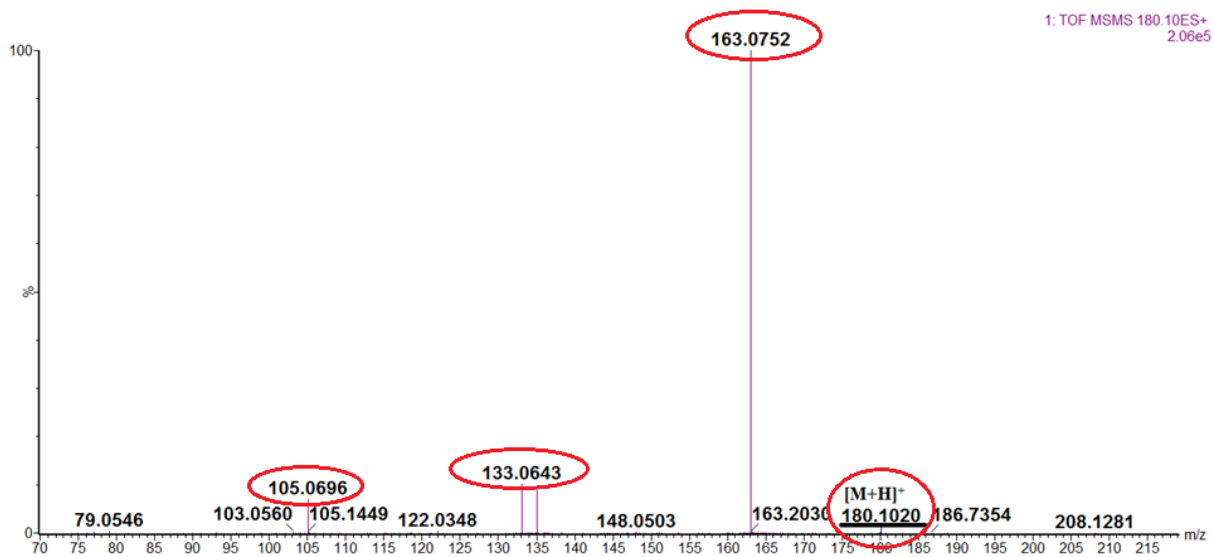
Obr. 87: Standardní roztok látky CAT, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 150,1900$.



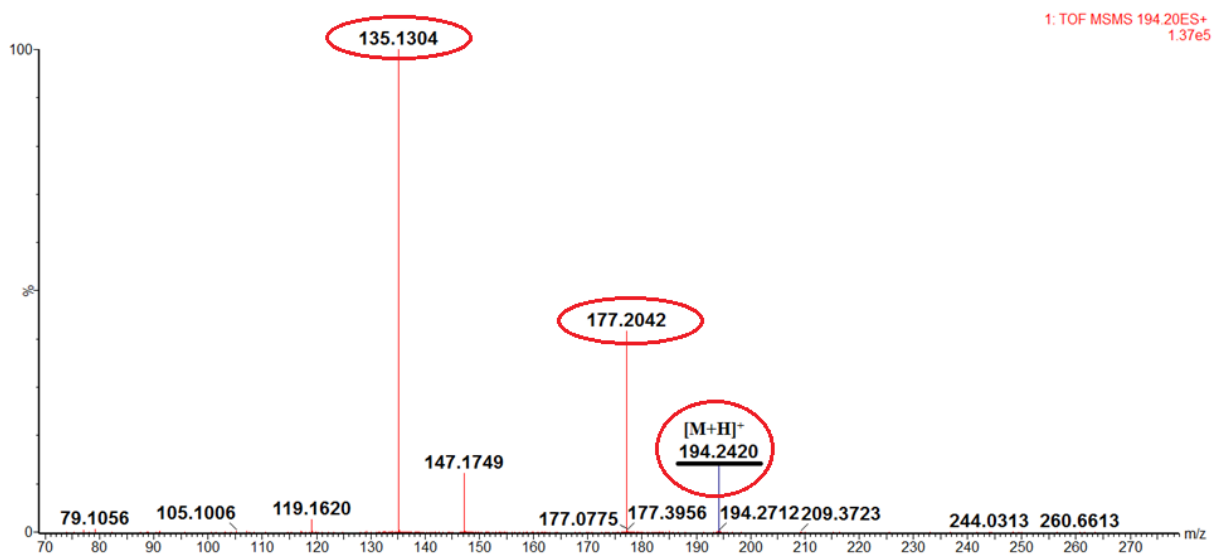
Obr. 88: Standardní roztok látky MEX, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 248,3330$.



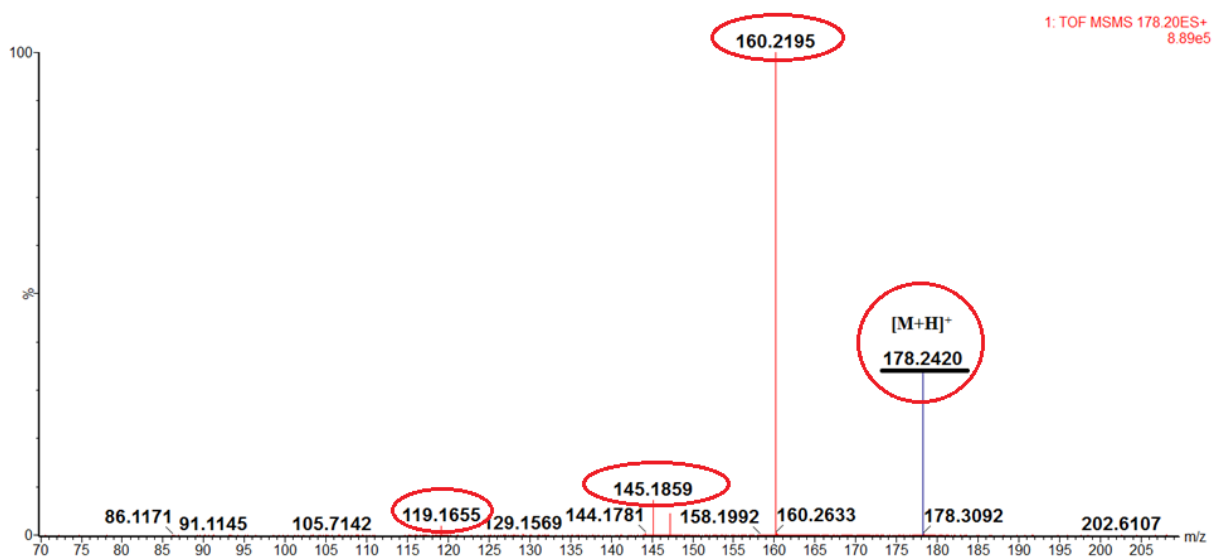
Obr. 89: Standardní roztok látky 4-MEC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 192,2690$.



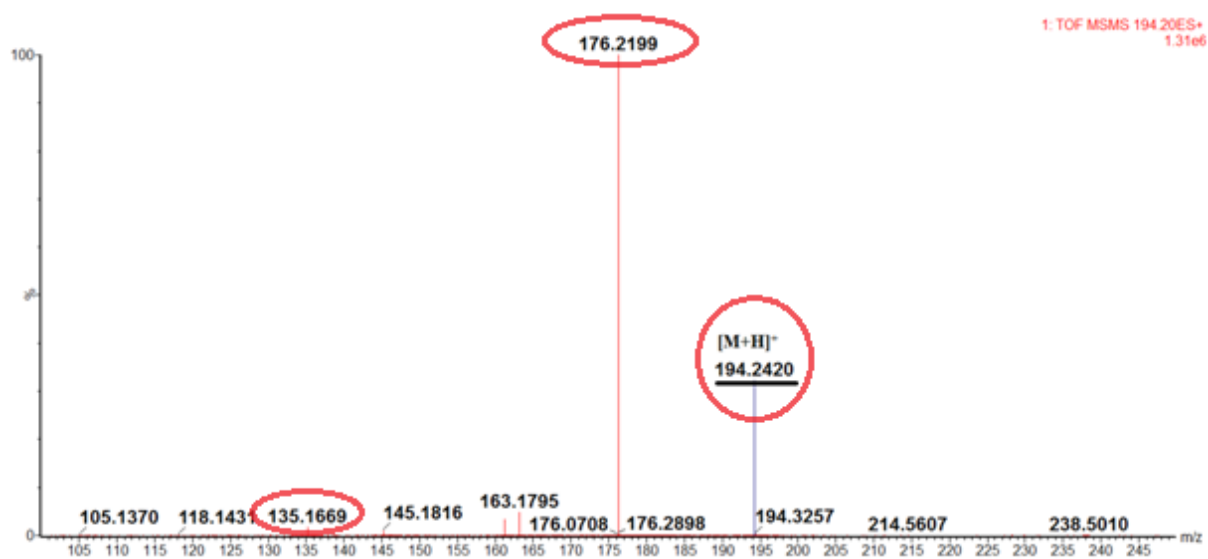
Obr. 90: Standardní roztok látky MDA, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 180,1020$.



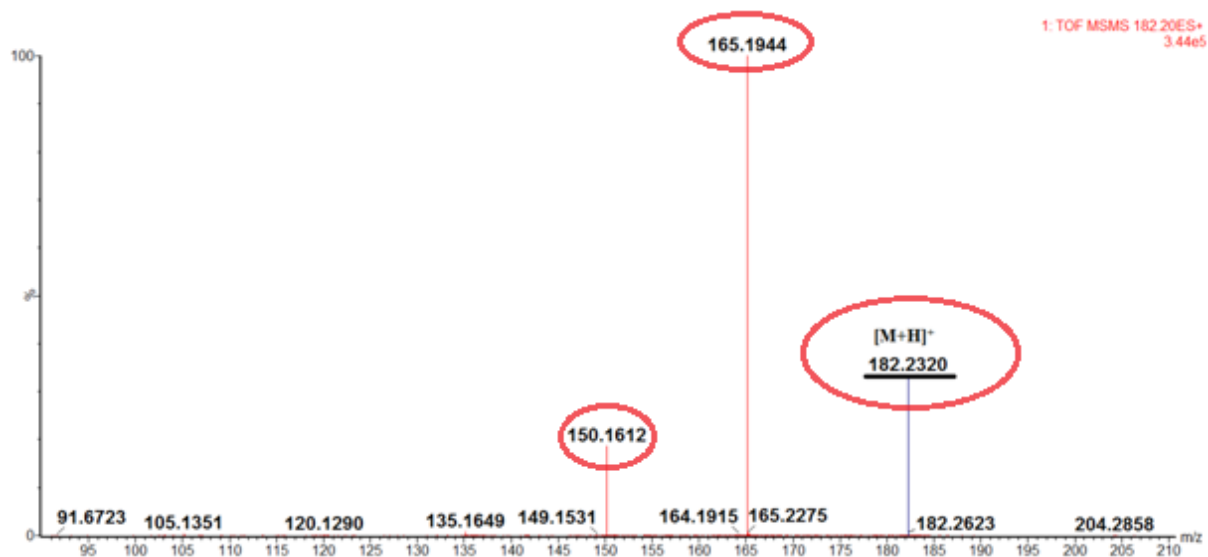
Obr. 91: Standardní roztok látky BDB, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



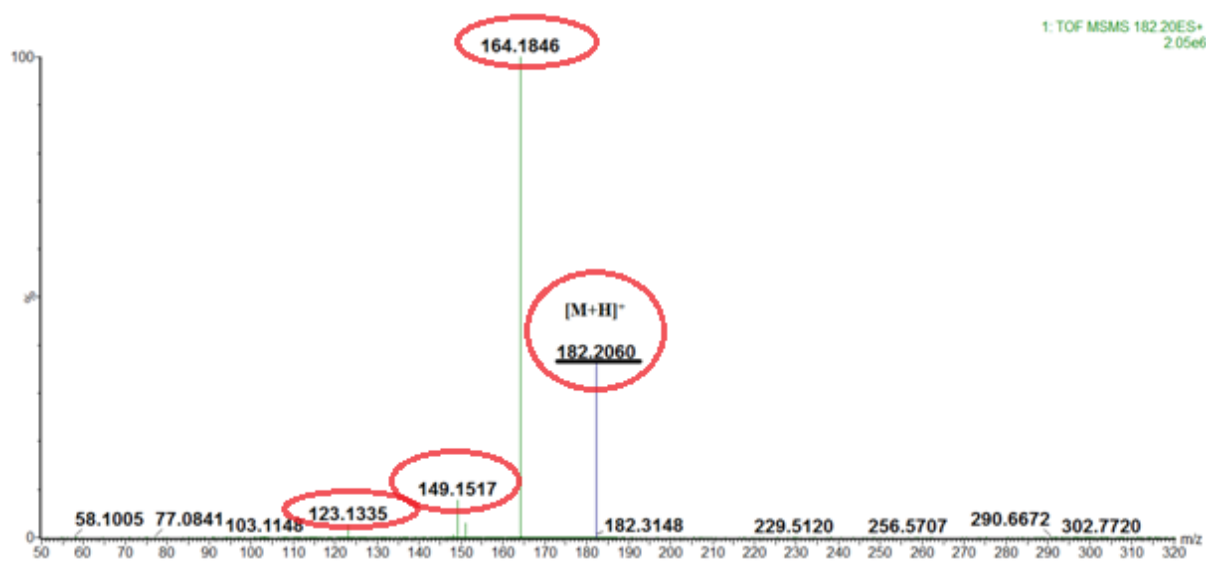
Obr. 92: Standardní roztok látky 3-MMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178,2420$.



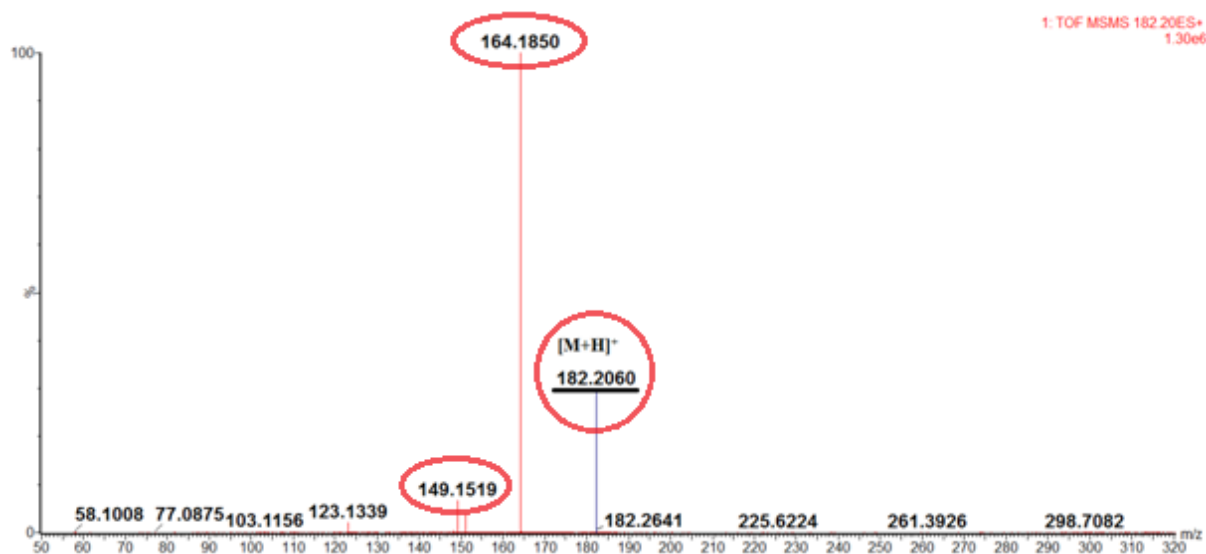
Obr. 93: Standardní roztok látky PMMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 194,2420$.



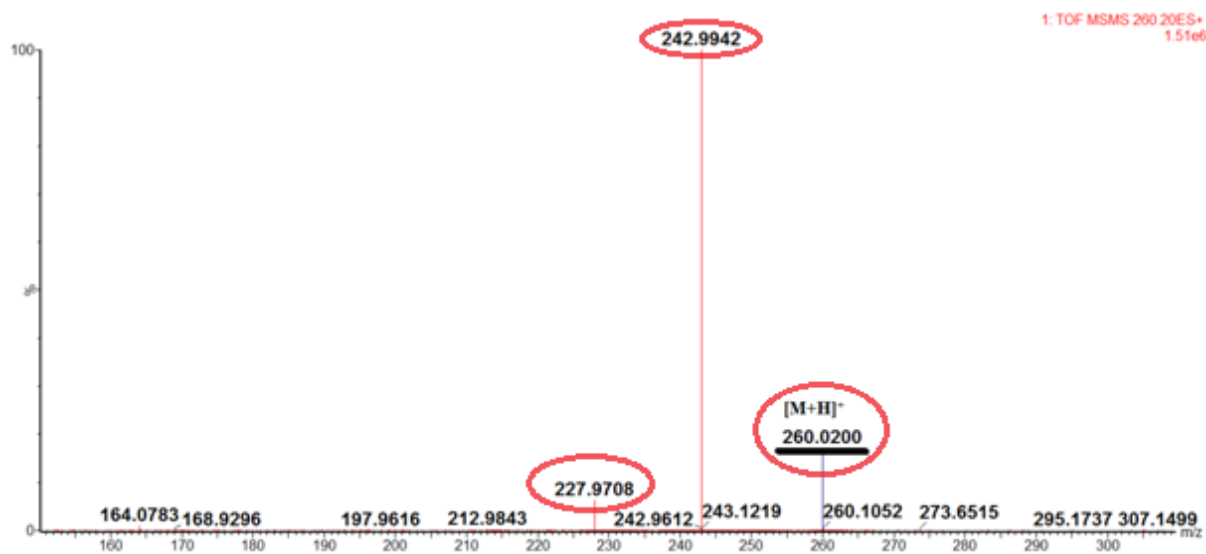
Obr. 94: Standardní roztok látky 2-C-H, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2320$.



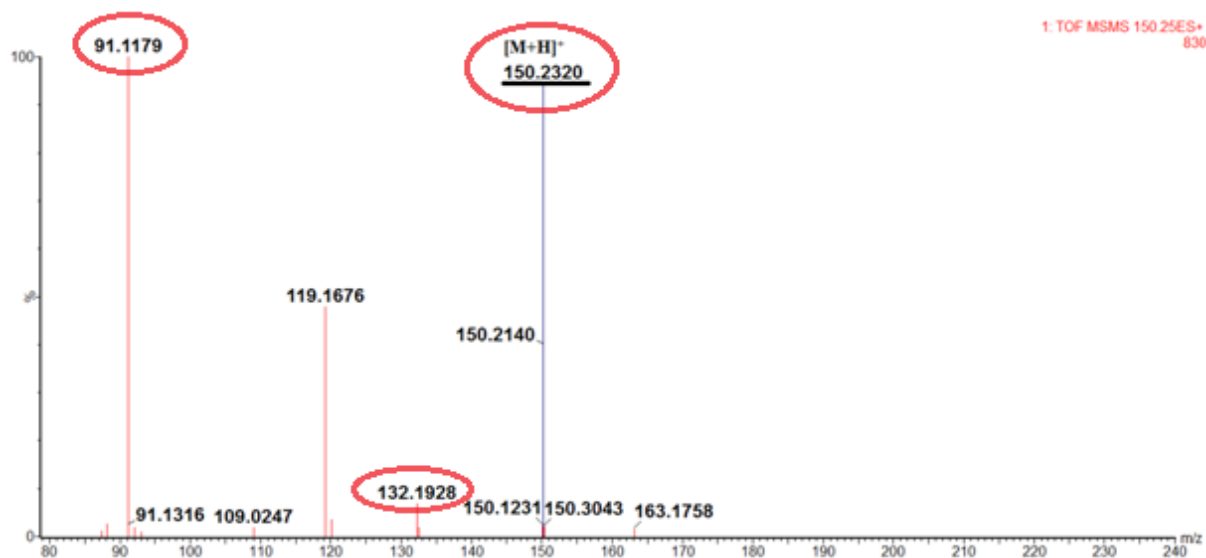
Obr. 95: Standardní roztok látky 3-FMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2060$.



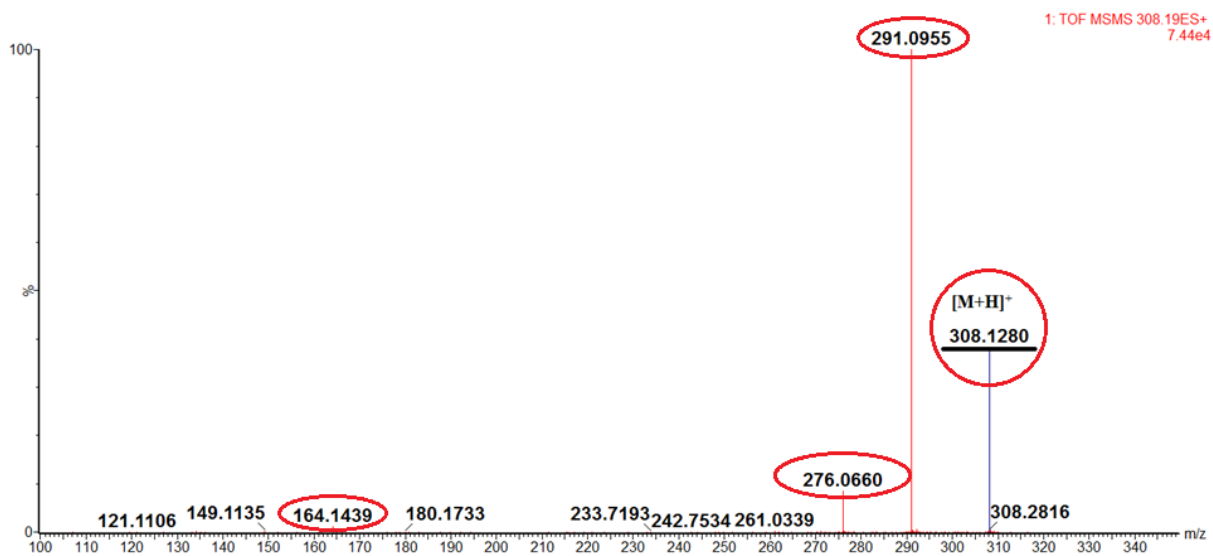
Obr. 96: Standardní roztok látky 4-FMC, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2060$.



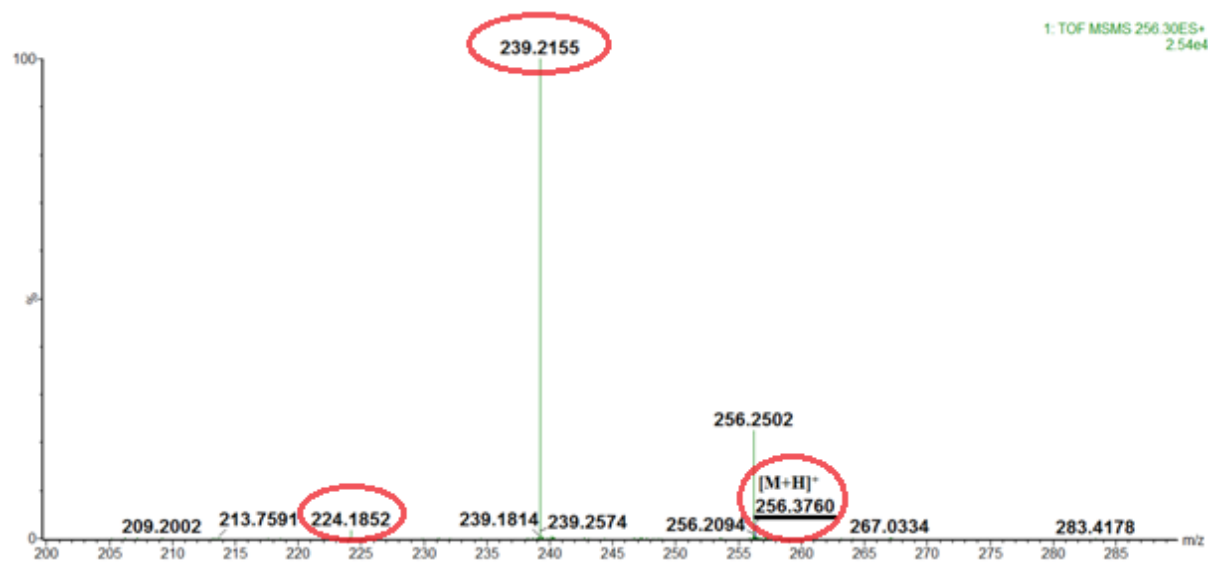
Obr. 97: Standardní roztok látky 2-C-B, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 260,0200$.



Obr. 98: Standardní roztok látky MAP, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 150,2320$.

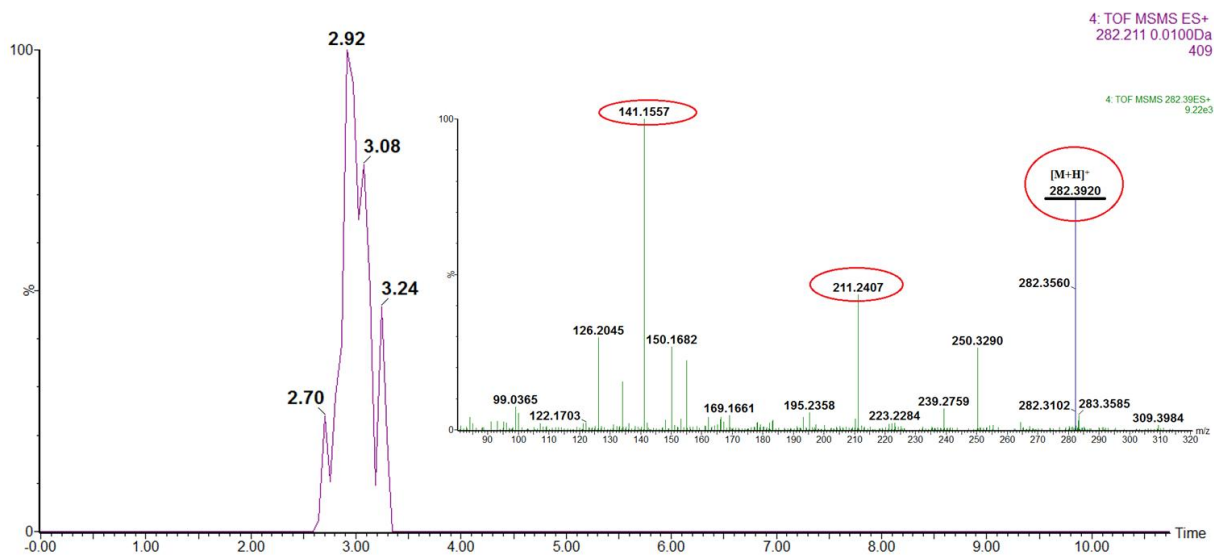


Obr. 99: Standardní roztok látky 2-C-I, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 308,1280$.

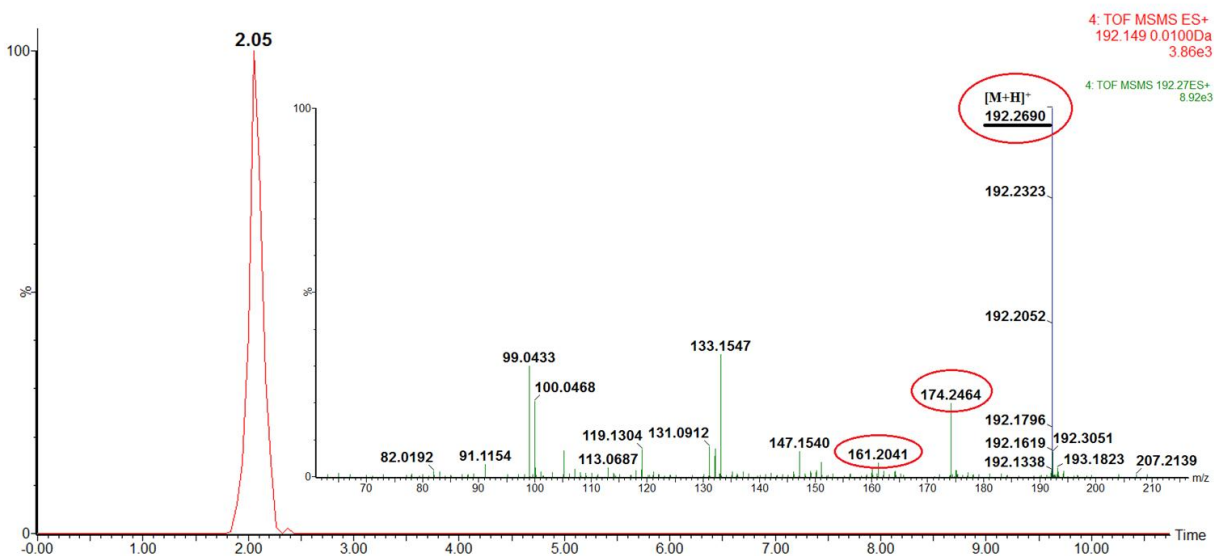


Obr. 100: Standardní roztok látky 2-C-T-7, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ (ve směsi $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1, v/v)), ESI, fragmentace, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 256,3760$.

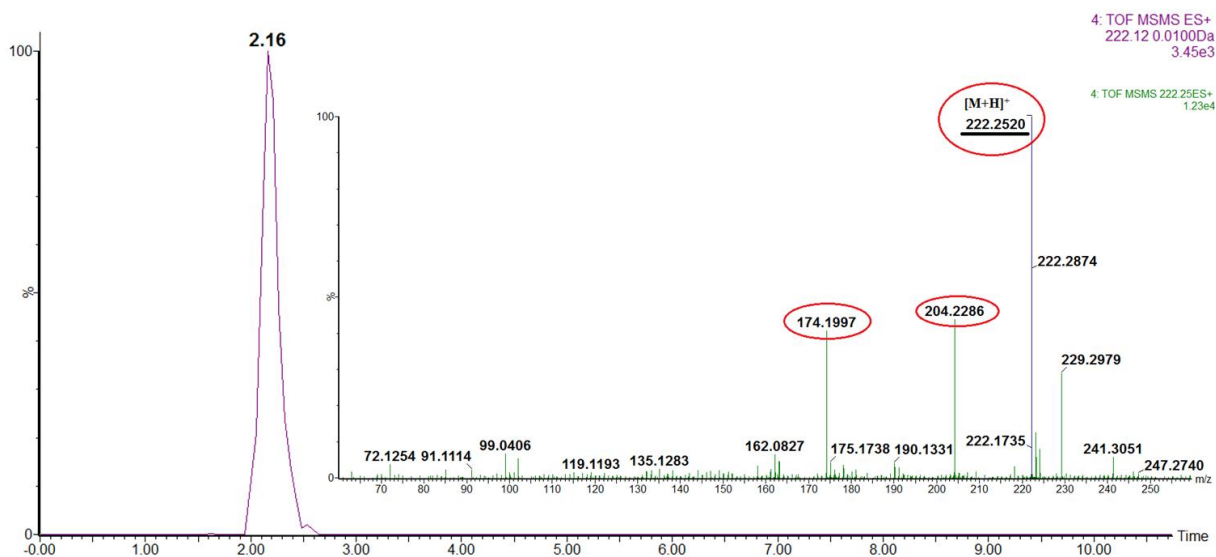
7. iii. Mobilogramy a fragmentační spektra nových syntetických drog ve vzorku moči – odhad detekčních limitů



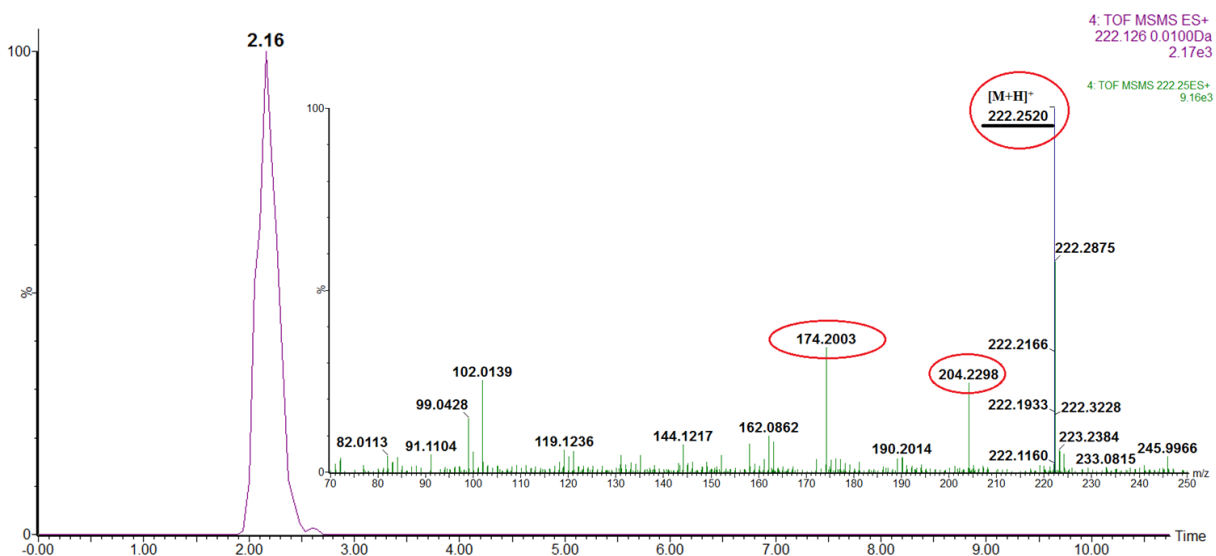
Obr. 101: Mobilogram a fragmentační spektrum látky NRG-1 ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 282,3920.



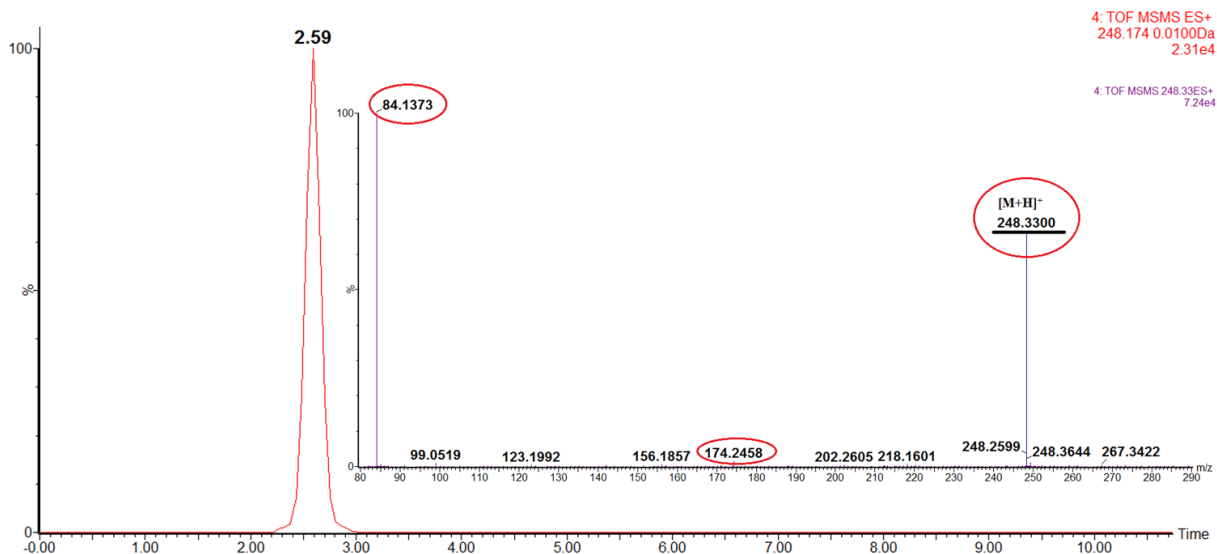
Obr. 102: Mobilogram a fragmentační spektrum látky Pentedron ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 192,2690.



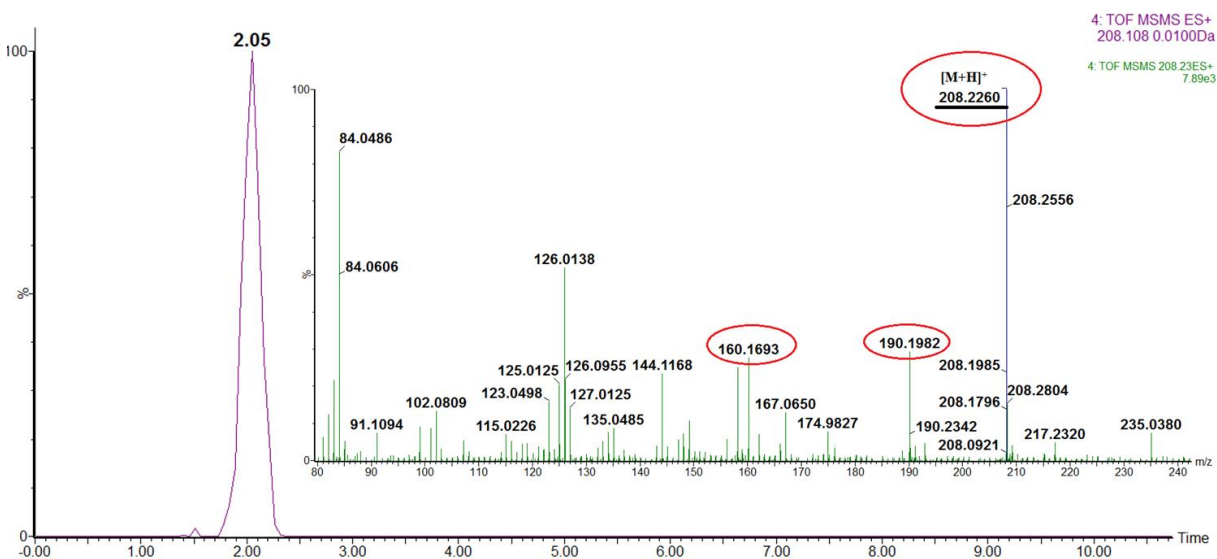
Obr. 103: Mobilogram a fragmentační spektrum látky MDEC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222,2520$.



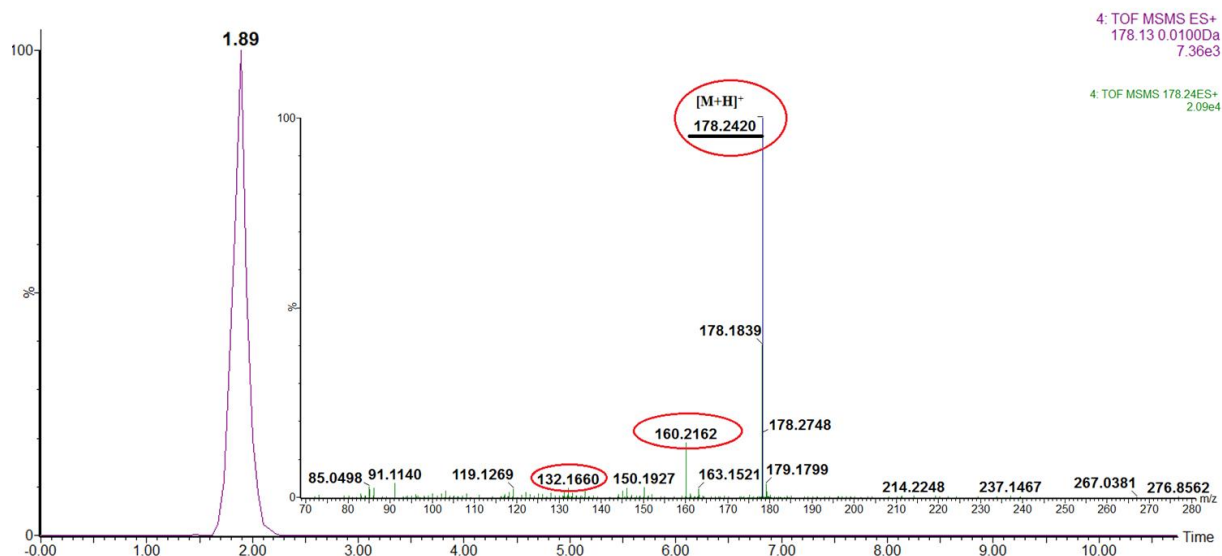
Obr. 104: Mobilogram a fragmentační spektrum látky bk-MBDB ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,01 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 222,2520$.



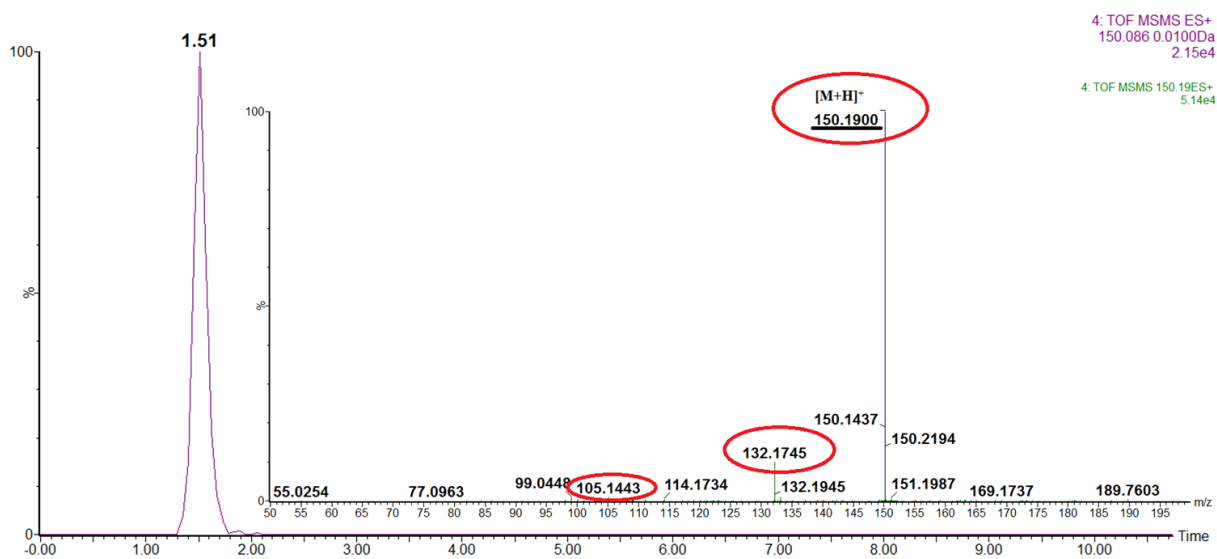
Obr. 105: Mobilogram a fragmentační spektrum látky EPH ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 248,3300.



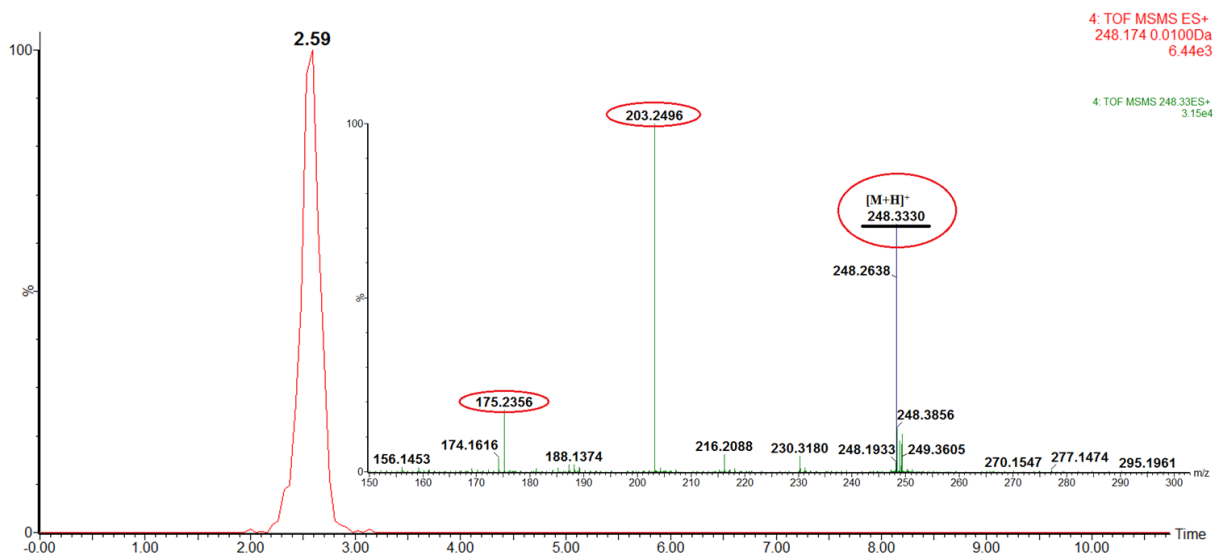
Obr. 106: Mobilogram a fragmentační spektrum látky bk-MDMA ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 208,2260.



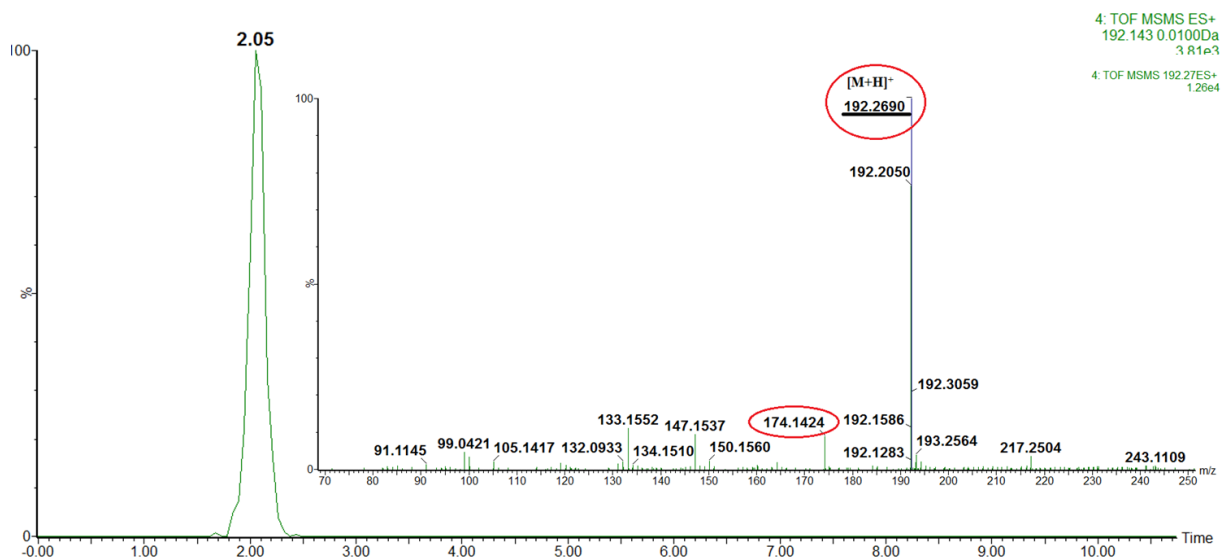
Obr. 107: Mobilogram a fragmentační spektrum látky MABP ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,01 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 178,2420.



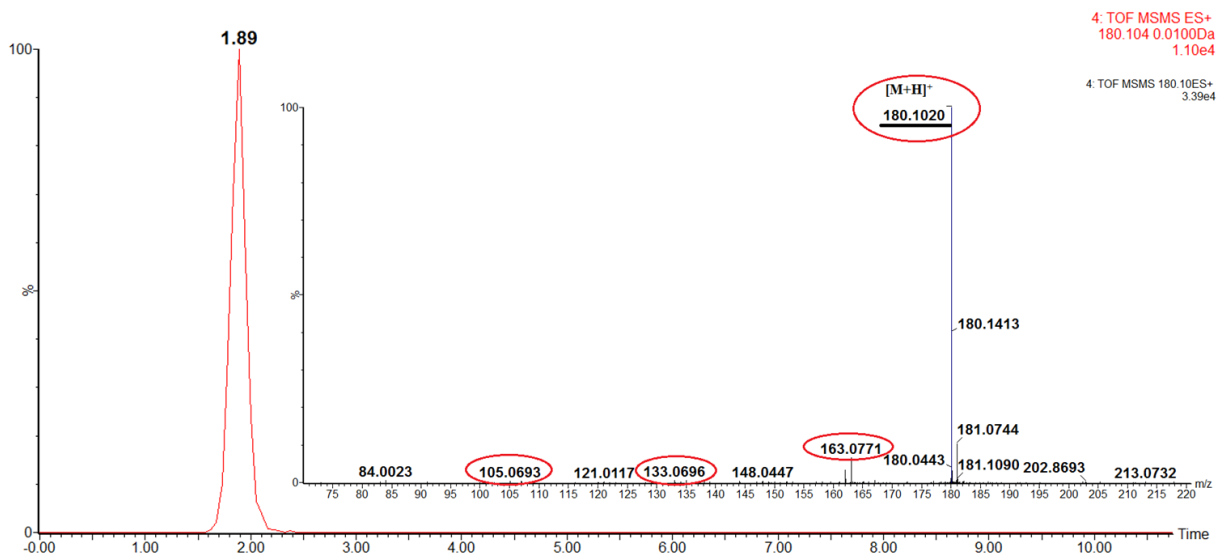
Obr. 108: Mobilogram a fragmentační spektrum látky CAT ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,25 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 150,1900.



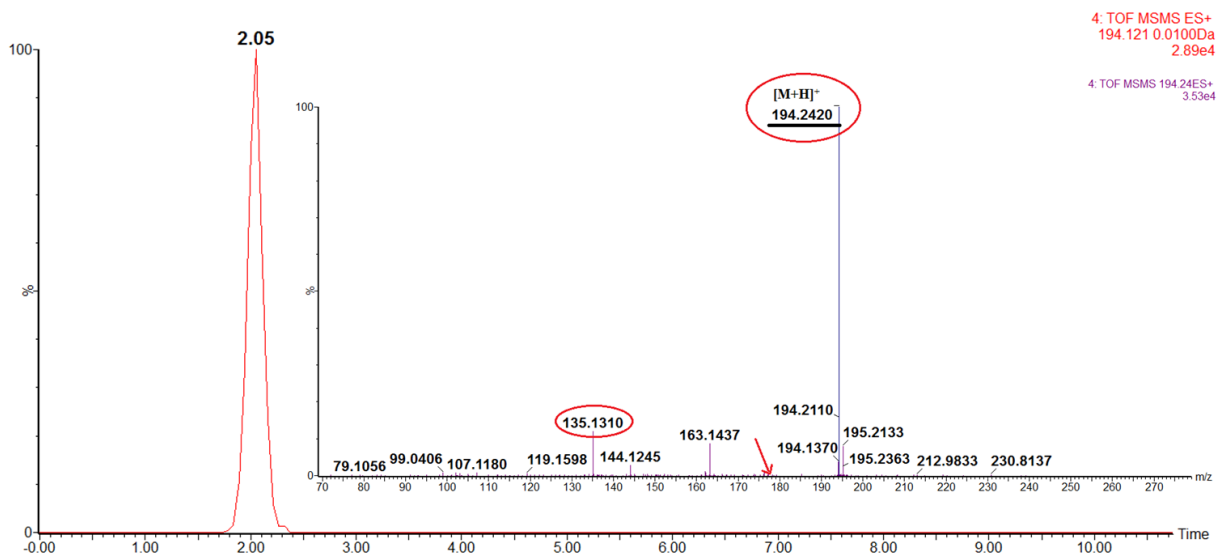
Obr. 109: Mobilogram a fragmentační spektrum látky MEX ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,1 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 248,3330.



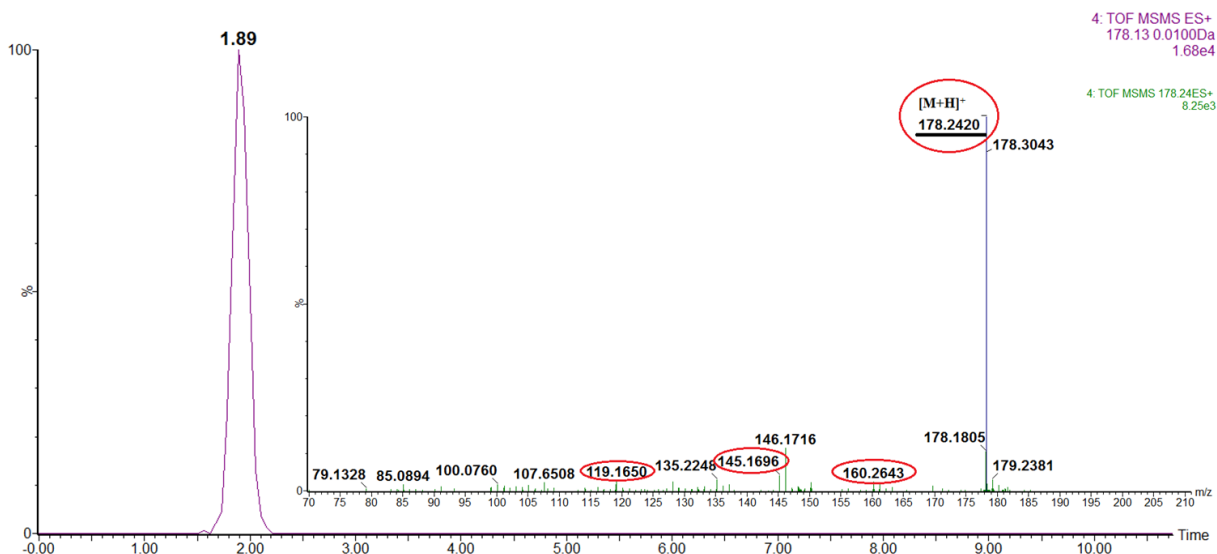
Obr. 110: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 4-MEC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 192,2690.



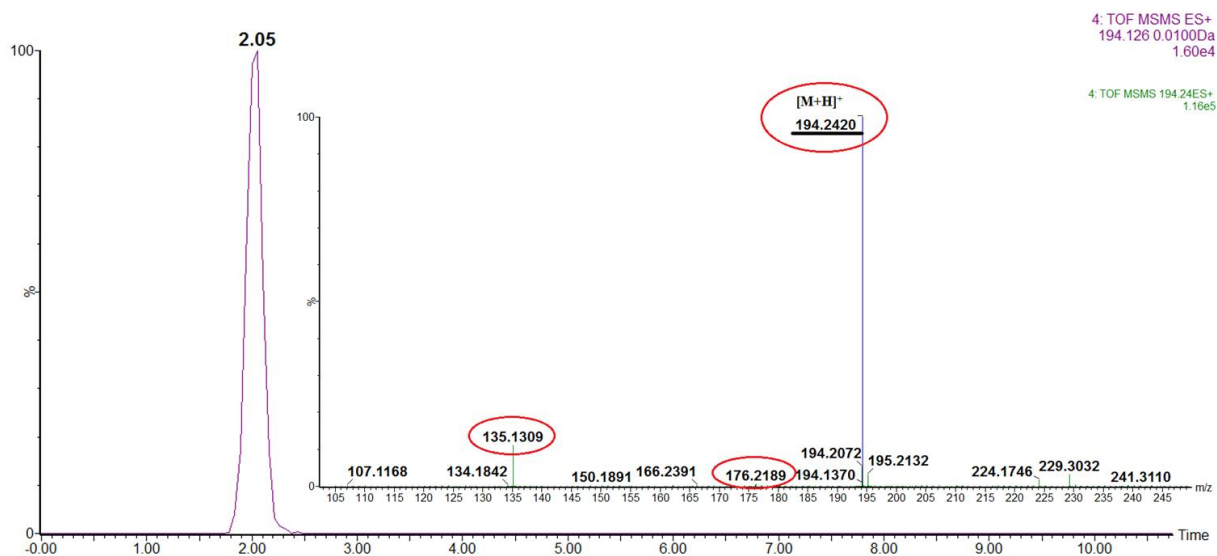
Obr. 111: Mobilogram a fragmentační spektrum látky MDA ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,25 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 180,1020.



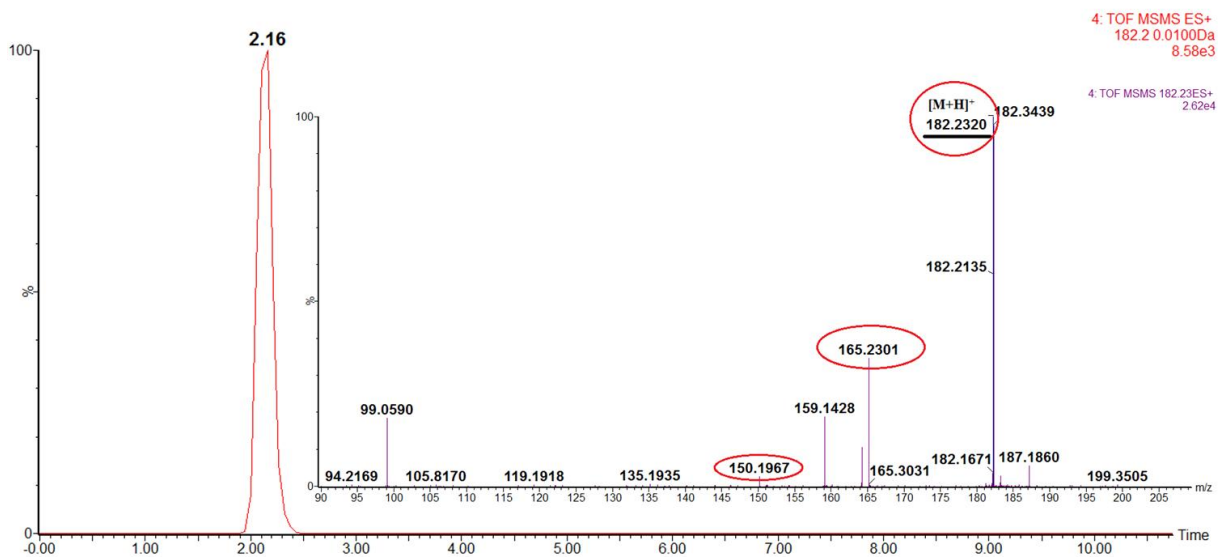
Obr. 112: Mobilogram a fragmentační spektrum látky BDB ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,25 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 194,2420.



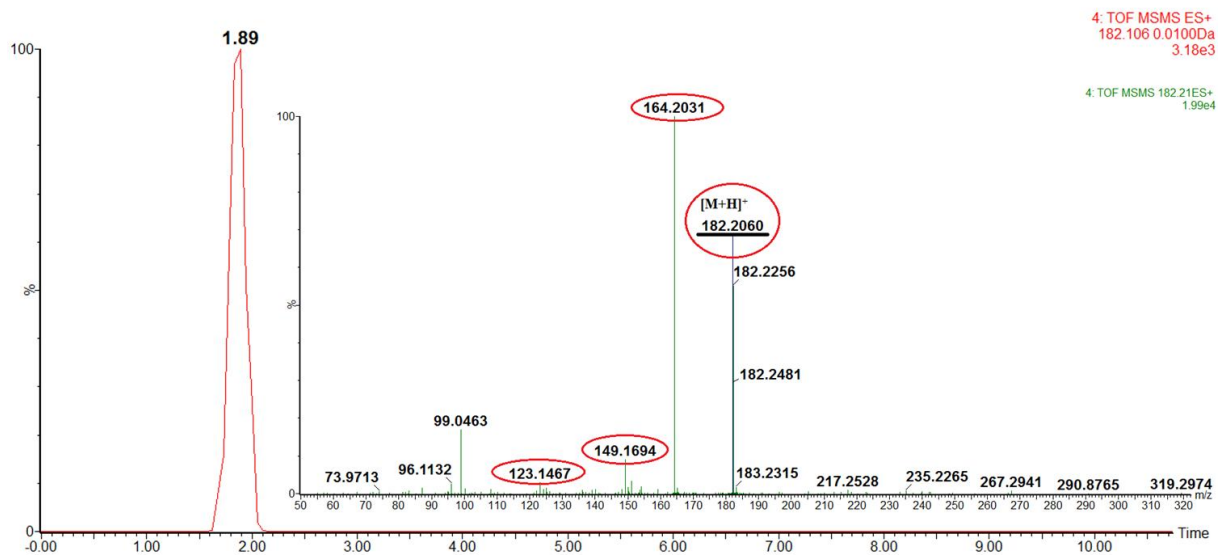
Obr. 113: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 3-MMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 178,2420.



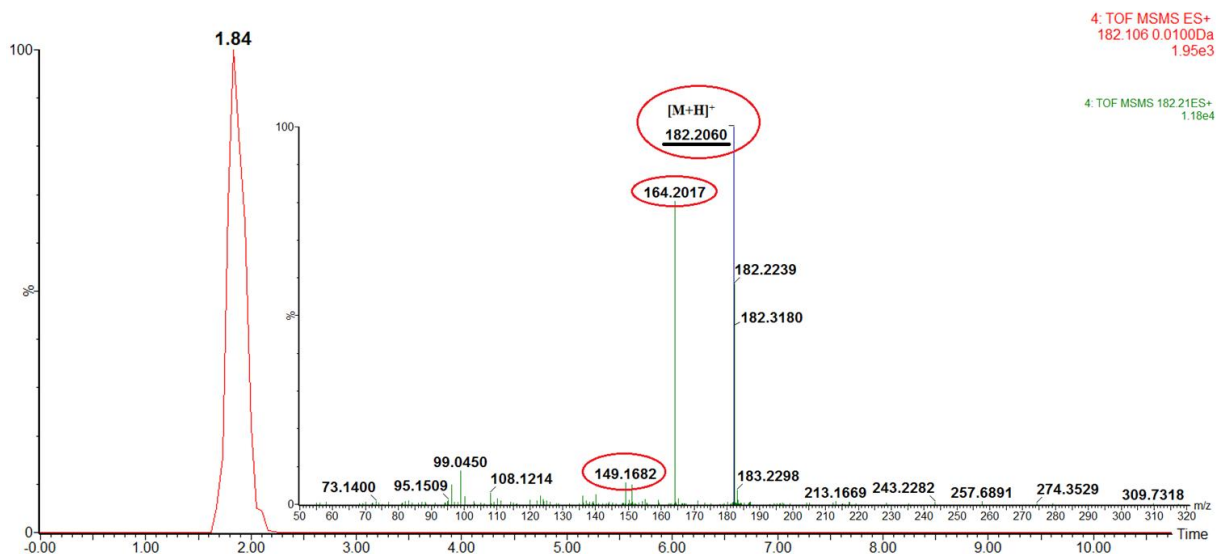
Obr. 114: Mobilogram a fragmentační spektrum látky PMMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 194,2420.



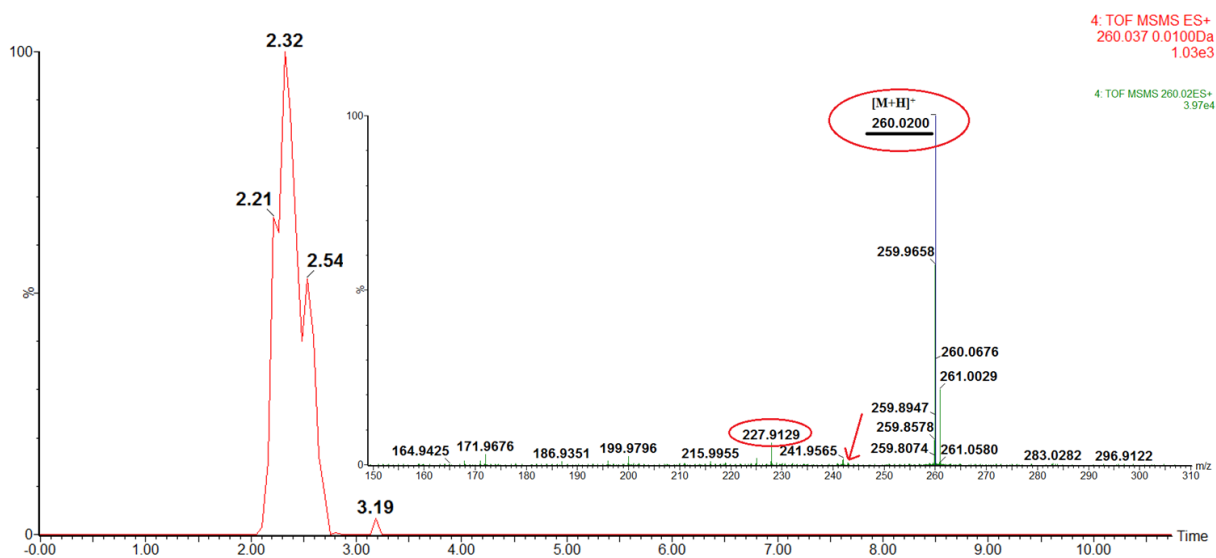
Obr. 115: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 2-C-H ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,25 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2320.



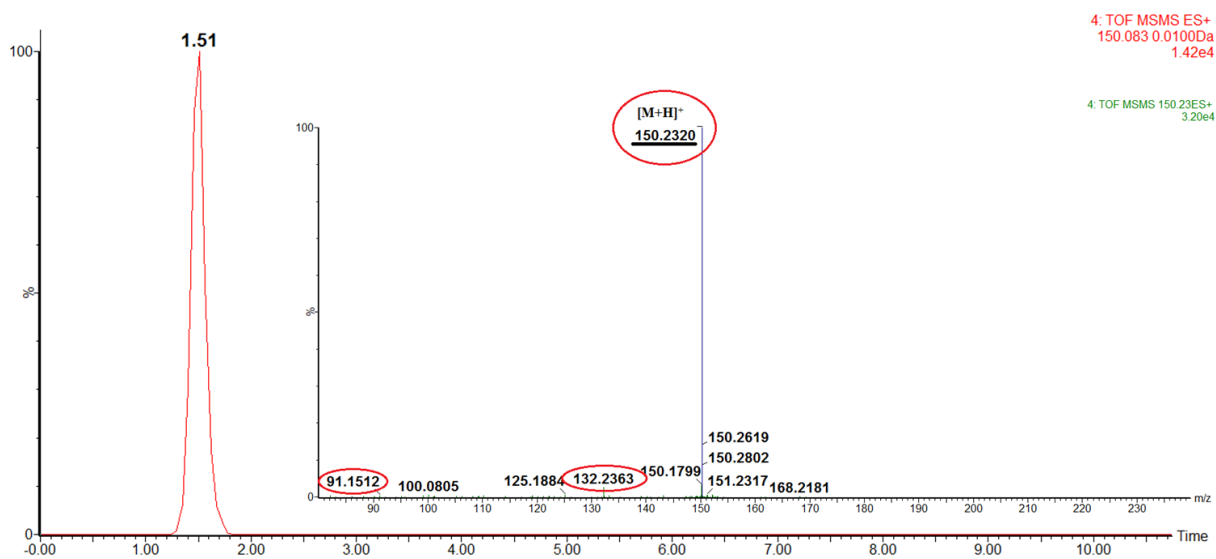
Obr. 116: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 3-FMC ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,1 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 182,2060.



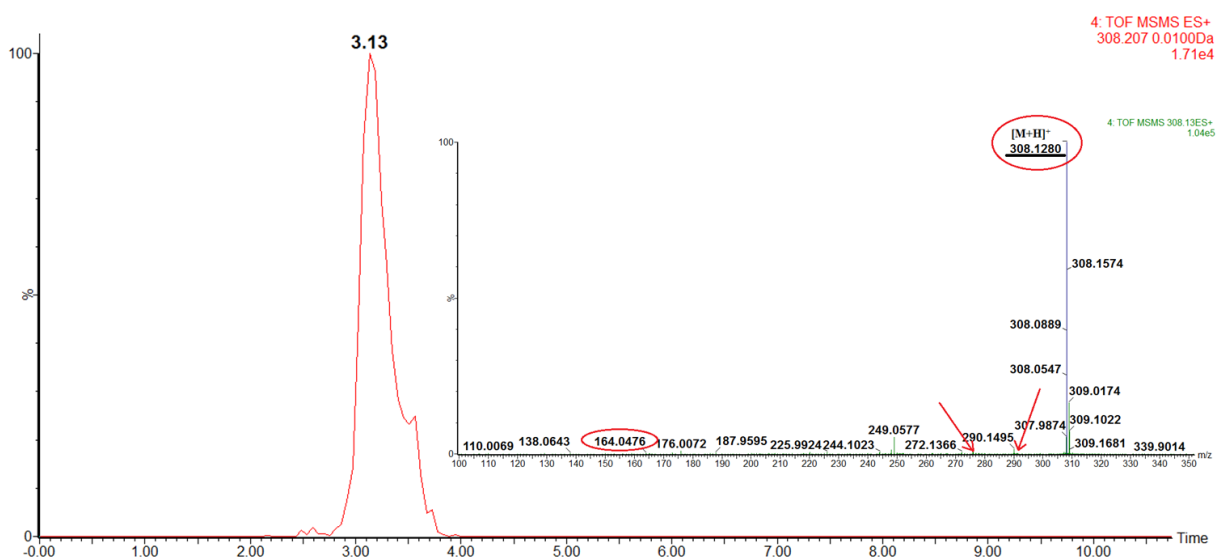
Obr. 117: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 4-FMC ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 182,2060$.



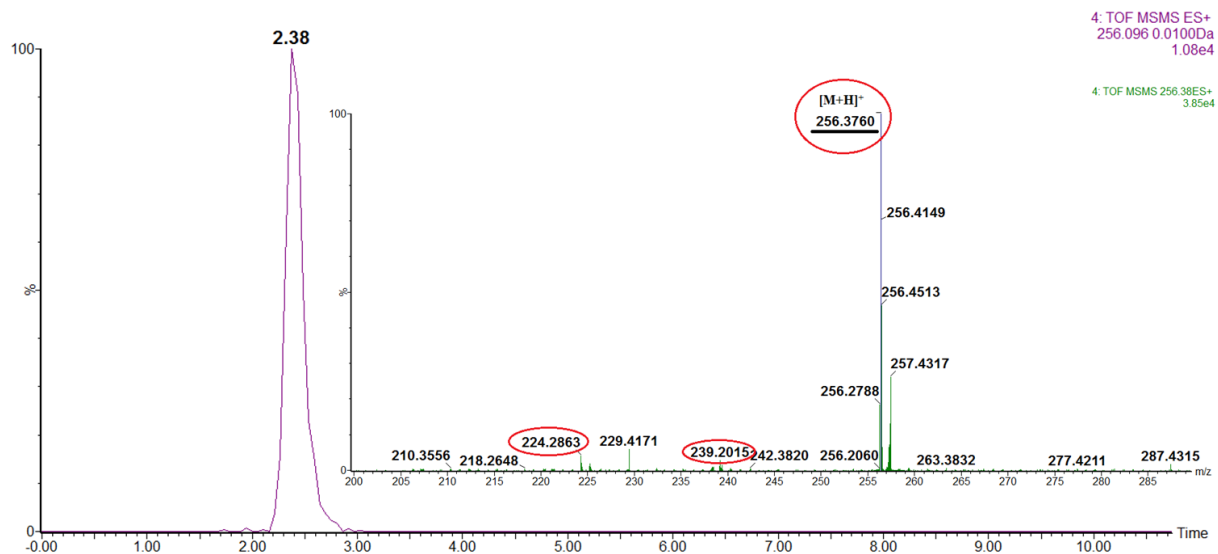
Obr. 118: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 2-C-B ve směsi CH_3OH : moč (1 : 1, v/v), $c = 0,001 \mu\text{g/ml}$, ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 260,0200$.



Obr. 119: Mobilogram a fragmentační spektrum látky MAP ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,1 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 150,2320.



Obr. 120: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 2-C-I ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,25 µg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 308,1280.



Obr. 121: Mobilogram a fragmentační spektrum látky 2-C-T-7 ve směsi CH₃OH : moč (1 : 1, v/v), c = 0,001 μg/ml, ESI, [M+H]⁺ = 256,3760.