

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Olomouc 2016

Denisa Matoušková

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

**Analýza organických reziduí v archeologických
materiálech**

Diplomová práce

Autor práce:

Bc. Denisa Matoušková

Studijní obor:

Analytická chemie

Vedoucí diplomové práce:

Doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Konzultant:

RNDr. Lukáš Kučera

Poděkování

Zde bych chtěla poděkovat svému vedoucímu diplomové práce Doc. RNDr. Petru Bednářovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost. Mé poděkování patří též RNDr. Lukáši Kučerovi, za cenné rady, připomínky a čas, který mi věnoval při konzultacích a při práci v laboratoři. Poděkování patří i řediteli Archeologického centra v Olomouci, doc. PhDr. Jaroslavu Peškovi, Ph.D. za poskytnutí archeologických vzorků k analýze. Poděkovat bych chtěla i Mgr. Jaroslavu Pavelkovi, Ph.D. za provedení imunologických analýz.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré použité literární prameny jsou uvedeny 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

Souhrn

Diplomová práce je zaměřena na analýzu archeologických nálezů s ohledem na chemické složení obsahu pravěkých nádob a geografickou klasifikaci nálezů jantarových šperků.

Cílem diplomové práce bylo zjistit, zda nádoby, nalezené v hrobech lidí z doby bronzové, obsahují organická rezidua a pokud ano, co mohly nádoby v době svého používání obsahovat. Byly zkoumány nádoby ze čtyř lokalit – Osek nad Bečvou, Držovice u Prostějova, Brodek u Prostějova a Trnávka.

Hlína z každé nádoby byla postupně extrahována čtyřmi rozpouštědly s různou polaritou a pH: destilovanou vodou, bazickým methanolem (0,05% hydroxid amonný v methanolu (v/v)), kyselým methanolem (1% kyselina mravenčí v methanolu (v/v)) a acetonem. Získané extrakty byly analyzovány metodou hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpční/ionizací za přítomnosti matrice (MALDI-MS) a plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC/MS).

Pomocí MALDI-MS bylo nalezeno několik signálů (hodnot m/z), které mohou být označeny za specifické markery organických reziduí. Ve většině případů byly nalezené látky identifikovány jako adukty mastných kyselin, mono a triacylglycerolů. Toto poukazuje na možnost, že nádoby obsahovaly tuk. Dále byly nalezeny soli kyseliny močové a kvartérní amoniové soli (kontaminanty).

Pomocí plynové chromatografie byla v několika vzorcích nalezena látka miliacin. Nalezení této látky ve vzorcích poukazuje na možnost využití nádoby na uchovávání prosa.

Kromě archeologických nádob byly analyzovány rovněž jantarové korálky z lokality Oseku nad Bečvou. Pro tento účel byla použita infračervené spektroskopie. Tato metoda umožnila analyzovat vzorky bez předchozí přípravy. Při porovnání naměřených dat s doposud již publikovanými výsledky bylo zjištěno, že ve všech případech se jedná o zbytky jantarových šperků pocházejících od Baltského moře (tzv. Baltský jantar).

Summary

The diploma work is focused on the analysis of archaeological findings with regard to chemical composition of primeval vessels and geographical classification of amber jewels.

The aim of this diploma thesis was to analyze historical vessels found in the graves in connection with organic residues content. Its characterization allowed to assess the original material present in the vessels dated back to the Bronze Age. Analyzed vessels were delivered from four archeological locations Osek nad Bečvou, Držovice u Prostějova, Brodek u Prostějova and Trnávka.

Soil from each vessel was divided in five equal parts and extracted by four solvents with various polarity and pH: distilled water, basic methanol (0,05% ammonium hydroxide in methanol (v/v)), acidic methanol (1% formic acid in methanol (v/v)) and acetone. These extracts were analyzed by matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI-MS) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Several signals (m/z values) found by MALDI-MS appeared to be specific markers of organic residues. Those markers were ascribed to sodium adducts of fatty acids, monoacylglycerols or triacylglycerols. Moreover, salts of uric acid and quaternary ammonium salts (classified as contaminants) were found in the soil creating the fill of the studied vessels. Miliacin was found in some samples by GC/MS technique as well. This presence of this compound indicate, that vessels may contained millet.

Besides, amber beads in the region of Osek nad Bečvou were studied by infrared spectroscopy with no sample pretreatment. It was concluded from the obtained data that the analyzed amber beads originate from Baltic region.

Obsah	
1. Úvod.....	9
2. Doba bronzová.....	10
2.1. Únětická kultura.....	11
2.2. Nitranská kultura.....	11
2.3. Mohylová kultura a kultura popelnicových polí	11
2.4. Keramika	11
2.5. Pohřební ritus	13
2.6. Hospodářství.....	16
3. Organická rezidua a pozůstatky barev v archeologických nádobách	16
3.1. Odběr vzorku.....	17
3.2. Úprava vzorků před analýzou.....	17
3.3. Nejběžnější skupiny organických látek nalezené v archeologických vzorcích	18
3.3.1. Lipidy	18
3.3.2. Proteiny	19
3.3.3. Pryskyřice a triterpeny	20
3.4. Analýza látek v archeologických vzorcích podle použité metody	22
3.4.1. Hmotnostní spektrometrie	23
3.4.2. Infračervená a Ramanova spektrometrie.....	31
3.4.3. Elektronová mikroanalýza.....	34
3.4.4. Plynová chromatografie	35
4. Experimentální část.....	40
4.1. Chemikálie	40
4.2. Popis analyzovaných vzorků	40
4.3. Příprava vzorků.....	44
4.4. Metody.....	45
4.4.1. Statistické zpracování dat.....	46
5. Výsledky a diskuse	47
5.1. Archeologické nádoby.....	47
5.1.1. Osek nad Bečvou.....	47
5.1.2. Držovice u Prostějova	58
5.1.3. Brodek u Prostějova	60
5.1.4. Trnávka.....	65
5.2. Jantarové korálky	66
6. Závěr.....	68
Seznam použité literatury.....	70
Přílohy	75

Seznam použitých zkratk

APCI	Chemická ionizace za atmosférického tlaku
APPI	Fotoionizace za atmosférického tlaku
ATR	Zeslabená úplná reflektance
CE	Kapilární elektroforéza
DART	Přímá analýza v reálném čase
DB	Doba bronzová
DESI	Desorpční elektrosprej
DRIFT	Difúzní reflektance infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací
ECD	Detektor elektronového záchytu
EDTA	Ethylendiamintetraoctová kyselina
ELISA	Enzymem značená imunoanalýza
EPMA	Elektronová mikroanalýza
ESI	Elektrosprej
FID	Tepelně vodivostní detektor
FPD	Plamenofotometrický detektor
FT-IR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
FT-RAMAN	Ramanova spektroskopie s Fourierovou transformací
C _x :DB _y	x – počet uhlíků v molekule, y – počet dvojných vazeb v molekule
GC-C-IRMS	Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií izotopových poměrů
GC/MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GLC	Plynová rozdělovací chromatografie
GSC	Plynová adsorpční chromatografie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HTGC/MS	Vysokoteplotní plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
IR	Infračervené spektroskopie
KE	Kolizní energie
LC	Kapalinová chromatografie
MALDI	Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací za přítomnosti matrice
μXRD	Rentgenová difrakční mikroanalýza
μXRF	Rentgenová fluorescenční mikroanalýza
nanoESI	Nanoelektrosprej
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NPD	Detektor dusík fosfor
obj.	Objekt
PIXE	Emise rentgenového záření indukovaná částicemi
PLOT	Kapilární kolona s adsorbentem zachyceným na kapiláře
RI	Relativní intenzita vztažená k základnímu píku ve spektru
SCOT	Kapilární kolona s kapalným polymerem na nosiči
SEM-EDX	Skenovací elektronový mikroskop s energiově disperzním spektrometrem
TAG	Triacylglycerol
TCD	Tepelně-vodivostní detektor
THAP	Trihydroxyacetofenon
TOF	Analyzátor doby letu
WCOT	Kapilární kolona s kapalným polymerem na vnitřní straně kapiláry
XRD	Rentgenová difrakce

1. Úvod

V současné době se pohled lidstva upírá dvěma směry. Jednak do budoucna – jak lidé budou žít, kolik jich tu vlastně bude, jak bude pokračovat vývoj vědy a techniky, a jednak do minulosti – jak lidé žili, co jedli, jestli a jak cestovali, jak byli pohřbíváni a zda věřili v posmrtný život. Studium časové kontinuity potom umožňuje pochopit vlastnosti a osud lidstva a tyto znalosti využít v jeho prospěch. Studium historie lidstva zahrnuje ve své moderní podobě řadu vědeckých oblastí a vyžaduje spolupráci mnoha odborníků, analytického chemika nevyjímaje. Tato práce byla sepsána za cílem detailnějšího pochopení pohřbívacího zvyku lidí v době bronzové (tj. 2 000 – 750 př. n. l.), konkrétněji zda nádoby, které byly hojně nacházeny v hrobech, obsahovaly potraviny či jiný organický materiál.

Vedle toho byly analyticky charakterizovány pravěké jantarové korálky za účelem určení geografického původu jantaru, ze kterého byly vyrobeny.

Metodologicky byly v této studii použity spektroskopické techniky, infračervené a hmotnostní spektrometrie, a kombinace plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

Vzhledem k tomu, že v našem případě nebylo předem známo, jaký typ materiálu nádoba obsahovala (zda proteiny, lipidy, nukleotidy aj.), byl použit necílený screening s využitím hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpční/ionizací za přítomnosti matrice (MALDI-MS). Cílem analýzy bylo nalezení markerů (hodnot m/z) organického materiálu. Ke zpracování dat bylo použito statistických nástrojů, především Analýzy hlavních komponent (PCA) a pro hodnocení významu jednotlivých markerů rovněž Ortogonální projekce do latentních struktur (OPLS). Pro analýzu těkavějších složek byla použita plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS) a pro určení původu jantarových korálků byla použita infračervená spektroskopie jako nedestruktivní metoda zaručující vrácení nepoškozeného archeologického materiálu do sbírek bez jejich poškození.

2. Doba bronzová

Nejstarší období dějin lidstva je pravěk. Tato éra dějin trvala přes 3 miliony let a nebyla zachycena písemnými prameny. Dělí se na tři velká období, označované podle využívaných surovin, na dobu kamennou, bronzovou a železnou. Doba kamenná zahrnuje období od vzniku lidstva až po používání jednoduchých kamenných nástrojů. Dělí se na paleolit, mezolit, neolit a eneolit. Poté nastává doba bronzová, která je podrobněji popsána níže. V době železné, která se dělí na starší dobu halštatskou a mladší dobu laténskou, dochází k vývoji metalurgie.¹

Doba kamenná	Paleolit	3 mil – 8 000 př. n. l.
	Mezolit	8 000 – 6 000 př. n. l.
	Neolit	6 000 – 4 000 př. n. l.
	Eneolit	4 000 – 2 000 př. n. l.
Doba bronzová	Starší	2 000 – 1 500 př. n. l.
	Střední	1 500 – 1 250 př. n. l.
	Mladší	1 250 – 1 000 př. n. l.
	Pozdní	1 000 – 750 př. n. l.
Doba železná	Doba halštatská	750 – 450 př. n. l.
	Doba laténská	450 – začátek našeho letopočtu

Tabulka 1: Jednotlivé části pravěku a jejich periodizace.

Vzhledem k tomu, že doba bronzová (DB) je v různých částech světa jinak datována (s menšími či velkými odchylkami od „průměru“), bude následující text zaměřen pouze na DB na území Čech a Moravy. DB na Moravě je datována od roku 1 900 př. n. l. do roku 750 př. n. l. Toto období je označováno podle nově objevené slitiny mědi a cínu – bronzu, který začal být využíván k výrobě mnohých nástrojů, zbraní, ozdob aj. Bronz, co se týče jeho vlastností, je vhodnější než samotná měď, neboť má nižší teplotu tání, vyšší kvalitu lití, lepší kovatelnost a především lepší vzhled finálního výrobku.²

Doba bronzová se dělí na čtyři části: starší, střední, mladší a pozdní (viz Tabulka 1). Starší doba bronzová je charakterizována především Únětickou kulturou, která se projevila na většině území Moravy, na rozdíl od Nitranské kultury, která je historicky doložena pouze na východ od řeky Moravy. Ve střední době bronzové se rozšířila tzv. Mohylová kultura, kdy se uplatňovalo pohřbívání mrtvých do mohyl. V mladší a pozdní době bronzové se uplatňovala kultura tzv. popelnicových polí, charakterizována pohřbívání žehem.³

2.1. Únětická kultura

Pro starší dobu bronzovou, jak již bylo zmíněno, je charakteristická Únětická kultura. Toto označení kultura získala podle pohřebiště v Úněticích u Roztok. Toto pohřebiště prozkoumal v 70. – 80. letech dvacátého století lékař a archeolog Čeněk Rýzner. Únětická kultura, která se vyznačovala především keramickou tvorbou, se nacházela na území středního Německa, jižního Polska a táhla se dále přes Čechy a Moravu až po jihozápad Slovenska a Dunaj v Dolním Rakousku.⁴ Pramenem pro poznání kultury jsou hromadná naleziště keramiky nebo bronzových předmětů.

2.2. Nitranská kultura

Tato kultura, jak bylo zmíněno, se projevila na východě od řeky Moravy, kde byla nalezena pouze pohřebiště. Jde zejména o lokality na Slovensku. Pro tuto kulturu je charakteristická bronzová industrie ve tvaru vrbového listu. Dále se vyskytovaly i kamenné předměty (sekery) a výrobky z kostí (jehlice a ozdoby pro muže a ženy).⁵

2.3. Mohylová kultura a kultura popelnicových polí

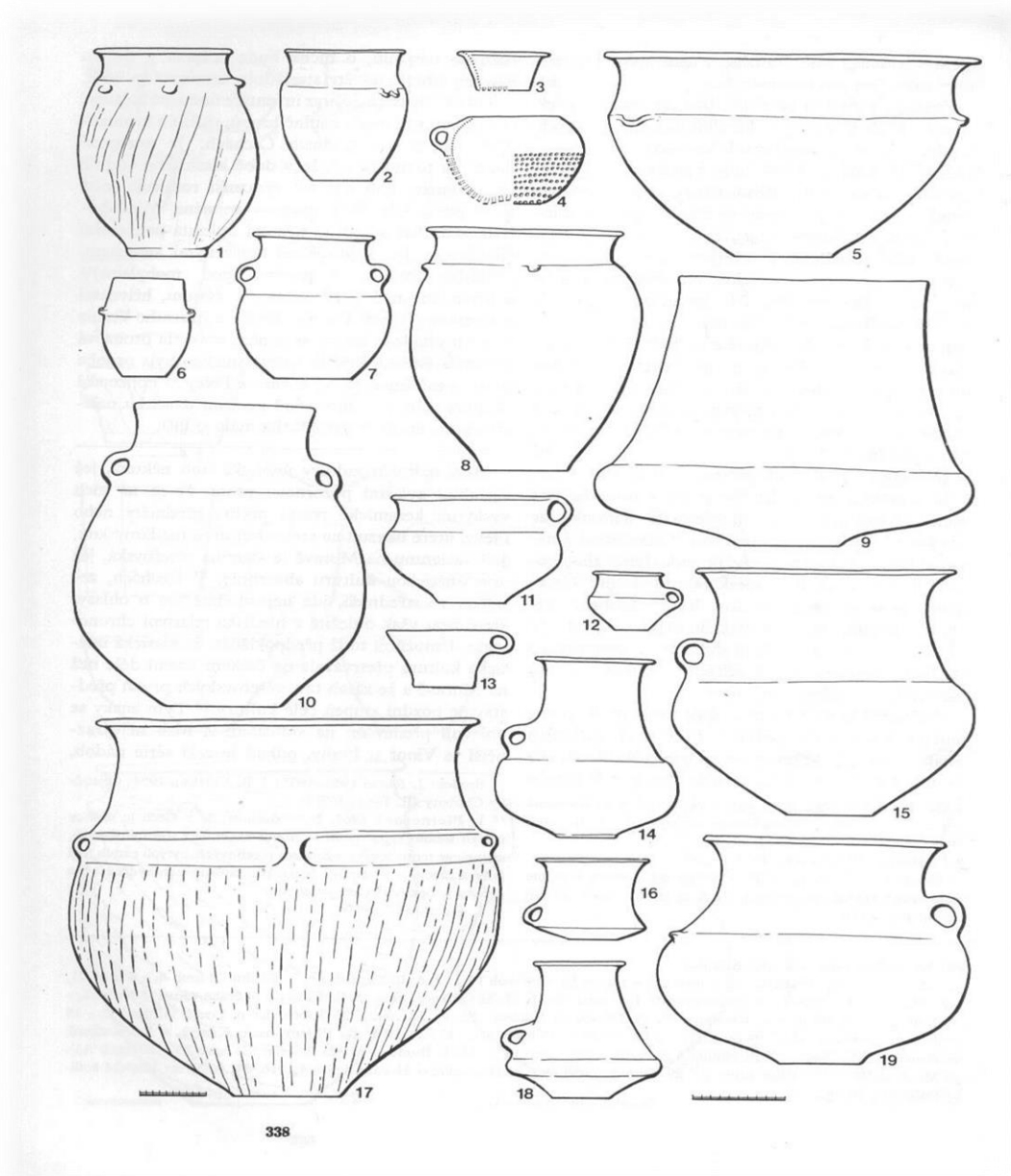
Obě období jsou pojmenovány na základě pohřbívacích zvyků. V mohylové kultuře se uplatňovalo pohřbívání do mohyl, naproti tomu druhé období je pojmenováno podle uren-popelnic, do kterých byly vkládány spálené tělesné pozůstatky. Na naše území zasahovalo odvětví středodunajské a lužické kultury popelnicových polí.

2.4. Keramika

Keramika byla vyráběna především z jílovité hlíny, která musela být před samotným zpracováním zbavena nečistot. Samotný proces vypalování se stával ze tří odvětví – oxidační vypalování, redukční a oxidačně-redukční.² Společným krokem oxidačního i redukčního vypalování byla počáteční fáze procesu, kdy docházelo ke spálení organických látek za přístupu vzduchu. V případě, že vypalování i nadále pokračovalo v oxidační atmosféře za přístupu kyslíku, se přítomné kovy oxidovaly na své oxidy a vznikala keramika se světlým zbarvením. Při redukčním vypalování byl nutné zamezit dalšímu přístupu kyslíku, čehož mohlo být dosaženo např. typem použité pece nebo druhem paliva (pálením čerstvého dřeva). Redukční výpal mohl vznikat i v prvotních částech výpalu, a to tak, že vypalování probíhalo za nedostatečného přístupu vzduchu či za nízkých teplot. Při redukčním vypalování vznikala šedá a tmavě zbarvená keramika (docházelo k redukci oxidů kovů na čisté kovy). Při vypalování

oxidačně-redukčním byla vytvářena keramika s barvou načervenalou. Na základě absence nálezů, které by mohly připomínat hrnčířské pece, se předpokládá vypalování bez specializovaných pecí. Tvarování keramiky probíhalo v rukách bez hrnčířského kruhu.

Modelace hlíny a samotné vypalování muselo být přizpůsobeno druhu vyráběného zboží, např. zda šlo o keramiku denní potřeby či o keramiku pohřební. Malé keramické nádoby mohly vyrábět i ženy, a o výrobu dalších nádob včetně velkých zásobnic se starali muži. Velká část práce byla věnována povrchové úpravě a výzdobě nádob. Nádoby mohly být i malovány minerálními či organickými barvivy.⁶ Mezi základní keramické nádoby patří hrnce, hrnky, mísy, koflíky, pohárky, amfory a šálky (viz Obrázek 1). Byly nalezeny například tmavě leštěné široké džbány, malé bezuché pohárky, šálek s uchem, osudíčka, která se vyskytovala jako milodary v únětických hrobech.⁷



Obrázek 1: Únětická keramika ze sídlišť (3,4 – cedníky; 6, 7, 10 – amfory; 12, 13, 16 – koflíky; 14, 18 – džbánky)⁸

2.5. Pohřební rítus

Únětická kultura

Lidé byli pohřbíváni do hrobů. Hrobové jámy byly většinou obdélníkového tvaru. V některých případech byly hroby vysypány pískem nebo bylo kameny vydlážděno jejich dno. Hroby byly označeny kamenným či dřevěným symbolem. Ve starší době a především na Moravě byli zemřelí ukládáni do dřevěných rakví, které byly vyrobeny z kmenů velkých

stromů. Pohřebiště byla většinou oddělena od sídlišť a obydlených areálů. Na Moravě byly ovšem nalezeny kosterní pozůstatky i přímo v areálu osady. Mrtví byli pohřbíváni ve skrčené poloze na pravém boku, hlavou k jihu a tváří k východu, paže pokrčené před trupem, směřující k lebce.⁹ V menší míře se vyskytují i jiné polohy mrtvých, jako například s hlavou k severu (ale vždy obličejem k východu) nebo ve skrčené poloze na levém boku. Většinou byla každá osoba pohřbívána samostatně, ale vyskytují se i hroby s více osobami nebo hroby muže a ženy dohromady, někdy i s dítětem.

Součástí hrobů byly i další předměty. Většinou se jednalo o praktické věci denní potřeby jako např. nádoby s potravinami (někdy byly nalezeny zvířecí kosti i mimo keramickou nádobu). Dále se u žen se zpravidla nacházely ozdoby – náramky, náhrdelníky, vlasové ozdoby a jehlice. Vlasové ozdoby byly většinou nalezeny v sudém počtu u lebky zesnulé. Náhrdelníky, které měla žena na sobě při pohřbení, byly uloženy v hrobě v horní části hrudníku kostry. Naopak, byl-li náhrdelník nalezen u pánve kostry, zpravidla se jednalo o milodar, který byl do hrobu vložen samostatně.⁷ V hrobech mužů se objevovaly spíše nástroje a zbraně, u dětí jehlice na sepnutí oděvu. Dále se mohly objevit i kostěné předměty.

Jak v Únětické kultuře, tak v mnoha dalších kulturách byly časté případy sekundárních zásahů do hrobů. Tomu se většinou stávalo ze dvou různých důvodů. Ten první je, že do hrobu byl přidán další jedinec a tudíž byly ostatky prvotně pohřbené osoby odsunuty. Tím druhým a častějším důvodem je vykrádání hrobů za účelem obohacení se. Autor Podborský popisuje, že mezi často kradené věci patřily drahocenné kovové předměty, přičemž keramika a kostěné předměty v hrobech často zůstaly.³ Vykrádání hrobů probíhalo již na konci starší doby bronzové.

Nitranská kultura

Pohřbívalo se většinou do hrobů, muži na pravém boku a ženy na levém boku, tváří k jihu (viz Obrázek 2). Do hrobu byly vkládány potraviny jako maso, což dokazují nálezy zvířecích kostí, dále pak šperky (u žen korálky z parohu, kostí), náradí či zbraně. Keramika se v hrobech objevovala jen výjimečně.⁵



Obrázek 2: Ukázka způsobu pohřbívání z lokality v Oseku nad Bečvou (hrob ženy, Nitranská kultura).

Mohylová kultura

V tomto období se v Čechách uplatňovaly dva druhy pohřbívání, a to kostrové pohřby a pohřby žehem. Kremace se prováděly pálením dubového dřeva s přidavkem jehličnanů (pro vůni) nebo dalších listnatých stromů (pro rychlé vzplanutí). Popel byl vysypán na zem, případně na podložku ze dřeva či kamene.¹⁰ U hrobů kostrových se nejdříve pohřbívalo ve skrčené poloze, následně i v poloze natažené.

Charakteristickým znakem bylo pohřbívání do mohyl, které se vyskytovaly převážně v jižních a západních Čechách, nebo do plochých hrobů. Mohyly se stavěly na rovinách nebo na mírných svazích. Na Moravě byly mohyly tvořeny převážně z hlíny, výjimečně byly po obvodu z kamene. Mohyly mohly být malé nebo velké (až 140 cm) a pod jednou mohylou mohly být zpravidla jeden až tři hroby.³ Součástí hrobového inventáře byly keramické nádoby (většinou 1 až 3 nádoby) a bronzové předměty (dýky, meče, jehlice, náramky). V hrobech byly taktéž nalezeny větší či menší jantarové korálky.¹¹

Kultura popelnicových polí

V tomto období se využívalo kremace. Mrtvý byl se svými věcmi spálen na hranici, jeho kosti byly rozdrceny a jeho pozůstatky byly uloženy buď do urny – popelnice nebo přímo do

jámy. Následně byly jámy zasypány hlínou. Součástí hrobů mohla být keramika a bronzové předměty, příp. výrobky z kostí nebo jantaru.³

2.6. Hospodářství

V době bronzové bylo hlavním zdrojem obživy zemědělství, což dokládají nálezy zuhelnatělého obilí. Mezi nejstarší pěstované rostliny patřila pšenice jednozrnka a dvouzrnka, které jsou známy již z nálezů mladší doby kamenné. Do této kategorie lze zařadit i ječmen, který byl pěstován do mladší doby bronzové, ale později poměrně vzácně. Významné se stává pěstování prosa, jež se používalo pro vaření kaše. Pouze sporadicky se pěstovala pšenice špalda a oves, který byl spíše součástí plevelu. Z luštěnin se pěstovala čočka setá a hrách setý, který byl ve starší a mladší době bronzové více využívanou luštěninou oproti čočce. V mladší době bronzové byla prokázána přítomnost bobu koňského a od pozdní doby bronzové hrachoru setého. Jak na výrobu oleje tak jako textilní plodina se pěstoval len setý. Lnička setá využívaná pro přípravu oleje, a mák setý patřily taktéž mezi pěstované plodiny.¹²

Dále se lidé zabývali chovem zvířat. Pro získávání masa to byl skot, prasata a ovce. Mléko bylo získáváno od krav. Mezi běžně lovenou zvěř patřil jelen, srnec, tur divoký, medvěd, vlk, liška, jezevec, zajíc či bobr. Rovněž rybolov a sběr říčních škeblí patřil mezi významné zdroje potravy. Ojediněle se objevuje kur domácí.³ Postupně rostl význam koně (domestikace proběhla v eneolitu, avšak až v době bronzové začal být kuň využíván k tahu).¹³

3. Organická rezidua a pozůstatky barev v archeologických nádobách

Chemická analýza organických reziduí je důležitou součástí výzkumu archeologických nálezů. Může nám poskytnout cenné informace o životě lidí v minulosti, zejména o složení jejich stravy, obchodních cestách nebo tradicích pohřbívání.

Organické látky (především jako součásti potravin) mohou být částečně ochráněny před biologickou degradací v keramických nádobách. Proto je výzkum jejich obsahu velmi důležitý. O tom, zda se tato rezidua zachovají několik set až tisíce let v nádobách, rozhoduje více faktorů, zejména teplota, vlhkost, pH či vystavení světlu. Po rozložení většiny organických látek je jejich malá část těchto látek zachycena v pórech, kde jsou chráněny před působením enzymů produkovanými mikroorganismy.¹⁴ Takto zachovaná rezidua jsou analyzována různými metodami, které jsou dále popsány níže. Následně může být určeno, co v nádobách bylo skladováno.

3.1. Odběr vzorku

Je důležité zmínit, že velkou mírou se na výsledcích experimentu podílí samotný proces zacházení se vzorkem. Vzorek bývá nejčastěji kontaminován dvěma způsoby: nedbalý odběr vzorku a špatné uložení vzorku. Oba tyto případy vedou k zanesení vzorku recentními látkami, které limitují či dokonce znemožňují identifikaci organických reziduí ve vzorku. Nejčastějšími recentními kontaminanty archeologických vzorků jsou ftaláty (průmyslová změkčovadla plastů), skvalen (lidský maz) a kvartérní amoniové sloučeniny (povrchově aktivní látky). Pro zamezení kontaminace vzorků během odběru je potřeba se vyvarovat konzumaci potravin a nápojů, kouření atd. v blízkosti odběrného místa a zabránit kontaktu vzorku s lidským mazem (rukavice, např. latexové nebo nitrilové).¹⁵ Málo vhodný materiál pro uchování vzorku je plast. Například v běžných uzavíratelných plastových sáčcích může docházet k uvolňování řady látek (kontaminantů), které jsou následně absorbovány vzorkem. Vliv složení plastových obalů na vzorek a nalezení polymerního materiálu vhodného pro účely odběru a skladování archeologických materiálů by mělo být dále kriticky zkoumáno. Vhodný materiál pro uchování vzorku je papír (papírový sáček), výbornou variantou je použití skla (skleněných odběrových nádob) a dobrou možností je i obalení vzorku hliníkovou folií.

3.2. Úprava vzorků před analýzou

Analýze samotných organických reziduí z archeologického materiálu většinou předchází extrakce látek do rozpouštědla v ultrazvukové lázni. Vzorek bývá z povrchu nádoby seškrabáván, případně se do nádoby vyvrtají malé otvory a získaný prášek (z vnitřní stěny nádoby) je vybrán a poté extrahován. Extrakčním činidlem může být mimo jiné i směs chloroformu a methanolu. Kombinace těchto rozpouštědel byla použita při analýze mastných kyselin.¹⁶

Extrakce může být provedena i okyseleným methanolem, který je vhodnější pro extrakci nízkých koncentrací lipidů – poskytuje vyšší výtěžek. Následně jsou generovány methylestery mastných kyselin, které mohou být analyzovány pomocí plynové chromatografie (GC) ve spojení s hmotnostní detekcí (GC/MS).¹⁷ Jako další extrakční činidla je možno použít hexan, zejména pro neutrální nepolární organické látky či aceton, který rozpouští pryskyřičné frakce.¹⁸ Aceton z přírodních pryskyřic rozpouští kalafunu, mastix, sandarak a šelak.¹⁹

3.3. Nejběžnější skupiny organických látek nalezené v archeologických vzorcích

3.3.1. Lipidy

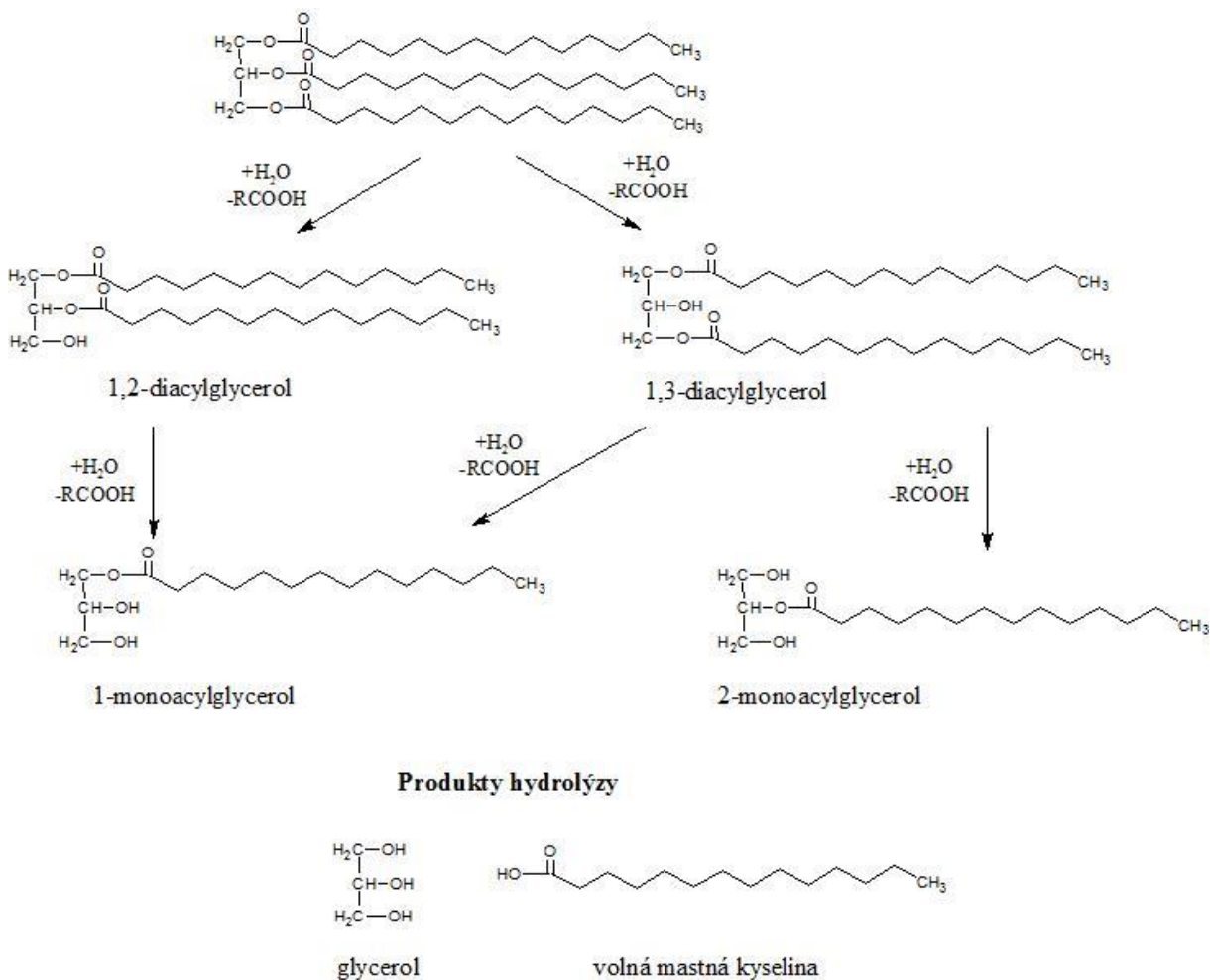
Mezi organické látky, které jsou nejčastěji předmětem zkoumání, patří lipidy. Jsou to látky nerozpustné ve vodě a rozpustné v organických rozpouštědlech jako je aceton nebo methanol, přičemž o vhodnosti organického rozpouštědla rozhoduje struktura lipidu přítomného ve vzorku.

Tuky jsou triacylglyceroly, kdy na glycerol jsou navázány nasycené i nenasycené vyšší mastné kyseliny, většinou se sudým počtem uhlíků, např. kyselina palmitová, stearová aj. Dlouhé uhlovodíkové řetězce mastných kyselin propůjčují lipidům hydrofobní vlastnosti. Ty zamezují vymývání tuků vodou. Tuky potom zůstávají deponovány v místě svého uložení a tam podléhají chemickým a mikrobiálním změnám.²⁰ Rezidua lipidů jsou charakterizována obsahem volných mastných kyselin, mono-, di- a triacylglycerolů. Schéma odbourávání tuků je na Obrázku 3.²¹ Uvolněné mastné kyseliny podléhají β -oxidaci a redukčním procesům, což vede ke ztrátě nenasycených mastných kyselin. Mastné kyseliny s krátkými až středně dlouhými řetězci, které vznikly z oxidačních procesů, jsou více rozpustné ve vodě ve srovnání s mastnými kyselinami s dlouhým uhlíkatým řetězcem, a tudíž přítomnost degradovaných lipidů v archeologických nádobách je charakterizována vysokou koncentrací kyseliny palmitové a stearové.²²

Lipidy, které jsou za normálních podmínek pevné látky, jsou většinou živočišného původu a jsou označovány jako tuky. Naopak, oleje jsou rostlinného původu a za normálních podmínek jsou to kapaliny. Živočišné tuky v porovnání s rostlinnými obsahují více kyseliny stearové než palmitové, zatímco u rostlinných olejů je tomu naopak.²⁰ Poměru mastných kyselin využili autoři Evershed a kol., kteří pomocí GC/MS určili poměr kyseliny palmitové a stearové (přítomných v poloze 2 v molekule TAG) v archeologických vzorcích a určovali původ triacylglycerolů (poměr kyseliny palmitové ku stearové u přežvýkavců byl 60:40, a u nepřežvýkavců 95:5).²¹

Dalšími hydrofobními složkami potravin, které jsou nacházeny v archeologických vzorcích, jsou zbytky olejů. Oleje se dělí na vysychavé a nevysychavé. Nevysychavé (požitelné) oleje nepolymerují, když jsou vystaveny okolnímu vzduchu, ale po dlouhodobé expozici žluknou (oxidují), což se projeví především zápachem. Nejznámějším zástupcem této skupiny olejů je olivový olej. Vysychavé oleje na vzduchu polymerují a vytváří polymerní film. Tyto oleje byly používány jako laky a impregnační nátěry. Mezi tento druh olejů patří olej lněný.²³

Dalšími, často studovanými látkami ze skupiny lipidů jsou vosky. Většina vosků je silně hydrofobní a proto mají výborné voděodolné (izolační) vlastnosti. Nejrozšířenějším voskem je vosk včelí. Ten je produkován jako bílá látka, která tmavne, pokud je kontaminována. Včelí vosk je charakterizován přítomností monoesterů se sudým počtem uhlíků, n-alkanů s lichým počtem uhlíků a volnými nasycenými mastnými kyselinami se sudým počtem uhlíků.²⁴



Obrázek 3: Hydrolýza tuků – triacylglyceroly hydrolyzují na volné mastné kyseliny.²¹

3.3.2. Proteiny

Proteiny jsou makromolekuly složené z více než stovky aminokyselin, které jsou vzájemně propojené peptidovou vazbou mezi aminoskupinou a karboxylovou skupinou jednotlivých aminokyselin. Proteiny mohou denaturovat v důsledku ztráty vody a stárnutí, čímž se mění jejich terciární a kvartérní struktura, a tudíž se mění i jejich vlastnosti, jako je rozpustnost

a reaktivita. Vzhledem k tomu, že různé proteiny mají různé vlastnosti nelze využít jedné metody k detekci všech proteinů.

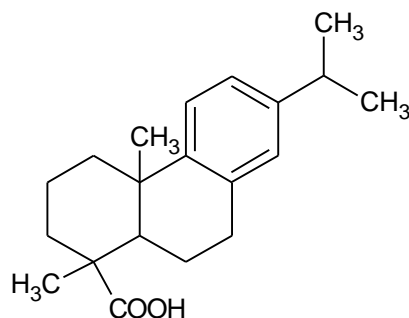
Proteiny jsou významnou součástí stravy, a proto jsou jejich rezidua a produkty přeměn nacházeny v archeologických nádobách. Mezi často se vyskytující proteiny patří kasein, který je obsažen v mléce, dále pak kolagen, který je součástí chrupavek a kostí, či keratin jako součástí chlupů a vlasů. Proteiny byly součástí pojiv barev, lepidel textilií či pergamenu.²⁵

Pro studium a důkaz proteinů se kromě chemických instrumentálních metod (nukleární magnetická rezonance, hmotnostní spektrometrie) dají využít i biochemické metody, zejména ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Tato technika využívá specifické reakce antigen-protilátka. Pro její využití je třeba disponovat vhodnými protilátkami. Metoda je nenáročná, relativně jednoduchá, dá se automatizovat a k analýze postačí malé množství vzorku. Je použitelná lépe pro kvalitativní analýzu na základě zbarvení, než pro analýzu kvantitativní. ELISA byla použita pro analýzu úlomků kostí, které pocházely od prasete, ovci a skotu.²⁶ Přítomnost proteinů byla potvrzena žlutým zbarvením roztoku, přičemž pozitivní reakce pro skot byla značně slabší, než tomu bylo v případě prasat a ovci. Důvodem slabší reakce byla pravděpodobně genetická variabilita mezi pravěkými a novodobými populacemi domestikovaných zvířat.

3.3.3. Pryskyřice a triterpeny

Pryskyřice jsou přirozeně se vyskytující organické látky, které jsou produkovány rostlinami. V minulosti se pryskyřice používala jako těsnicí materiál k pokrytí povrchu keramiky za účelem vytvoření nepropustné vrstvy. Pro svoji hořlavost se využívala rovněž jako zdroj světla.²⁷

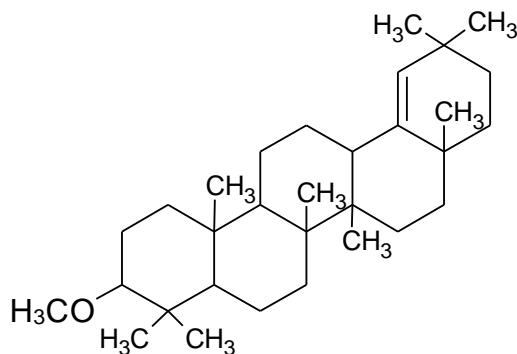
Pryskyřice jsou ve vodě nerozpustné látky, složené především z terpenů. Obsahují těkavé i netěkavé frakce. Pryskyřice studované v archeologických nálezech přežívají v anaerobním prostředí (ochrana proti oxidaci). Mezi fosilní pryskyřice patří jantar – tvrdá pryskyřice (složená z mono a diterpenů), která se převážně vyskytuje na pobřeží Baltského moře a v západní části Jutského poloostrova. Terpenoidy podléhají chemickým změnám a možným markerem pro letité pryskyřice rodu *Pinus* (borovice) se zdá být dehydroabietová kyselina (viz Obrázek 4), která se v čerstvých (nových) pryskyřicích vyskytuje jen vzácně.²⁷



Obrázek 4: Dehydroabietová kyselina.

Daher a kol. (2013) studovali pomocí infračervené a Ramanovy spektrometrie s Fourierovou transformací (FT-IR, FT-Raman) různé vzorky pryskyřic, které se vylučují z různých druhů stromů, a tudíž mají i různé chemické složení. Analýza nálezů pryskyřic a jejich porovnání s pryskyřicemi z různých stromů z různých geografických oblastí je možný způsob, jak získat cenné informace o migraci obyvatelstva.²⁸

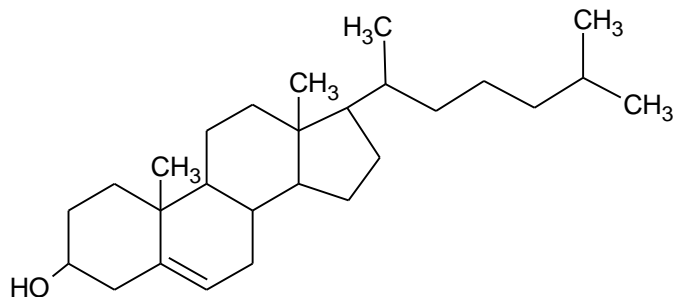
Triterpeny jsou látky obsahující šest isoprenových jednotek (2-methyl-buta-1,3-dien) a mohou tvořit tetracyklické nebo pentacyklické struktury. Jsou to přírodní látky, které se vyskytují hlavně v rostlinách. Do této skupin látek patří látka miliacin (viz Obrázek 5), která je především obsažena v prosu setém (hlavně v semenech). Půda, na které se proso pěstuje nebo pěstovalo je poté bohatá na miliacin, čehož může být využito při studování historie kultivace prosa.²⁹



Obrázek 5: Miliacin.

Další skupinou látek detekovaných v archeologických nálezech jsou steroidy. Mezi nimi zvláštní pozornost zasluhuje cholesterol vyskytující se v živočišných tkáních (struktura viz Obrázek 6). Může se vyskytovat jako volný nebo esterifikovaný s navázanou mastnou kyselinou, jako je např. kyselina palmitová, stearová, olejová nebo linolová. Látky chemicky podobné cholesterolu jsou β -sitosterol a stigmasterol, které se řadí do skupin fytosterolů, jež se vyskytují v rostlinách. Fytosteroly jsou nerozpustné ve vodě a rozpustné v organických

rozpouštědlech. Stigmasterol se vyskytuje v sójovém oleji, luštěninách a v nepasterizovaném mléce. Součástí kukuřičného oleje je β -sitosterol, který lze izolovat z klíčků pšenice. I tyto látky mají pro archeologii svůj diagnostický význam.



Obrázek 6: Cholesterol.

3.4. Analýza látek v archeologických vzorcích podle použité metody

Mezi nejčastěji používané metody pro analýzu organických reziduí v archeologickém kontextu patří hmotnostní spektrometrie (MS). Vzhledem ke komplexnosti vzorků je třeba tuto metodu spojit s vhodnou separační technikou, jako je plynová (GC) nebo kapalinová (LC) chromatografie. Dále se využívá infračervená spektrometrie (IR) nebo Ramanova spektrometrie. Možnosti hmotnostní, infračervené a Ramanovy spektrometrie budou detailněji popsány níže.

V analýze archeologických materiálů našla své uplatnění i nukleární magnetická rezonance (NMR). Tato metoda nepatřila mezi nejčastěji používané v daném odvětví a to proto, že analýza pomocí NMR byla omezena na kapalné vzorky, popř. roztoky, což u řady archeologických vzorků, jako je například keramika, nebylo možné. Nicméně postupem času došlo k vylepšení NMR a ta následně umožnila i analýzu pevných vzorků. Pro studium organických molekul se využívají především ¹H a ¹³C spektra. Pomocí NMR byly zkoumány oleje, vosky, kosti, rezidua potravy, jantar aj.³⁰

Leon a kol. použili metodu PIXE (partical induced X-ray emission) k analýze dekorativní vrstvy na keramice. Tato metoda je rychlá, pracuje s dobrou přesností a bez poškození vzorku. Vzhledem k tomu, že hloubka zóny, kam zasáhne paprsek, by byla větší než tloušťka tenké dekorativní vrstvy, musela být standardně používaná energie protonů 3 MeV snížena na 1,5 MeV.³¹ Získané výsledky byly srovnatelné s elektronovou mikrosondou, která je další dobře využitelnou technikou pro studium archeologických vzorků (viz kapitola 3.4.3. Elektronová mikroanalýza).

3.4.1. Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je analytická metoda, která nám může poskytnout informace o kvalitativním i kvantitativním složení daného vzorku.

Nejdříve je analyzovaná látka ionizována. Vzniklé ionty vstupují do analyzátoru, kde jsou rozděleny podle poměru hmotnosti ku náboji (m/z), a poté do hmotnostního detektoru, kde jsou ionty detekovány. Získané spektrum je zaznamenáno jako závislost intenzity (počtu dopadajících) iontů na jejich hodnotách m/z .

Pomocí hmotnostní spektrometrie lze získat informaci o rodičovských iontech. Tyto ionty jsou produkovány při použití měkkých ionizačních technik, přičemž vysokého výtěžku se dá získat použitím malé kolizní energie. Píky ve spektru jsou doprovázeny izotopickými píky o vyšší (v některých případech i nižší) hodnotou m/z .³² V případě vysokorozlišujících strojů můžeme navíc získat informace o elementárním složení. Pro zjištění struktury analytu jsou nápomocné jeho fragmenty. Ty mohou vznikat použitím tvrdých ionizačních technik nebo měkkých ionizačních technik s vyšší kolizní energií. Hmotnostní spektrometrie může být využita i ve spojení s iontovou mobilitou. V takovém případě dochází k separaci iontů na základě jejich kolizních průřezů.

Hmotnostní spektrometrie se dále využívá v kombinaci s některou separační technikou, jako je např. plynová nebo kapalinová chromatografie. V obou případech dochází nejdříve pomocí chromatografického procesu k separaci látek, přičemž tyto látky mohou být dále identifikovány na základě získaných hmotnostních spekter.

3.4.1.1. Iontové zdroje

V průběhu vývoje hmotnostní spektrometrie byla zkonstruována celá řada iontových zdrojů umožňujících přímou analýzu vzorku i analýzu složek směsi separovaných vhodnou technikou. Různé iontové zdroje umožňují podle svého principu a konstrukce použití různých ionizačních technik, které jsou v dalším textu krátce popsány.

Ionizační techniky se dělí na měkké a tvrdé. Tvrdá ionizační technika je např. elektronová ionizace, kdy se k ionizaci používá velké množství energie elektronů (70 eV), což má za následek bohatá fragmentační spektra. Pro tuto hodnotu energie elektronů vznikají databáze spekter organických látek.

Měkkými ionizačními technikami je, jak již bylo uvedeno, naopak možno získat s vysokým výtěžkem rodičovské ionty. Mezi měkké ionizační techniky patří např. chemická ionizace.

U této techniky dochází nejprve k ionizaci reakčního plynu a následně poté je ion-molekulovými reakcemi s reakčním plynem ionizován analyt.

Nejčastěji využívanou ionizační technikou za atmosférického tlaku je elektrosprej, který bude detailněji popsán níže. Další metodou je chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI – atmospheric pressure chemical ionization), při které jsou ionizovány molekuly rozpouštědla, a to posléze ionizuje ion-molekulárními reakcemi analyt. Tato technika je vhodná pro analýzu polárních a středně polárních látek. Bývá nejčastěji používána v kombinaci s kapalinovou chromatografií.

Další způsob ionizace je fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI – atmospheric pressure photoionization). Tato metoda využívá k ionizaci fotony, které jsou produkovány UV lampou (často používaná je kryptonová výbojka). Nejdříve je fotony ionizován tzv. dopant, který následně ionizuje molekuly analytu. Mezi nejčastěji užívanými dopanty patří toluen nebo aceton. Tato metoda je vhodná pro ionizaci méně polárních až nepolárních látek.

Pro ionizaci lze využít i ambientní ionizační techniky, jejichž výhodou je, že ionizace probíhá za atmosférického tlaku, vzorek je přístupný během měření a není nutná žádná nebo jen minimální úprava vzorku před analýzou. Do této kategorie se řadí desorpční elektrosprej (DESI – desorption electrospray ionization) a přímá analýza v reálném čase (DART – direct analysis in real time). Vzorek je umístěn na vzorkovací destičce a v případě DESI je elektrosprejem přiváděno a ionizováno rozpouštědlo, které následně dopadá na vzorek, ze kterého se desorbují sekundární ionty. V případě DARTu dochází k ionizaci pomocí metastabilních excitovaných atomů helia, které ionizují molekuly vzorku.

3.4.1.1.1. Elektrosprej (ESI)

Ionizace pomocí ESI je nejčastěji využívanou ionizační technikou a probíhá následujícím způsobem: vzorek je zaváděn do sprejovací kapiláry, na kterou je vkládáno napětí, a na jejímž konci dochází ke zmlžování a vzniku nabitých kapiček. Zmlžování je nejčastěji podporováno proudem zmlžovacího plynu, který obtéká sprejovací kapiláru. Následně dochází k odpařování rozpouštědla, což vede ke zvyšování povrchové hustoty náboje, ke zmenšování poloměru kapiček a následně uvolnění iontů do plynné fáze.³³ Výtěžek ionizace je často podporován proudem sušícího plynu, kdy jsou odstraňovány neutrální částice a páry rozpouštědla. Tento plyn rovněž pomáhá zabránit vzniku nabitých klastrů, které jsou při použití této ionizace za atmosférického tlaku poměrně běžné. Nejběžnějším zmlžovacím a sušícím plynem je dusík.

Při ionizaci elektrosprejem dochází ke vzniku vícenásobně nabitých iontů a aduktů. Tento iontový zdroj je vhodný pro ionizaci vysoce až středně polárních látek. Ionizace elektrosprejem nachází své využití i při spojení hmotnostní spektrometrie s jinou separační technikou, jako je např. HPLC (vysokoučinná kapalinová chromatografie) nebo CE (kapilární elektroforéza).

Modifikací ESI vznikl nanoelektrosprej (nanoESI), který využívá nižšího průtoku vzorku přes úzkou sprejovací kapiláru (obvykle ve tvaru zúžené špičky). Tím je dosaženo tvorby menších kapiček a menší tvorby aduktů a klastrů. NanoESI má vyšší toleranci vůči kontaminaci vzorku solemi.³⁴

3.4.1.1.2. MALDI

Laserová desorpce/ionizace s využitím matrice je měkká ionizační technika, která dovoluje analyzovat velké, netěkavé a do určité míry i termicky labilní sloučeniny. Metoda využívá následujícího postupu. Nejdříve je malé množství vzorku smícháno s matricí a vzniklá směs je nanesena na MALDI destičku. Destička je poté vložena do iontového zdroje. Ve vakuu (méně často i za atmosférického tlaku) dochází k ozáření vzorku laserem a následně k desorpci iontů. Energie laseru je přednostně absorbována matricí, která sekundárně ionizuje analyt. Vzniklé ionty jsou iontovou optikou usměrněny do hmotnostního analyzátoru, kterým nejčastěji bývá TOF.

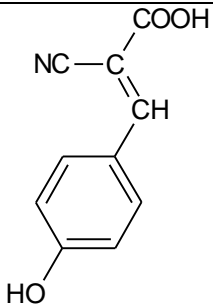
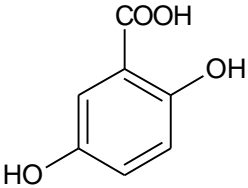
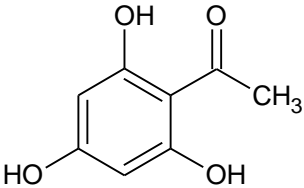
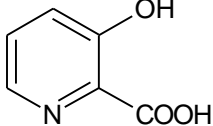
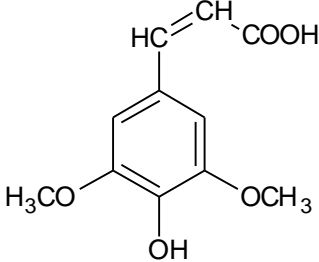
Matrice

Správný výběr matrice je důležitým krokem v celé analýze. Matrice musí mít silnou absorpci vlnové délky použitého laseru, dostatečně malou hmotnost, aby byla schopna sublimovat za laboratorní teploty a schopnost zprostředkovat ionizaci analytu. Zároveň musí být rozpustná v rozpouštědle, které je kompatibilní s analytem, málo reaktivní a stabilní za podmínek vakua.³⁵

Seznam nejčastěji používaných matric je v Tabulce 2 a 3, kde je i znázorněno, jaká matrice se hodí pro který typ vzorku.

Název	Struktura	Aplikace
Glycerol	$ \begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_2 \\ / \quad \backslash \\ \text{HO} \quad \text{OH} \end{array} $	Peptidy Proteiny
Jantarová kyselina	$ \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} $	Peptidy Proteiny

Tabulka 2: Seznam používaných matic pro IR-MALDI a oblasti jejich aplikace.

Název	Struktura	Aplikace
α -kyano-4-hydroxyskořicová kyselina		Peptidy Sacharidy
2,5-dihydroxybenzoová kyselina		Peptidy Proteiny Sacharidy
2,4,6-trihydroxyacetofenon		Proteiny Peptidy Sacharidy
3-hydroxypikolinová kyselina		Nukleové kyseliny
Sinapová kyselina		Peptidy Proteiny

Tabulka 3: Seznam používaných matic pro UV-MALDI a oblasti jejich aplikace.

Způsoby přípravy vzorku

Pro nanášení a přípravu vzorku a matrice je používáno více způsobů. Metoda „dried-droplet“ je založena na smíchání roztoku matrice a vzorku. Tato směs je nanášena na MALDI plate, následně vysušena a vznikající krystalky analytu a matrice jsou analyzovány. Na podobném

způsobu přípravy, kdy je kapka směsného roztoku matrice a vzorku na MALDI platu vysušena za pomoci vakua, je založena metoda „vacuum-drying“. Sušení za pomoci vakua snižuje velikost krystalků matrice-analyt, což má za následek zlepšení správnosti měření a reprodukovatelnosti. Za stejným účelem byla vyvinuta i další metoda „fast-evaporation“, při které je na MALDI destičku aplikován roztok matrice, na který je po odpaření rozpouštědla nanesen roztok vzorku. Pokud se na vysušený roztok vzorku aplikuje další vrstva směsného roztoku matrice a vzorku, mluvíme o „overlayer“ metodě. Při metodě „sandwich“ je nejdříve na MALDI destičku nanесena matrice, po odpaření rozpouštědla je na matici nanесen roztok vzorku, který je následně pokryt další vrstvou matrice. Na nanесení vzorku na MALDI destičku, jeho pokrytí maticí a promíchání obou roztoků pomocí pipetovací špičky ještě před tím, než dojde k vysušení směsi, je založena metoda „Quick & Dirty“.³⁶ Dalším způsobem je sublimace matrice na vzorek za sníženého tlaku a zvýšené teploty. Tato metoda nevyžaduje rozpouštědlo, a tudíž nedochází k difúzi analytu během nanášení matrice. Posledním způsob zahrnuje manuální sprejování matrice na vzorek, pomocí sprejů. Pro homogenní aplikaci je vhodné provádět sprejování při konstantní pokojové teplotě a nízké vlhkosti.³⁷

Lasery

Mezi nejběžnější UV lasery patří dusíkový laser, který emituje záření o vlnové délce 337 nm, což je vlnová délka nacházející se blízko absorpčního maxima často využívaných matic jako např. 2,5-dihydroxybenzoová kyselina, α -kyano-4-hydroxyskořicová kyselina a 3-hydroxypikolinová kyselina. Dalším využívaným laserem je yttrium aluminium granát dopovaný ionty neodymu Nd:YAG ($\lambda = 266$ nebo 355 nm). Mezi používané IR lasery patří yttrium aluminium granát dopovaný erbiem Er:YAG ($\lambda = 2,94$ μm) a CO₂ laser ($\lambda = 10,6$ μm).

Lasery jsou charakterizovány jejich emisí (vlnová délka, délka pulzu, energie pulzu) a vlastnostmi paprsku (jeho průměr a rozptyl). Délka pulzu laseru je obvykle mezi 0,5 ns a 25 ns pro UV lasery, a pro IR lasery mezi 5 ns a 100 ns. Energie na jeden pulz se pohybuje v rozmezí 10 – 100 μJ pro UV-MALDI, a 100 μJ – 1 mJ pro IR-MALDI.³⁸

MALDI imaging

Tato metoda umožňuje detekci, identifikaci a vizualizaci prostorové distribuce molekul a znázornění koncentračního profilu určité látky na povrchu vzorku. Imaging má své uplatnění zejména v medicíně, biologii farmakologii a v mnoha dalších odvětvích.

Vzorkem může být i samotná biologická tkáň. Následně se na vzorek aplikuje matrice. Jeden způsob je manuální aplikace matrice pomocí sprejů, za konstantní pokojové teploty a nízké vlhkosti. Druhým způsobem je automatické nanášení matrice pomocí robotických zařízení. Třetím způsobem je pomocí sublimace matrice na vzorek za sníženého tlaku a zvýšené teploty (viz kapitola Způsob přípravy vzorku).³⁷

Následuje měření vzorku, kterému předchází definování oblasti, která se bude měřit. Doba analýzy závisí na frekvenci laseru, počtu výstřelů laseru na jeden bod a na tom, kolik bude měřeno bodů (spotů) – čili na velikosti zkoumané plochy. Paprsek laseru dopadá na určitou část vzorku, desorbuje a ionizuje materiál, který je analyzován. Intenzita vybraného signálu je zakreslena v pixelové mapě. Následně se destička se vzorkem posouvá tak, aby byla postupně proměřena všechna spektra z vybrané oblasti pro analýzu.

Hmotnostní zobrazování se velmi často využívá v analýze proteinů, různých druhů lipidů jako např. fosfolipidů, sfingolipidů nebo neutrálních lipidů, dále pak pro endogenní metabolity (adenosin).³⁷

3.4.1.2. Analyzátoři

Analyzátoři slouží ve hmotnostním spektrometru k separaci iontů podle jejich poměru hmotnosti ku náboji (m/z). Často využívaný analyzátor je kvadrupól, který se skládá ze 4 tyčí, na které je vkládáno stejnosměrné napětí – na dvě protilehlé tyče kladné a na další dvě protilehlé záporné. Současně je na tyče superponováno vysokofrekvenční střídavé napětí a vytváří se oscilující elektrostatické pole mezi tyčemi. Podle poměru hodnot amplitudy střídavého napětí a hodnot stejnosměrného napětí jsou oscilace stabilní pouze pro ionty o určitém poměru m/z , které oscilují v poli a projdou analyzátořem až na detektor. Postupnou změnou stejnosměrného napětí nebo amplitudy střídavého napětí jsou na detektor postupně vypuzeny všechny ionty.³³

Mezi další používané analyzátoři patří např. iontová past, která je složena ze dvou koncových elektrod a jedné prstencové elektrody. Ionty jsou napěťovým pulzem transportovány do pasti, kde jsou zadrženy vhodným poměrem napětí, které je vkládáno na

prstencovou a koncové elektrody. Plynujou změnou těchto napětí jsou ionty vypouštěny na detektor.

Analyzátor doby letu (TOF) měří dobu letu iontů průletovou trubicí. Ionty jsou napěťovým pulzem urychleny do letové trubice, kde se pohybují různou rychlostí v závislosti na jejich m/z . Rychlost iontů ve stejném okamžiku se stejnou kinetickou energií se bude lišit dle jejich hmotnosti – lehčí iont má větší rychlost a dostane se na detektor dříve. Pro zvýšení rozlišení a eliminaci rozdílů v kinetických energiích iontů se využívá opožděné extrakce iontů nebo reflektoru (iontové zrcadlo).³⁹ Výhodou analyzátoru doby letu je teoreticky neomezený rozsah měření hmotností.

V případě magnetického sektorového analyzátoru urychlené ionty vstupují do magnetického pole, kde dochází k zakřivení jejich drah vlivem dostředivé (magnetickým polem vytvořené) a odstředivé síly (dané hybností iontů). Ionty o různém m/z jsou na detektor transportovány různým nastavením těchto polí. Pro zvýšení rozlišení se využívá složitější analyzátor s dvojitou fokusací – magnetickou a elektrickou. Elektrické pole eliminuje rozdíly v kinetických energiích iontů o stejném m/z a v magnetickém poli jsou ionty separovány dle m/z .

3.4.1.3. Detektory

Ionty, které byly separovány v analyzátoru, jsou poté detekovány v detektoru. Mezi nejčastěji využívané detektory patří Faradayova klec a elektronový násobič. U prvního typu detektoru ionty dopadají na sběrnou elektrodu, dojde k vyražení elektronů a vzniklý proud lze měřit a použít pro určení počtu iontů dopadajících na elektrodu. Elektronový násobič je tvořen soustavou dynod, přičemž první dynoda má nulový potenciál a poslední může mít potenciál až 3 500 V. Ion dopadne na první dynodu, vyrazí z ní elektrony, které jsou urychleny potenciálovým spádem a dopadají na další dynodu, na které je vyšší potenciál a postupně se zvyšuje počet vyražených elektronů, které nakonec dopadají na anodu.⁴⁰

3.4.1.4. Využití

MALDI-TOF je obecně vhodná technika pro rychlé rozlišení jednotlivých druhů olejů na základě získání profilu triacylglycerolů.⁴¹ Metodicky je zajímavé, že problémy spojené s nízkou homogenitou směsi vzorek-matrice (a tudíž i reprodukovatelností) mohou být eliminovány nanášením vzorku s matricí na plate z nerezové oceli, který je potažen tenkou vrstvou nitrocelulózy.⁴¹

Pomocí MALDI-TOF na základě lipidového profilu byly zkoumány pylová zrna magnolie, lilie, borovice a topolu. Hmotnostní spektra potvrdila přítomnost intracelulárních tuků, především fosfatidylserinu a fosfatidylcholinu, a také diacylglycerolů, které obalují samotné zrnko pylu.⁴²

Hmotnostní spektrometrie byla využita v archeologii především ve spojení v plynovou chromatografií, což bude detailněji popsáno níže. MALDI spolu s LC/MS/MS (kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií) byly použity k identifikaci proteinů v nádobě staré asi 4 000 let.⁴³ Analýza pomocí těchto technik potvrdila přítomnost kolagenu a keratinu, pravděpodobně z chlupů nebo šlach, a kaseinu, který potvrdil přítomnost mléka.

Metoda MALDI-TOF byla použita pro identifikaci 1 400 let starých mykolových kyselin jako biomarkerů starověké tuberkulózy. Mykolové kyseliny jsou mastné kyseliny s dlouhým uhlíkatým řetězcem (až 90 uhlíkových atomů), a jsou obsaženy v buněčné stěně bakterie *Mycobacterium tuberculosis*. Buněčná stěna je pravděpodobně zodpovědná za přežití bakterie v savčím hostiteli po dobu jeho života, ale i během posmrtného rozkladu. Chloroform-methanolové extrakty žeber a obratlů nakažených lidí byly analyzovány pomocí MALDI-TOF, za použití C₆₀ fullerenu jako alternativní matrice.⁴⁴ Většina detekovaných píků v rozmezí 1 000 – 1 600 m/z byly nalezeny ve spektrech s velmi podobnou distribucí hmoty jako tomu bylo ve spektru standardu mykolové kyseliny, což svědčí o tom, že MALDI-TOF je vhodná metoda pro detekci a identifikaci starodávných mykobakteriálních infekcí.

Své uplatnění našla metoda i v analýze proteinových pojiv na polychromní keramice v Číně.⁴⁵ Keramiku, jež vznikla v 7. až 9. století našeho letopočtu, pokrývaly polychromní vrstvy, které se skládaly z přírodních pigmentů a pojiva. Proteiny z keramiky byly extrahovány 0,1% roztokem trifluoroctové kyseliny a byly štěpeny trypsinem. Jako nejvhodnější metoda pro eliminaci interferencí se jevila komplexace kovových iontů s EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina) s následnou dialýzou proti deionizované vodě. Poté byly vzorky analyzovány pomocí MALDI-TOF. Porovnáním spekter historických vzorků z keramiky a modelových vzorků bylo potvrzeno, že keramika obsahovala jako pojivo živočišný klič (lepidlo).

3.4.2. Infračervená a Ramanova spektrometrie

Ramanova spektrometrie je založena na principu rozptylu záření. Při dopadu fotonu (nejčastěji z laserového světla) na vzorek dochází k excitaci elektronů na hladinu, která bývá

nižší než excitovaná elektronová hladina a zároveň vyšší než excitovaná vibrační hladina. Po excitaci na tuto „virtuální“ hladinu dochází k reemisi fotonu. Pomocí této techniky lze analyzovat pevné látky, kapaliny i plyny. Látky, které lze měřit pomocí dané techniky jsou ty, u kterých dochází ke změně polarizovatelnosti a ty, které poskytují symetrické vibrace.

Pro měření spekter v mikroskopickém měřítku se uplatňuje mikro-Ramanova spektrometrie. Metoda se od klasické Ramanovy spektrometrie liší tím, že je spektrometr spojen s mikroskopem, který zároveň provádí digitální zobrazování vzorku. Spektrometr je dodáván se zdrojem na bázi různých typů laserů, které mohou excitovat látky ve vzorku při různých vlnových délkách a tudíž získat nejsilnější Ramanův signál pro daný typ látek. Nejčastěji používaný laser je helium-neonový, který emituje záření o vlnové délce 633 nm a dále také laser ND:YAG (yttrium aluminium granát dopovaný ionty neodymu), který emituje záření o vlnové délce 1 064 nm. Výhodou dané metody je, že k analýze postačí malé množství vzorku (lze studovat objekty o velikosti v řádu mikrometrů).

Pro studium lze využít i zobrazovací techniku – Raman imaging. Na studovaném vzorku je vybrána oblast, která je třeba proměřit. Laserové světlo přejíždí přes vzorek a postupně jsou zaznamenána spektra z jednotlivých částí vybrané oblasti (počet spekter získaných ze studované oblasti je dán rozlišením vzniklého „obrazu“). Poté je intenzita jednotlivých spekter zakreslena v pixelové mapě. Následně lze určit distribuci určité funkční skupiny na vzorku.

Vedle Ramanovy spektrometrie je další vhodnou technikou pro identifikaci řady látek přítomných v archeologických nálezech infračervená spektrometrie. Je založena na interakci molekul s infračerveným zářením a výsledné spektrum je zaznamenáváno jako závislost transmitance (příp. absorbance) na vlnočtu použitého záření. Lze měřit vzorky pevné, kapalné i plynné. Pevné vzorky lze měřit ve formě KBr tablety nebo přímo bez úpravy. Měření bez úpravy probíhá tak, že se na hranol o vysokém indexu lomu aplikuje pevný (syký) vzorek, na který se svítí vhodným laserem. Dochází k násobnému odrazu laserového světla od studovaného materiálu a odražené světlo se měří. Tato metoda se v literatuře uvádí jako zeslabená úplná reflektance (ATR). Při dopadu infračerveného záření na vzorek dochází k absorpci záření a odrazu (jak již bylo zmíněno), ale i k rozptylu. A právě měřením rozptýleného záření se zabývá technika difúzní reflektance DRIFT (diffuse reflectance infrared Fourier transform).

Jak Ramanova, tak infračervená spektrometrie, jsou metody rychlé, nedestruktivní a při jejich použití není nutná náročná předpříprava vzorku. Nicméně pro rozlišení různých vzorků jako např. jantarů, je nutné porovnání získaného spektra s vhodným srovnávacím materiálem.

Pigmenty na archeologických materiálech mohou být studovány jak z pohledu organického tak anorganického složení. Pro zkoumání organických i anorganických frakcí z jižní části Jižní Ameriky byla použita metoda FT-IR (infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací). Tato metoda prokázala, že červené zbarvení bylo způsobeno přítomností hematitu (Fe_2O_3). Toto tvrzení bylo v souladu s výsledky získanými pomocí metody XRD (rentgenová difrakce). Další vzorky, které byly měřeny pomocí XRD a nevykazovaly přítomnost hematitu, byly zkoumány metodou SEM-EDX (skenovací elektronový mikroskop s energiově disperzním spektrometrem). Metoda potvrdila, že žluto-hnědé zbarvení bylo způsobeno přítomností oxidu-hydroxidu železitého (minerál goethit). Navíc byly zkoumány přírodní vzorky sedimentů, které byly podobné těm archeologickým, za účelem ověření, zda by tyto přírodní vzorky mohly být potenciálním zdrojem pigmentů na archeologických materiálech. Byly zkoumány i organické frakce. Technika FT-IR prokázala přítomnost volných mastných kyselin i acylglycerolů. Pro zjištění, o které mastné kyseliny se jedná, byly vzorky analyzovány pomocí GC a GC/MS. Bylo zjištěno, že hlavní složkou byla palmitová a stearová kyselina, přičemž palmitové kyseliny bylo více oproti stearové, což je typické pro degradovaný živočišný tuk.²²

Mikro-Ramanovou spektrometrií byly analyzovány barvy na keramice, která pocházela ze 7. – 4. století př. n. l. Byly zkoumány dekorace na keramice z Pyrenejského poloostrova. Studie ukázala, že jako barviva se používaly minerály hematit, goethit a amorfní uhlík.⁴⁶

Pro analýzu rzi na železných archeologických artefaktech z 13. – 18. století, které pocházely z Francie a Belgie, byla využita metoda Ramanova imagingu.⁴⁷ Hlavní identifikovanou sloučeninou byl goethit ($\alpha\text{-FeOOH}$) a hydratovaný oxid-hydroxid železitý. Dále byl přítomen lepidokrokít ($\gamma\text{-FeOOH}$) a akageneit ($\beta\text{-FeOOH}$).

Pro studium reziduí olejů byla použita metoda infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací (FT-IR) a následně metoda s difúzní reflektancí (DRIFT).⁴⁸ Ve spektrech římské keramiky byl přítomen slabý absorpční pás při $1\,746\text{ cm}^{-1}$ (vibrace esterové $\text{C}=\text{O}$ vazby) a dva absorpční pásy v okolí $2\,900\text{ cm}^{-1}$ (symetrické a asymetrické vibrace CH_2). Tyto píky byly považovány za důkaz přítomnosti oleje, protože byly přítomny ve spektrech referenčních vzorků. Jako referenční vzorky byly použity fragmenty keramiky, které byly podrobeny kontaktu s olivovým olejem.

Infračervená spektrometrie byla použita k odlišení původu jantaru. Jedno z největších přírodních nalezišť jantarových šperků se rozkládá podél jižního pobřeží Baltského moře. Dalšími nalezišti v Evropě jsou Rumunsko, Sicílie a Velká Británie. Baltický jantar vykazoval ve spektrech charakteristický široký pás okolo $1\,155\text{ cm}^{-1}$ (vibrace C-O) následován dvěma píky okolo $1\,015$ a 879 cm^{-1} . Rumunský jantar se od Baltského lišil velkými rozdíly v absorpci při vlnočtu $2\,961\text{ cm}^{-1}$ (asymetrická valenční vibrace CH_3), $2\,926\text{ cm}^{-1}$ (asymetrická valenční vibrace CH_2) a $2\,859\text{ cm}^{-1}$ (symetrická vibrace methylenové skupiny), a navíc vykazoval výrazně vyšší intenzitu pásu při $1\,045\text{ cm}^{-1}$.⁴⁹

3.4.3. Elektronová mikroanalýza

Elektronová mikroanalýza je moderní analytická technika umožňující přímé určení elementárního složení pevného vzorku. Elektronová mikrosonda (EPMA) seskládá z několika částí. První část je elektronové dělo, jež emituje elektrony, které dopadají na vzorek. Interakcí vzorku s urychlenými elektrony dochází k pružné a nepružné srážce, v závislosti na tom, zda nedochází či dochází ke změně energie elektronů. Při nepružné srážce elektrony ztrácí část své energie interakcí s elektrony atomu vzorku a vzorek emituje charakteristické rentgenové záření. Toto záření je detekováno vlnově disperzním spektrometrem. Elektronová sonda je spojena i s mikroskopem pro pozorování vzorku.⁵⁰

Tato nedestruktivní technika je vhodná pro určení koncentrace téměř všech prvků (s výjimkou prvků lehkých) s prostorovým rozlišením v řádu mikrometrů, a také se využívá pro zobrazování distribuce prvků ve vzorku (elementární mapování).

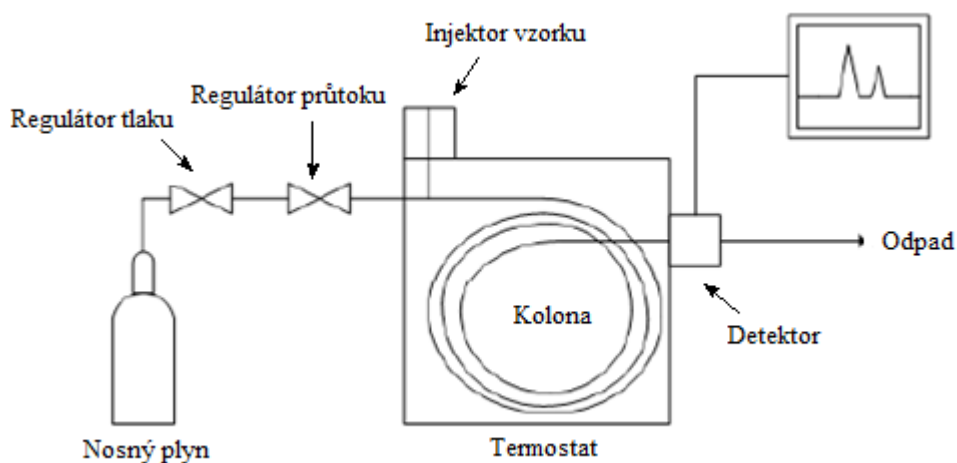
Tato metoda byla použita pro určení elementárního složení povrchu keramiky zvané Terra Sigillata.⁵¹ Tato keramika je charakteristická svou povrchovou úpravou vytvořenou ze směsi žluté a červené barvy. Pomocí EPMA bylo zjištěno, že žlutá místa obsahují vyšší koncentraci titanu hořčíku, zatímco červená místa obsahují více železa. Toto tvrzení potvrdila rentgenová fluorescenční mikroanalýza (μXRF). Následně byly pomocí rentgenové difrakční mikroanalýzy (μXRD) získány difrakční diagramy červené a žluté části keramiky. Z daných diagramů plyne, že červená část obsahovala hematit a korund, přičemž část žlutá pseudobrookit (TiFe_2O_5).

3.4.4. Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je separační technika, založená na principu opakovaného dělení analytu mezi stacionární a mobilní fází. Stacionární fáze může být pevná látka, potom mluvíme o GSC chromatografii (gas-solid chromatography), v případě použití kapaliny jako stacionární fáze popisujeme GLC chromatografii (gas-liquid chromatography). Během analýzy je vzorek zplyněn a je unášen mobilní fází (nosný plyn) do kolony, která je vyplněna stacionární fází. Některé části vzorku jsou zadržovány silněji ve stacionární fází, jiné slaběji, což má za následek separaci vzorku, který po eluci z kolony vstupuje do detektoru. Je to metoda vhodná pro analýzu těkavých termicky stabilních látek.

3.4.4.1. Instrumentace

Plynový chromatogram se skládá ze zdroje nosného plynu, regulátorů tlaku a průtoku, dávkovacího zařízení, chromatografické kolony a detektoru. Zjednodušené schéma je zobrazeno na Obrázku 7.



Obrázek 7: Schéma plynového chromatografu (převzato a upraveno z ⁵²).

První částí je zdroj nosného plynu. Nosný plyn musí být inertní, nesmí interagovat se složkami vzorku. Mezi nejčastěji používané nosné plyny patří helium, dusík, vodík nebo argon. Injektor u plynového chromatografu slouží k nástřiku vzorku na chromatografickou kolonu. Teplota v této části přístroje musí být vyšší než teplota na koloně, aby došlo ke kvantitativnímu zplynění vzorku. Vzorek může být dávkován jak manuálně, tak i automaticky, kdy se využívá autosamplérů.

U kapilárních kolon se využívá dávkování s děličem toku (split injektor). Po nástřiku je vzorek ihned zplyněn a do kolony se dostává jen malá část vzorku (1 – 2 %). Dalším typem dávkování je splitless – bez děliče toku, kdy je vzorek smíchán s těkavým rozpouštědlem a nastříknut (obvykle 1 – 5 μ l). Vzorek je ihned zplyněn a unášen do chladnější části kolony, kde vzorek i rozpouštědlo obvykle kondenzuje a dochází k fokusaci jeho zóny.⁵³

Následuje separace složek vzorku na chromatografické koloně. Kolony dělíme na kapilární, a náplňové. Náplňové kolony jsou většinou vyrobeny z nerezové oceli či skla a mají větší vnitřní průměr než kolony kapilární (až o řád) a tudíž vyžadují velký průtok nosného plynu (20 ml/min). Častěji používané jsou v současnosti kolony kapilární. Rozlišujeme tři druhy kapilárních kolon: WCOT (wall-coated open tubular), SCOT (support-coated open tubular) a PLOT (porous layer open tubular).⁵³

Za kolonou se nachází detektor, který má za úkol převést fyzikálně-chemické vlastnosti analytu na elektrický signál. Mezi nejznámější detektory pro plynovou chromatografii patří plamenově ionizační detektor (FID – flame ionization detector), který je vhodný pro analýzu uhlovodíků a těkavých organických sloučenin⁵⁴, detektor elektronového záchyty (ECD – electron capture detector) používaný pro analýzu halogenovaných látek⁵⁵, tepelně vodivostní detektor (TCD – thermal conductivity detector) využívaný pro analýzu plynů, detektor dusík fosfor (NPD – nitrogen phosphorous detector) je vhodný pro stanovení obsahu dusíku a fosforu, či plamenofotometrický detektor (FPD – flame photometric detector) pro analýzu sloučenin s obsahem síry a fosforu.

Nicméně v současné době je nejčastěji využívané spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS), které s sebou nese řadu výhod. Jak již bylo řečeno, plynová chromatografie je vhodný nástroj pro separaci těkavých sloučenin. Hmotnostní spektrometrie zase dává informace o struktuře látek a lze ji užít jak pro identifikaci látek, tak pro jejich kvantifikaci.

Pro ionizaci se využívá elektronové nebo chemické ionizace, přičemž při elektronové ionizaci je ve spektru pozorována bohatší fragmentace. Vzniklé ionty vstupují do hmotnostního analyzátoru, kterým je nejčastěji kvadrupól, iontová past nebo analyzátor doby letu. Jako detektor se využívá elektronový násobič.

3.4.4.2. Využití v archeologii

Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) nám umožňuje analyzovat řadu složek archeologických vzorků. Tato technika byla úspěšně využita pro analýzu tuků, pryskyřic, vosků, živic aj. Velké množství experimentů se zaměřuje na přítomnost rostlinných a živočišných tuků a hledání markerů přítomnosti zbytků různých typů materiálů (viz Tabulka 4, Tabulka 5).

Metoda GC/MS byla použita pro analýzu organických reziduí na Římských lampách v Egyptě. Byla zjištěna přítomnost reziduí rostlinného oleje z čeledi brukvovitých rostlin, na základě přítomnosti produktů oxidace kyseliny erukové a gondoové.²⁰ Metodou GC/MS a HTGC/MS (z angl. „high temperature gas chromatography – mass spectrometry“) byly zkoumány kyselé a neutrální frakce organických reziduí. Analýza potvrdila přítomnost včelího vosku, pryskyřice z rodu borovicovité a vosku, pravděpodobně rostlinného původu.²⁰

Pro určení přítomnosti vína v archeologických nádobách metodou GC/MS byla jako marker použita kyselina vinná. Tato kyselina v kombinaci s kyselinou jantarovou, fumarovou, jablečnou a citronovou potvrzuje přítomnost vína ve vzorku.⁵⁶

Pomocí GC/MS, HTGC/MS a GC-C-IRMS (GC combustion isotope ratio MS) zkoumali Evershed a kol. původ reziduí lipidů v archeologických artefaktech, konkrétně v lampách a mísách.²¹ Analýza prokázala, že nádoby obsahovaly lipidy živočišného původu. Lampy obsahovaly větší počet mastných kyselin s lichým počtem uhlíků (15, 17, 19) a více polohových izomerů oktadekenové kyseliny, z čehož se dalo usuzovat, že lipidy pocházely z přežvýkavců (např. ovce, skot). Naopak, rezidua lipidů v mísách měla svůj původ patrně v nepřežvýkavcích (jako např. prase).

Původ rezidua	Složení matrice			Potencionální markery [Ref]	
Zvířata	Maso	Aminokyseliny, proteiny	Mastné kyseliny, tuky	kolagen, kyselina asparagová, kyselina glutamová ⁵⁷	
	Vejce			xantofyly, cholesterol	
	Tuky			nasyčené mastné kyseliny ⁵⁸	
	Koprolit	Aminokyseliny, proteiny		Vláknina	rozložené živiny, žluč, pigmenty
	Vlna			keratin, suint (přírodní mastná látka přítomná v ovčí vlně)	
	Hedvábí			sericin ⁵⁹	
	Kůže, kožešina			keratin	
	Peří			keratin	
Mléko		kasein, další proteiny ⁴³ , di- a triacylglyceroly			

Tabulka 4: Shrnutí příslušných markerů pro rezidua živočišného původu.

Původ rezidua	Složení matrice						Potencionální markery [Ref]	
Rostliny, byliny, houby	Luštěniny			Sacharidy, polysacharidy	Vláknina	Barviva	Polyfenoly	kyselina vinná, jantarová fumarová, jablčná, produkty rozkladu polyfenolů ⁶⁰
	Kvašené nápoje	Víno						
		Pivo						
	Zelenina							
	Obiloviny							
	Osivo							
	Olej			Sacharidy, polysacharidy	Vláknina	Barviva	Polyfenoly	kyselina azelaová, β-sitosterol ⁵⁶
	Ovoce							
	Květy, listy, pyl							
	Pečené/pražené obiloviny, fazole							
	Konopí							
	Medy							
	Len							
	Vosk							
	Mák							
	Houby							
	Dřevo							
	Seno							
	Bavlna							

Tabulka 5: Shrnutí příslušných markerů pro rezidua rostlinného původu.

4. Experimentální část

4.1. Chemikálie

Byly použity následující chemikálie: methanol, hydroxid amonný, aceton, dusičnan stříbrný (Penta; Praha, Česká Republika) a kyselina mravenčí (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA). Jako matrice byl použit trihydroxyacetofenon (THAP, Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA). Roztok matrice byl připraven následujícím způsobem: 25 mg THAP bylo rozpuštěno v 1 ml směsi acetonitrilu a destilované vody (1:1, v/v). Pro korekci na přesnou a správnou hodnotu m/z (lock mass correction) při MALDI-MS měření byl použit červený fosfor (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA). Roztok byl připraven navážením 1 mg fosforu a rozpuštěním v 1 ml acetonu.

4.2. Popis analyzovaných vzorků

Byla analyzována hlína tvořící výplň archeologických nádob. Tyto nádoby byly dodány ze čtyř lokalit a to z Oseku nad Bečvou, Držovic u Prostějova, Brodka u Prostějova a Trnávky. Archeologické nádoby byly nalezeny v hrobech, kromě nádob pocházející z lokality Osek nad Bečvou, objekt 213, kde byly nádoby nalezeny přímo v osadě.

Při přípravě vzorků hlíny tvořících výplň archeologických nádob byl použit následující způsob vzorkování (dále zmíněný jako standardní). Hlína z nádoby byla vertikálně rozdělena na 5 částí (pater) a to tak, že každé patro tvořilo 20 % výšky nádoby. První vrstva byla horní část nádoby, a poslední pátá vrstva bylo dno nádoby. Pokud byly v nádobě přítomny nějaké viditelné předměty (např. kosti) nebo byla nádoba širší než 25 cm a zároveň vyšší než 20 cm, byly jednotlivé vzorky z každého patra dále rozděleny na okrajovou (vnější) a středovou (vnitřní) část.

V případech, kde nebyla dodána celá nádoba (nebo alespoň většinová část), jak tomu bylo např. u nádob z objektu 213 z Oseku nad Bečvou a u nádoby č. 2 z Trnávky, byla jako referenční vzorek použita hlína z podloží ze stejné lokality, kde byla nádoba nalezena.

Následuje detailní popis jednotlivých analyzovaných vzorků včetně určení lokality nálezů a evidenčního čísla a popis jejich zpracování.

Osek nad Bečvou – objekt 187/H1

Nádoba č. 13 obsahovala kost, která vyčnívala nad úroveň nádoby. Proto byl obsah nádoby horizontálně rozdělen na 4 části. Část 1 obsahovala vyčnívající kost a následné číslování bylo po směru hodinových ručiček (viz Obrázek 8). Vzhledem k tomu, že dno nádoby se zužovalo, poslední páté patro nebylo děleno na čtyři části a bylo pouze jedno. Celkově byla nádoba rozdělena na 5 pater, přičemž 1. – 4. patro bylo ještě dále děleno na 4 části.

Nádoba č. 8 a nádoba, která byla archeology popsána jako „nádoba u měděné dýky“ (viz Obrázek 9) byla vzorkována standardním způsobem.



Obrázek 8: Fotografie nádoby č. 13 a naznačeným horizontálním číslováním. Osek nad Bečvou, obj. 187/H1.



Obrázek 9: Fotografie nádoby č. 8 (vlevo) a nádoby u měděné dýky (vpravo). Osek nad Bečvou, obj. 187/H1.

Osek nad Bečvou – objekt 213

U každé z nádob č. 390, 391 a 432 byl dodán pouze jeden vzorek hlíny, který již nebyl dále upravován.

Držovice u Prostějova – objekt H4/2015

Hlína z nádoby č. 2 byla dodána ve formě dvou částí. Jedna část bylo hrdlo nádoby a druhá část byla horní výdut'. Každá část byla vertikálně rozdělena na 2 patra, čili celkem byly analyzovány vzorky ze 4 pater. Nádoba č. 2 je vidět na obrázku 11.

Nádoby č. 1 (viz Obrázek 10), 4 a 5 (viz Obrázek 12) byly vzorkovány standardně.



Obrázek 10: Fotografie nádoby č. 1 z lokality Držovice u Prostějova, obj. H4/2015.



Obrázek 11: Fotografie horní výdutě (vlevo) a hrdla (vpravo) nádoby č. 2. z lokality Držovice u Prostějova, obj. H4/2015.



Obrázek 12: Fotografie nádoby č. 4 (vlevo) a nádoby č. 5 (vpravo) z lokality Držovice u Prostějova, obj. H4/2015.

Brodek u Prostějova – objekt H1/K 522

Z této lokality byly dodány vzorky ze dvou nádob, nádoby č. 1 a 11. Z nádoby č. 11 byl dodán jeden kus hlíny, který byl na jedné straně zaoblený (viz Obrázek 13). Tento vzorek byl rozdělen na dvě části, přičemž zaoblená část byla označena jako vzorek (stěna nádoby) a druhá část byla použita jako srovnávací vzorek. Z nádoby č. 1 byla dodána hlína z hrdla, která byla vertikálně rozdělena na dvě části, a dále pouze malé množství hlíny ze stěny, dna a výplně nádoby, jež dále nebyly rozdělovány. Fotografie hlíny z výplně nádoby a hrdla lze vidět na Obrázku 14 (fotografie hlíny ze stěny a dna nejsou zobrazeny).



Obrázek 13: Fotografie dodaného kusu z nádoby č. 11 z Brodku u Prostějova, obj. H1/K 522.



Obrázek 14: Fotografie nádoby č. 1 výplň (vlevo) a hrdlo (vpravo) z lokality Brodek u Prostějova, obj. H1/K 522.

Trnávka 4 – objekt 143/H2

Z této lokality byly dodány dva vzorky, nádoba č. 3 (viz Obrázek 15) a nádoba č. 2 (číslo uložení 278). Nádoba č. 3 byla vzorkována standardně. U nádoby č. 2 byl dodán pouze jeden vzorek, který nebyl dále upravován.



Obrázek 15: Fotografie nádoby č. 3 (Trnávka 4, obj. 143/H2).

4.3. Příprava vzorků

Po vzorkování byla hlína vysušena do konstantní hmotnosti v sušárně (Chirana HS 32 A, Praha, Česká Republika) při teplotě 60 °C a homogenizována. V případě, že v jednom vzorku bylo velké množství hlíny, následovala kvartace na výslednou hmotnost kolem 50 g. Následně

byla každá část hlíny postupně extrahována čtyřmi činidly – destilovanou vodou, bazickým methanolem (0,05% hydroxid amonný v methanolu (v/v)), kyselým methanolem (1% kyselina mravenčí v methanolu (v/v)) a acetonem. Gram vysušené hlíny byl extrahován 2 ml extrakčního činidla.

Hlína s extrakčním činidlem byla sonifikována po dobu 30-ti minut v ultrazvukové lázni. Po extrakci následovala filtrace přes filtrační papír s velikostí pórů < 12 µm. Filtráty organických rozpouštědel byly odfoukány proudem dusíku do sucha. Vodné filtráty byly lyofilizovány. Odparek extraktu byl rozpuštěn v 1 ml daného činidla a vzniklý roztok byl centrifugován po dobu 5-ti minut. Supernatant byl převeden do vialky a analyzován.

Vzorky jantarových koráleků

Vedle archeologických nádob byly k analýze dodány také jantarové korálky (nález č. 3, 4, 5, 6, 7, 11 a 14) z lokality Osek nad Bečvou, objekt 187/H1. Na Obrázku 16 lze vidět fotografie jantarových koráleků č. 5 a 7.



Obrázek 16: Fotografie jantarových koráleků z nálezu č. 5 (vlevo) a nálezu č. 7 (vpravo).

4.4. Metody

K analýze byl použit hmotnostní spektrometr Synapt G2-S (Waters) s laserovou desorpceí/ionizací. Dva mikrolitry extraktu byly nanесeny na MALDI plate a po odpaření rozpouštědla byla na vzorek nanесena matrice THAP. Měření probíhalo v pozitivním i negativním módu v hmotnostním rozmezí 50 – 2 000 Da; při energii laseru 450 jednotek; inter scan delay 0,02 s; rychlost pohybu MALDI destičky 5; délka skenu 1 000 s; frekvence laseru 1 000 Hz.

Při měření spekter jednotlivých extraktů pomocí hmotnostního spektrometru byla použita kolizní energie 10 – 15 eV. Při měření MS/MS spekter byla použita vyšší kolizní energie (viz dané spektrum) a tato spektra byla podrobena korekci na přesnou hmotu rodičovského iontu.

Analýza archeologických vzorků probíhala také pomocí plynového chromatografu Agilent 789A (Agilent Technologies; Santa Clara, USA) s hmotnostním detektorem Agilent 5975C

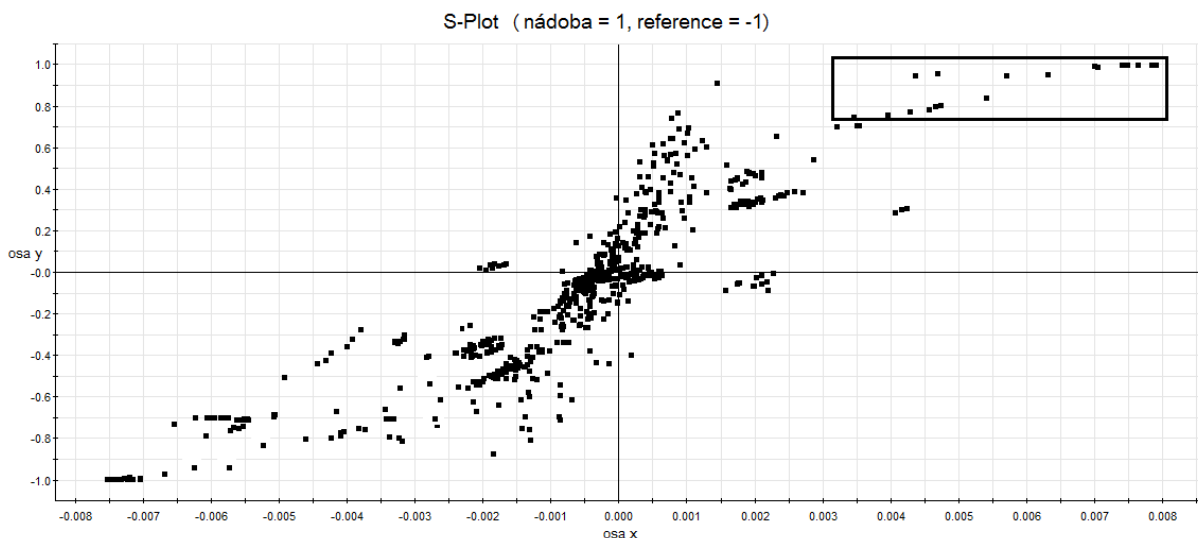
(Agilent Technologies). Nástřik byl proveden metodou splitless a objem nástřiku byl 2 μ l. Použitá kolona byla Zebron ZB-5ms, nosným plynem bylo helium, jehož průtok byl 0,9 ml/min. Měření probíhalo v teplotním následujícím programu:

Čas [min]	Teplota [°C]
0 – 5	70
5 – 16,33	70 – 240
16,33 – 20,33	240 – 300
20,33 – 25,33	300

Pro analýzu jantaru byla použita metoda zeslabeného úplného odrazu (ATR) v kombinaci s infračervenou spektroskopií (FT-IR). Měření probíhalo na FTIR spektrometru Nicolet 6700 (Thermo-Nicolet; Praha, Česká Republika), v rozsahu 3 500 – 700 cm^{-1} s akumulací 64 spekter. Pro zpracování spekter byl použit program Omnic (Nicolet Instrument).

4.4.1. Statistické zpracování dat

Data získaná pomocí metody MALDI-MS byla zpracována pomocí softwaru MarkerLynx (Waters) s následujícími parametry: typ analýzy – combined scan range; peak separation 0,05 Da; threshold 1 000 counts. Data byla dále studována pomocí analýzy hlavních komponent (PCA), ortogonální projekce do latentní struktury (OPLS-DA) za využití škálování dat typu Pareto a logaritmické transformace (LN-Pareto) a využitím softwaru EZinfo (Umetrics, Umea, Švédsko) pro porovnání významu nalezených markerů (signálů odpovědných za rozdíly v analyzovaných vzorcích, např. analyzovaná vrstva hlíny proti referenčnímu vzorku). Z S-plotu byla vybrána oblast markerů zodpovědná za významné odlišnosti v datech (analyzovaná vrstva proti referenčnímu vzorku). Tuto oblast je možno definovat jako obdélník o rozměrech 60 % z osy x a 25 % z osy y od nejvýznamnějšího a zároveň nejvěrohodnějšího bodu v S-plotu, jak je znázorněno zde:



Tyto markery byly seřazeny sestupně dle významnosti (osa x).

5. Výsledky a diskuse

V následujících kapitolách jsou popisovány výsledky získané při analýzách jednotlivých dodaných vzorků. Výsledky jsou řazeny podle lokalit, ve kterých byly vzorky nalezeny a dále podle odkrytých objektů v jednotlivých lokalitách. Kapitoly obsahují i krátké interpretace získaných výsledků, které jsou důležité pro spolupracující odborníky v oblasti archeologie.

5.1. Archeologické nádoby

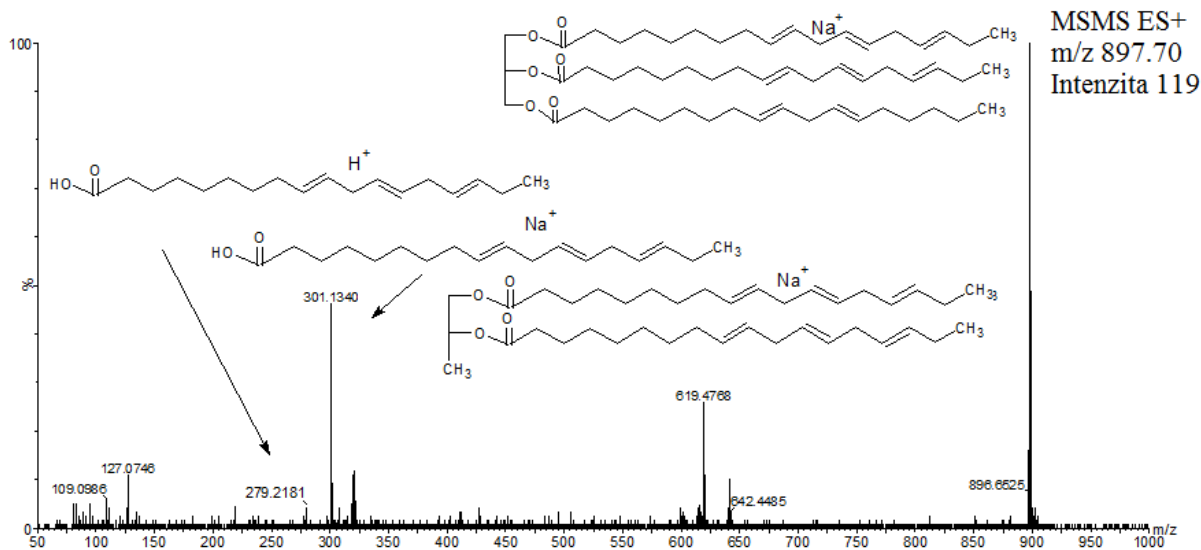
5.1.1. Osek nad Bečvou

5.1.1.1. Objekt 187/H1

Nádoba č. 8

U vzorku získaného extrakcí kyselým methanolem v pozitivním módu byla jako jeden z markerů nalezena hodnota m/z 897,6934.

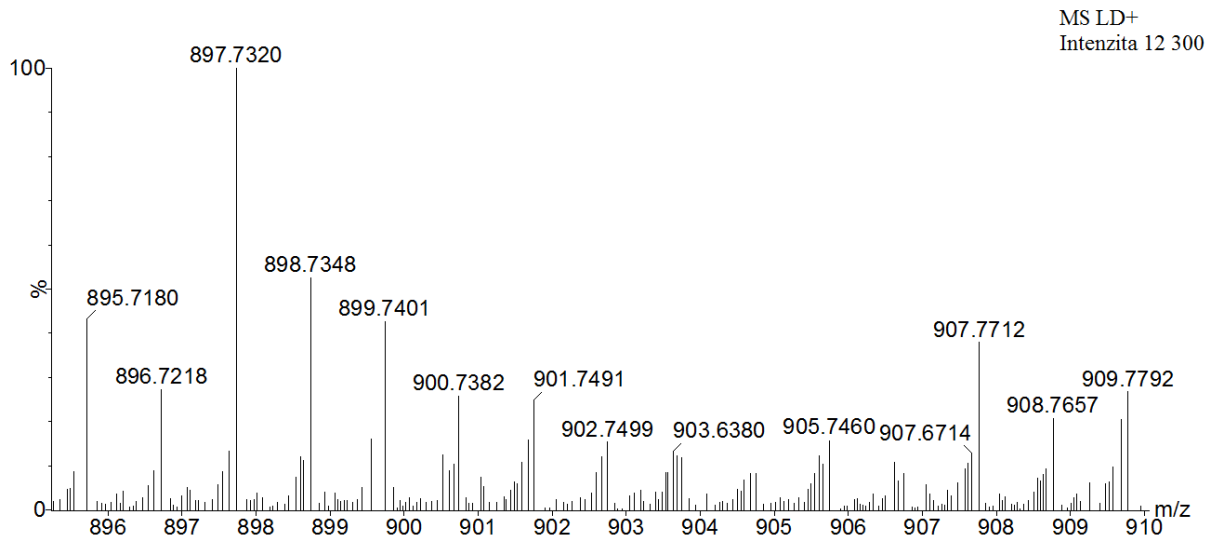
Signály v kolizním spektru iontu s m/z 897,70 (viz Obrázek 17) velmi dobře korespondují s fragmentací sodného aduktu dilinolenoyl-linoleoyl-glycerolu (C18:DB3, C18:DB3, C18:DB2). Vypočtená teoretická m/z hodnota této látky se od naměřené hodnoty liší o 1,4 mDa.



Obrázek 17: Fragmentační spektrum hmoty 897,70 (KE 10 – 50 eV).

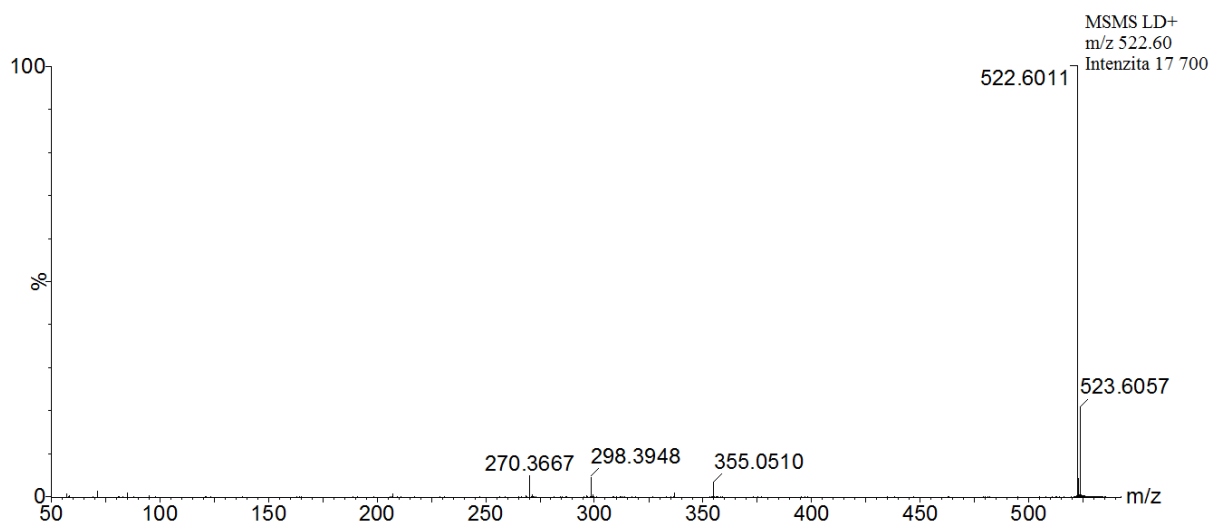
Ve fragmentačním spektru měřeném jsou patrné dva dominantní fragmenty. Pík s m/z 619,4768 odpovídá ztrátě kyseliny linolenové z rodičovského iontu ($\Delta m/z=278,2246$, odchylka 1,4 mDa). Ve spektru je patrně pozorován i sodný adukt této kyseliny s hodnotou m/z 301,1340. Tato hodnota má však poměrně velkou odchylku od teoretické hodnoty m/z 301,2143 (odchylka 80,3 mDa). Takto velká odchylka může být způsobena nízkou selektivitou měření (interference s fragmentem některé složky matrice s m/z hodnotou blízkou rodičovskému iontu) a/nebo nízkou intenzitou fragmentu (≤ 50 counts). Pík 279,2181 odpovídá protonované molekule kyseliny linolenové s odchylkou 14,3 mDa.

Tento triacylglycerol (dilinolenoyl-linoleoyl-glycerol) byl dříve identifikován v konopném a lněném oleji.⁶³ V obou olejích autoři pozorovali významné signály triacylglycerolů v podobě sodných aduktů, tj. m/z 895, 897, 899, 901, 903, 905 a 907. V případě lněného oleje je nejintenzivnějším píkem ion s m/z 895 (relativní intenzita vztažená k základnímu píku ve spektru, RI: 25,9 %) a dále s klesající intenzitou jsou přítomny ionty m/z 899 a 897. U konopného oleje jsou nejintenzivnější píky s hodnotou m/z 901 (RI: 21,9 %) a dále s klesající intenzitou jsou přítomny signály s m/z 899 a 897. V našem případě se ve spektru vyskytují všechny zmíněné píky, přičemž nejvyšší intenzitu má látka s m/z 897 (viz Obrázek 18). Proto nelze na základě spekter říci, o který olej se v případě naší studie jedná, zda o lněný či konopný. Nicméně konopný olej se ve střední Evropě začal rozšiřovat až v mladší době železné.¹² Pravděpodobněji se tak bude jednat o olej lněný.

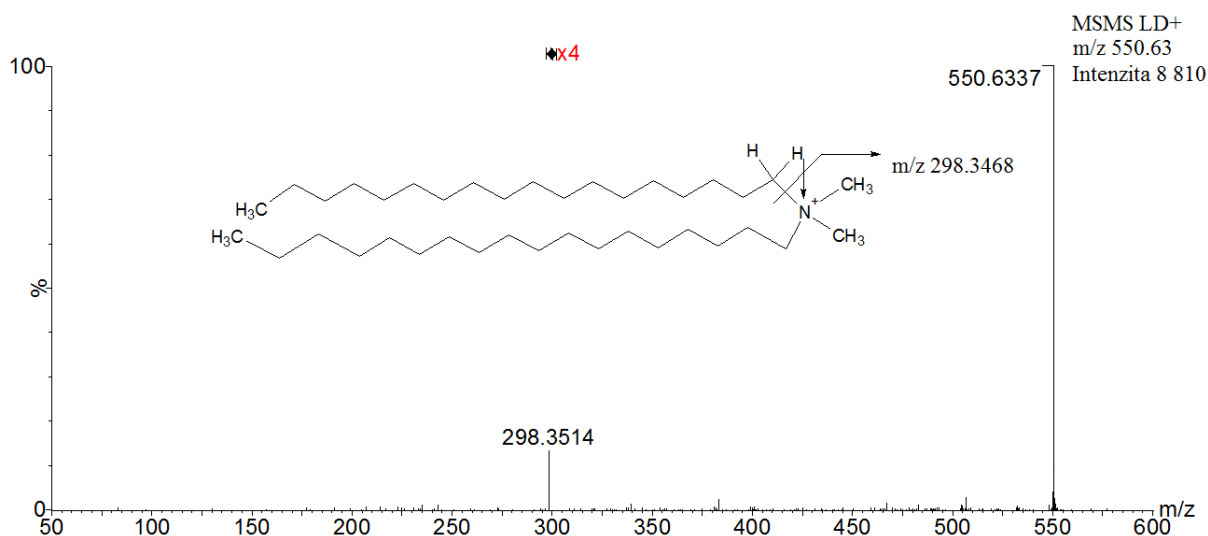


Obrázek 18: Spektrum extraktu vzorku (pátá vrstva hlíny, nádoba č. 8 z Oseku nad Bečvou) okyseleným methanolem (KE 10 – 15 eV). Detail v oblasti hodnot m/z 895 – 909.

Dále byly MALDI-MS technikou v pozitivním módu v acetonovém extraktu nalezeny (jako nejintenzivnější) markery ionty s m/z 522,6011 a 550,6337. Tyto ionty byly následně fragmentovány. Spektra jsou zobrazena na Obrázku 19 a 20.



Obrázek 19: Fragmentační spektrum látky s m/z 522,60 (KE 20 eV). Tato látka byla nalezena jako marker v acetonovém extraktu z nádoby č. 8 z Oseku nad Bečvou.



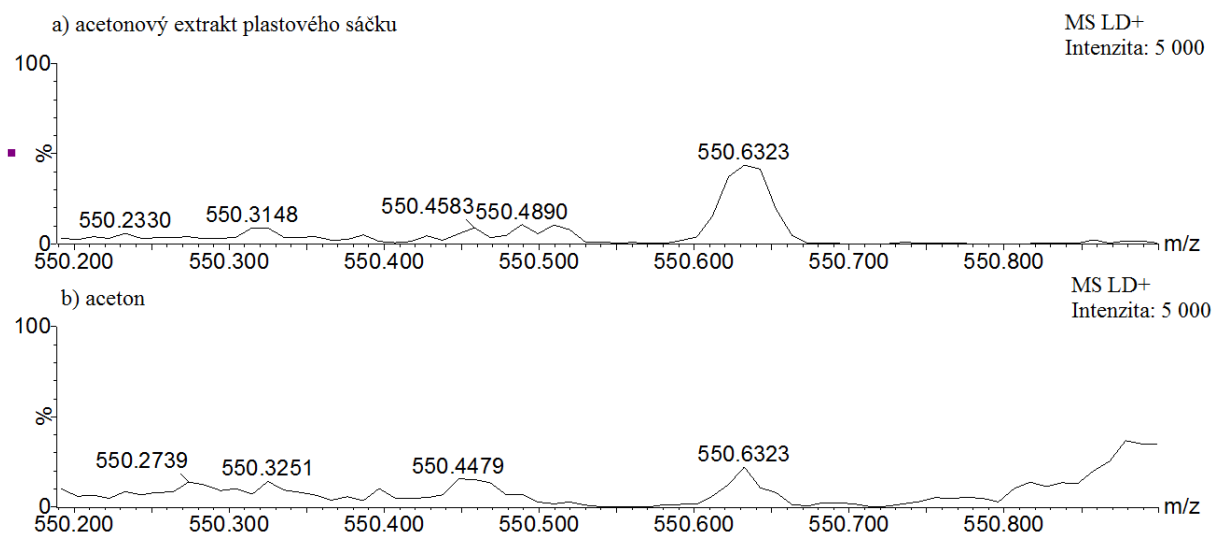
Obrázek 20: Fragmentační spektrum látky s m/z 550,63 (KE 10 – 40 eV). Tato látka byla nalezena jako marker v acetonovém extraktu z nádoby č. 8 z Oseku nad Bečvou.

V článku Maniera a kol. byly identifikovány kvartérní amoniové soli (m/z 550,6; 522,6 a 494,6).⁶⁴ Ty byly přisouzeny kontaminaci hmotnostního spektrometru. Typickými fragmenty těchto kontaminantů jsou ionty s hodnotou m/z 298,3 a 270,3. Oba tyto fragmenty můžeme nalézt ve spektru analyzovaných látek. Zde je nutno zmínit, že tyto látky mají stejnou hodnotu m/z jako některé fosfolipidy a tudíž v případě studia lipidů mohou tyto látky komplikovat analýzy. Nicméně v případě fosfolipidů by ve spektru měly být patrné ztráty odpovídající odštěpení kyselině fosforečné, čemuž odpovídají hodnoty $\Delta m/z$ 97,9769 a 79,9663. Tyto ztráty ve fragmentačních spektrech nalezených markerů pozorovány nebyly.

Navíc, ve zmiňovaném článku je dalším kontaminantem látka s hodnotou m/z 494,6; a i tato hodnota se nachází v seznamu nalezených markerů pro nádobu č. 8. Lze tedy usuzovat, že nalezené markery budou pravděpodobně kontaminanty v podobně kvartérních amoniových solí.

Pro zjištění původu kontaminace ve vzorcích byly provedeny další experimenty zahrnující analýzu samotných rozpouštědel, vzorků z myčky na chemické nádobí (žíravina, leštidlo) a extraktů uzavíratelných plastových sáčků. Původem kontaminace byly pravděpodobně plastové sáčky, neboť ve spektru acetonového extraktu sáčku jsou přítomny všechny tři kontaminanty (550,6; 522,6 a 494,6). Detail spektra (oblast 550,6) acetonového extraktu sáčku lze vidět na obrázku 21.

Nádoba byla dodána zabalená v plastové fólii. Nicméně při vzorkování byl materiál z nádoby uložen do plastových uzavíratelných sáčků a tyto sáčky vzorek pravděpodobně kontaminovaly.



Obrázek 21: Spektrum acetonového extraktu plastového sáčku (nahore) a samotného acetonu (dole). Detail spektra okolo hodnoty 550,6.

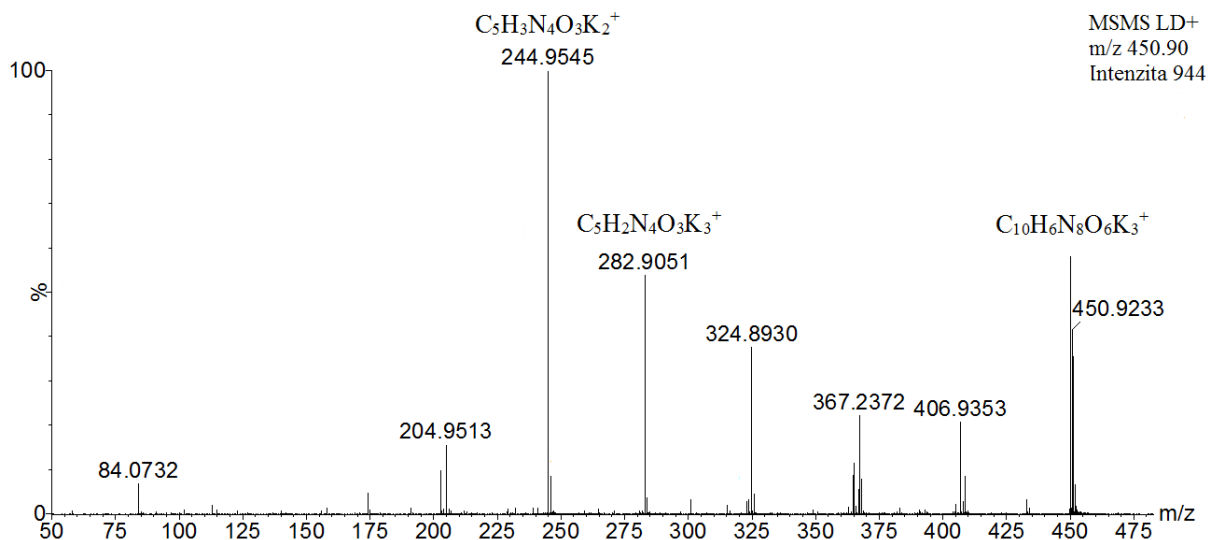
Nádoba č. 13

Nádoba obsahovala kosti, které archeologové podrobili archeozoologické analýze. Výsledkem bylo, že se jednalo o kosti vepřové. Vzhledem k tomuto faktu nebylo nutné hledat markery, které by poukazovaly na organický materiál. Tento vzorek je tedy důležitý pro vývoj metody pro MALDI analýzu archeologických vzorků. Dobře interpretované chemické rozdíly (rozdíly v signálech) mezi vrstvou, ve které kosti ležely a vrstvy referenční mohou posloužit pro další vzorky, u kterých není charakter obsahu patrný. Porovnáním páté vrstvy na dně nádoby, kde se kosti vyskytovaly a vrstvami volné hlíny (vrstvy 1 a 2) byly s využitím PCA a OPLS-DA analýzou nalezeny látky, které jsou patrně markery vepřového masa/tuku. Seznam získaných markerů je v příloze č. 3 (pro pozitivní mód) a 4 (pro negativní mód).

Vzorek označený jako „nádobu u měděné dýky“

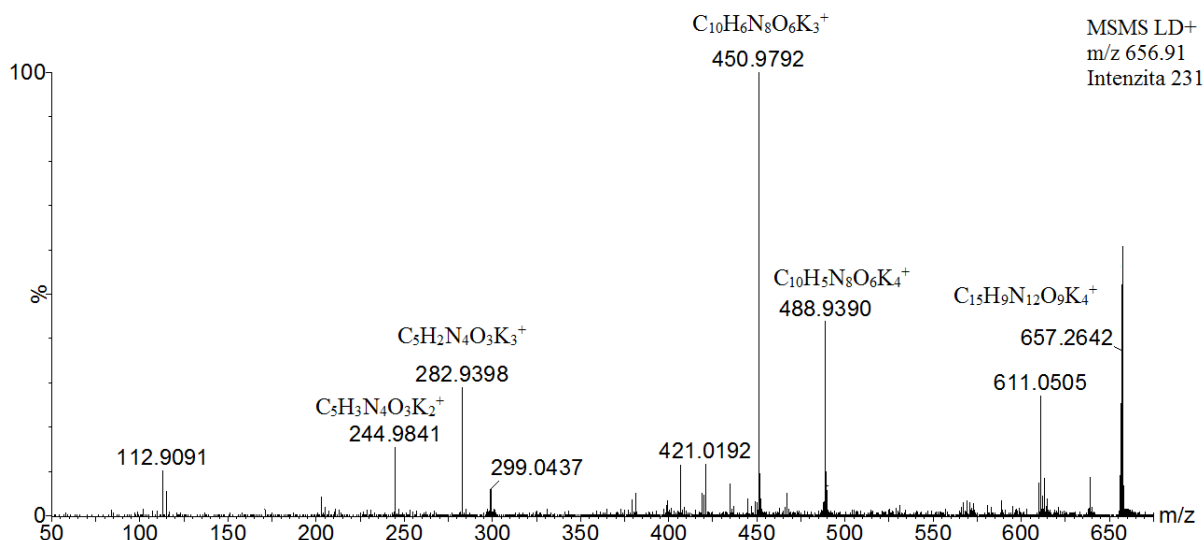
Pomocí MALDI-MS analýzy a následného statistického vyhodnocení dat (PCA, OPLS-DA) byly porovnávány rozdíly ve složení první vrstvy a páté vrstvy hlíny přítomné v této nádobě. Ve vzorcích hlíny extrahovaných bazickým methanolem bylo nalezeno několik markerů. Největší význam měly markery s hodnotou m/z 450,8965; 656,9136 a 846,9356.

Fragmentační spektrum látky s hodnotou m/z 450,90 je zobrazeno na Obrázku 22. Nejintenzivnější fragmenty jsou ionty s m/z 244,9545 a 282,9051. Tyto hodnoty odpovídají draselným aduktům kyseliny močové s odchylkou 6,6 mDa a 1,3 mDa od teoretické hodnoty.⁶⁵ Tyto adukty byly již v literatuře dříve popisovány v práci Mazela a kol., kteří studovali malby na afrických dřevěných sochách pocházející z kultury kmene Dogonů.



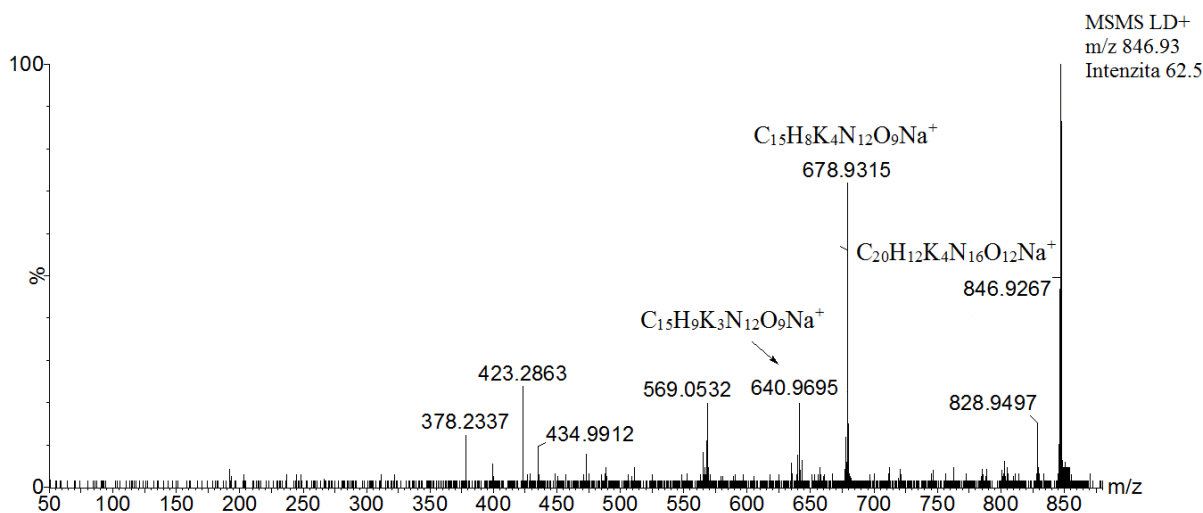
Obrázek 22: Fragmentační spektrum iontu s m/z 450,90 (KE 20 eV). Tato látka byla nalezena jako marker v extraktu bazického methanolu z nádoby u měděné dýky z Oseku nad Bečvou.

Dalším intenzivním markerem byla látka s m/z 656,9136. Fragmentační spektrum je zobrazeno na Obrázku 23. Tato látka by mohla odpovídat trimeru kyseliny močové se 4 draslíky. Ve spektru je přítomný pík s m/z 450,9792. Tento signál byl v předchozím případě přiřazen dimeru kyseliny močové. Teorie, že se jedná o stejnou látku, jako v předchozím případě podporuje přítomnost dvou fragmentů ve spektru (244,9841: odchylka 36,2 mDa, a 282,9398: odchylka 36 mDa), které vznikají štěpením dimeru kyseliny močové. Další fragment s vysokou intenzitou je 488,9390. Tento fragment by mohl být dimer kyseliny močové se čtyřmi draslíky (odchylka 51,5 mDa).



Obrázek 23: Fragmentační spektrum látky s m/z 656,91 (KE 20 eV). Tato látka byla nalezena jako marker v extraktu bazického methanolu z nádoby u měděné dýky z Oseku nad Bečvou.

Poslední fragmentovanou molekulou byla látka s m/z 846,9356 (viz Obrázek 24). Pravděpodobně se bude jednat o 4x draslíkový a jednou sodiovaný tetramer kyseliny močové. Fragmenty s m/z 640,9695 (odchylka 27,1 mDa) a 678,9315 (odchylka 33,2 mDa) by mohly odpovídat trimerům kyseliny močové.



Obrázek 24: Fragmentační spektrum látky s hodnotou m/z 846,93 (KE 20 eV). Tato látka byla nalezena jako marker v extraktu bazického methanolu z nádoby u měděné dýky z Oseku nad Bečvou.

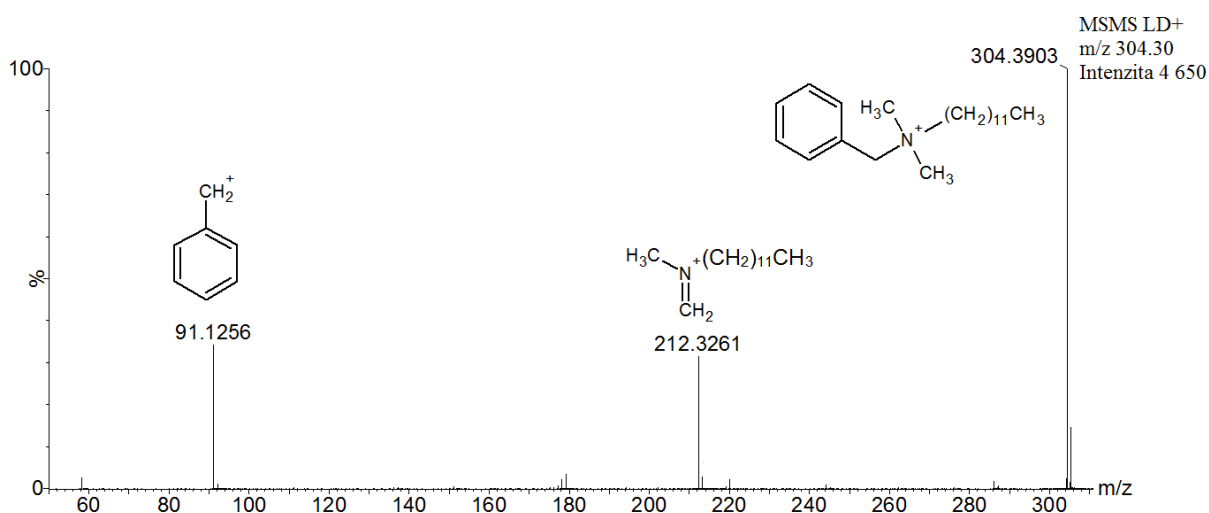
Kyselina močová a její soli jsou konečnými produkty odbourávání dusíkatých látek u ptáků a plazů. Autoři Mazel a kol., jak již bylo uvedeno výše, popsali využití solí kyseliny močové

jako bílého pigmentu např. pro malby na kámen či dřevěných sošek.^{65, 66} Nicméně bílý pigment nebyl v nádobě pozorován. Přítomnost těchto látek také může naznačovat, že daná nádoba přišla do kontaktu s ptáky či plazy (např. mohla být skladována nebo ponechána na místě, kde tito živočichové měli přístup).

5.1.1.2. Objekt 213

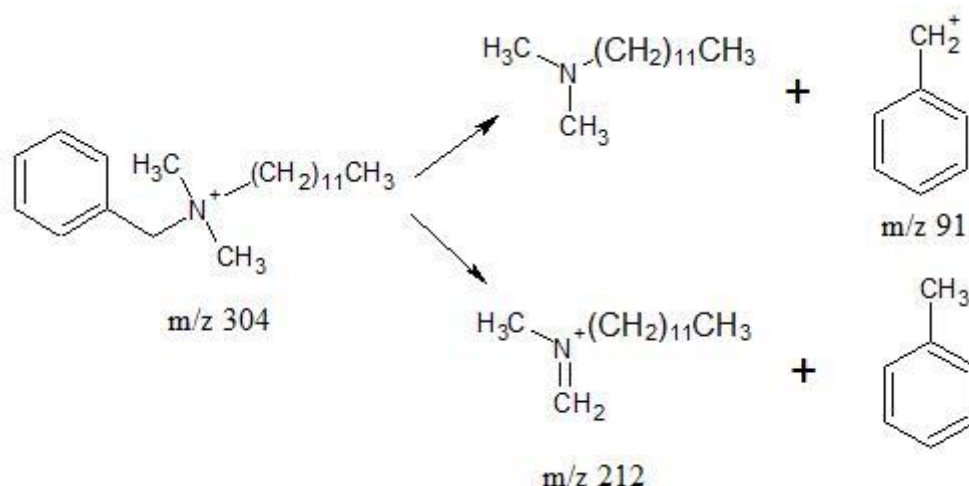
Nádoba č. 390

Signály v extraktech hlíny tvořící výplň nádoby byly porovnávány vůči referenčnímu vzorku, jímž bylo podloží z místa, kde byla nádoba nalezena. Měřením v pozitivním módu bylo v acetonovém extraktu hlíny z nádoby pomocí PCA a OPLS-DA nalezeno velké množství markerů (viz Příloha 7), přičemž nejvýznamnější signál odpovídal iontu s m/z byla 304,3025. Tato látka byla dále fragmentována a její spektrum lze vidět na Obrázku 25.



Obrázek 25: Fragmentační spektrum látky s m/z 304,30 (KE 20 eV). Tato látka byla nalezena v acetonovém extraktu z nádoby č. 390 z Oseku nad Bečvou.

Tato látka byla identifikována jako dimethylbenzylamoniová sůl. Vypočtená teoretická hmotnost je 304,3004 (odchylka 2,1 mDa). Dva nejintenzivnější fragmenty odpovídají štěpení u atomu dusíku (viz Obrázek 26). Tyto poznatky jsou v souladu s již publikovanými výsledky autorky Ferrer a kol.⁶⁷

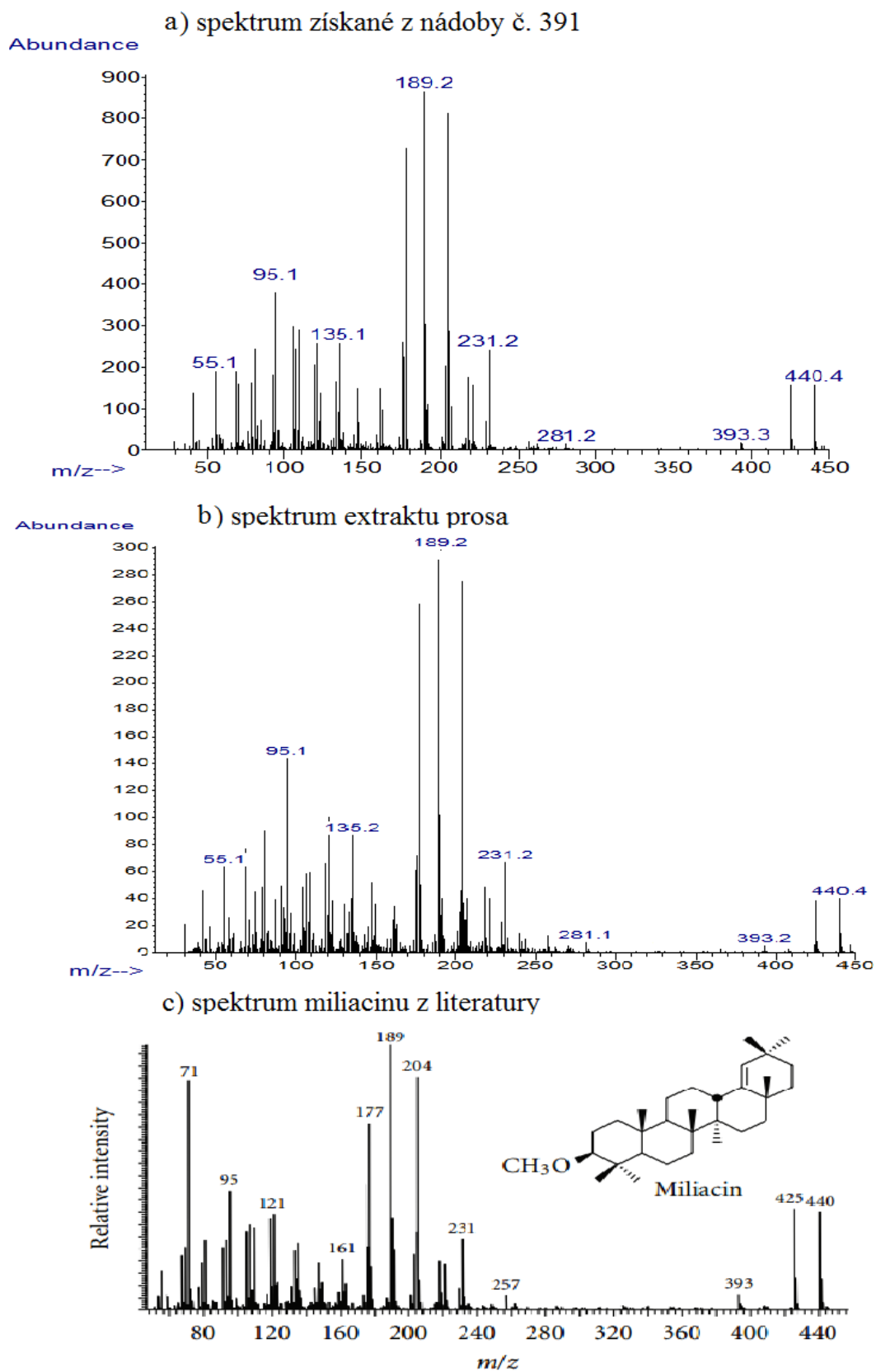


Obrázek 26: Navržené fragmentační cesty dimethylbenzylamoniové soli.⁶⁷

Tato kvartérní amoniová sůl má dezinfekční účinky a je součástí čistících látek. Jde tedy s největší pravděpodobností o kontaminaci archeologického nálezů recentními materiály. Původ této kontaminace se nepodařilo prokázat. Zmíněné kontaminace poukazují na nezbytnost pečlivé manipulace s archeologickými vzorky i velmi opatrnou interpretaci získaných dat s ohledem na velmi komplexní matici archeologických vzorků.

Nádoba č. 391

Extrakty hlíny získané z této nádoby byly analyzovány pomocí GC/MS. Data získané pomocí této metody nebyly vyhodnocovány pomocí statistické analýzy (PCA, OPLS-DA). Referenčním vzorkem byla hlína z podloží ze stejné lokality. V extraktu bazického methanolu z hlíny z nádoby byla nalezena látka, která eluovala v čase 16,0 – 16,5 minuty. Získané spektrum bylo porovnáno se spektry uvedenými v odborném časopise⁶⁸ a bylo zjištěno, že se jedná o látku miliacin. Tato látka je hojně obsažena v obilovinách, především v prosu. Pro ověření byl proveden experiment, ve kterém bylo proso („současné“) extrahováno bazickým methanolem, a extrakt byl následně analyzován. V extraktu byla nalezena látka se stejným retenčním časem a fragmentačním spektrem jako látka z nádoby. Spektrum získané látky z nádoby, extraktu prosa a spektrum prosa z literatury lze vidět na Obrázku 27.



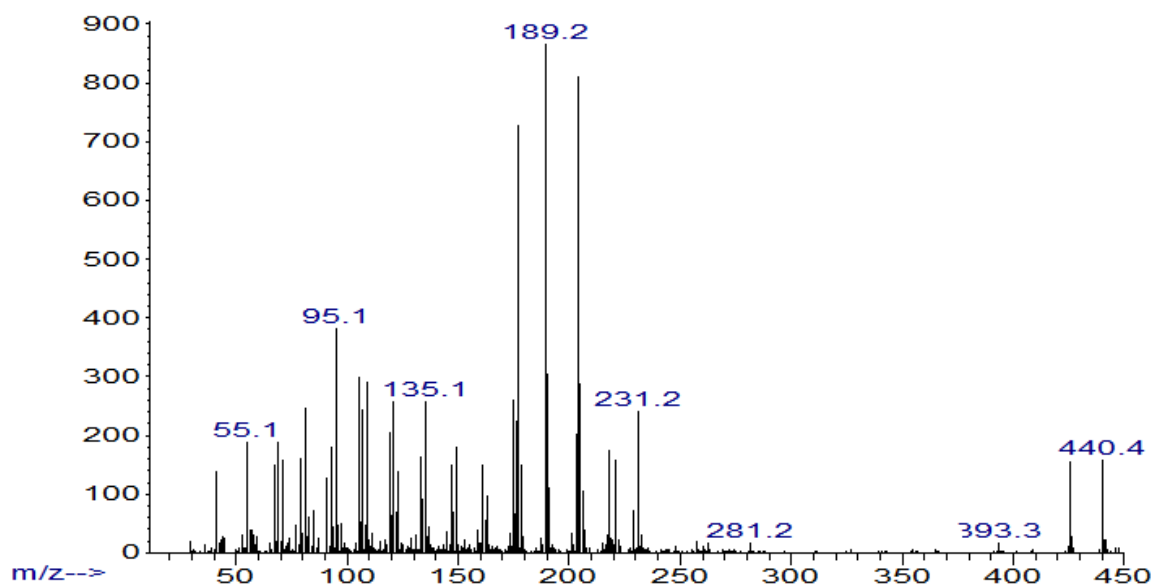
Obrázek 27: a) spektrum získané z nádoby č. 391; b) spektrum extraktu prosa (bazický methanol); c) spektrum miliacinu uvedené v odborné literatuře⁶⁸.

Z výsledků plyne, že nádoba obsahovala s největší pravděpodobností proso. Tato nádoba byla velká pouze několik centimetrů a archeologové se domnívají, že se mohlo jednat o dětskou hračku.

Nádoba č. 423

Byly analyzovány extrakty hlíny tvořící výplň nádoby. Pomocí metody GC/MS byla v extraktu bazického methanolu nalezena látka, která eluovala v čase 16,0 – 16,5 minuty. Bylo získáno spektrum látky (viz Obrázek 28) a porovnáním získaného spektra se spektrem miliacinu, bylo potvrzeno, že se v tomto případě také jedná o miliacin.

Abundance



Obrázek 28: Spektrum látky (miliacin) obsažené v nádobě č. 423 z Oseku nad Bečvou, obj. 213.

Nádoba obsahovala pravděpodobně proso a stejně jako tomu bylo v předchozím případě i zde se jednalo o velmi malou nádobu (řádově několik cm) a tudíž i tato nádoba mohla sloužit jako dětská hračka.

Markery nalezené metodou MALDI-MS (viz Příloha 11 a 12) nebyly detailněji identifikovány.

5.1.2. Držovice u Prostějova

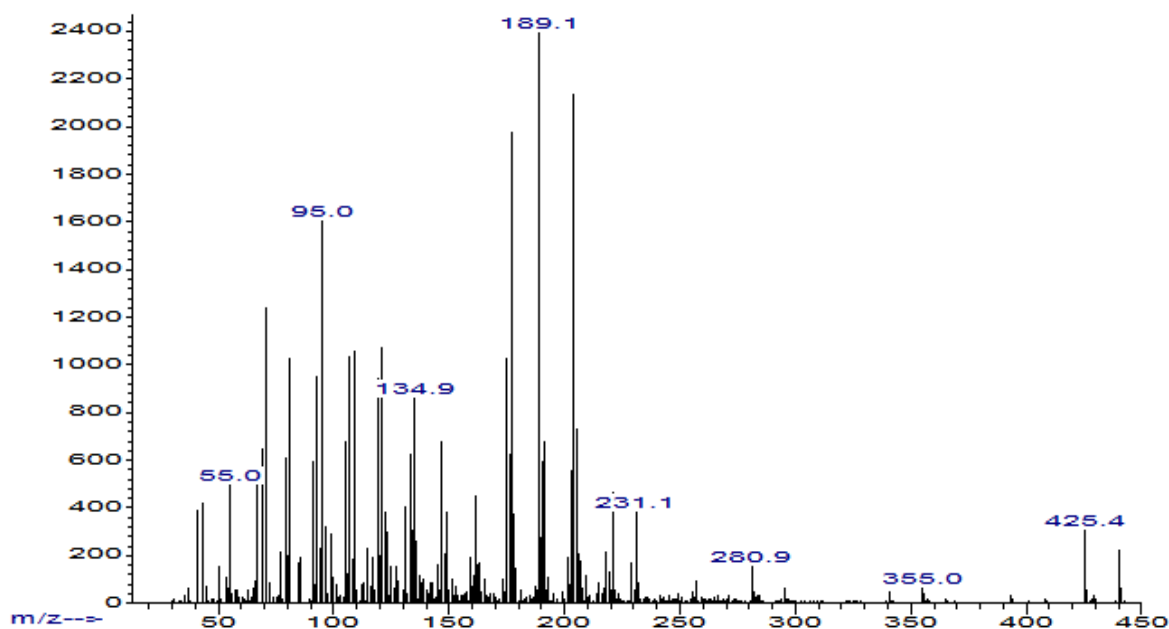
Nádoba č. 1

V nádobě nebyly nalezeny žádné látky poukazující na přítomnost zbytků surovin používaných pro výrobu potravin nebo potravin samotných.

Nádoba č. 2

Metodou GC/MS byla v acetonovém extraktu nalezena významná látka, která eluovala v čase 16,0 – 16,5 minuty. Na základě provedených analýz a porovnáním s předchozími fragmentačními spektry a dříve popisovanými vzorky bylo zjištěno, že se jedná o miliacin (viz Obrázek 29). Nádoba tedy pravděpodobně obsahovala proso.

Abundance



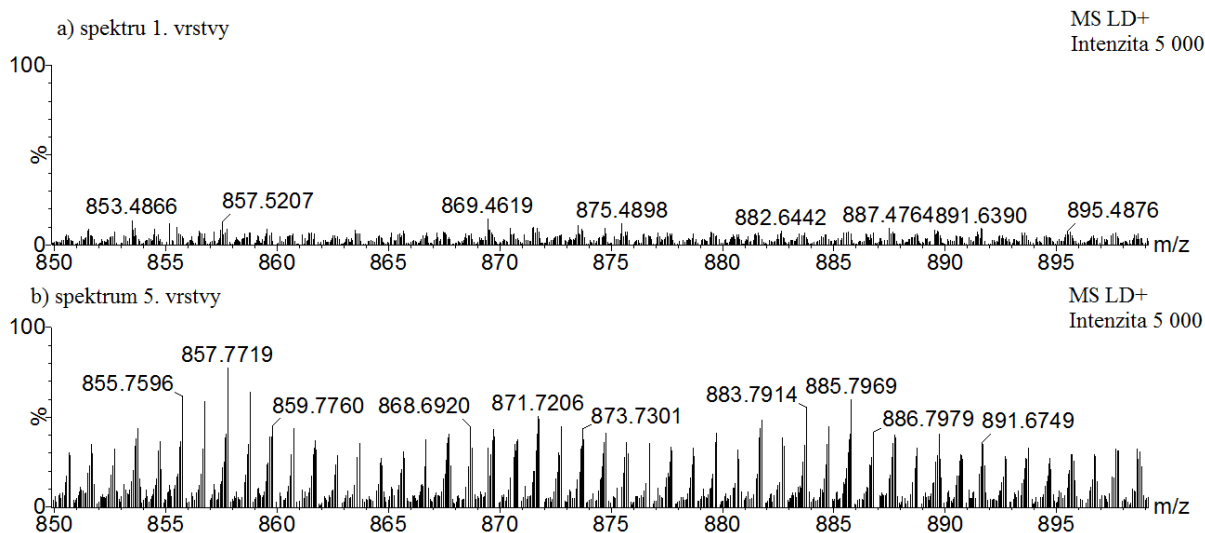
Obrázek 29: Spektrum miliacinu nalezeného v acetonovém extraktu nádoby č. 2 v Držovicích u Prostějova, obj. H4/2015.

Nádoba č. 4

Metodou MALDI-MS byly po statistickém vyhodnocení analýzy acetonového extraktu hlíny tvořící výplň této nádoby (v 5. vrstvě) v pozitivním módu nalezeny signály odpovídající triacylglycerolům. Šlo o signály s hodnotou m/z 591,5036; 647,5093; 759,6669; 787,7053; 827,7104; 857,7595; 885,7988. Hodnoty m/z 591,5; 647,5; 759,7 a 787,7 byly autory Picariello a kol., kteří prováděli měření vzorků pomocí metody MALDI-TOF, detekovány v kravském

mléku.⁶⁹ Hodnota m/z 827,7 byla detekována v mléčném a hovězím tuku a hodnoty m/z 857,8 a 885,8 byly nalezeny v mléčném, hovězím a vepřovém tuku.

Detail ze spekter pro oblast m/z 850 – 900 je na Obrázku 30. Ve spektru 5. vrstvy jsou zvýšené signály markerů s m/z 857,8 a 885,8. Tyto hodnoty byly nalezeny také při statistickém vyhodnocení dat.



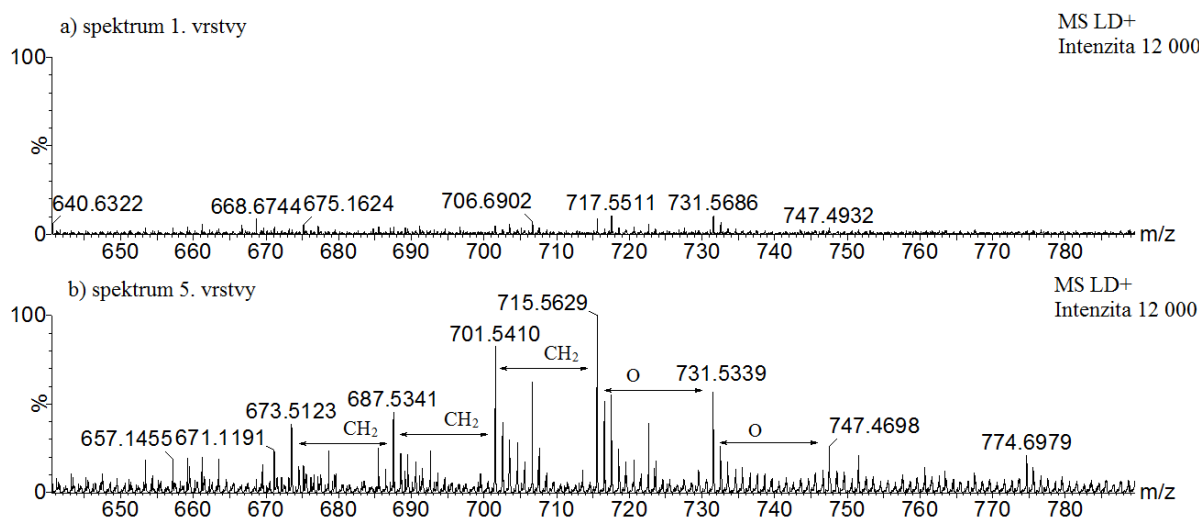
Obrázek 30: Spektra první vrstvy (spektrum a) a páté vrstvy (spektrum b) z nádoby č. 4 z Držovic u Prostějova (acetonové extrakty). Detail pro oblast m/z 850 – 900.

Všechny látky poukazují na přítomnost mléka či produktů z něho. Pro potvrzení, že nádoba mohla obsahovat mléko, byly vzorky materiálu odeslány Mgr. Jaroslavu Pavelkovi, Ph.D. (Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta pedagogická, centrum biologie, geověd a envigogiky), kde byla provedena imunologická analýza (ELISA test) na potvrzení/vyvrácení betalaktoglobulinu skotu. Výsledek na přítomnost betalaktoglobulinu byl negativní. Nicméně nádoba mohla obsahovat zbytky mléka či mléčných výrobků na základě podobnosti spektra v oblasti 650 – 750 Da, ale pravděpodobně se nejednalo o mléko skotu.

Nádoba č. 5

Stejným postupem jako v předchozím případě byly po PCA a OPLS-DA vyhodnocení dat z MALDI-MS techniky v acetonovém extraktu měřeného v pozitivním módu, nalezeny hodnoty markerů s m/z 715,5400 a 701,5566.

Ve spektru z analýzy 5. vrstvy z této nádoby lze vidět profil specifický pro mastné kyseliny (viz Obrázek 31).



Obrázek 31: Porovnání spekter z vrstvy č. 1 (spektrum a) a vrstvy č. 5 (spektrum b) z nádoby č. 5 z Držovic u Prostějova.

V dříve publikovaném článku jsou uvedeny signály mastných kyselin charakteristických pro mléčný, vepřový a hovězí tuk $[M+Na]^+$.⁶⁹ V seznamu nalezených markerů zjištěných našimi experimenty v nádobě č. 5 se pět signálů shoduje se signály pozorovanými v tomto článku. Jde o signály s m/z 673,5; 685,5; 687,5; 701,6 a 715,5. Tyto látky byly detekovány pouze v mléčném tuku. Zmíněný článek popisuje procentuální obsah těchto signálů v mléčném tuku, a to 10,3%; 16,5 %; 81,9 %; 10,4 % a 55,7 %. Z těchto informací lze usuzovat, že nádoba obsahovala tuk, konkrétněji mléčný tuk.

Pro ověření této hypotézy byly i tyto vzorky materiálu odeslány Mgr. Jaroslavu Pavelkovi, Ph.D., který provedl ELISA test. Obsah nádoby č. 5 vykazoval pozitivní test na betalaktoglobulin skotu.

5.1.3. Brodek u Prostějova

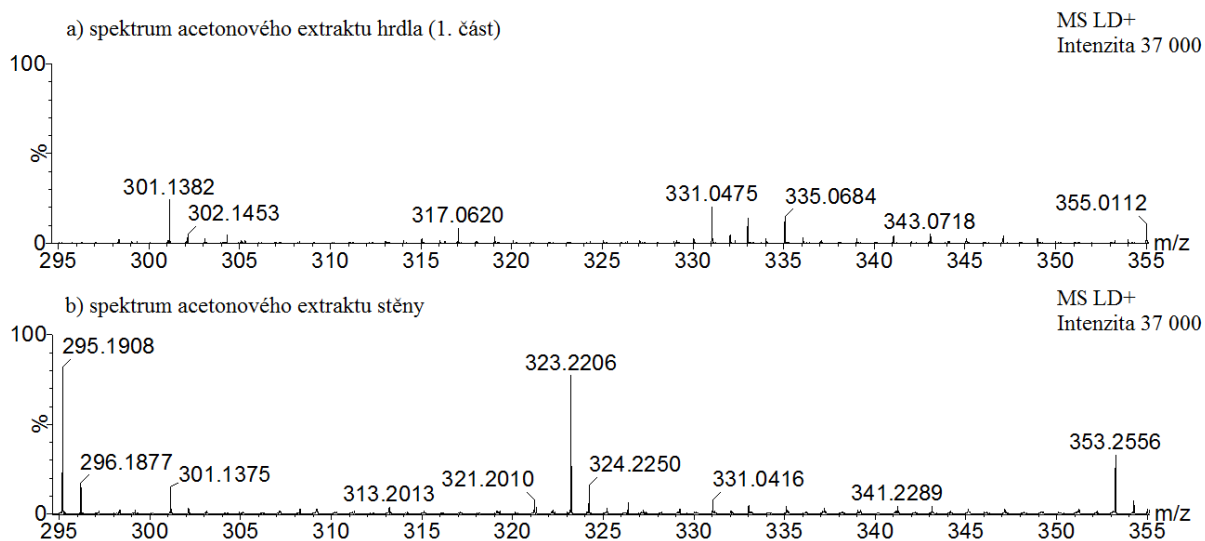
Nádoba č. 1

MALDI-MS technika byla použita také pro analýzu složení stěny nádoby se dnem a stěny s hrdlem (část 1., viz Experimentální část práce). Ve stěně nádoby byly v acetonovém a bazickém methanolu nalezeny signály s m/z 295,1957; 323,2214; 353,2633; 377,2840; 381,2981; 395,2854; 591,4987 a 663,5280. Tyto hodnoty by mohly odpovídat sodným a draselným aduktům mastných kyselin a monoacylglycerolům. V Tabulce 6 jsou zobrazeny nalezené markery, a jejich předběžná identifikace založená na měření přesné a správné

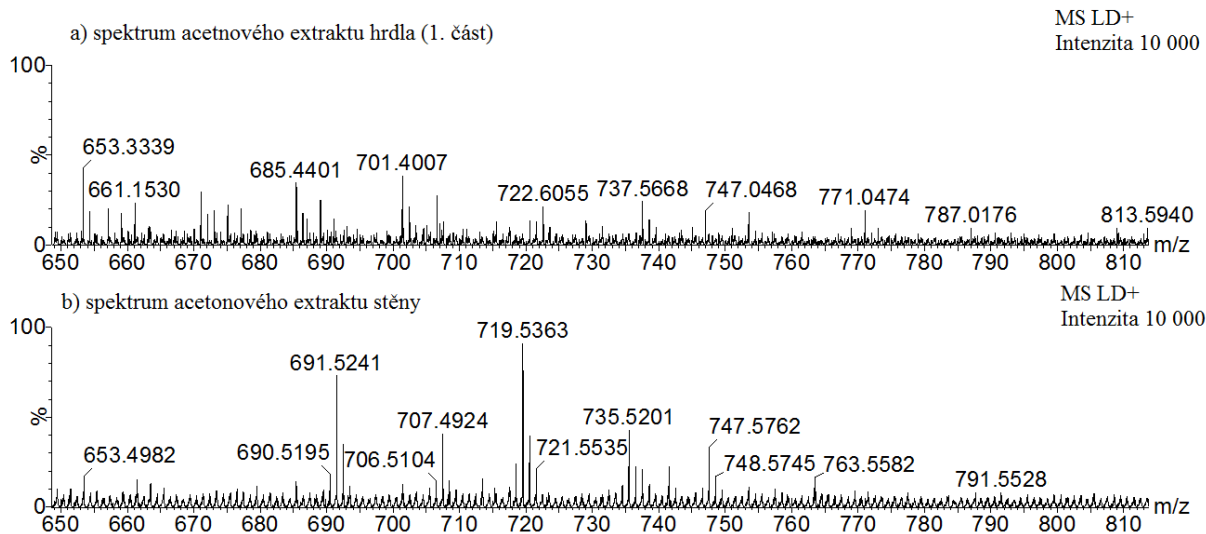
hodnoty m/z. Porovnáním MS spekter ze vzorků hlíny ze stěny a hrdla nádoby lze zhodnotit intenzitu markerů, které jsou součástí struktury lipidů (viz Obrázek 32 a 33).

Nalezená hmota	Určení struktury	Sumární vzorec	Vypočtená teoretická hmotnost	Odchylka od teoretické hmotnosti[mDa]
295,1957	K ⁺ -palmitová kyselina	C ₁₆ H ₃₂ KO ₂	295,2039	8,2
323,2214	K ⁺ -stearová kyselina	C ₁₈ H ₃₆ KO ₂	323,2352	13,8
353,2633	Na ⁺ -monopalmitoyl-glycerol	C ₁₉ H ₃₈ NaO ₄	353,2668	3,5
377,2840	K ⁺ -eruková kyselina	C ₂₂ H ₄₂ KO ₂	377,2822	1,8
381,2981	Na ⁺ -monostearoyl-glycerol	C ₂₁ H ₄₂ NaO ₄	381,2981	0,0
395,2854	K ⁺ -monoleoyl-glycerol	C ₂₁ H ₄₀ KO ₄	395,2564	15,7
591,4987	Na ⁺ -dipalmitoyl-glycerol	C ₃₅ H ₆₈ NaO ₅	591,4964	2,3
663,5280	K ⁺ -distearoyl-glycerol	C ₃₉ H ₇₆ O ₅	663,5330	5,0

Tabulka 6: Markery nalezené v nádobě č.1 z Brodku u Prostějova.

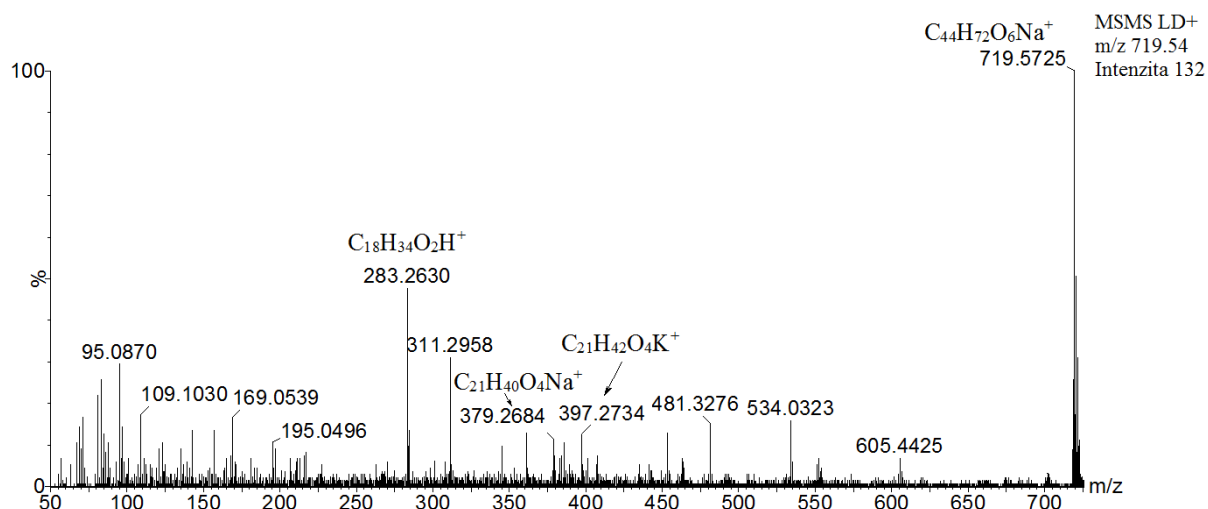


Obrázek 32: Spektrum acetonového extraktu první části hrdla (spektrum a) a acetonového extraktu stěny (spektrum b). Detail pro oblast m/z 295 – 355.



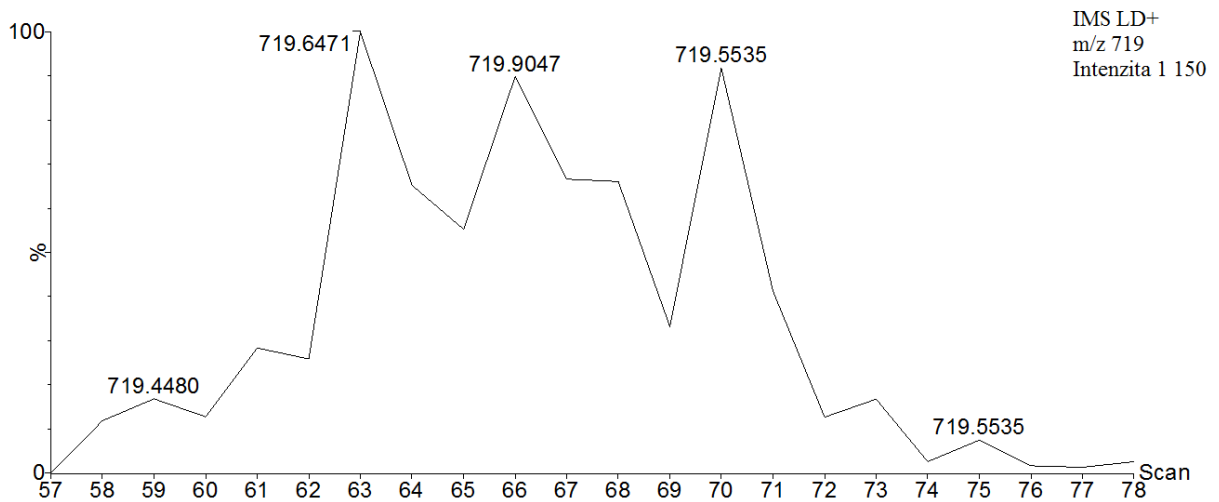
Obrázek 33: Spektrum acetonového extraktu první části hrdla (spektrum a) a acetonového extraktu stěny (spektrum b). Detail pro oblast m/z 650 – 810.

V oblasti hodnot m/z 650 – 710 jsou intenzivní píky, které by mohly odpovídat triacylglycerolům. Největší intenzitu ve spektru ze stěny nádoby má pík s m/z 719,5363. Tato látka, která byla na základě měření přesné hmoty identifikována jako sodný adukt TAG (odchylka 14,2 mDa), byla dále fragmentována a její spektrum je na Obrázku 34. Fragment 283,2630 na základě měření přesné hmoty odpovídá protonované molekule kyseliny olejové s odchylkou 0,7 mDa. Další fragment s m/z 379,2684 odpovídá sodnému aduktu monooleoyl-glycerolu s odchylkou od teoretické hodnoty 14 mDa. Obtížné je vysvětlení přítomnosti fragmentu s m/z 397,2734. Tato hodnota koresponduje s elementárním složením pro draselný adukt monostearoyl-glycerolu s odchylkou 1,4 mDa.



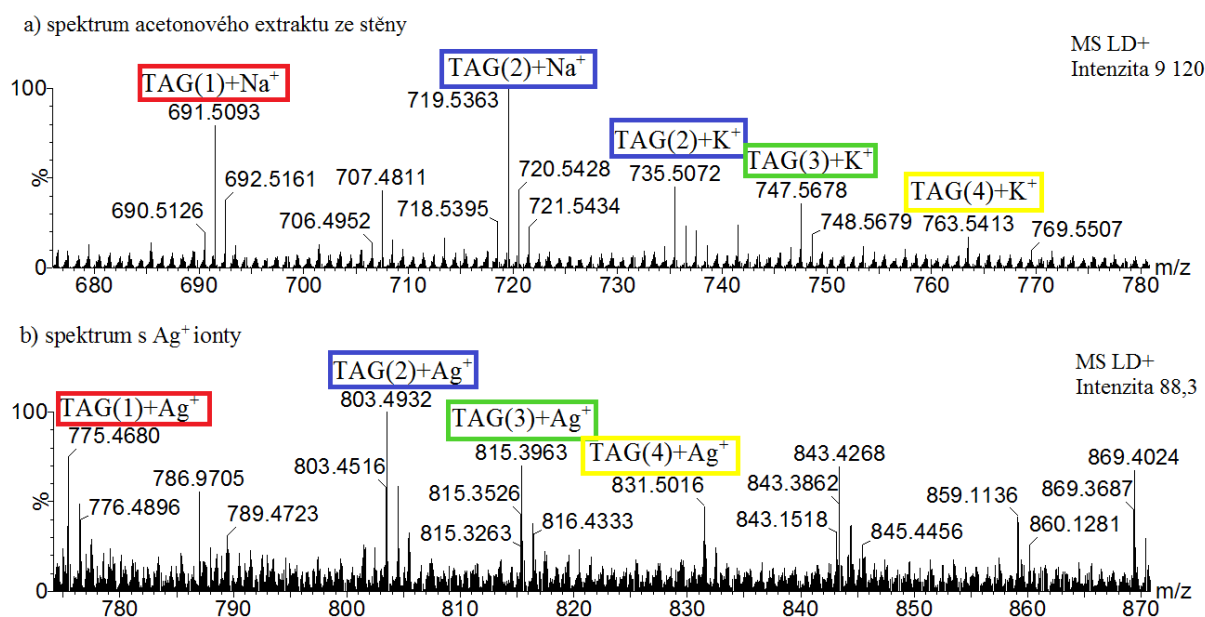
Obrázek 34: Fragmentační spektrum látky s m/z 719,54 (KE 35 eV). Tato látka byla přítomna s MS spektrech acetonovém extraktu ze stěny nádoby č. 1 z Brodku u Prostějova.

V MS/MS spektru sodiované molekuly se nemůže draselný adukt nacházet. Vysvětlení přítomnosti tohoto iontu přinesl experiment s iontově-mobilitní separací. Bylo zjištěno, že v blízkosti látky s m/z 719,54 se nacházejí signály s velmi podobnou hodnotou m/z , a to konkrétně látky s m/z 719,4480; 719,6471 a 719,9047 (viz Obrázek 35). Tyto látky výrazně ztěžují detailní identifikaci nalezeného markeru. V tomto případě se může jednat o draselný adukt s triacylglycerolem, který obsahuje ve své molekule kyselinu olejovou ($C_{40}H_{72}O_8K^+$, odchylka naměřené hodnoty m/z od teoretické je 38,4 mDa). Tyto výsledky demonstrují, jak složité směsi s ohledem na MALDI-MS analýzu představují extrakty studovaných obsahů pravěkých nádob. Současně ukazují, jak užitečná může být mobilitní separace v situaci, kde jsme s ohledem na charakter analýzy (necílený screening), typ vzorků a použitou ionizační techniku bez možnosti chromatografické předseparace analytů.



Obrázek 35: Spektrum iontové mobility pro látku s m/z 719.

Pro potvrzení přítomnosti TAG byl analyzován vzorek smíchaný s roztokem AgNO_3 . Literatura popisuje, že stříbrné ionty mohou vytvářet komplexy s triacylglyceroly.^{70, 71} Proto byl ke vzorku acetonového extraktu přidán dusičnan stříbrný (100 mg/l). Spektrum acetonového extraktu je porovnáno se spektrem se stříbrnými ionty na Obrázku 36. Látky, které se v extraktu ze stěny nádoby nachází v oblasti m/z 690 – 770 jsou následně ve spektru se stříbrnými ionty zobrazeny v oblasti m/z 770 – 840. Lze pozorovat, že sodné a draselné ionty byly nahrazeny ionty stříbrnými. Tento experiment tudíž potvrzuje, že nádoba skutečně obsahuje triacylglyceroly.



Obrázek 36: Spektrum acetonového extraktu ze stěny nádoby (spektrum a) a spektrum ze stěny nádoby měřené se stříbrnými ionty (spektrum b).

Nádoba č. 11

Měření probíhalo pomocí techniky MALDI-MS v pozitivním i negativním módu, kdy byly proti sobě porovnávány dvě části vzorku hlíny ze stěny nádoby. Část vzorku, která byla v kontaktu se stěnou nádoby, byla označena jako „vzorek“ a druhá polovina jako „blank“. V acetonovém extraktu byly nalezeny markery s m/z 274,2698 a 363,3268. První zmíněná hmota by mohla odpovídat amonnému aduktu palmitové kyseliny (odchylka 4,8 mDa) a druhá sodnému aduktu behenové kyseliny (2,9 mDa). V tomto případě jde o spekulativní závěry. Prokázání přítomnosti těchto látek by vyžadovalo další podrobnější experimenty. V tomto případě rovněž chybí vhodný referenční materiál.

5.1.4. Trávka

Nádoba č. 2

MALDI-MS analýza extraktu výplně nádoby č 2 bazickým methanolem odhalila po statistickém zpracování signál s hodnotou m/z 304,3014. V Oseku 2 byla nalezena kvartérní amoniová sůl, jejíž přesná hodnota m/z je 304,3004. Odchylka nalezené hodnoty od teoreticky vypočítané pro dimethylbenzylamonnou sůl je 1,0 mDa. Tato malá odchylka potvrzuje, že se

i zde bude jednat o kontaminaci v podobě kvartérní amoniové soli. Markery související s organickými rezidui v nádobě nebyly nalezeny.

Vzorek z této nádoby byl dodán v jednom kuse a nebylo možné jej rozdělit na jednotlivé vrstvy (kvůli malému množství vzorku). Hlína z nádoby byla proto porovnávána oproti vzorku z podloží.

Nádoba č. 3

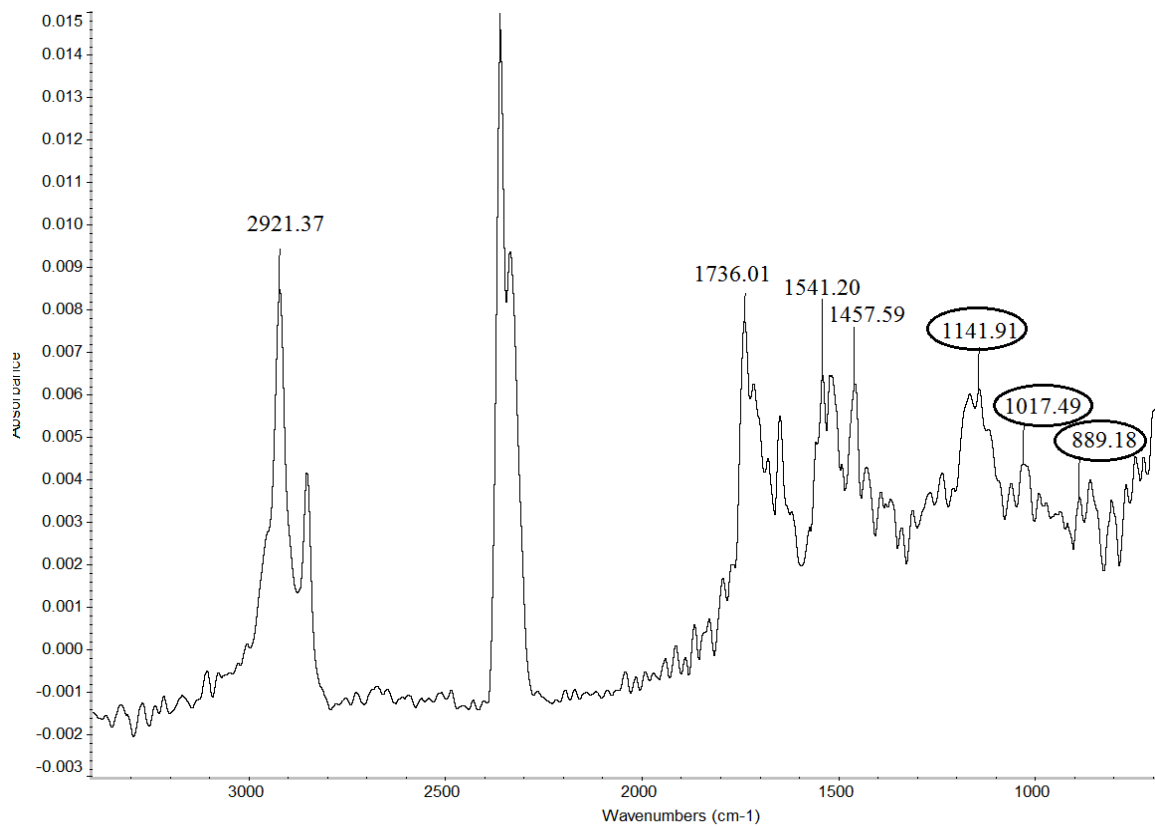
Pomocí MALDI-MS ani GC/MS nebyly v nádobě nalezeny žádné organické látky související s potravinami či jejich rezidui. Lze říci, že nádoba pravděpodobně neobsahovala žádné potraviny. Zřejmě byla do hrobu vložena pouze prázdná, nebo mohla obsahovat surovinu, která se rozložila beze zbytku, a nebo materiál, jehož rezidua neposkytují interpretovatelné signály markerů.

5.2. Jantarové korálky

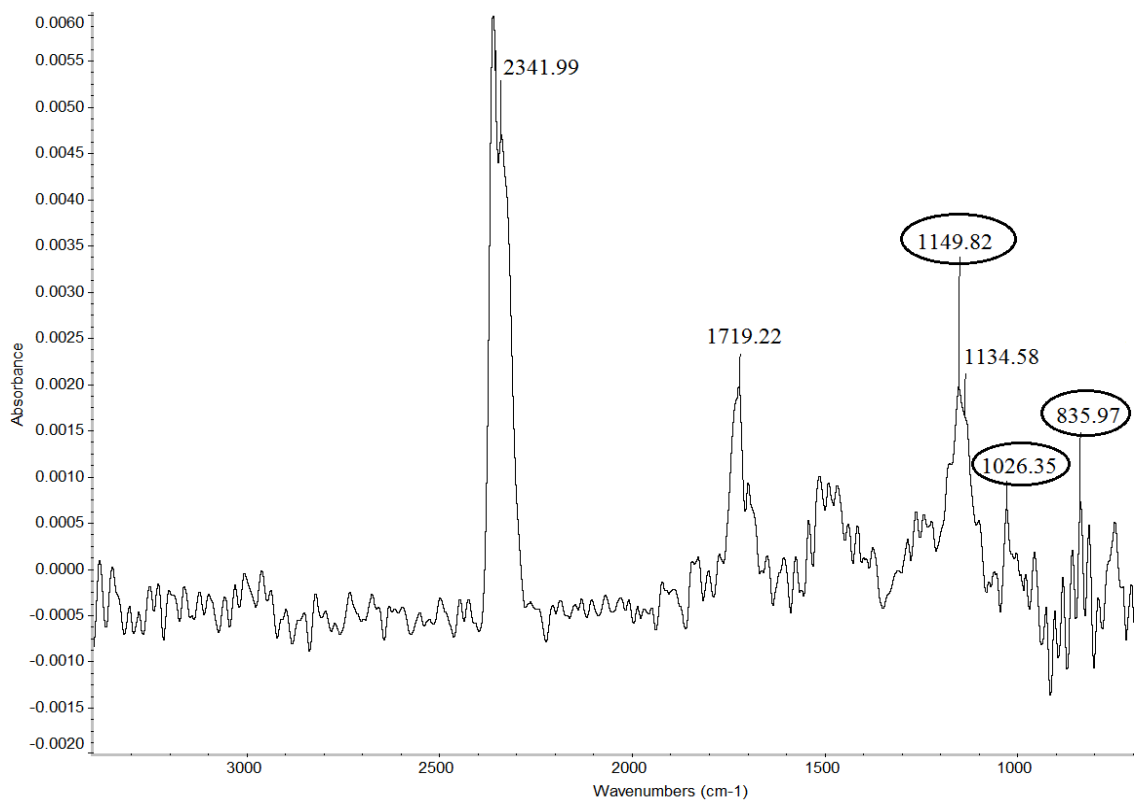
Dalším úkolem řešeným v rámci diplomové práce byla analýza jantarových korálků z Oseku nad Bečvou (obj. 187/H1). V tomto případě bylo požadováno, aby dodané vzorky nebyly analýzou poškozeny. Proto byly analyzovány pomocí IR spektrometrie. Tato technika je v archeologické praxi poměrně oblíbená, vzhledem k možnosti nedestruktivního měření v reflexním módu (ATR) a jednoduché přípravě vzorku (vzorek se pouze upevní na měřicí krystal). Cílem bylo zjistit, zda se jedná jantar od Baltského moře či o jantar pocházející z jiné oblasti.

Spektra jantarových korálků č. 5 a 7 jsou na Obrázku 37 a 38. V případě Baltského jantaru, jsou ve spektru patrné píky s vlnočty okolo $1\,150\text{ cm}^{-1}$, $1\,015\text{ cm}^{-1}$ a 879 cm^{-1} . U korálku č. 5 byly pozorovány píky s vlnočty $1\,141\text{ cm}^{-1}$, $1\,017\text{ cm}^{-1}$ a 889 cm^{-1} , a u korálku č. 7 jsou vlnočty $1\,149\text{ cm}^{-1}$, $1\,026\text{ cm}^{-1}$ a 835 cm^{-1} .

Intenzivní pík s vlnočtem $1\,150\text{ cm}^{-1}$ je charakteristický pro Baltský jantar.⁴⁹ Ačkoli jsou vlnočty dvou dalších signálů mírně posunuté oproti literárním hodnotám, je přítomnost všech tří píků pro Baltské jantary charakteristická.



Obrázek 37: IR spektrum jantarového korálku č. 5.



Obrázek 38: IR spektrum jantarového korálku č. 7.

6. Závěr

Cílem diplomové práce byla analýza archeologických vzorků s cílem potvrdit či vyvrátit přítomnost organických reziduí, která by poukazovala na dřívější vyžití nádob. Byla vyvinuta nová metoda přípravy vzorků, kdy hlína z nádob byla vertikálně členěna, extrahována čtyřmi rozpouštědly a extrakty byly analyzovány pomocí MALDI-MS a GC/MS. Získaná data z MALDI-MS analýz byla statisticky zpracována pomocí pokročilého statistického zpracování dat (PCA, OPLS-DA).

Cílem výzkumu byly nádoby pocházející ze čtyř lokalit – Oseku nad Bečvou, Držovic u Prostějova, Brodku u Prostějova a Trnávky. Technika MALDI-MS odhalila markery, které poukazovaly na přítomnost triacylglycerolů v řadě vzorků. Rezidua tuků byla nalezena v nádobách z Oseku nad Bečvou (nádoba č. 8), Držovic u Prostějova (nádoba č. 5) a Brodku u Prostějova (nádoba č. 1 a 11). Jednalo se především o sodné a draselné adukty mastných kyselin (palmitová, stearová, olejová, eruková) a triacylglycerolů. To dokazuje přítomnost zbytků tuků, nejspíše z potravin vložených do nádob. Nádoba u měděné dýky z Oseku nad Bečvou obsahovala soli kyseliny močové. Tyto nalezené soli mohou mít svůj původ v rituálních barvách, a nebo nádoba přišla do kontaktu s exkrementy ptáků či plazů. Metodou GC/MS byl v nádobách z Oseku nad Bečvou (nádoba č. 391, 423) a z Držovic u Prostějova (nádoba č. 2) nalezen miliacin. Tato látka poukazovala na přítomnost obilovin, pravděpodobně pravěké formy prosa. V některých nádobách, a to konkrétně v nádobě č. 1 z Držovic u Prostějova, nádobě č. 390 z Oseku nad Bečvou, nádob č. 2 a 3 z Trnávky nebyly nalezeny žádné významné markery dovolující určit využití těchto nádob. Tyto nádoby mohly být také do hrobu vloženy prázdné nebo mohly obsahovat surovinu, která se rozložila beze zbytku, a nebo materiál, jehož rezidua neposkytují interpretovatelné signály markerů.

U nádob č. 8 a 390 z Oseku a nádoby č. 2 z Trnávky byly nalezeny kvartérní amoniové soli. Tyto látky byly označeny za kontaminanty. Za cílem určení původu kontaminace byly provedeny další experimenty. Bylo zjištěno, že zdrojem kontaminantů s hodnotami m/z 550,6; 522,6 a 494,6 mohly být uzavíratelné plastové sáčky, ve kterých byly vzorky z některých nádob skladovány.

Metodou IR byly analyzovány jantarové korálky. Analýzy naznačují, že tyto ozdoby byly vyrobeny z jantaru pocházejícího z oblasti ležících poblíž Baltského moře.

Výsledky získané při řešení této práce potvrzují, že metody MALDI-MS, GC/MS a IR jsou vhodné nástroje pro výzkum pravěkých nálezů, poskytující neocenitelné informace při archeologickém výzkumu.

Seznam použité literatury

1. Sklenář, K., Sklenářová, Z. & Slabina, M. Pravěk v *Encyklopedie pravěku v Čechách, na Moravě a ve Slezsku* 290 (Libri, 2002).
2. Jiráň, L. Úvod v *Archeologie Pravěkých Čech/5 Doba Bronzová* 11–16 (Archeologický ústav AV ČR, 2008).
3. Podborský, V. V lesku zlatavého bronzu (doba bronzová) v *Pravěké dějiny Moravy* 233–332 (Muzejní a vlastivědná společnost v Brně, 1993).
4. Pleiner, R. Civilizace starší doby bronzové, počátky doby bronzové ve střední Evropě a únětická kultura in *Pravěké dějiny Čech* 330–334 (1978).
5. Sklenář, K., Sklenářová, Z. & Slabina, M. Nitranská kultura in *Encyklopedie pravěku v Čechách, na Moravě a ve Slezsku* 234 (Libri, 2002).
6. Pleiner, R. Ekonomický základ mladšího Pravěku, mistrovství hrnčírů v době před zavedením kruhu in *Pravěké dějiny Čech* 560–563 (Academia, 1978).
7. Lorencová, A., Beneš, J. & Podborský, V. Archeologicko-historická analýza in *Tešetice-Kyjovice III, Únětické přehbiště v Tešeticích- 'Vinohradech'* 99–144 (Universita J. E. Purkyně v Brně, 1987).
8. Pleiner, R. Civilizace starší doby bronzové, Únětická kultura ve středních Čechách in *Pravěké dějiny Čech* 334–339 (Academia, 1978).
9. Pleiner, R. Civilizace starší doby bronzové, výpověď pohřebišť a pohřebního ritu in *Pravěké dějiny Čech* 367–372 (Academia, 1978).
10. Jiráň, L. Střední doba Bronzová - mohylová kultura, Rituální aktivity a areály in *Archeologie Pravěkých Čech/5 Doba Bronzová* 122–126 (Archeologický ústav AV ČR, 2008).
11. Jiráň, L. Artefakty in *Archeologie Pravěkých Čech* 97–122 (2008).
12. Kočár, P. & Dreslerová, D. Archeobotanické nálezy pěstovaných rostlin v pravěku České republiky. *Památky Archeol.* **101**, 203–242 (2010).
13. Sklenář, K., Sklenářová, Z. & Slabina, M. Domestikace in *Encyklopedie pravěku v Čechách, na Moravě a ve Slezsku* 78–79 (2002).
14. Evershed, R. P. Organic residue analysis in archaeology: The archaeological biomarker revolution. *Archaeometry* **50**, 895–924 (2008).
15. Barber, J. & Ashmore, F. Organic residues in archaeology. *Scottish Archaeol. Rev.* **7**, 139–145 (1990).
16. Giorgi, G., Salvini, L. & Pecci, A. The meals in a Tuscan building yard during the Middle Age. Characterization of organic residues in ceramic potsherds. *J. Archaeol. Sci.* **37**, 1453–1457 (2010).
17. Correa-Ascencio, M. & Evershed, R. P. High throughput screening of organic residues in archaeological potsherds using direct acidified methanol extraction. *Anal. Methods* **6**, 1330 (2014).
18. Colombini, M. P., Giachi, G., Modugno, F. & Ribechini, E. Characterisation of organic residues in pottery vessels of the Roman age from Antinoe (Egypt). *Microchem. J.* **79**, 83–90 (2005).

19. Museum of Fine Arts Boston. Properties of Natural Resins. 1 (2006). at <http://cameo.mfa.org/images/b/b0/Download_file_112.pdf> [cit: 8. 2. 2016]
20. Colombini, M. P. & Modugno, F GC/MC in the characterization of lipids in *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology* 191–214 (John Wiley & Sons, 2009).
21. Evershed, R. P. *et al.* Chemistry of archaeological animal fats. *Acc. Chem. Res.* **35**, 660–668 (2002).
22. Fiore, D., Maier, M., Parera, S. D., Orquera, L. & Piana, E. Chemical analyses of the earliest pigment residues from the uttermost part of the planet (Beagle Channel region, Tierra del Fuego, Southern South America). *J. Archaeol. Sci.* **35**, 3047–3056 (2008).
23. Goffer, Z. Lipids in *Archaeological Chemistry* 311–320 (John Wiley & Sons, 2007).
24. Mayyas Al-Qudah, M. a., Douglas, K. a. & Al-Ajlouny, F. K. Beeswax Preserved in Archaeological Ceramics: Function and Use. *Ain Shams Univ. Fac. Arts. Ann.* **2**, 1–13 (2010).
25. Colombini, M. P. & Modugno, F. Organic Materials in Art and Archaeology in *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology* 3–36 (John Wiley & Sons, 2009).
26. Pavelka, J., Kovačiková, L. & Šmejda, L. The determination of domesticated animal species from a Neolithic sample using the ELISA test. *Comptes Rendus Palevol* **10**, 61–70 (2011).
27. Pollard, A. M. & Heron, C. The Chemistry and Use of Resinous Substances in *Archaeological Chemistry* 239–270 (The Royal Society of Chemistry, 1996).
28. Daher, C., Bellot-Gurlet, L., Le Hô, A. S., Paris, C. & Regert, M. Advanced discriminating criteria for natural organic substances of Cultural Heritage interest: Spectral decomposition and multivariate analyses of FT-Raman and FT-IR signatures. *Talanta* **115**, 540–547 (2013).
29. Bossard, N. *et al.* Distribution of miliacin (olean-18-en-3 β -ol methyl ether) and related compounds in broomcorn millet (*Panicum miliaceum*) and other reputed sources: Implications for the use of sedimentary miliacin as a tracer of millet. *Org. Geochem.* **63**, 48–55 (2013).
30. Lambert, J. B., Shawl, C. E. & Stearns, J. a. Nuclear magnetic resonance in archaeology. *Chem. Soc. Rev.* **29**, 175–182 (2000).
31. Leon, Y., Sciau, P., Bouquillon, A., Pichon, L. & Parseval, P. De. PIXE (particle induced X-ray emission): A non-destructive analysis method adapted to the thin decorative coatings of antique ceramics. *Nucl. Inst. Methods Phys. Res. B* **291**, 45–52 (2012).
32. Kellner, R., Mermet, J.-M., Otto, M., Valcárcel, M. & Widmer, H. M. Organic Mass Spectrometry in *Analytical Chemistry* 823–864 (John Wiley & Sons, 2004).
33. Ho, C. S. *et al.* Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *Clin. Biochem.* **24**, 3–12 (2003).
34. Juraschek, R., Dülcks, T. & Karas, M. Nanoelectrospray - More than just a minimized-flow electrospray ionization source. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **10**, 300–308 (1999).
35. Hoffmann, E. de & Stroobant, V. Ion sources in *Mass Spectrometry* 15–84 (John Wiley & Sons, 2007).

36. Aldrich, S. MALDI-Mass Spectrometry. *AnalytiX* 1–6 (2001). at <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Fluka/General_Information/fl_analytix6_2001_new.pdf> [cit: 9. 2. 2016]
37. Zaima, N., Hayasaka, T., Goto-Inoue, N. & Setou, M. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Imaging Mass Spectrometry. *Int. J. Mol. Sci.* **11**, 5040–5055 (2010).
38. Hillenkamp, F. & Peter-Katalinic, J. Lasers for MALDI-MS in *MALDI MS* 42–47 (Wiley-VCH, 2014).
39. Hoffmann, E. de & Stroobant, V. Mass analyzers in *Mass Spectrometry* 85–173 (John Wiley & Sons, 2007).
40. Neetu, K., Ankit, G., Ruchi, T., Ajay, B. & Prashant, B. A review on mass spectrometry detectors. *Int. Res. J. Pharm.* **3**, 33–42 (2012).
41. Cozzolino, R. & Giulio, B. De. Application of ESI and MALDI-TOF MS for triacylglycerols analysis in edible oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 160–167 (2011). doi:10.1002/ejlt.201000429
42. Liang, M., Zhang, P., Shu, X., Liu, C. & Shu, J. Characterization of pollen by MALDI-TOF lipid profiling. *Int. J. Mass Spectrom.* **334**, 13–18 (2013).
43. Buckley, M., Melton, N. D. & Montgomery, J. Proteomics analysis of ancient food vessel stitching reveals > 4000-year-old milk protein. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **27**, 531–538 (2013).
44. Mark, L., Patonai, Z., Vaczy, A., Lorand, T. & Marcsik, A. High-throughput mass spectrometric analysis of 1400-year-old mycolic acids as biomarkers for ancient tuberculosis infection. *J. Archaeol. Sci.* **37**, 302–305 (2010).
45. Yan, H. T., An, J. J., Zhou, T. & Li, Y. H. Analysis of proteinaceous binding media used in Tang Dynasty polychrome pottery by MALDI-TOF-MS. *Chinese Sci. Bull.* **58**, 2932–2937 (2013).
46. Parras, D. *et al.* Micro-Raman spectroscopy of decorated pottery from the Iberian archaeological site of puente tablas (Jaén, Spain, 7th-4th century B.C.). *J. Raman Spectrosc.* **41**, 68–73 (2010).
47. Kiefer, W., Mazzolini, A. P. & Stoddart, P. R. Raman imaging of ancient rust scales on archaeological iron artefacts for long-term atmospheric corrosion mechanism study. *J. Raman Spectrosc.* **38**, 1538–1553 (2007).
48. Tarquini, G., Nunziante Cesaro, S. & Campanella, L. Identification of oil residues in Roman amphorae (Monte Testaccio, Rome): A comparative FTIR spectroscopic study of archeological and artificially aged samples. *Talanta* **118**, 195–200 (2014).
49. Truică, G. I., Teodor, E. D., Litescu, S. C. & Radu, G. L. LC-MS and FT-IR characterization of amber artefacts. *Cent. Eur. J. Chem.* **10**, 1882–1889 (2012).
50. Zhao, D., Zhang, Y. & Essene, E. J. Electron probe microanalysis and microscopy: Principles and applications in characterization of mineral inclusions in chromite from diamond deposit. *Ore Geol. Rev.* **65**, 733–748 (2015).
51. Leon, Y. *et al.* The nature of marbled Terra Sigillata slips: A combined μ XRF and μ XRD investigation. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* **99**, 419–425 (2010).
52. Plynová chromatografie. at <http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf>

53. McNair, H. M. & Miller, J. M. Capillary columns and inlets in *Basic Gas Chromatography* 84–103 (John Wiley & Sons, 2009).
54. Linde gas a. s. Plamenioionizační detektor. at <http://www.linde-gas.cz/internet.lg.lg.cze/cs/images/PlamenoizolacniDetektor_INNA_22_4_200979_15731.pdf> [cit: 15. 2. 2016]
55. Linde gas a. s. Detektor s elektronovým záchytem. at <http://www.linde-gas.cz/internet.lg.lg.cze/cs/images/Detektor_4_6_200979_15732.pdf> [cit: 15. 2. 2016]
56. Pecci, A., Giorgi, G., Salvini, L. & Cau Ontiveros, M. Á. Identifying wine markers in ceramics and plasters using gas chromatography-mass spectrometry. Experimental and archaeological materials. *J. Archaeol. Sci.* **40**, 109–115 (2013).
57. Buckley, M., Penkman, K. E. H., Wess, T. J., Reaney, S. & Collins, M. J. Protein and mineral characterisation of rendered meat and bone meal. *Food Chem.* **134**, 1267–1278 (2012).
58. Spangenberg, J. E., Jacomet, S. & Schibler, J. Chemical analyses of organic residues in archaeological pottery from Arbon Bleiche 3, Switzerland – evidence for dairying in the late Neolithic. *J. Archaeol. Sci.* **33**, 1–13 (2006).
59. Akyuz, S., Akyuz, T., Cakan, B. & Basaran, S. Investigations of the historic textiles excavated from Ancient Ainos (Enez – Turkey) by multiple analytical techniques. *J. Mol. Struct.* **1073**, 37–43 (2014).
60. Garnier, N., Richardin, P., Cheynier, V. & Regert, M. Characterization of thermally assisted hydrolysis and methylation products of polyphenols from modern and archaeological vine derivatives using gas chromatography–mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **493**, 137–157 (2003).
61. Coelho, C. *et al.* Nature of Phenolic Compounds in Coffee Melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* **62**, 7843–7853 (2014).
62. Günç Ergönül, P., Akata, I., Kalyoncu, F. & Ergönül, B. Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. *ScientificWorldJournal.* **2013**, 1–4 (2013).
63. Mungure, T. E. & Birch, E. J. Analysis of Intact Triacylglycerols in Cold Pressed Canola , Flax and Hemp Seed Oils by HPLC and ESI-MS. *SOP Trans. Anal. Chem.* **1**, 48–62 (2014).
64. Manier, M. L., Cornett, D. S., Hachey, D. L. & Caprioli, R. M. Identification of Dimethyldioctadecylammonium Ion (m/z 550.6) and Related Species (m/z 522.6, 494.6) as a Source of Contamination in Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **19**, 666–670 (2008).
65. Mazel, V. *et al.* Chemical imaging techniques for the analysis of complex mixtures: New application to the characterization of ritual matters on African wooden statuettes. *Anal. Chim. Acta* **570**, 34–40 (2006).
66. Griaule, M. Masques Dogons. *Publication Scientifiques de muséum* 606 (1994).
67. Ferrer, I. & Furlong, E. T. Identification of alkyl dimethylbenzylammonium surfactants in water samples by solid-phase extraction followed by ion trap LC/MS and LC/MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 2583–2588 (2001).
68. Oyo-Ita, O. E., Ekpo, B. O., Oros, D. R. & Simoneit, B. R. T. Occurrence and sources of triterpenoid methyl ethers and acetates in sediments of the ross-river system, southeast Nigeria. *Int. J. Anal. Chem.* 1–8 (2010). doi:10.1155/2010/502076

69. Picariello, G., Sacchi, R. & Addeo, F. One-step characterization of triacylglycerols from animal fat by MALDI-TOF MS. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **109**, 511–524 (2007).
70. Laakso, P. & Voutilainen, P. Analysis of triacylglycerols by silver-ion high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Lipids* **31**, 1311–22 (1996).
71. Cherif, A. O. *et al.* NARP-HPLC/MS5 and silver cationization fingerprinting of triacylglycerols in wild and cultivar Tunisian peanut kernels. *LWT - Food Sci. Technol.* **57**, 236–242 (2014).

Přílohy

Příloha č. 1 – markery nalezené v nádobě č. 8 z Oseku nad Bečvou, obj. 187/H. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD							
voda		kyselý methanol		bazický methanol		aceton	
687.2076	753.197	619.5358	717.5511	473.1606	522.6011	663.5369	
955.1035	708.1157	591.5015	899.7463	657.1553	550.6337	801.504	
772.107	632.1628	635.4978	831.5595	580.0577	537.27	504.2553	
660.1534	741.215	715.5433	731.5571	547.1071	565.2991	1065.748	
678.1553	715.221	620.541	637.5012	522.6022	494.5663	573.1951	
385.1077	562.1129	522.6012	675.4577	641.1538	523.6028	733.5055	
839.1501	713.2208	550.6345	689.5055	550.6351	551.6366	707.4955	
528.1762	612.118	647.5545	704.6094	479.1547	619.5352	323.2215	
730.1101	691.2124	607.4626	706.5989	689.1515	803.5424	719.5551	
597.166	311.0505	592.5043	873.7123	506.1051	538.2829	923.7541	
699.2005	763.1664	663.5428	659.4906	413.1513	591.5013	869.4466	
823.1589	879.1095	701.5111	713.5112	468.1079	566.3055	741.3411	
468.1555	644.1577	636.5042	594.5014	509.1601	495.5643	871.7043	
847.0034	677.2053	897.7441	897.6934	670.1054	775.5046	545.2591	
786.0554	680.1609	716.5447	619.4897	411.0655	381.2965	488.2604	
676.1555	735.1694	706.6409	353.2598	634.1524	635.4975	438.4987	
510.1581	909.254	803.5457	845.6983	427.0923	382.4452	573.2986	
790.0566	689.2575	722.607	701.5524	567.1041	466.5405	319.2026	
536.1125	723.1549	687.5006	953.7397	505.1033	897.7453	899.7461	
388.0569	573.4463	523.6029	688.5001		508.5856	719.4959	
366.1168	993.0616	648.5573	857.7515		550.5994	578.5038	
939.0954	692.1573	775.5048	925.7535		353.262	557.3334	
624.0536	639.3544	673.4953	674.4996		607.4663	882.7516	
356.0548	642.1583	494.5657	633.4982		537.3024	463.2414	
466.1036	710.1068	551.639	787.6004		536.607	689.4553	
641.2083	303.0613	718.5002	900.7489		804.5437	895.7368	
844.9915	621.2006	881.7497	776.5034		298.3481	913.7382	
474.1758	552.1669	715.494	924.7503		620.5353	703.4906	
748.1037	796.0504	702.5123	691.462		335.1916	711.295	
575.4026	564.1098	608.4655	883.7609		776.498	337.1994	
647.2014	697.2235	704.492	593.4983		685.44	539.2896	
956.1121	355.1446	898.7512	617.5038		731.5051	523.293	
354.0567	530.1019	923.7541	469.3506		520.5854	686.4475	
661.9815	367.1136	621.5407	757.5423		410.4668	715.5415	
821.1562	837.1614	719.5015	855.7507		524.5974	803.4958	
703.2022	291.0526	723.6057	687.4402		713.2971	563.2991	
720.0981	773.2218	664.5417	761.5932		592.5042	567.2972	
570.1744	340.053	911.7032	955.7431		831.5563	340.0173	

345.1068	726.0518	578.507	620.4946	647.5532	870.4474
522.106	435.2041	804.5465	907.7606	735.5428	735.4988
617.4718	815.0714	729.4974	872.7085	548.6055	503.258
661.4974	822.1369	913.7422	678.597	544.3379	763.5529
611.2043	829.1894	871.7115	896.7421	555.1866	509.5915
665.2143	637.2143	720.5976	721.5959	881.7446	911.7032
556.1162	412.1038	939.7511	912.7078	502.2518	558.3148
767.1871	502.113	882.7553	921.7455	552.6422	321.2032
385.1811	651.205	895.7403	846.7019	295.1976	701.5019
372.0566	526.1554	747.503	694.5873	717.499	802.5456
669.2074	722.0986	937.7491	675.5082	898.7468	659.2379
645.2069	814.005	707.643	914.7438	636.5042	547.3095

Příloha č. 2 – markery nalezené v nádobě č. 8 z Oseku nad Bečvou, obj. 187/H. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD					
voda		kyselý methanol	bazický methanol	aceton	
574.4069	684.2559	473.2647	430.9462	505.2876	526.9982
848.0796	819.2101	255.2257	266.9233	473.263	681.043
337.1572	617.2549	474.2697	264.9291	533.3099	939.0451
632.2049	823.2073	466.0806	377.9906	284.946	606.9915
143.047	504.2029	464.0588	297.996	255.2201	894.0522
844.0939	737.2661	468.095	539.9976	916.0469	258.9155
447.2059	568.2022	465.0666	343.998	283.2495	901.0418
158.0322	832.204	450.0873	257.9258	474.2639	739.045
891.4644	268.1035	440.0557	326.9962	506.2916	490.9339
580.2094	855.2214	480.0523	338.997	534.3124	694.048
683.253	771.2582	439.0516	397.9923	919.0579	448.2931
371.2101	820.2191	471.1152	317.9939	524.9989	531.2998
738.2074	210.9929	449.0815	207.9644	392.9494	737.0385
799.2098	361.0368	483.0811	174.9839	504.2826	570.994
830.1906	362.0362	422.0505	316.3298	532.3095	621.9898
600.2066	228.0486		713.0476	898.0589	309.9962
651.2535	196.0489		594.081	746.993	765.0935
396.1582			696.0962	690.049	856.1033
279.9853			734.0883	630.048	447.2519
266.102			396.9898	286.9429	594.9663
315.3657				453.9988	433.9914
479.2117				299.9997	563.9916
777.209				1121.051	410.9417
678.2087				464.9987	782.0891
605.274				671.3007	454.9359
803.217				293.1665	586.994

708.2042			917.048	923.0536
812.2165			457.2396	637.0412
637.291			699.3381	885.061
876.1825			439.9995	756.0402
503.2079			629.2453	340.1946
692.2064			901.0946	761.0485
512.2121			326.1757	502.9976
848.1822			938.0514	879.049
425.2012			283.9638	953.9933
711.2613			804.9903	449.2716
344.1606			368.9481	624.9922
808.2214			646.0471	754.0397
548.2047			343.1944	905.0754
227.1029			401.9986	510.9939
750.203			899.0486	477.9966
491.215			484.9978	873.0498
649.2656			674.0457	638.0496
713.2551			918.0862	521.9924
386.1521			1122.051	624.0479
374.2117			432.948	553.9913
821.2099			941.0569	700.3457
579.2676			657.2722	421.9922
653.2651			648.046	614.0474
625.2733			249.1017	696.0405

Příloha č. 3 – markery nalezené v nádobě č. 13 z Oseku nad Bečvou, obj. 187/H. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD					
voda	bazický methanol		kyselý methanol		aceton
192.0069	271.0276	609.3496	1110.752	578.4907	298.2675
602.3802	365.0997	617.3967	1073.625	633.0059	344.0734
574.3516	398.0544	621.4528	884.4425	487.3012	343.0684
559.3686	417.3671	623.4545	804.6623	657.3812	367.0484
637.3336	413.0946	633.4346	593.1691	583.0551	445.1006
374.0539	429.2452	637.3826	324.042	732.5042	455.1233
288.028	437.0721	639.3306	485.2927	809.5463	469.312
318.035	449.3566	649.4892	719.479	607.4472	481.1209
573.3499	440.0371	654.3476	717.4632	595.3014	487.1014
368.9985	456.3158	670.1073	365.1021	721.453	494.5535
	483.3506	694.5627	731.5007		523.5984
	486.3065	705.5892	812.557		522.596
	485.2994	707.4936	708.5599		551.6253
	523.3268	719.5081	722.5899		550.6127

	527.1564	722.6032	435.9573	565.0645
	532.3108	721.4919	701.3901	621.1458
	544.3379	732.5104	805.5614	625.0985
	543.1369		839.4923	639.1493
	547.3336		815.551	637.1448
	547.1092		709.5219	640.5682
	577.4026		555.2698	653.1429
	581.3542		790.6007	655.1028
	589.4244		723.5928	664.4502
	597.2643		637.4047	663.4446
	602.3974		420.9918	668.1103
	599.3678		429.2083	667.1059
	597.3422		421.9937	671.1079
	605.5073		457.2515	685.4369
	609.485		655.4392	701.3991
	609.4421		733.4953	803.1509

Příloha č. 4 – markery nalezené v nádobě č. 13 z Oseku nad Bečvou, obj. 187/H. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD						
voda	bazický methanol		kyselý methanol		aceton	
559.3859	979.1507	1141.149	398.9459	841.0422	526.9948	282.9965
343.1624	966.1692	1116.155	753.9952	389.9423	524.9938	523.9963
533.3723	979.1068	930.1006	709.9998	725.9889	356.9941	440.9824
275.1598	935.1518	983.0727	620.9431	773.9912	615.0487	486.0303
727.4426	967.1488	1037.09	758.9925	636.9344	542.9976	659.0425
725.4148	950.1726	902.0747	733.9967	942.9949	498.9962	525.9942
343.0515	963.1006	933.0812	394.9456	697.9962	522.9939	898.043
344.0588	919.1584	990.1246	722.995	762.9833	541.9973	504.9964
316.1978	934.1478	973.1132	400.9473	878.9961	478.9957	794.0386
361.0327	948.1094	724.0272	693.996	408.9483	314.9983	896.0364
377.0353	1097.162	1043.072	711.9927	721.9905	686.9978	743.0873
342.0573	1003.112	1109.105	406.9446	604.9472	704.9959	497.9935
345.0611	869.0426	889.0955	702.9897	618.9433	728.9906	297.1288
372.0667	991.1428	1081.152	757.991	743.9775	300.9991	948.0879
378.046	971.105	1103.17	397.9473	1071.046	796.0436	666.041
180.037	1131.151	1022.114	755.9845	824.043	310.9936	912.005
316.046	953.1532	1025.076	715.9981	880.9966	443.0448	326.9955
316.3665	1023.1	950.123	692.9905	924.9978	674.0454	732.9965
300.0514	989.1094	1132.151	729.9968	964.989	331.9933	410.9458
	1115.15	1057.15	751.9919	920.9886	287.997	479.9955
	983.1255	875.0241	760.9839	944.9859	480.9938	577.9625
	938.1659	982.1214	691.9905	863.0366	374.9465	503.9955

960.1056	784.0947	387.9433	767.9891	953.9936	494.9979
927.1033	966.1236	858.9913	782.9918	258.9952	727.9935
987.1058	906.1091	704.9956	696.9973	632.0418	710.9958
1005.097	247.9897	778.9942	780.9963	508.9939	730.994
1019.064	954.1601	732.9965	701.9969	326.1612	546.9981
964.1016	1095.116	736.9905	918.9981	388.9422	668.9924
1101.158	1008.124	864.0385	393.9438	468.0415	228.9944
1007.108	951.1538	756.9939	905.0415	619.0439	360.9983
1071.146	947.1054	735.9965	738.9913	657.0441	618.0455
891.1318	962.1028	551.9921	775.992	502.9935	299.9957
939.1548	965.1089	720.9893	796.9913	899.0491	492.9836
946.1085	815.1109	409.9494	716.9984	616.0452	1003.046
969.1576	980.104	866.0419	927.0381	484.9959	679.0438
955.1564	945.1066	842.0362	728.9897	510.9916	1121.006
1099.155	905.1056	777.9908	376.945	578.9478	811.0393
1001.063	937.1506	686.9959	703.9923	435.9907	264.9792
1085.167	920.0951	834.0382	578.9477	650.0431	548.9991
988.1083	932.1412	826.0377	657.9926	914.9929	842.0653
970.1547	813.1032	713.9921	698.9805	591.0438	644.0357
936.1635	943.0993	675.9984	667.9928	785.9527	507.996
975.1281	1021.097	1008.054	687.9913	664.0423	608.0492
1100.156	872.0592	584.9471	366.9473	329.9896	840.0466
1127.105	797.084	688.992	900.0558	353.9978	644.9945
1117.158	771.0686	600.9418	844.0438	617.0422	779.0364
913.0272	931.1113	734.9983	602.943	931.0946	527.9958
957.129	873.0639	371.946	798.9964	919.034	724.992
981.1041	814.1032	856.0426	881.0556	316.9809	456.994
1085.104	665.0942	909.0219	669.9927	490.9925	506.9959

Příloha č. 5 – markery nalezené v nádobě u měděné dýky z Oseku nad Bečvou, obj. 187/H.
 Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD							
voda	methanol		kyselý methanol + voda	bazický methanol + voda		aceton	
537.2628	656.8938	610.9442	394.9439	638.8947	787.9425	955.0071	1433.496
538.2721	625.9487	757.9911	581.0021	824.8967	444.8795	956.0096	411.0548
488.262	812.9445	603.9436	582.0034	657.8941	600.9424	955.0531	1160.969
429.2343	809.9449	766.9383	564.9964	852.8986	794.9393	785.966	372.9468
529.2875	786.9452	870.8974	375.9967	976.9468	599.347	784.9484	580.2756
546.2707	582.9444	708.8951	375.0222	850.8937	496.8929	957.0002	528.2715
599.3506	790.9488	562.9482	369.9887	828.8965	357.9936	730.9998	613.3591
544.2649	394.9435	638.8941	331.0371	694.848	815.9445	248.9989	517.3252
244.9485	470.8946	503.9392	334.0153	785.947	566.9481	939.025	418.2257
577.2886	846.8929	802.9424	333.0112	640.893	542.8908	710.9995	1348.444
600.3683	521.9968	649.9462	580.0009	454.8983	331.9953	747.998	1175.405

619.9493	448.8955	711.9967	206.9906	663.8982	824.9466	828.9337	555.2532
559.2633	614.9421	553.9985	376.0281	264.8932	573.3255	958.9949	899.2875
585.384	660.8951	444.9463	207.9937	642.8944	422.9463	788.9468	1224.65
771.9986	574.9483	331.9958	332.0416	778.9425	1020.951	952.995	837.0496
532.2886	784.9467	770.939	163.0006	557.9474	780.9417	457.3097	831.2466
831.2828	551.9928	454.8979	531.2799	659.8998	691.9991	976.9869	737.4878
565.3017	662.8942	564.9466	313.0273	450.8965	774.9489	754.9888	739.3829
573.3098	755.9945	793.9466	413.2461	662.8919	627.9493	590.3878	655.2209
367.9792	775.9903	586.9424	583.0025	809.9465	563.9979	573.401	822.0647
602.3701	792.9426	568.9443		658.8965	520.9973	712.9927	669.3408
	584.9468	387.9916		601.9419	1058.904	711.2469	809.0914
	650.9372	364.1117		374.9971	431.918	617.3867	1434.497
	654.8923	735.9996		521.998	777.9995	617.4271	739.2993
	357.9963	465.9832		826.8954	546.9979	953.9893	827.0884
	411.9471	588.9413		792.9432	656.9136	523.9912	
	682.8938	523.9939		848.8911	938.9944	381.2828	
	727.9954	605.9434		452.8952	999.963	502.2449	
	852.8977	464.9418		625.95	733.9976	705.4767	
	581.943	898.9106		748.9467	743.9879	679.405	
	760.9924	761.987		766.9356	564.9976	661.4489	
	599.9439	683.959		364.8987	796.9499	643.0337	
	866.8981	1006.96		847.8908	562.999	1347.452	
	787.9453	321.1177		476.8959	522.9983	683.3358	
	768.9493	810.9468		1036.896	488.8921	734.9982	
	796.9496	390.9433		789.9481	504.9416	546.3564	
	594.948	602.9451		664.8942	429.2203	450.04	
	442.9472	630.9454		284.8965	657.933	288.9888	
	813.9449	753.9966		674.0473	356.9946	658.0483	
	450.8958	519.9972		816.938	846.9356	764.9922	
	838.9396	740.9937		863.8952	602.3602	712.2707	
	794.943	611.9738		791.9402	825.9501	635.4053	
	396.9431	751.9936		770.9384	322.901	807.9653	
	501.9942	547.9929		412.9484		917.2868	
	578.9428	539.9934		1030.906		659.0321	
	815.943	599.3492		711.9957		529.3785	
	476.8955	738.9964		390.8866		678.4423	
	789.947	540.188		608.9456		639.0447	
	558.9415	525.997		402.8542		530.3392	
	772.943	476.1442		429.9026		571.9989	

Příloha č. 6 – markery nalezené v nádobě u měděné dýky z Oseku nad Bečvou, obj. 187/H.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD								
voda	methanol		kyselý methanol + voda		bazický methanol + voda		aceton	
505.2793	960.0462	549.0589	353.9483	546.9975	313.9473	704.9952	327.9954	281.9956
576.946	907.0974	679.152	377.946	545.9936	722.9462	616.0453	480.9955	468.9913
916.0464	789.997	735.0444	729.9946	315.9963	746.9471	454.0441	498.9994	296.9387
729.9947	929.1427	759.0549	518.9462	749.011	914.9953		285.9937	548.9995
387.9807	863.1042	592.0355	548.9423	466.9905	920.9892		392.9348	446.9148

785.9868	831.1452	552.1043	564.9441	480.9956	896.9918	505.26	448.9979
525.0568	809.0881	508.086	590.9439	490.9947	725.3878	394.9483	295.9821
526.0584	722.0432	550.0875	566.9469	579.99	723.3616	368.9339	217.9987
748.0402	845.1032	667.0501	560.9472	494.9468	894.9959	540.9986	479.9977
749.0403	839.1551	734.0433	345.9399	510.992	893.9965	492.981	388.9458
784.9874	944.0841	683.0368	588.9449	524.9951	540.9978	526.9973	370.9489
732.0518	940.0566	496.0879	562.9447	577.969	852.0432	278.9277	302.9245
	525.0884	695.0428	530.9326	769.9955	539.9936	273.9965	283.9846
	525.275	594.0684	540.9977	382.9462	947.0991	107.0052	466.9921
	525.2214	498.095	365.9462	478.9944	312.9436	309.9925	508.9971
	526.092	575.0463	373.9428	716.9939	848.0588	260.9187	262.9445
	754.0517	702.0619	601.9413	483.9954	930.0956	510.9921	291.9791
	716.1019	467.1588	574.9257	342.9458	830.0568	559.3658	219.9512
	792.0079	553.1039	522.9465	534.9966	859.109	364.9973	286.9405
	528.0928	506.059	395.9451	566.9954	522.9932	496.996	307.9959
	527.0924	611.0366	356.9951	376.9446	729.993	275.978	426.9996
	753.054	782.9905	158.9967	357.9928	496.9961	339.9934	456.9486
	609.0521	725.0474	522.995	536.9679	730.9913	223.9423	276.9141
	510.0965	529.158	287.9963	494.9972	615.0434	504.9925	319.9945
	715.0945	542.1599	498.9962	463.9968	576.9772	454.9956	293.9959
	548.057	505.0545	578.9468	740.9909	578.9477	303.9966	624.9866
	767.0104	495.0872	479.9971	527.9945	504.9951	522.9935	429.9512
	576.9953	511.0562	496.9968	551.9866	711.9919	178.9892	533.2979
	737.0412	663.0326	526.9957		229.994	503.9989	506.9928
	717.0999	643.0406	747.005		497.9925	265.9864	179.9867
	591.04	568.0418	785.9577		501.9975	424.9935	414.9406
	632.0323	538.1557	784.9549		799.1025	276.9794	155.986
	614.0394	551.0925	748.0113		691.9934	524.9974	196.0412
	537.0898	552.1534	704.9963		649.0439	502.9964	474.9975
	526.2779	713.0467	505.9943		821.0392	412.9469	486.9939
	771.0423	582.1558	497.9928		686.9973	186.9562	452.957
	610.0517		314.9966		707.9978	241.9509	396.9371
	509.0954		327.9967		668.9935	544.9942	406.9485
	533.0404		576.9454		728.9926	422.9962	321.9941
	731.086		746.005		200.9973	490.9933	347.9874
	593.0567		236.9443		523.9955	516.9822	350.9304
	538.0945		504.9963		820.0562	456.9775	525.994
	547.0566		541.9952		769.1427	333.9802	464.9918
	588.0377		523.9949		742.9959	255.2133	460.9954
	613.044		232.9456		781.0991	344.9341	566.9941
	519.0456		578.9861		936.9971	259.982	234.9467
	562.0424		207.9461		154.0152	401.9967	550.9867
	697.0424		508.9939		893.0112	324.9434	215.9883
	405.0491		525.9953		669.9939	348.9452	602.9861
	752.0508		509.9916		453.0473	278.9939	444.9963

Příloha č. 7 – markery nalezené v nádobě č. 390 z Oseku nad Bečvou, obj. 213. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD				
voda	kyselý methanol		bazický methanol	aceton
843.7013	701.4047	478.9516	343.1389	304.3025
869.7095	702.4047	869.4558	310.2335	332.3309
857.7262	686.4458	378.0418	509.3773	468.1007
815.6632	353.0311	768.0329	569.0423	696.6491
871.74	703.4067	375.1933	450.9499	277.0669
829.6928	414.2629	375.1123	559.0079	694.0994
841.6947	609.0154	756.1038	536.3727	773.142
842.6979	486.1519	867.5769	432.9594	722.0535
844.7036	372.0098	715.5425	344.1365	783.1453
895.7437	626.3037	342.0535	495.25	953.2133
855.7056	767.0161	480.0501	357.1488	634.1382
813.6567	576.3599	358.9952	645.0633	305.3055
827.6721	939.1042	591.0481	717.6146	816.146
897.7486	120.9979	249.0051	421.0198	654.1509
867.7066	205.986	663.4479	577.3652	591.1194
831.6989	559.0107	274.9854	674.5798	445.106
845.7125	432.9635	508.3787	481.1251	935.1859
803.6731	792.998	493.4	713.0392	513.1382
859.7346	770.0407	454.9889	788.5471	617.1249
326.3838	369.0013	664.455	821.0983	815.1476
817.6957	809.0033	427.2811	873.495	605.1633
856.6974	638.9785	352.996	574.999	653.1516
857.6963	619.9906	602.3851	558.2129	610.9582
839.6736	604.0041	407.0571	771.5787	619.1518
801.6557	188.9848	933.6362	788.0516	593.127
815.7029	418.3696	386.9975	471.3333	801.1624
872.7333	436.9969	483.3449	817.4881	636.1545
825.7149	597.2713	871.4581	797.5568	706.0746
870.7236	754.0511	940.0693	819.4937	336.0757
830.6948	873.4885	463.3508	733.1167	484.0983
858.7277	857.6917	435.0079	597.2814	301.0669
853.7299	829.7237	774.0474	487.3077	668.1337
816.6774	599.0446	493.1538	487.2222	451.0983
304.3058	830.9882	757.1005	489.0455	857.1262
522.6128	955.0537	497.0453	287.057	
	687.4513	461.2064	613.0889	
	393.2965	640.9885	359.1295	
	320.0752	329.0452	800.6083	
	702.4509	461.398	837.5539	

164.0097	576.9982	369.1204
788.036	815.0079	875.4822
415.0096	704.4119	335.1885
435.9751	292.0211	793.1626
210.9906	559.0686	508.3801
430.9998	307.0506	494.2457
794.0352	751.5969	676.4058
492.3997	738.0661	
476.9557	792.0214	
729.1014	742.5429	
621.0012	338.0167	

Příloha č. 8 – markery nalezené v nádobě č. 390 z Oseku nad Bečvou, obj. 213. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD				
voda	kyselý methanol	bazický methanol		aceton
-	473.2828	255.9312	189.0157	968.2062
	496.0475	262.9562	550.0976	1103.254
	312.9971	206.0554	346.1037	1116.233
	541.2515	422.9516	163.0073	1101.245
	204.9834	541.2469	181.0484	1113.203
	494.0437	621.0058	582.1042	665.1543
	221.9988	669.0478	315.1888	
	300.9971	366.9865	124.0465	
	289.9981	491.0275	474.0957	
	523.0455	600.0922	226.9387	
	330.1059	329.103	576.0846	
	232.997	627.0477	489.0434	
	358.9944	468.9486	195.0427	
	499.0472	333.3131	499.2475	
	541.0641	564.1129	414.0101	
	333.211	954.051	839.0967	
	542.0669	467.0477	328.9941	
	500.0456	316.1958	676.0988	
	330.9954	667.0837	476.1108	
	288.997	733.0428	367.9931	
	528.0442	258.9266	354.9993	
	915.0995	578.1233	483.0468	
	543.0674	222.049	660.094	
	540.0508	284.0514	901.0814	
	498.0468	937.0824	218.0548	
	730.0676	592.1576	216.0386	
	527.0478	434.0468	786.0149	
		224.944	475.046	

		549.0494	447.1053
		307.0118	210.0462
		296.9956	252.0402
		506.0423	360.0094
		253.0503	213.0518
		598.0213	711.0417
		602.0873	730.0456
		451.0423	556.107
		192.0375	562.0379
		228.0379	458.0474
		402.0741	294.0533
		473.2807	199.0379
		194.0504	316.9968
		315.1051	436.9956
		412.074	478.0468
		239.0317	670.048
		585.0404	486.0463
		301.1055	189.051
		338.0811	353.1012
		618.0994	
		731.0441	
		534.0587	

Příloha č. 9 – markery nalezené v nádobě č. 391 z Oseku nad Bečvou, obj. 213. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
701.407	523.6556	299.3495	565.3507
284.3358	718.8219	655.9807	775.5193
494.5698	304.1353	450.9544	333.1768
815.6536	1009.216	508.9271	539.2978
621.3982	522.6543	432.9728	323.2326
459.3028	809.206	456.989	295.1955
522.6021	923.1557	522.9049	537.2937
817.6742	841.2082	468.9457	
550.6399	746.8605	652.9642	
551.3574	825.2072	569.0555	
787.4632	672.155	579.0549	
595.3534	661.2048	623.0036	
583.2696	692.1549	658.9694	
655.3414	844.2073	642.9949	
493.3054	879.1556	786.0214	
599.357	843.2097	603.0549	
560.8565	700.1563	544.8942	
849.1944	674.1535	616.9811	
692.9137	730.8399	692.9325	
484.9174	705.8184	559.0169	

790.9974	468.5534	691.1515
	576.6608	506.1055
	905.1616	569.46
	582.0468	472.9587
	581.0432	539.1015
	771.0546	344.2157
	787.0437	747.1041
	524.6095	655.0072
	494.578	571.0678
		699.1546
		807.0151
		547.1024
		435.9877
		810.0242
		656.9678
		397.0554
		824.9996
		803.558

Příloha č. 10 – markery nalezené v nádobě č. 391 z Oseku nad Bečvou, obj. 213. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD				
voda	kyselý methanol		bazický methanol	aceton
-	242.9573	916.1175	366.9909	-
	240.9601	522.1004	482.928	
	409.0052	246.9957	224.9833	
	915.1123	275.1019	280.9307	
	408.0023	539.0578	241.9607	
	411.0039	333.1024	277.9375	
	410.0089	525.1567	394.012	
	223.0039	335.102	198.9494	
	334.1042	341.1037	240.9576	
	373.0372	344.1006	242.9539	
	747.0852	327.1025	276.9378	
	542.0876	545.1018	278.9308	
	486.1537	544.0911	410.9986	
	579.0401	289.017	409.003	
	915.1579	401.1052	410.0049	
	289.1013	270.9935	393.0183	
	374.0403	265.0166	407.997	
	469.1568	535.0405	412.0017	
	541.0811	692.1581	413.002	
	543.0906	357.1029		
	412.0056	433.1081		
	343.1054	746.0605		
	406.9958	317.1058		
	495.1507	473.156		
	748.0903	371.0129		
	540.1027	769.0504		
	540.0655	316.1077		
	455.1555	715.1585		

	690.1518	913.1029		
	470.1526	397.104		
	359.1028	707.1069		
	485.1574			
	388.0034			

Příloha č. 11 – markery nalezené v nádobě č. 423 z Oseku nad Bečvou, obj. 213. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
326.3786	310.0188	537.2851	304.3013
304.1297	653.3561	565.308	360.3665
580.9941	581.0481	381.3057	332.331
584.9945	355.0169	353.2723	305.3051
578.9941	485.1686	323.2291	333.3374
786.9946	206.9998	538.2871	360.0624
524.8917	331.0571	566.309	318.0539
507.0475	375.0473	295.1984	337.0087
525.0447		354.2741	565.0502
448.9444		607.4764	359.0569
450.9526		567.3205	549.0687
582.9934		539.2827	317.0527
506.0438		685.2951	304.1316
505.0482		535.2573	567.0528
470.1515		636.5113	470.156
598.9882		713.3177	653.3477
386.0038		521.2852	486.1519
452.9557		537.2476	
692.912		591.5078	
508.9052		635.506	
616.986		803.5404	
433.9651		619.5375	
656.953		565.054	
510.9091		566.0558	
592.0085		702.4261	
409.0009		701.4143	

Příloha č. 12 – markery nalezené v nádobě č. 423 z Oseku nad Bečvou, obj. 213. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
-	357.5652	-	-

Příloha č. 13 – markery nalezené v nádobě č. 1 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
541.1539	383.9955	550.6472	399.0421
542.155	534.0352	390.0192	383.0498
543.1539	518.0457	671.1131	459.1237
467.1335	389.0433	522.073	388.0321
485.1752	359.0505	551.6598	581.0678
419.197		360.0099	397.043
207.0063		633.1937	549.0861
		522.6189	331.0651
		384.0238	395.0245
		368.0199	659.1694
		552.0629	527.0913
		352.0236	381.0577
		632.1848	653.3722
		386.03	515.0818
		370.0306	333.0437
		524.0934	374.056
		388.0339	429.1106
		593.0382	
		525.0937	
		579.0446	
		539.0832	
		507.0915	
		373.0478	
		374.0435	
		355.031	
		387.0269	
		653.3607	

Příloha č. 14 – markery nalezené v nádobě č. 1 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
-	373.1019	481.1009	647.1302
		333.0737	373.0381
		521.0579	315.0594

Příloha č. 15 – markery nalezené v nádobě č. 2 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD				
voda	kyselý methanol	bazický methanol		aceton
467.1289	485.2008	603.0538	485.0483	575.3697
	457.0978	550.6557	171.0092	331.0571
	383.1174	524.1125	536.0593	420.1825
	420.1975	470.3555	545.1023	
	303.158	576.0551	523.0471	
	341.065	585.0531	552.054	
	306.0751	657.1507	575.0505	
	485.1609	671.1056	641.1514	
	469.1762	583.0581	513.1016	
	443.1543	529.0936	441.0274	
	207.0018	625.0152	655.1082	
	355.0374	408.0117	368.0192	
	389.1364	491.1083	673.1114	
		388.029	510.1116	
		360.0055	501.1051	
		563.0611	479.1192	
		675.1473	465.0925	
		509.156	677.1491	
		522.0577	487.0769	
		506.0963	541.0895	
		545.0616	639.3529	
		579.0754	553.0591	
		689.141	604.0538	
		527.0603	483.1025	
		547.0945	565.0464	
		619.0091	385.0346	
		561.0886	686.4784	
		654.3596	672.1096	
		410.0263	571.1322	
		533.0998	715.5812	
		549.0985	402.0308	
		722.6505	522.62	
		559.0534	629.0993	
		707.6589	430.1058	
		593.02	534.0533	
		705.1011	569.0584	
		455.3245	577.0376	
		513.0612	555.0965	
		423.0148	599.0945	

		643.1531	561.0426
		384.0283	727.1219
		503.0521	729.0994
		531.0948	495.0638
		442.325	701.4946
		579.0267	597.022
		352.0213	483.3716
		535.0571	496.1511
		390.0225	687.1004
		587.0623	691.1405
		567.0567	689.226

Příloha č. 16 – markery nalezené v nádobě č. 2 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
-	-	481.1063	-
		315.0671	

Příloha č. 17 – markery nalezené v nádobě č. 4 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD				
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton	
-	335.1722	653.3461	705.6356	967.7417
	333.1723	362.0716	690.6116	736.6121
		444.1685	708.6447	832.7441
		349.0434	471.3485	772.7037
		548.0956	429.3428	790.648
			457.359	549.049
			690.6559	827.7104
			443.3112	796.6481
			760.6898	787.7053
			591.5036	677.5975
			643.1431	816.7374
			703.6086	744.7022
			693.6416	675.5969
			722.597	661.5922
			702.6169	724.6047
			676.5966	857.7595
			499.3911	674.6077
			802.7054	746.707
			477.3957	689.652
			776.6875	858.7536
			719.6448	402.0348

			721.6509	620.5485
			679.6107	777.6734
			491.3983	647.5718
			706.5989	672.0981
			410.0072	463.0653
			761.7041	772.656
			804.6997	380.9976
			688.6371	776.6469
			693.0916	645.5558
			716.6623	708.5974
			788.697	885.7988
			489.4363	759.6669
			691.6086	493.3503
			818.699	792.6539
			692.5978	844.7487
			702.6558	505.4397
			505.3927	647.5093
			461.4004	662.5986
			744.6516	507.4137
			653.0907	421.3454
			773.7064	724.6527
			758.6547	592.513
			730.6503	703.6577
			483.3462	485.409
			449.361	605.5052
			738.5992	954.7059
			760.6499	606.5506
			953.7046	527.4066
			720.5903	705.5878

Příloha č. 18 – markery nalezené v nádobě č. 4 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
-	315.0543	481.0988	315.0756
	358.0679	333.0762	389.0151
		315.0608	389.0523
			357.0783
			481.1547

Příloha č. 19 – markery nalezené v nádobě č. 5 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD				
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton	
541.1523	303.1666	619.5389	541.1511	851.5427
542.1553	467.1537	409.0023	467.137	331.0701
467.1307		370.0153	701.5566	675.1684
		591.5018	401.0497	715.54
		371.0169	441.3233	967.6462
		509.1039	706.6632	689.4999
		620.5347	542.1549	507.1076
		493.1104	716.588	491.1233
		495.1318	687.5478	527.0946
		524.0946	509.1322	707.6849
		706.6422	379.0586	836.553
		731.5177	791.5384	792.5355
		388.0175	470.3618	678.6456
		722.6108	505.1022	669.505
		359.9994	835.5534	735.5436
		384.0132	495.1531	895.5583
		390.0012	702.5578	880.5914
		576.0412	375.0576	863.588
		505.0773	397.0462	723.6623
		386.0068	301.1575	703.5552
		542.1214	543.1524	839.5931
		541.1327	468.1331	659.4535
		543.1199	879.5889	486.1881
			923.6038	619.4491
			671.1412	686.4919
			493.1452	720.6496
			747.4971	692.6502
			673.5367	774.7115
			703.5025	763.486
			732.5576	807.5043
			524.1095	688.5501
			722.6592	883.6072
			469.13	907.6091
			383.0486	819.5546
			661.194	775.5373
			685.4902	701.447
			718.5434	690.6465
			395.0317	719.4582
			751.5401	483.3742

			455.346	653.3806
			689.1537	733.5524
			657.1588	748.4968
			659.1885	691.5012
			399.0429	723.491
			663.4669	719.5447
			704.6571	385.206
			707.4956	752.5435
			795.5557	575.4021
			371.1848	356.0388
			423.032	413.2902

Příloha č. 20 – markery nalezené v nádobě č. 5 z Držovic u Prostějova, obj. H4/2015.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD			
voda	kyselý methanol	bazický methanol	aceton
-	357.0559	-	-

Příloha č. 21 – markery nalezené v nádobě č. 1 z Brodku u Prostějova, obj. H1/K 522.

Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD			
aceton		bazický methanol	
stěna (oproti hrdlu 1. část)	stěna (oproti dnu)	stěna (oproti hrdlu 1. část)	
382.4412	354.2622	323.2214	538.2807
323.2206	592.4984	295.1957	325.224
607.4566	636.494	512.5023	608.4693
636.4935	353.2579	619.5334	551.4142
648.553	381.2981	311.295	590.5489
663.528	382.299	324.2259	681.5336
395.2697	591.4972	565.3021	353.2633
377.284	537.2618	540.5355	775.5017
326.3752	538.2722	368.4193	326.3786
354.2623	620.5317	283.259	522.5213
295.1933	400.2033	647.5498	312.2157
321.3239	566.3028	541.5369	341.2363
538.2718	399.1759	635.4978	685.4429
283.2608	357.1587	296.1981	563.5058
400.2032	371.1517	568.5618	356.25
308.2944	648.5535	591.4987	619.4975
566.3034	685.4417	537.2676	633.5042
592.4984	302.1447	381.2999	596.6025
529.2866	355.1481	284.2928	664.5409
567.2891	441.2973	562.5084	544.3337
507.2652	326.3754	299.3482	717.492
519.2546	413.254	620.5389	804.5454

495.2556	567.2893	395.2854	719.4934
701.5041	619.5168	663.538	508.2945
521.2965	519.2548	312.3147	606.533
497.2897	427.2039	607.4619	368.2937
523.2798	523.2844	803.5459	492.28
453.183	295.1935	551.6289	382.2971
547.3053	497.2889	293.1737	718.502
433.1769	507.2611	573.3525	621.5368
491.2523	521.2965	653.5023	746.5393
437.1959	495.2531	648.5551	567.3027
	547.3053	337.2009	803.4985
		335.1167	607.5064
		377.2742	563.3196
		566.3033	747.5334
		376.2832	701.4041
		321.2084	536.3297
		592.5017	649.4831
		636.5001	832.5647
		480.2588	637.5015
		397.2602	634.5552
		318.3015	524.2961
		620.4982	776.5064
		831.5556	618.5851
		396.291	340.2823
		578.4957	774.5581
		552.6364	574.351
		701.5188	545.3356
		300.2889	545.2898

Příloha č. 22 – markery nalezené v nádobě č. 1 z Brodku u Prostějova, obj. H1/K 522.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD			
kyselý methanol	bazický methanol	aceton	
stěna (oproti hrdlu 1. část)	stěna (oproti hrdlu 1. část)	stěna (oproti hrdlu 1. část)	stěna (oproti dnu)
481.0849	-	388.9978	541.0756
333.0639			
541.0736			

Příloha č. 23 – markery nalezené v nádobě č. 11 z Brodku u Prostějova, obj. H1/K 522.

Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD					
kyselý methanol		bazický methanol		aceton	
272.9418	443.1474		649.1028	501.1	348.9989
286.9333	390.1969		288.2887	305.3003	418.3778
244.9456	377.1424		827.1593	318.2981	390.3494
261.0483	439.1498		823.1462	275.05	653.1447
364.1198	447.2358		502.1017	459.095	809.1555
335.1263	395.1492		841.1435	502.1003	555.0244
391.199	423.1946		809.1543	332.3263	557.0364
447.193	457.1881		825.1505	649.1066	482.078
455.209	464.2401		837.1095	346.3283	651.1346
341.1823	295.0368		316.3197	635.1442	663.151
438.1921	321.2073		508.4478	362.3206	837.1095
293.182	531.2978		911.0638	274.2698	839.1279
404.205	302.1473		811.1729	540.5295	660.1288
392.2021	345.0512		839.1266	667.121	717.0977
425.1871	477.2448		813.1932	333.3291	713.074
411.18	399.1615		807.1433	485.0962	745.0421
439.2017	445.2007		857.1226	374.3582	550.4549
389.1905	429.1844		877.0736	319.0624	679.1186
426.1547	433.2021		650.1225	827.1601	327.0852
432.2061	431.1941		721.0918	205.049	512.1136
217.0562	407.1942		828.1719	318.0538	304.2984
474.2336	412.0814		824.1488	302.3021	361.05
347.1956	505.2622		881.1007	347.3337	335.0684
417.205	336.9829		826.1541	336.072	
453.2044	503.2502		975.1843	319.3023	
460.2624	393.1288		993.1961	361.3557	
383.2275	451.2226		838.109	294.066	
369.1696	455.1528		865.1197	301.0643	
363.1682	420.1989		839.0922	650.1131	
635.3436	365.0984		989.1613	460.0968	
433.2514	473.1875		810.1598	512.4997	
435.2622	466.247		879.0908	303.086	
427.2101	444.1537		845.1405	306.3018	
304.9457	321.0557		501.101	556.0272	
279.0589	459.1897		293.0571	823.143	
417.1642	301.1458		408.3148	550.0639	
435.1946	506.2635		524.1054	678.1288	
437.2017			442.3021	363.3268	
441.1559			523.1038	508.4456	

419.1983	661.1483	347.1044
436.1981	459.094	801.1533
440.1543	662.1491	843.1491
449.2031	675.1113	841.1453
468.1487	659.1364	825.1496
418.1842	275.0493	484.0905
467.1425	645.1528	828.1659
465.2435	660.6446	396.3193
368.9997	585.0555	617.1275
463.2346	692.1038	637.1468

Příloha č. 24 – markery nalezené v nádobě č. 11 z Brodku u Prostějova, obj. H1/K 522.

Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD		
kyselý methanol	bazický methanol	aceton
359.046	647.118	357.054
358.0495		499.1015
373.0228		

Příloha č. 25 – markery nalezené v nádobě č. 2 z Trnávky 4, obj. 143/H2. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD						
voda		kyselý methanol		bazický methanol		aceton
1097.405	533.2961	285.0826	809.1342	205.0507	437.204	289.0459
372.1692	935.221	284.3394	808.1741	188.9838	436.1992	225.011
558.9184	955.2036	277.0771	802.2002	120.9952	435.1877	313.0451
884.1089	919.2745	299.0632	822.1687	294.0707	434.181	482.0757
522.2163	830.1469	292.0394	815.2202	293.0684	433.1702	493.0965
947.352	981.1706	361.2163	815.0341	287.0549	432.9628	583.0408
622.9477	882.1568	360.3762	814.1998	275.0478	430.9985	578.5098
813.998	681.254	360.3276	813.136	306.9941	430.3912	731.5586
975.2309	964.0668	372.9972	837.0932	304.3014	427.0934	731.5223
642.9494	878.0258	398.9925	831.2186	304.1313	443.0819	727.275
964.3067	683.4564	409.0748	853.1623	303.086	459.0994	717.5042
991.1942	1013.299	402.3691	879.0981	301.074	455.1335	1433.617
373.2054	925.153	435.124	874.1545	332.3351	454.9902	1175.478
1000.051	1003.181	456.1703	871.1243	329.1079	453.1897	841.1599
1005.198	740.8942	461.1068	914.1141	319.0794	453.1165	835.5207
590.8801	953.2212	472.1511	905.1231	345.1397	452.9663	
712.8975	931.1038	494.0841	901.1256	344.1461	452.1972	
979.2412	593.998	533.0484	925.1079	343.1524	452.1351	
560.8668	730.9079	538.6083	919.0782	343.0399	451.1867	
724.216	1005.264	544.3455	963.2483	341.0465	450.9548	

830.1963	919.1747	577.1475	962.2416	336.0817	468.106
864.1806	506.8938	618.1447	953.2301	335.0385	467.5471
963.2063	943.2134	616.1508	951.2297	355.9989	466.5474
858.097	870.1418	615.0653	951.0727	354.9955	465.0448
689.3163	1081.359	626.1503	949.2054	353.9935	460.1015
971.1859	856.0862	641.0132	946.0871	350.0039	479.0309
784.116	922.9283	639.2145	992.2056	349.0007	471.1484
816.1525	961.223	652.1787	990.1847	347.1151	470.9539
905.2209	574.2072	676.0946	977.1931	369.143	470.1557
828.0774	991.0521	685.4673	976.2136	369.0021	485.147
834.0898	983.2156	682.1534	973.2298	377.1463	485.0929
925.2248	1007.295	694.161	965.2402	376.9953	484.1022
643.269	889.9902	701.4481	1142.246	372.9999	482.0419
264.9729	870.2626	698.0971	1025.181	371.9977	481.0435
868.1543	965.1876	704.1174	1023.183	370.9942	480.0391
905.9614	1049.08	721.1527	1005.18	389.0002	492.0913
458.1603	1071.331	743.1818	995.2221	388.0102	491.0922
943.1613	901.1543	757.0402	994.2199	387.0155	487.1552
876.0988	951.1082	755.0454		386.0176	486.1495
850.3055	930.9918	765.05		382.4445	485.3069
744.9369	937.2371	763.1157		392.0136	496.5702
925.0415	974.9947	769.1941		391.3479	495.093
927.0339	1115.361	767.1763		391.0058	494.0864
791.9921	904.0885	777.1921		390.0033	493.0915
977.2149	991.1197	773.2269		411.9883	505.0473
904.1276	1043.135	786.1971		410.4728	502.1048
924.0826	923.0389	783.1486		402.3509	499.0614
519.9965	792.8798	800.1796		417.0788	497.0586
655.4247	1001.134	799.079		415.0091	510.0939
939.1511	952.0617	797.1555		414.0029	509.5972

Příloha č. 26 – markery nalezené v nádobě č. 2 z Trnávky 4, obj. 143/H2. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD						
voda	kyselý methanol		bazický methanol		aceton	
482.9315	853.1569	898.1396	388.8298	784.0373	541.0464	475.0714
484.9287	1021.173	871.0932	542.8777	504.9013	303.0468	462.0662
278.9342	813.2093	794.1435	522.8955	490.9369	343.0457	420.0848
615.0127	969.2433	740.151	358.8659	963.1562	234.0457	478.0875
394.9888	1113.228	805.1508	386.8285	802.1702	435.089	671.0728
366.9936	1115.241	817.1415	486.9164	296.9962	337.0347	434.0636
240.9569	964.194	785.1432	200.9427	546.0436	469.0924	267.0293
411.004	1127.205	814.1538	379.9944	989.1655	637.1477	523.0431
409.0039	841.2042	724.0977	612.9756	654.9624	454.0923	515.0973
616.0192	1117.259	722.088	354.8465	786.0162	423.111	504.0673
	983.2123	979.1978	483.9291	619.0931	559.0497	547.0887
	1007.191	951.2376	638.9656	873.107	411.0766	544.0725
	981.1983	961.1871	674.94	741.1442	263.0553	512.0686
	945.1894	966.2039	797.0985	372.9923	747.061	553.0688
	770.2078	817.1914	613.9836	948.1692	387.0978	497.0387
	980.202	831.1779	617.9924	765.1464	403.9877	575.117
	967.2187	815.1616	350.8525	720.0501	385.0889	592.1248

903.1675	948.1968	482.9237	869.0763	367.0408	374.9864
905.1603	947.1993	484.9224	464.939	325.1831	366.0741
931.1956	965.2014	352.8504	416.9923	262.9681	344.0273
953.2505	276.9458	650.9613	544.0445	363.0296	517.0852
843.1905	800.1848	520.8986	1019.114	338.0396	479.1021
923.1958	949.2032	279.9329	723.0545	538.0399	422.9618
934.2183	814.2007	518.9006	395.9955	377.0233	779.1182
812.1498	771.1531	636.9729	656.0947	481.0486	600.13
872.1209	962.1794	652.9528	895.0743	436.074	433.045
278.9352	798.158	224.9404	500.0466	401.0848	396.0476
935.2329	919.1532	354.9951	687.0428	251.0409	515.0485
921.1873	842.2004	722.0522	150.9986	408.0857	461.0429
906.1997	786.1996	615.9977	554.0189	309.0768	815.1334
1003.178	815.2061	226.9409	504.0421	499.0489	525.049
1099.252	933.2095	540.882	911.0599	394.07	772.1185
929.183	801.1964	795.0923	823.1398	489.0791	535.0261
840.1562	818.1936	979.1531	598.0054	461.0886	658.1276
753.2071	723.0941	805.0076	854.0952	495.0456	432.0834
789.221	952.2272	672.9491	616.0928	426.0929	529.0855
991.1942	855.1468	705.0446	743.0353	439.0453	949.1722
937.2458	963.197	782.1461	1003.131	406.0664	755.1241
793.1265	720.0733	813.0962	502.0466	428.9784	477.0421
811.2083	869.1032	724.074	914.0847	433.075	737.1271
893.111	796.1514	542.0463	567.0363	302.0417	969.2159
987.1854	1005.185	966.1785	481.0467	230.019	619.0918
829.1565	853.1228	600.0246	783.0345	527.0489	855.1155
913.1065	802.1985	498.0406	499.0479	506.0854	561.0357
858.1455	870.1043	949.1727	631.0942	376.065	613.1213
775.1675	835.1436	784.1423	614.9938	494.0894	573.1165
789.157	832.1726	820.9792	543.0461	579.0418	614.12
911.0895	804.199	729.0409	277.9351	473.0953	502.1161
809.1789	871.1447	524.0472	466.9535	459.1263	503.1283
759.169	915.1361	947.1585	523.0443	437.043	503.066

Příloha č. 27 – markery nalezené v nádobě č. 3 z Trnávky 4, obj. 143/H2. Pozitivní mód.

POZITIVNÍ MÓD					
voda		kyselý methanol	bazický methanol	aceton	
600.999	612.0414	638.6124	376.9925	306.0753	
537.2932	863.0925	668.631	690.0965	713.1182	
830.9938	762.0651	857.1182	673.0942	463.1643	
344.9923	428.0417	841.1354	573.3554	497.1211	
482.0474	826.1339	883.1246	509.044	296.1083	
899.0845	346.9815	671.0959	745.0415	993.2662	
574.996	917.0857	675.0936	497.0428	413.2944	
477.9734	574.0445	673.093	609.0221	610.627	
770.041	647.5699	672.093	656.0887	696.7115	
691.0457	799.0431	674.0901	717.0946	640.6627	
245.0511	750.0354	662.1429	751.0375		
713.0417	650.0418	691.0911	553.036		
722.0843	852.9847	510.0934	630.0871		
705.0479	218.9986	527.0457	769.0349		

442.9947	604.9961	677.0937	312.9967
378.1282	556.9892	493.0927	547.324
877.0952	578.3203	679.0957	767.023
316.9943	836.0952	522.06	727.0401
618.0684	498.0478	699.0972	591.0485
875.0904	421.9978	373.0364	551.0403
510.0425	488.0442	695.0445	709.0446
267.0251	493.9409	372.0183	641.0983
554.0475	923.0837	747.0624	593.0238
506.0446	977.0437	356.0212	482.0474
768.0373	496.0423		493.047
634.0446	578.9988		657.0934
759.0452	730.0462		659.0902
310.9933	366.9871		464.0444
304.943	386.9972		365.0428
274.0138	732.0435		507.0492
733.0432	644.009		707.0905
808.9974	626.9962		495.0436
859.0832	668.9861		527.0489
744.4264	288.9819		463.049
167.0008	534.0346		528.1634
752.0489	384.9934		541.0431
703.0422	695.0482		505.0495
328.9967	328.0278		679.0961
492.0468	681.0346		465.0474
781.0493	576.9957		674.0917
514.043	226.0139		508.0464
774.0435	764.1267		506.0446
582.9948	453.9841		523.0444
881.0827	522.2224		
798.0461	494.0494		
819.0301	726.0434		
754.0406	806.9954		
607.4812	377.993		
648.9953	312.996		
192.0053	757.0392		

Příloha č. 28 – markery nalezené v nádobě č. 3 z Trnávky 4, obj. 143/H2. Negativní mód.

NEGATIVNÍ MÓD				
voda		kyselý methanol	bazický methanol	aceton
435.9951	658.0453	811.2008	729.0393	795.0946
538.9966	702.0457	1007.122	510.0468	813.098
516.9947	332.1559	895.0856	536.9963	666.0947
588.9944	726.9916	669.0473	705.0416	619.0935
688.0446	864.0862	467.0469	813.0976	947.143
301.9974	706.9931	634.0954	839.0943	948.1479
524.225	629.3137	508.0453	709.0395	786.1444
174.9893	909.0453	881.1045	232.9972	481.0486
782.9865	979.1679	877.0998	524.0468	633.0988
326.9469	273.9988	249.953	354.9987	499.0491
454.9431	894.1933	728.0527	330.9958	303.045

724.0416	623.9955	897.0993	500.0474	769.1433
754.0412	802.0942	316.0534	482.0465	
561.9962	333.5588		150.9991	
698.0459	934.1456		795.0941	
520.9921	532.9976		916.104	
624.994	676.9734		546.0433	
722.0438	828.0953		669.0467	
528.9883	457.994		483.0467	
550.9935	877.036		913.0924	
610.9791	343.2147		547.0475	
761.0424	799.0434		873.1155	
462.994	975.1204		953.0556	
444.9953	660.0476		575.0462	
812.0829	684.9913		750.0583	
664.9927	696.0431		785.0069	
496.9888	1063.097		914.0958	
893.0465	824.0958		659.0842	
552.9913	451.9955		481.0477	
357.3571	563.9936		917.1018	
573.9943	215.9943		499.0489	
674.0455	682.995		811.1305	
790.9911	421.9933		770.1482	
646.9974	1161.045			
495.992	539.9941			
442.9931	626.9876			
835.0394	929.0905			
634.0411	988.0996			
464.981	864.9678			
356.8713	822.0956			
504.9812	839.0439			
672.04	581.9901			
537.9962	337.9936			
856.0934	897.0425			
947.0241	736.0472			
740.9958	740.049			
419.9928	566.9954			
654.0407	892.0608			
698.9757	519.9927			
259.9952	656.0414			

