UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Olomouc 2018 Zbyněk Žingor

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Využití hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí-ionizací v archeologickém výzkumu

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Zbyněk Žingor
Studijní obor:	Chemie
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.
Konzultant:	RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

Olomouc 2018

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Zbyněk Žingor

Název práce: Využití hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí-ionizací v archeologickém výzkumu

Typ práce: bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

Rok odevzdání práce: 2018

Anotace:

Tato bakalářská práce zkoumá použití nové metody chemické charakterizace povrchu archeologických předmětů. Metoda je založena na selektivní extrakci analytu pomocí polymerního nosiče s následnou analýzou prostřednictvím (MA)LDI-MS.

Polymery byly charakterizovány na základě rozpustnosti v různých rozpouštědlech. Mechanické vlastnosti (adheze) těchto polymerů byla vyzkoušeny po nanesení jejich roztoku na podložní mikroskopické sklíčko. Dále byla měřena teplota tání nebo teplota rozkladu studovaných polymerů. Poté byla studována spektra těchto polymerů, která při LDI-MS měření extrahovaných složek archeologických objektů tvoří pozadí spekter. Po vyhodnocení rozpustnosti, teplotních charakteristik a hmotnostních spekter byly pro podrobnější studii jako nejvhodnější vybrány polyvinylacetát a materiál pro 3D tisk - akrylonitrilbutadienstyrenový kopolymer od dvou výrobců. Tyto materiály byly následně použity pro extrakci červeného barviva, které bylo naneseno na podložní mikroskopické sklíčko. Jako matrice se osvědčil 2,4,6-trihydroxyacetofenon, který měl pozitivní vliv na intenzitu signálu barviva. Nakonec byl proveden pokus s hmotnostním zobrazením obrazce nakresleného pomocí tří barviv různého chemického složení z rubové (porézní, neglazurované) strany keramické dlaždice. K tomuto pokusu byl vytisknut model podložního mikroskopického sklíčka na 3D tiskárně z akrylonitrilbutadienstyrenového kopolymeru. Povrch plastového modelu byl zvlhčen (zbobtnán) acetonem a následně přitisknut k povrchu keramiky. Došlo k transferu barviv z keramiky do plastového materiálu, který byl následně sejmut z povrchu keramiky bez jejího poškození. Následně byl povrch plastového modelu analyzován pomocí MALDI-MS zobrazování. Ve spektrech byly prokázány signály všech tří barviv. Při zobrazení intenzity jejich signálů bylo pozorováno stejné rozložení barviv (obrazec), jaké bylo vytvořeno na keramickém povrchu. Tím byla prokázána funkčnost této nové metody.

Klíčová slova: laserová desorpce-ionizace, hmotnostní spektrometrie, archeologie, polymer, 3D-tisk

Počet stran: 68

Počet příloh: 0

Jazyk: český

Bibliographical identification:

Author´s first name and surname: Zbyněk Žingor

Title: Utilization of laser desorption-ionization mass spectrometry in archaeological research.

Type of thesis: bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Consultant: RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

The year of submission: 2018

Annotation:

This bachelor thesis is devoted to the development of a new method for surface chemical characterization of archaeological objects. The method is based on the selective extraction of analyte via polymer support followed by analysis by matrix assisted laser desorption-ionization mass spectrometry ((MA)LDI-MS).

Polymers were characterized by their solubility in different solvents. The mechanical properties (adhesion) of these polymers were tested after application solution onto a microscope slide. Furthermore, the melting point or point of thermal decomposition was determined. LDI-MS spectra of these polymers were measured and studied since they form background of spectra of analytes extracted from archaeological objects. Polyvinyl acetate and acrylonitrile-butadiene-styrene co-polymer (latter used as material for 3D-print) were selected based on the information on the solubility, thermal properties and spectral intensities for more detailed study. These materials were subsequently used to extract a red dye deposited on the microscope slide. As the matrix, 2,4,6-trihydroxyacetophenone has proven to have a positive effect on the intensity of the dye signal.

Finally, an experiment was made to display shapes drawn with three chemically different dyes onto the back side (porous, unglazed) of ceramic tile by mass imaging. An acrylonitrile-butadiene-styrene microscope slide model was printed using 3D printer for this experiment. The surface of the plastic model was wetted (swollen) by acetone and consequently pressed against the ceramic surface. The transfer of the present dyes from ceramic to the polymer material took place. The plastic slide was separated from the ceramic surface without its damage and subjected to analysis by MALDI-MS imaging. Signals of all three dyes were confirmed in mass spectra. In mass image, the distribution of the signals of present dyes (shape) on the surface corresponded well the pattern prepared on the ceramic tile. This experiment proves the functionality of the novel method.

Keywords: laser desorption-ionization, mass spectrometry, archaeology, polymer, 3D-printing

Number of pages: 68

Number of appendices: 0

Language: Czech

Prohlášení:

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

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

V Olomouci dne …… .....

Podpis

Poděkování:

Děkuji svému vedoucímu bakalářské práce doc. RNDr. Petru Bednářovi, Ph.D. a konzultantovi RNDr. Lukáši Kučerovi Ph.D. za trpělivost, rady a věcné připomínky. Dále bych chtěl poděkovat firmě TriLAB Group s.r.o. za poskytnutí některých vzorků polymerů.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině, přítelkyni a přátelům za podporu a vytvoření ideálních podmínek ke studiu.

Celá práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky (č.: 17-17346S) a grantu Univerzity Palackého v Olomouci (IGA_PrF_2018_027).

Obsah

1. Úvod 11
2. Archeologie 12
3. Chemická analýza v archeologii 13
3.1. Zobrazovací metody 13
3.1.1. Terahertzová pulzní spektroskopie a imaging (TPIS) 15
3.2. Vibrační spektroskopie 15
3.3. Rentgenové metody 16
3.3.1. Energiově disperzní rentgenová fluorescence (EDXRF) 17
3.3.2. Částicemi indukovaná rentgenová emise (PIXE) 18
3.3.3. Skenovací elektronová mikroskopie s energiově disperzní spektrometrií (SEM-EDS) 18
3.3.4. Rentgenová difraktometrie (XRD) 20
3.4. Elektrochemické metody 20
3.5. Separační techniky 21
3.5.1. Plynová chromatografie (GC) 21
3.5.2. Kapalinová chromatografie (LC) 22
3.6. Hmotnostní spektrometrie 24
3.7. Hmotnostní spektrometrie s ionizací využívající laseru 24
3.7.1. LA-ICP-MS 24
3.7.2. Laserová desorpce/ionizace (za účasti matrice) - (MA)LDI 25
3.7.2.1. (MA)LDI hmotnostní zobrazování (imaging) 27
3.7.2.2. (MA)LDI-MS pro archeologii 27
3.7.2.3. (MA)LDI pro studium polymerů 29
4. Polymery 31
4.1. Popis a vlastnosti polymerů 31
4.1.1. Rozpustnost polymerů 32
4.1.2. Teplotní charakterizace polymerů 32
4.2. Dělení polymerů 33
4.2.1. Polyolefiny 34
4.2.2. Polydieny 35
4.2.3. Polystyrenové plasty 36
4.2.4. Polyvinylestery 36

4.2.5. Akrylové polymery 37
4.2.6. Polyestery a polyesterové pryskyřice 37
4.2.7. Epoxidové pryskyřice 38
4.2.8. Polyamidy 39
4.2.9. Polyurethany 39
4.2.10. Speciální skupina (stacionární fáze pro LC) 39
5. Experimentální část 42
5.1. Chemikálie 42
5.2. Vzorky – polymery 42
5.3. Metodika měření na MALDI (Synapt G2-S) 43
5.4. Charakterizace a MS měření polymerů 44
5.4.1. Teplotní charakterizace polymerů 44
5.4.2. Rozpustnost polymerů a jejich adheze k hladkému povrchu 45
5.4.3. LDI-MS měření polymerů 46
5.5. LDI-MS a MALDI-MS měření vybraných polymerů 47
5.6. MALDI-MS zobrazování 47
6. Výsledky a diskuze 50
6.1. Rozpustnost a teplotní charakteristika vybraných látek (polymerů) 50
6.2. Výsledky LDI-MS měření 52
6.3. Extrakce červeného barviva a následná (MA)LDI-MS 56
6.4. MALDI imaging 59
7. Závěr 61
8. Seznam použité literatury 62

Seznam použitých zkratek:

AAS	Atomová absorpční spektrometrie
ABS	Akrylonitril-butadien-styren
ASA	Akrylonitril-styren-akrylát
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization (chemická ionizace za atmosférického tlaku
CCD	Charge-coupled device (zařízení s vázanými náboji)
CHCA	kyselina α-kyano-4-hydroxyskořicová
CMOS APS	Complementary metal oxid semiconductor active pixel sensors (doplňkové snímače aktivních pixelových polovodičů z oxidu kovu)
DAD	Diode-array detector (detektor diodového pole)
DHB	kyselina 2,5-dihydroxybenzoová
EDS	Energy dispersive spectroscopy (energiově disperzní spektroskopie)
EI	Electron ionization (impact) (elektronová ionizace; ionizace nárazem elektronů)
EDXRF	Energy dispersive X-ray fluorescence (energiově disperzní rentgenová fluorescence)
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay (imunoadsorbentová analýza; enzymem spojená imunologická analýza)
ESI	Electrospray ionization (ionizace elektrosprejem)
Er:YAG-laser	Erbiem dopovaný yttrium aluminium granátový laser
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací)
GC	Gas chromatography (plynová chromatografie)
HABA	kyselina 2-(4-hydroxyfenylazo)benzoová
HDPE	High density polyethylene (vysokohustotní polyethylen)
HPLC	High-performance liquid chromatography (Vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
HRMS	High resolution mass spektrometry (hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením
IAA	kyselina trans-3-indolakrylová
ICP-OES	Inductively coupled plasma – optical emission spektrometry (optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem)
ICR	Ion cyclotron resonance (iontová cyklotronová rezonance)
IR	Infračervená spektrometrie
IRR	Infrared Reflectography (infračervená reflektografie)

LA-ICP-MS	Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (laserová ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou)
LC	Liquid chromatography (kapalinová chromatografie)
LDI-MS	Laser desorption/ionization mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací
LDPE	Low density polyethylene (nízkohustotní polyethylen)
LTQ	Linear trap quadrupole (lineární kvadrupólová iontová past)
MALDI	Matrix-assisted laser desorption/ionization (laserová desorpce/ionizace za účasti matrice)
MS	Mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
Nd:YAG-laser	Yttrium aluminium granátový laser obohacený neodymem
NUV	Near ultraviolet (blízká ultrafialová oblast)
PD	Plasma desorption (Desorpce plazmatem)
PE	Polyethylen
PEG	Polyethylenglykol
PETP nebo PET	Polyethylentereftalát (polyester)
PIXE	Particle induced X-ray emission (částicemi indukovaná rentgenová emise)
PLA	Polylactic acid (kyselina polymléčná)
PMMA	Polymethylmethakrylát
PVAc	Polyvinylacetát
RP (HPLC)	Reverse phase HPLC (HPLC na reverzní fázi)
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
SWIR	Short-wave infrared (krátké vlnové délky infračervené oblasti)
SWV	Square wave voltammetry (voltametrie se superponovaným pravoúhlým napětím)
TOF	Time of flight analyzer (analyzátor doby letu)
TPIS	Terahertz pulse imaging and spectroscopy (Terahertzové pulzní zobrazování a spektroskopie)
UV	Ultrafialová oblast spektra
VMP	Voltammetry of microparticles (voltametrie mikročástic)
XRD	X-ray diffraction (rentgenová difraktometrie)
XRR	X-ray reflectometry (rentgenová reflektometrie)

1. Úvod

Moderní analýza archeologických vzorků je komplikovaným úkolem, ve kterém je třeba volit experimentální metody tak, aby byla maximalizována získaná chemická informace a současně minimalizováno riziko poškození vzácných nálezů. Cílem kurátorů je ochraňovat sbírky v muzeích pro další generace a cílem analytiků je tyto předměty co nejlépe prostudovat a poskytnout informace o době minulé. Pro oblast archeologie (podobně, jako pro oblast studia uměleckých děl) je tedy potřebné vyvíjet analytické metody, které budou pro archeologický objekt buď neinvazivní nebo bude odběr vzorku uskutečněn tak, aby nedošlo k narušení objektu, k viditelné změně jeho vzhledu, ani ke změně jeho historické hodnoty (potom je zvykem hovořit o metodách mikroinvazivních). V rámci této práce byly prostudovány analytické metody, které se běžně používají pro studium archeologických a uměleckých děl.

V návaznosti na zmíněný problém se stal cílem této práce vývoj metody, jež by umožnila chemickou charakterizaci povrchů archeologických předmětů. Tato metoda zahrnuje šetrnou extrakci analytu z povrchu předmětu do vhodně navrženého a upraveného polymerního nosiče a jeho následnou analýzu pomocí (MA)LDI-MS popřípadě (MA)LDI imagingu. Tento způsob povrchové analýzy myšlenkově vychází z práce Righettiho a kol. [1] zabývající se historickými malbami.

Pro tento způsob analýzy bylo nutné nejdříve prostudovat chování vybraných polymerů při laserové desorpci/ionizaci. Nastavení správné energie a/nebo rychlosti pohybu laseru bude se ukázalo být důležité pro dosažení nízkého pozadí polymerního nosiče vůči analytu, který chceme zkoumat. Dále byly prostudovány postupy, které umožňují přenesení analytu ze zkoumaného objektu na polymerní nosič, což zahrnuje teplotní a rozpouštěcí charakteristiky všech polymerních látek. Vybraný kandidát na polymerní nosič byl vyzkoušen na jednoduchém modelovém vzorku keramiky.

2. Archeologie

Název „Archeologie“ pochází z řeckého arkhaiologia. Vzniklo spojením slov arkhaios, což v překladu znamená starý a logos, což se dá přeložit jako věda nebo slovo [2]. Archeologie se zabývá studiem objektů a materiálů majících vazbu k historii (nejširším významu tohoto slova), které zkoumá, popisuje a zařazuje do určitého období. Zjednodušeně lze studované kontexty rozdělit do tří skupin. První skupina spadá do prehistorické doby. Jedná se o předměty z dob kamenné, bronzové a starší doby železné. Každá z těchto dob se nazývá podle převládající suroviny, která se v té době používala. S přibývajícím počtem nálezů byly dále tyto doby děleny na další podkategorie, např. dobu kamennou dělíme na paleolit, mezolit, neolit a eneolit. Z geologického hlediska je řadíme mezi Pleistocén a Holocén. Druhou hlavní skupinu můžeme zařadit do protohistorického období. Tato doba trvala na našem území zhruba od začátku mladší doby železné až do počátku 10. století našeho letopočtu, kdy vznikl přemyslovský stát. Jiné zdroje uvádí konec protohistorie ukončením stěhování národů závěrem 6. století [3]. Do tohoto období řadíme dobu laténskou (mladší doba železná, zhruba 400 až 50 př. Kr., název dle švýcarské lokality La Téne [4]), dobu římskou a dobu stěhování národů. Toto období nám pomáhají zkoumat vedle archeologie i historické prameny, kterých není ovšem mnoho a musíme se tedy spoléhat na studium archeologických nálezů. Poslední období můžeme označit jako historické spadající od středověku až po novověk. K tomuto období máme již značné množství historických pramenů [3, 5].

Tabulka 1 Dělení historických období a jejich přibližné trvání [6]

Historické období			přibližná datace
prehistorie	doba kamenná	paleolit	3 mil. př. n. l. – 2000 př. n. l.
		mezolit	
		neolit	
		eneolit	
	doba bronzová	starší	2300 – 800 př. n. l.
		střední	
		pozdní	
	doba železná	starší - halštatská	750 – 450 př. n. l.
		mladší - laténská	450 př. n. l.- 0 n. l.
protohistorie	doba římská		1. – 4. stol. n. l.
	doba stěhování národů		4. – 7. stol. n. l.
historie	Středověk		7. – 14. stol. n. l.
	Renesance		14. – 17. stol. n. l.
	průmyslový věk		17. – 20. stol. n. l.

Výzkum archeologických nálezů ze všech těchto období se stává čím dál častěji věcí interdisciplinární. Spojení archeologie s přírodními vědami může poskytnout nové informace o životě lidí v dobách minulých. Informace o chemickém složení nálezů je pro archeologa velice ceněna. Možnost a způsob odběru vzorku a následné analýzy je potom věcí detailní diskuse archeologa, správce archivu/kurátora sbírky a analytického chemika.

3. Chemická analýza v archeologii

Analytické techniky jsou dnes jedním z hlavních propojení archeologie a chemie. Na rozhraní těchto dvou oborů (přírodní a humanitní) stojí tzv. archeometrie. Analytická archeometrie studuje použití různých analytických metod a dále je vyvíjí pro použití v archeologii, historii umění atd. [7]. V dalších kapitolách budou popsány nejdůležitější techniky, které se používají pro studium historických děl a archeologických nálezů.

Při výběru vhodné metody se klade důraz na možnost (destruktivní nebo jinak invazivní metody) a nemožnost (nedestruktivní nebo též neinvazivní metody) odebrání vzorku ze studovaného objektu. Nedestruktivní metody, při nichž nedochází k odebrání materiálu, jsou vhodné pro velmi cenná díla, u kterých jeho správce vůbec jakýkoli odběr nedovolí. V řadě případů informace poskytnutá nedestruktivními technikami pro daný účel postačuje. Techniky jsou logicky vhodné pro první seznámení s jakýmkoli vzorkem s historickou, či uměleckou hodnotou a jejich nasazení může mít pozitivní efekt pro volbu strategie následné analýzy objektu s minimalizací rizika jeho poškození a maximální získanou informační hodnotou [7]. Je třeba podotknout, že v řadě případů neinvazivní postupy požadovanou informaci neposkytují. Potom je třeba zvolit takový způsob odběru, kterým studovaný objekt neutrpí – často se hovoří o mikroinvazivním odběru nebo mikroinvazivních technikách analýzy [8].

3.1. Zobrazovací metody

Řadíme zde zobrazování pomocí barevné fotografie, ultrafialové (UV) a infračervené (IR) zobrazení, spektrální zobrazení, rentgenovou radiografii a fluorescenční zobrazovací metody. V běžné praxi se můžeme nejčastěji potkat s přístroji pracující v blízké UV, viditelné a IR oblasti. Tento rozsah poskytuje detailní informace o objektu i v oblasti, které zůstaly lidskému oku skryté. Velký rozmach zobrazovacích digitálních senzorů přišel s vývojem počítačové techniky a tato zařízení dnes hrají klíčovou roli při zobrazování. Skládají se z jednotlivých fotodetektorů, které zpracovávají příchozí elektromagnetické záření a vysílají příslušný signál. Nejběžnějšími fotodetektory jsou CCD a CMOS APS [7].

V archeologii se příležitostně používá fotografování v blízké UV oblasti. Zdrojem záření může být komerčně dostupná xenonová lampa nebo v dnešní době populární NUV LED dioda [9]. Toto zobrazení může odhalit zašlý inkoust, pozměněné dokumenty nebo rytiny, pomoci při studiu keramiky, některých pigmentů a stopách po restaurování na textilu, malbách a sochách [7, 9–12].

Významnou metodu představuje zobrazování v blízké IR oblasti. Zobrazuje se pouze záření odražené od povrchu předmětu, které je však oproti primárnímu záření změněné selektivní absorpcí některých vlnových délek změnou vibračních a rotačních stavů funkčních skupin látek přítomných v povrchových vrstvách zkoumaného materiálu. Tohoto procesu se používá ke studium velmi poškozených nebo vybledlých dokumentů. Některé typy inkoustů odráží IR záření více než jiné, čehož se dá také využít ke studiu starších vrstev inkoustů, které jsou překryty jiným méně odrazivým inkoustem [7]. Nejznámější použití zachycení odrazu blízkého IR záření bylo použito pro získání informací ze Svitků od Mrtvého moře [13]. Použití zobrazování v infračervené oblasti („IR imagingu“) v tomto případě zvýšilo kontrast textu, čímž bylo dosaženo zvýšení čitelnosti původního textu na svitcích.

V 60. letech minulého století byla představena technika infračervené reflektografie (IRR), která je dnes velmi rozšířenou nedestruktivní technikou pro zobrazení skrytých vrstev na malbách [11]. Objevil ji holandský fyzik J. R. J. van Asperen De Boer, který zjistil, že nejlépe prostupuje vrstvami barvy záření s krátkou vlnovou v IR oblasti (SWIR) [7, 15]. Delaney a kol. [16] použili IRR pro odhalení původní zamýšlené kompozice na obrazu „Madona a dítě se svatým Janem Křtitelem“ od Raffaellova žáka Giulia Romana.

V archeologii se také využívá fluorescence. Obecně můžeme fluorescenci dělit do 3 skupin podle toho, jaké záření použijeme jako budící. Použití fluorescence je možné jen u látek, které fluoreskují. Běžně fluoreskují organická barviva, chlorofyl, minerální oleje a některá skla. Nejčastěji se setkáváme s použitím budícího záření v blízké UV oblasti [7]. Dobře známé použití této techniky je získání informací z rukopisu psaného duběnkovým inkoustem, který dobře absorbuje UV záření a text se tak stává lépe čitelným, což bylo použito pro prostudování poškozených stran „Minutarium Majus“, archívních záznamů ze 13. až 14. století ze švýcarského opatství [17].

Dalšími využívanými metodami zobrazování v archeologii patří spektrální zobrazování, které sbírá informace více spektrálních pásech nebo spektrální vlastnosti, a rentgenová radiografie, která se zabývá zobrazováním předmětů pomocí rentgenového

záření [7]. Mezi zobrazovací metody patří i hmotnostní zobrazovaní (mass imaging, který je diskutován podrobněji dále).

3.1.1. Terahertzová pulzní spektroskopie a imaging (TPIS)

Terahertzové záření se nalézá v elektromagnetickém spektru mezi dalekou infračervenou a mikrovlnou oblastí. Jedná se o elektromagnetické záření s vlnovou délkou mezi 0,03 až 3 mm a frekvencí od 0,1 do 10 THz [18]. Jedná se o velmi atraktivní metodu pro současný výzkum kulturního dědictví. Dosud se jednalo o jednu z nejméně probádaných oblastí spektra. Terahertzová spektroskopie doplňuje informace získané UV, IR a rentgenovou spektroskopií. Hlavní výhodou terahertzových vln je naprostá neinvazivnost a nulová přítomná radiace (energie tohoto záření není dostatečná na ionizaci molekul přítomných ve studovaném objektu). Oproti infračervenému záření pronikne terahertzové záření hlouběji do materiálu, který je pro techniky pracující s kratšími vlnovými délkami „neprůhledný“. Proniká nepolárními a nekovovými materiály jako jsou tkaniny, plasty a vrstvy barev [19].

Rozsah frekvencí a délka pulzu závisí na zdroji záření a na zamýšleném použití, běžná délka pulzu se však pohybuje od pikosekund po milisekundy. Dále je možné provést zobrazování v této oblasti vlnových délek, tzv. Terahertz 3D imaging nebo Terahertzovou tomografii. [19].

Terahertzová spektrometrie byla použita pro studium maleb, tkanin, písemností a obrazů, kde bylo možné zobrazit i podkladovou vrstvu z obrazu malovaném na dřevě [19]. Dále byla využita terahertzová spektroskopie při studiu egyptského mumifikovaného ptáka [20]. V porovnání s rentgenovým zobrazením poskytuje terahertzová spektroskopie lepší kontrast v materiálu s nízkou hustotou, ale jeho prostorové rozlišení není tak dobré.

3.2. Vibrační spektroskopie

Infračervená a Ramanova spektroskopie si našly své pevné místo v analýze archeologických materiálů. Existuje velké množství odborných prací studujících toto spojení [21, 22].

Principem infračervené spektroskopie je pohlcení infračerveného záření při průchodu vzorkem, při níž musí dojít ke změně dipólového momentu během vibrace. Ramanova spektroskopie doplňuje informace, které nám přináší infračervená spektroskopie. Základem Ramanovy spektroskopie je neelastický optický rozptyl fotonů, které interagují s hmotou a s určitou pravděpodobností vznikají fotony s větší vlnovou délkou (Stokesovy linie), nebo

s nižší vlnovou délkou (anti-Stokesovy linie). Podmínkou vzniku Ramanových linií je změna polarizovatelnosti molekuly během vibračního pohybu [23].

Laser, který se používá jako zdroj záření v Ramanově spektroskopii, obvykle emituje záření ve viditelné oblasti, zpravidla se jedná o záření odpovídající zelené nebo modré barvě. V poslední době byly použity lasery, které emitují záření v UV oblasti (240 nm) a blízké infračervené oblasti (1330 nm) [24]. Použití nižších vlnových délek má výhodu ve zvýšení intenzity Ramanových linií, na druhou stranu může ale dojít k překrytí fluorescenční emisí, které má o několik řádu vyšší intenzitu než odpovídající rozptýlené Ramanovo záření vybuzené laserem o stejné vlnové délce [25].

Nejběžněji nachází infračervená a Ramanova spektroskopie využití při odvozování struktury a tvaru molekuly Pro archeologii je však významnější použití infračervené a Ramanovy spektroskopie k identifikaci chemického složení organických a anorganických materiálů. Ve vibračním spektru se sleduje umístění pásu, který je charakteristický pro danou molekulu (tzv. oblast otisku prstu) a získané spektrum se porovnává se standardy v databázi.

Použití těchto metod přineslo mnoho nových informací o archeologických artefaktech, které dříve nemohly být jinak zjištěny. Kombinace vibrační spektroskopie s jinými technikami jako je rentgenová difrakce, rentgenová fluorescence, SEM, je dnes rostoucí oblastí, která dokáže poskytnout dostatek informací o složení s použitím malého množství vzorku nebo úplně nedestruktivně. Použití moderních miniaturizovaných přístrojů povede k rychlému využití těchto technik *in situ* a poskytne archeologům informace o možnostech restaurování jen s malým rizikem poškození vzácných předmětů [7].

Carterová a kol. [26] studovali pomocí Ramanovy spektroskopie porcelánové střepy, které byly nalezeny ve dvou vracích portugalských lodích datovaných do let 1608 a 1643. Keramika byla identifikována jako čínský produkt z období vlády dynastie Ming. Ve vzorku byly nalezeny Ramanovy pásy, které odpovídaly kobaltové modři, živci, modifikacím oxidu titaničitého, křemičitanu vápenatého a dalším. Výskyt β-wollastonitu, který byl poprvé nalezen v porcelánu z dynastie Ming, byl přisouzen nižší teplotě výpalu porcelánu.

3.3. Rentgenové metody

K rentgenovým metodám řadíme všechny techniky, které zkoumají vzorky pomocí záření v rentgenové oblasti elektromagnetického spektra. Tato část spektra se nachází mezi UV oblastí a oblastí gama záření. Je charakteristická vlnovými délkami v rozsahu 0,05 až 10 nm. Vznik charakteristického rentgenového záření je spojen s vyražením elektronu jiným

elektronem z vnitřní vrstvy elektronového obalu, následným zaplněním volného místa elektronem z vyšší hladiny a s tím spojenou produkcí elektromagnetického záření.

Zdrojem rentgenového záření může být rozpad radionuklidů, nebo nejčastěji rentgenka. Nejjednodušší rentgenky se skládají z katody a anody zatavené do skleněné trubice. Katoda slouží jako elektronový zdroj, z kterého se uvolňují elektrony. Materiály použité pro výrobu katody jsou obvykle wolfram a hexaborid lanthanu. Při průchodu elektrického proudu se katoda zahřívá a dochází k termoemisi elektronů, které jsou poté urychlovány pracovním napětím v řádech kilovoltů a usměrněny na povrch anody. Jen malá část elektronů interaguje s anodou za vzniku rentgenového záření.

Anoda se nejčastěji vyrábí z wolframu, titanu, železa, chromu, rhodia, molybdenu, olova, stříbra nebo zlata [7].

3.3.1. Energiově disperzní rentgenová fluorescence (EDXRF)

EDXRF je analytická metoda založena na zachycení sekundárního rentgenového záření, které bylo emitováno vzorkem pomocí budícího primárního polychromatického rentgenového záření zdroje. Podle podmínek měření (energie zdrojového záření) je možno pracovat neinvazivně a nedestruktivně. Měření je uskutečnitelné i pomocí ručního přenosného zařízení [27]. Metoda je vhodná pro stanovení elementárního složení materiálu. Z rentgenového spektra lze také vyčíst kvantitativní informace o prvcích obsažených v matrici prostým porovnáním ploch píků jednotlivých prvků.

Použití této metody v archeologii a analýze uměleckých děl je velmi rozsáhlé, právě proto, že může být použita přímo na místě nálezu nebo archivace studovaného objektu. Analyzovaný objekt se položí přímo k analyzátoru (malé objekty se vloží do vakuové komory). V případě že měříme s energií do 40 keV, tak se pro velký počet materiálů jedná o nedestruktivní metodu. Citlivost metody je dána experimentálními podmínkami, obecně však platí, že pro prvky s vysokým protonovým číslem se jedná o desítky ppm a se zmenšujícím se protonovým číslem citlivost klesá. Čas potřebný k provedení analýzy je obvykle do pěti minut, a metodu lze použít i k elementárnímu mapování [7].

Časté je použití EDXRF na elementární analýzu pigmentů nanesených na plátně. Ze získaných dat se dá zjistit, ze které doby analyzovaný objekt pochází nebo jaké byly použity materiály. S pomocí EDXRF bylo analyzováno mnoho vzácných děl, například vrstvy pigmentů v obrazu od Leonarda da Vinci [28]. Dále může tato metoda sloužit k provedení 2D elementárního mapování historických maleb nebo 3D konfokálnímu zobrazení vrstev malby [29, 30]. V neposlední řadě bylo použito synchrotronní záření jako

excitační zdroj pro analýzu maleb ze Zakázaného města v Číně nebo pigmentů z egyptského sarkofágu [31–33]. Dik a kol., využili techniky XRF, IRR a XRR (rentgenová reflektometrie) pro analýzu obrazu od Vincenta van Gogha. Analýzy odhalily skrytý obraz ženy pod známým obrazem „Trávník“. Po odebrání vzorku byli schopni zjistit elementární složení barev v jednotlivých vrstvách malby, čímž jsme se dozvěděli více informací o stylu van Gogha v tomto období. Z výsledků analýz můžeme vyčíst, že distribuce rtuti koresponduje s použitím vermilionu (červené barvivo), který byl použit na tělové tóny. Distribuce antimonu koresponduje s použitím Neapolské žlutě, která mohla být v některých částech smíšena se zinkovou bělobou a olověnou bělobou [31]

Z dalších materiálů bylo EDXRF použito na analýzu keramiky, kovů a skel z různých období [34–38].

3.3.2. Částicemi indukovaná rentgenová emise (PIXE)

PIXE je nedestruktivní a neinvazivní analytická metoda vhodná k určení kvantitativního a kvalitativního složení povrchových vrstev vzorku. Tato technika dokáže najednou prokázat přítomnost prvků od sodíku až po uran, a to s dobrou citlivostí, která může dosahovat až jednotek ppm. Obecně se dá říci, že má lepší limity detekce než EDXRF především u prvků s nižším protonovým číslem [7].

Na rozdíl od EDXRF vzniká u této metody rentgenové záření vlivem ozáření vzorku proudem alfa částic nebo protonů. Tyto částice s energií okolo 3 MeV vyrazí elektron z vnitřní vrstvy elektronového obalu a dochází k emisi charakteristického rentgenového záření. Jako zdroj záření se používá radioaktivní materiál, což je také jedna z nevýhod této metody. Další nevýhodou pro použití této metody k studiu uměleckých a archeologických objektů se stává velikost a s tím spojená nepřenosnost těchto zařízení, takže se často nahrazují jinými technikami např. infračervenou nebo Ramanovou spektroskopií. Tato metoda našla své uplatnění v analýze barviv, inkoustů, skel, maleb, keramiky a kovů. Dobře lze analyzovat malé objekty, které lze vložit do vakuové komory a provést přesnější měření za sníženého tlaku [7].

3.3.3. Skenovací elektronová mikroskopie s energiově disperzní spektrometrií (SEM-EDS)

Podrobné zkoumání povrchů na velmi malých uměleckých a archeologických objektech (a jejich částech) je nutné provádět pod zvětšením a k tomu většinou slouží optické mikroskopy. Avšak hranice jejich zvětšení je dána vlnovou délkou použitého záření, tedy

viditelného světla. Elektronové mikroskopy nám dovolují tuto hranici posunout a pracovat za významně většího zvětšení. Jejich rozlišení závisí na energii použitých elektronů podle de Broglieho vztahu. Elektrony s energií mezi 1-10^3 keV umožňují dosáhnout rozměrů atomových poloměrů.

Skenovací elektronový mikroskop se skládá z elektronového děla, soustavy cívek, které slouží k pohybu elektronovým paprskem a k jeho zacílení na vzorek. Elektronový paprsek zde vychází z elektronového děla, které je vyrobeno z wolframu nebo LaB_6. Elektrony, které zasáhnou vzorek, se nazývají primární. Dochází buď k elastickému odrazu primárních elektronů, nebo k vyražení elektronů sekundárních a emisi záření. Pozorujeme prošlé elektrony, elektrony zpětně odražené, sekundární elektrony a charakteristické rentgenové záření. Vracející se elektrony dávají informaci o topografii povrchu a kontrastu, který je dán velikostí protonového čísla. Čím je protonové číslo vyšší, tím je odstín oblasti světlejší.

Skenovací elektronová mikroskopie se také používá v kombinaci s energiově disperzní spektroskopií, kdy se přímo identifikuje elementární složení skenované oblasti preparátu. SEM-EDS v postupu studia archeologických a uměleckých objektů následuje hned za FTIR, Ramanovou spektroskopií a dalšími nedestruktivními metodami. SEM se také řadí k neinvazivním a nedestruktivním metodám, ale to jen v případě, kdy je možné umístit studovaný archeologický nebo umělecký objekt do vakuové komory mikroskopu [7].

Konkrétně se SEM-EDS používá k analýze jednotlivých vrstev malby. Pomocí této techniky je možné zjistit elementární složení, studovat morfologii, pórovitost, zrnitost nebo degradaci materiálu [39]. Významné místo si tato metoda našla při zkoumání elementárního složení, degradace a morfologie skla a keramiky [40, 41]. Velmi užitečná je také při studiu struktury slitin kovů, jejich příměsí a korozních produktů [42] jakož i při studiu různých organických materiálů, jako jsou textilní vlákna nebo rukopisy [7]. Rezic a kol. [43] použili SEM-EDS společně s ICP-OES (optická emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou) a AAS k elementární charakterizaci kovových vláken. Vlákna byla většinou vyráběna ze slitiny mědi a stříbra. Mezi příměsi patřilo železo, zlato, zinek, nikl a hliník. Zjistili, že SEM-EDS je obvykle v dobré shodě s AAS a ICP-OES. Výjimku tvoří vzorky, které byly pozlacené nebo postříbřené. U těchto vzorku docházelo ke zkreslení výsledků, neboť SEM-EDS je metoda pro povrchovou analýzu.

3.3.4. Rentgenová difraktometrie (XRD)

Rentgenová difrakční analýza je založena na pozorování ohybu monochromatického záření mezi vrstvami krystalové mřížky, která funguje jako difrakční mřížka. Interferenci vzniklou mezi vlnami ohnutými od různých vrstev dělíme na destruktivní a konstruktivní. Vznik interference popisuje Braggův zákon. Rentgenová difraktometrie je důležitá pro studium krystalických látek a určení jejich prostorové struktury. Ze zkoumaných látek se získávají difraktogramy, které se porovnávají s difraktogramy v databázích. Jistou komplikací této metody je nutnost přípravy monokrystalu. Pokud to není možné, existuje alternativní technika nazývaná prášková difraktometrie [7].

Hlavní uplatnění při zkoumání archeologických a uměleckých děl si rentgenová difraktometrie našla při identifikaci krystalografické soustavy minerálů. Obvykle se s minerály setkáváme při studiu pigmentů, keramiky nebo stavebních materiálů. Zajímavé je použití XRD při odvozování techniky odlévání kovů. To se provádí z poměrů různých kovových fází obsažených ve slitině, z čehož se dá usuzovat při jaké teplotě vznikaly [7, 44]. Komerčně jsou dostupné i přenosné přístroje, které jsou schopné pracovat *in situ* v nedestruktivním a neinvazivním uspořádání [45].

3.4. Elektrochemické metody

K analytickým metodám patří nedílně metody elektrochemické. Můžeme je dělit na metody sledující elektrické vlastnosti analytu a na metody sledující elektrochemické děje. Mezi první skupinu patří například konduktometrie. Do druhé skupiny řadíme mimo jiné potenciometrii, voltametrii, coulometrii, amperometrii a elektrogravimetrii [46].

Elektrochemické metody lze použít na výzkum určitých součástí vzorku, což může přinést informace o tom, odkud daný vzorek pocházel. Konkrétním příkladem může být použití SWV (Square wave voltametrie) pro určení původu indiga z malby na klenbě ze španělského kostela [7]. Na voltamogramu se dá odhadnou podobný tvar voltametrické křivky, protože se liší výška charakteristických píků od obou rostlin, z kterých mohlo být barvivo připraveno (*Indigofera tinctoria* nebo *Isatis tinctoria*). Z podobnosti křivek se dá usoudit, že indigo pocházelo z borytu barvířského (*Isatis tinctoria*).

Další pokročilou elektrochemickou metodou, která byla použita pro studium historických předmětů, je metoda VMP (voltametrie mikročástic), kterou poprvé popsal Scholz, Nitschke a Henrion [47]. Tato metoda může být použita k voltametrické charakterizaci jakéhokoliv pevného elektroaktivního materiálu. VMP se vyznačuje vysokou citlivostí a malým množstvím vzorku potřebným k analýze. Je vhodná k určení

anorganických pigmentů, organických barviv z maleb, textilních vláken, barvené keramiky, skla a ke studiu kovů a korozních produktů [7].

3.5.Separační techniky

Separační metody jsou techniky analytické chemie, které slouží k oddělování jednotlivých složek ve složité směsi a využívají k tomu různé fyzikální vlastnosti složek směsi. Rozdělujeme metody založené na distribučních rovnováhách, rychlosti pohybu jednotlivých složek v silovém poli nebo migrace přes polopropustnou membránu.

Pomocí většiny běžných separačních technik není možné provést přímou analýzu, materiál je třeba k analýze odebrat a převést do roztoku. Separační techniky nejsou předmětem experimentální části této práce. Přesto budou, vzhledem ke svému významu nejen pro archeologii, v dalším textu krátce komentovány

Ze separačních technik se standardně setkáváme v analytické archeometrii s chromatografií, což je analytická technika, kde dochází k dělení mezi stacionární a mobilní fázi. Analyt je rovnovážně distribuován mezi mobilní a stacionární fázi a tato rovnováha je neustále porušována pohybem mobilní fáze. Zakladatelem této metody byl ruský botanik Mikhail Tsvet, který separoval rostlinné pigmenty [7]. Základní chromatografické techniky můžeme dělit podle typu mobilní fáze. Podle tohoto kritéria rozlišujeme plynovou chromatografii a kapalinovou chromatografii.

3.5.1. Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie je založena na dělení směsi látek s nízkým bodem varu, které se nerozkládají před dosažením bodu varu. Část vzorku je nastříknuta do dávkovače, který je vyhříván termostatem a kde dojde k rychlému převedení vzorku do plynného stavu. Ten je pak veden nosným plynem, který slouží jako mobilní fáze, do kolony, kde dochází k vlastnímu dělení směsi. Jako nosný plyn se běžně používá helium, vodík nebo dusík. Kolon je několik typů, základní dělení je na náplňové a kapilární. Celá kolona je vyhřívaná teplovzdušně a je možné pracovat i s teplotním gradientem, který dokáže značně urychlit analýzu. Jednotlivé látky jsou po rozdělení zachyceny vhodným detektorem. Mezi hlavní typy detektorů patří: tepelně vodivostní detektor, plameno-ionizační detektor, detektor elektronového záchytu, FTIR detektor a hmotnostní spektrometr. Poslední jmenovaný tvoří společně s GC velmi oblíbené a účinné spojení pro analýzu těkavých a teplotně stabilních organických látek [48].

Velké množství látek není možné přímo analyzovat pomocí GC-MS, proto se provádí jejich derivatizace. Proces derivatizace lze rozdělit do tří kroků. Obvykle se vzorek nejdříve

hydrolyzuje, pak se odstraňují látky, které by mohly interferovat. Nakonec se reakcí s derivatizačním činidlem provede samotná derivatizace [7]. Cílem této úpravy je snížení polarity nahrazením (aktivního) vodíku polární skupiny alkylovou, silylovou nebo acylovou skupinou, čímž dojde ke zvýšení těkavosti, neboť dojde k omezení tvorby vodíkových můstků. Derivatizace se často také používá ke zvýšení selektivity pro různé druhy detektorů, např. navázaní halogenu pro použití detektoru elektronového záchytu [49].

Při použití v archeologii a studiu uměleckých děl je pro volbu vhodné metody důležité si vybrat skupiny látek, které v dané souvislosti přicházejí do úvahy. U historických uměleckých děl se často setkáváme s tuky, pryskyřicemi, vosky a bílkovinami, naproti tomu při studiu archeologických vzorků se nejčastěji jedná pouze o pozůstatky organických látek, které je velmi těžké analyzovat a často jsou ve vzorku přítomny pouze látky vzniklé degradací původních látek. Mezi taková rezidua patří například lipidy, produkty jejich oxidace, terpenoidy, sacharidy nebo nukleové kyseliny. Pomocí GC-MS byly tyto látky studovány na vzorcích z různých keramických předmětů, lepidel a pojiv, nebo na vzorcích odebraných z egyptských zvířecích mumií [50–52]. Z dříve zmíněných látek jsou nejvíce podrobeny studiu lipidy, které dobře odolávají „zubu času“. Lipidy jsou běžně se vyskytující látky např. v olejích, mastích, mazadlech a podobně. Proto jsou jejich stopy nalézány ve velkém množství v obsazích starověkých keramických nádob. Informace o přítomnosti a druhu přítomného tukového materiálu poskytuje užitečné informace o životě tehdejších lidí [53, 54]. Příkladem může být výzkum provedený Salviniovou, Pezziovou a Giorgim, kteří prostřednictvím GC-MS s různými ionizačními technikami (EI, APCI, elektrosprej) studovali středověkou keramiku, která byla určena k vaření a skladování potravin. Nádoby, v kterých se vařilo, obsahovaly velké množství mastných kyselin, jako kyseliny stearovou a palmitovou. Byly nalezeny také stopy cholesterolu, což nasvědčuje společně s předchozími výsledky, že v těchto nádobách byly zpracovávány potraviny živočišného původu. V dalších nádobách byly nalezeny i látky rostlinného původu (např. nonakosan, nonakosan-15-on a nonakosan-15-ol),, což nasvědčuje tomu, že se v nich připravovaly i zeleninové pokrmy [53].

3.5.2. Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie se liší od plynové chromatografie tím, že se zde používá kapalina jako mobilní fáze. Dochází zde ke dělení směsi mezi stacionární a mobilní fázi vlivem různé afinity látek k těmto fázím. Základním typem LC technik je plošná chromatografie – nejčastěji tenkovrstvá nebo papírová chromatografie, kde je analyt

promýván a unášen mobilní fází. Tato metoda je určena pro rychlé a nenáročné analýzy jednoduchých směsí látek [7].

Dnes se většina laboratoří neobejde bez kolonového uspořádání kapalinové chromatografie – techniky HPLC. Tuto techniku je možné provádět ve dvou základních provedeních, a to jako HPLC na normálních fázích (NP HPLC) a HPLC na reverzních fázích (RP HPLC). RP HPLC je běžnější technikou. Separace se provádí na nepolárních stacionárních fázích s polárními mobilními fázemi. V systému reverzních fází budou nejdříve eluovány látky s největší polaritou a potom látky méně polární. Jako mobilní fáze se u RP HPLC používá voda, která může obsahovat aditiva (např. kyselinu, zásadu, pufr) a druhou hlavní složkou mobilní fáze je organická část, což bývá zejména methanol nebo acetonitril [48]. Jejím obsahem lze řídit retenci analytů. Detekce analytu probíhá buď selektivním detektorem nebo univerzálním detektorem. Z univerzálních je vhodné zmínit refraktometrický detektor a ze selektivních UV/VIS detektor s diodovým polem, fluorimetrický a amperometrický detektor. Velmi oblíbené je také spojení HPLC a hmotnostního spektrometru jako detektoru [7].

Pro archeometrii má RP HPLC význam především pro studium barviv a bílkovin. Zde je dobré podotknout, že se zde jedná téměř vždy o jen o pozůstatky původních materiálů, proto se zde často sledují rozkladné produkty. Důležitá je především příprava vzorku, extrakce a hydrolýza [7]. Dobrých výsledků se podařilo dosáhnout s pomocí detektoru diodového pole, kdy byly zkoumány pigmenty z archeologických vzorků (textilií) pocházejících až z doby železné [55]. Všechny tyto předměty pocházely ze skandinávských rašelinišť, kde byly zakonzervovány při nízké teplotě a v reduktivním prostředí. Bylo vyzkoušeno několik různých metod extrakce analytů. Jako nejlepší možnost se ukázala extrakce okyseleným methanolem a následná extrakce ethylacetátem. Analýzou HPLC a porovnáním s databází KIK/IRPA, obsahující 130 referencí, vyšlo najevo, že textilie byly barveny žlutými barvivy (luteolin, apigenin, Rhamnetin), modrými barvivy (indigotin, indirubin) a červenými barvivy (alizarin). Dále byly nalezeny látky odvozené od kyseliny skořicové a benzoové. Tyto látky mohou být produkty rozkladu barviv, nebo šlo o kontaminaci recentními materiály při restaurování. Kyselina ellagová, která byla také identifkována, indikuje přítomnost taninu. Tanin nejspíše sloužil v procesu zpracování kůží a jako mořidlo při nanášení barev.

3.6. Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie se v současnosti stala jednou z nejdůležitějších technik v analytické chemii. V předchozích kapitolách byla zmíněna v souvislosti s jinými metodami, ale pro její důležitost jí bude věnována bližší pozornost v následujících kapitolách.

Hmotnostní spektrometr se skládá z iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a detektoru. Ionty vzniklé v iontovém zdroji se přivádějí do hmotnostního analyzátoru, kde dochází k jejich rozdělení na základě rozdílné interakce s magnetickým a/nebo elektrickým polem a jsou separovány na základě své hodnoty m/z (poměru hmotnosti ku náboji). Celý proces je prováděn ve vakuu. Iontové zdroje můžeme dělit na měkké a tvrdé a mezi obvyklé způsoby ionizace iontů patří ionizace elektronem, chemická ionizace, ionizace elektrosprejem, ionizace polem a laserová desorpce-ionizace. Mezi komerčně dostupné a relativně běžně používané hmotnostní analyzátory patří kvadrupól (Q), iontová past (IT), průletový analyzátor (TOF) a elektrostatická orbitální past (Orbitrap). Analyzátory méně často se vyskytující vzhledem ke složitějšímu technickému uspořádání a vyšší ceně jsou magnetické sektorové analyzátory a iontová cyklotronová rezonance. K běžným detektorům řadíme Faradayovu klec, scintilátor a elektronový násobič. Podle typu použitého iontového zdroje a analyzátoru můžeme analyzovat široké spektrum látek a dosáhnout na velké množství informací významných pro identifikaci a provádět kvantitativní analýzu [7, 56].

3.7. Hmotnostní spektrometrie s ionizací využívající laseru

Laserové metody jsou ve spojení s MS běžně používány pro analýzu archeologických vzorků. Slovo LASER pochází z anglické zkratky Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, což se dá do češtiny přeložit jako zesilování světla stimulovanou emisí záření. V poslední době stoupá obliba technik, které používají laser jako nástroje pro získání částic pro další analýzu. Mezi tyto metody patří například LA-ICP-MS/OES a LDI-MS. Mezi další techniky používající laser patří například laserová desorpce/ionizace za účasti matrice (MALDI), povrchu (SALDI), desorpce/ionizace na porézním silikonu (DIOS).

3.7.1. LA-ICP-MS

Spojením laserové ablace s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem je velmi účinná technika pro elementární stopovou analýzu. Tato technika umožňuje

analyzovat přes 80 prvků a stala se velmi běžnou metodou pro studium pevných vzorků (umožňuje přímou analýzu bez nutnosti převádět vzorek do roztoku).

Nevýhodou této metody je obtížná kvantifikace z důvodu nutnosti získání kvalitních standardních vzorků. Výhodou LA-ICP-MS je rychlost analýzy a malé nároky na úpravu vzorku [57]. Mezi další výhodu patří nízké dosahované detekční limity. Nastavením laserového paprsku lze do určité míry řídit rozsah destrukce vzorku. [58].

Malé části vzorku jsou odpalovány pomocí krátkých laserových pulzů. Analyt ve formě aerosolu je poté transportován pomocí argonu dále k plasmovému hořáku a do hmotnostního analyzátoru. Vlnová délka použitého záření ovlivňuje účinnost ablace. Je-li použit laser s vlnovou délkou v UV oblasti, tak dojde k proniknutí do větší hloubky materiálu a vzniknou tím menší částice [59]. Použití krátkých vlnových délek je důležité pro analýzu skla, keramiky a kovů [7]. Proto se běžně používají lasery s vlnovou délkou 266, 213 a 193 nm [58]. Délka pulzu a energie laseru také ovlivňují účinnost ablace a hloubku proniknutí do materiálu [59]. Dalšími parametry při použití laserové ablace jsou typ ablačního plynu, tlak plynu, rychlost průtoku toho plynu, typ matrice, homogenita a morfologie matrice [58].

Použití pří studiu archeologických vzorků je široké. LA-ICP-MS byl použit k studiu skel, keramiky, kovů nebo minerálů [7]. Konkrétně je vhodné zmínit výzkum stříbrných středověkých mincí, kde byl sledován poměr jednotlivých prvků v řezu mincí pomocí metody LA-ICP-TOF-MS [60].

3.7.2. Laserová desorpce/ionizace (za účasti matrice) - (MA)LDI

Ionizace a desorpce laserem (obvykle za přítomnosti matrice) patří spolu s ESI (ionizace pomocí elektrospreje) k měkkým ionizačním technikám a dnes patří k nepostradatelným prostředkům analytické chemie [61]. (MA)LDI ionizace je založena na působení laseru na vzorek. Použitý laser je obvykle UV dusíkový nebo Nd:YAG pro UV-MALDI a Er:YAG a CO_2 pro použití v IR-MALDI. Působením laseru probíhá jeho desorpce složek vzorku (odstraňování molekul z povrchu) a jejich ionizace. Tam kde nestačí k ionizaci jen laser se používá matrice. Matrice je nízkomolekulární organická látka, která pomáhá ionizaci analytu a ochraňuje ho před destrukcí. Dochází tedy k ionizaci molekuly matrice, která poté předá energii a náboj molekule analytu.

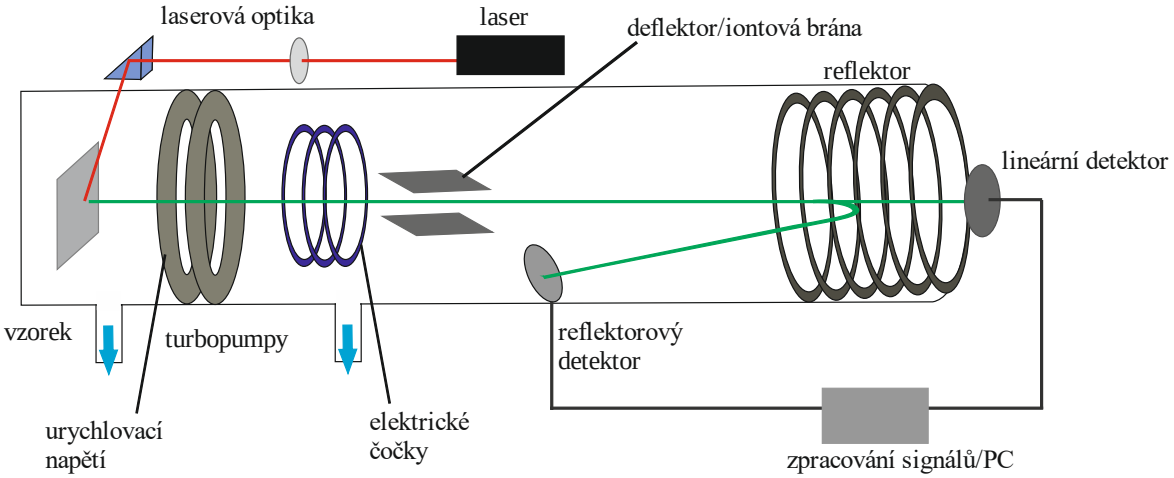
Výběr správné matrice se stal jedním z nejdůležitějších činitelů pro dosažení dobrých výsledků měření na MALDI. Výběr matrice záleží na analytu, který chceme zkoumat a na použitém laseru. Mezi nejběžněji používané matrice pro IR-MALDI patří glycerol a kyselina

jantarová. Pro UV-MALDI se ve většině případů volí kyselina sinapová, kyselina 2,5-dihydroxybenzoová, 2,4,6-trihydroxyacetofenon, kyselina 3-hydroxypikolinová nebo α-kyano-4-hydroxyskořicová [61].

Použití binárních matric je také možné. Binární matrice jsou směsi dvou matric. Použití dvou matric vede k zlepšení stability signálu [62]. Další možností je použití kapalné iontové matrice, což je směs klasické matrice s organickými bázemi, jako je např. pyridin [63].

Existuje řada metod pro přípravu vzorku pro měření na MALDI. Za standardní je považována metoda „dried droplet“, při které jsou analyt a matrice rozpuštěny v jednom rozpouštědle a naneseny na vhodnou podkladní destičku (nerezová MALDI destička nebo podložní mikroskopické sklíčko). Po odpaření rozpouštědla je možné analyzovat vzniklé krystalky. Dále existuje řada metod, které kombinují různé překrývání vrstev matrice/analyt. Jako nejrychlejší metoda je označována „Quick and Dirty“ metoda. Tato metoda je založena na prostém napipetování analytu a matrice na držák vzorku. Před vypařením rozpouštědla se směs promíchá pipetovací špičkou [64]. Mezi dalšími postupy se uplatnily sprejování roztoku matrice vhodným sprejerem nebo sublimace matrice na vzorek (tyto techniky jsou vhodné i pro MALDI hmotnostní zobrazování) [65, 66].

Jako hmotnostní analyzátor se pro MALDI nejčastěji používá analyzátor doby letu (TOF). Schéma takového analyzátoru je uvedeno na Obrázek 1. Poměr m/z u TOF závisí přímo úměrně na druhé mocnině doby letu [67]. Pro lepší rozlišení se používá TOF s reflektorem nebo s opožděnou extrakcí iontů. V moderních přístrojích lze najít oboje [61].



Obrázek 1 Schéma TOF s deflektorem [67]

3.7.2.1. (MA)LDI hmotnostní zobrazování (imaging)

(MA)LDI hmotnostní zobrazování představuje techniku planárního zobrazení přítomnosti, distribuce a koncentrace analytu. (MA)LDI imaging se dobře uplatňuje např. v histologii při studiu tkání a buněčných pochodů. Úprava biologických vzorků pro měření zahrnuje zamražení, řezání pomocí mikrotomu a nanesení matrice. Při nanášení matrice závisí především na homogenitě vrstvy, rychlosti nanášení a reprodukovatelnosti. Běžně se tak děje nanesením pomocí pipety nebo pomocí automatických sprejovacích přístrojů jako např. Image Prep od firmy Bruker nebo SunCollect od firmy SunChrom Wissenschaftliche Geräte GmbH [68–70].

3.7.2.2. (MA)LDI-MS pro archeologii

LDI-MS je velmi užitečná technika pro analýzu barviv. Van Elslandová a kol. [71] použili tuto techniku pro zjištění složení tří růžových pigmentů, které pocházely z antického Řecka a Říma. Výsledky LDI-MS byly porovnány s LC-ESI-HRMS (kapalinová chromatografie s ionizací elektrosprejem a hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením). Velký problém při interpretaci hmotnostních spekter získaných pomocí LDI-MS byl „fenomén spektrálního potlačení“. Protože v antickém Římě a Řecku byl uhličitan olovnatý používán jako pigment, tak byla ve spektru přítomna série píků, která odpovídala iontům klastrů olova. Proto byly maskovány všechny píky náležící barvivu alizarinu ve standardních vzorcích. Nicméně ve dvou archeologických vzorcích byly identifikovány píky patřící deprotonovaným iontům, sodným a draselným aduktům purpurinu a pseudopurpurinu. Výhodou LDI-MS oproti vysokoúčinné chromatografii byla nízká spotřeba vzorku a malé nároky na úpravu vzorku před měřením. Nevýhodou se staly uvedené problémy s přítomným olovem, které skryly některé píky aduktů se stříbrem, které byly pozorovány standardu bez sloučenin olova.

LDI-MS byla také použita pro analýzu indigoidního barviva – antického purpuru z částí keramiky. Výsledky byly porovnány s HPLC-DAD. V pozitivním ionizačním módu byly identifikovány píky iontů protonovaných barviv a iontů alkalických aduktů těchto barviv. V negativním modu byly identifikovány píky deprotonovaných iontů těchto barviv. Přítomnost bromovaných a dibromovaných molekul zvýšila selektivitu a citlivost v negativním modu díky vyšší elektronegativitě. Díky charakteru těchto barviv se LDI-MS osvědčila jako velmi výhodná technika pro studium purpuru [72].

Technika MALDI získala velký význam pro peptidové mapování (peptide mass fingerprint). Tato metoda spočívá v enzymatickém rozkladu bílkoviny a následné analýze

peptidových řetězců pomocí MALDI-MS. Výsledky jsou srovnávány s databázemi proteinů, které umožní neznámou bílkovinu identifikovat [73]. Pomocí techniky MALDI-MS bylo možné přiřadit kosti nalezené na archeologických nalezištích jednotlivým živočišným druhům. Toto bylo možné pomocí extrakce a následné analýzy peptidových markerů z kostního kolagenu [74]. Takto bylo možné i rozřadit pozdně neolitické kozí kosti od ovčích, které se někdy pro velkou morfologickou podobnost řadily do jediné skupiny [75]. Další studie sledovala biomarkery nádorů v 2 000 let starých kostech. Pomocí MALDI-TOF/TOF-MS se podařilo identifikovat některé proteiny spojené s nádorovými mutacemi [76].

Prostřednictvím metody LC-MALDI-TOF/TOF-MS (tedy off-line kombinací chromatografické separace s depozicí frakcí na MALDI destičku a následnou MS analýzou) byla umožněna analýza reziduí jídla z nalezené keramické misky. Tato miska pocházela z čínské hrobky a byla datována do doby 500-300 před n.l. Pomocí databází byly nalezeny čtyři peptidové řetězce, které odpovídaly kravskému, bůvolímu, ovčímu a kozímu kaseinu. Koncentrace kravského kaseinu ve vzorku byla zjištěna pomocí metody ELISA (běžný postup heterogenní enzymové analýzy). Výsledkem práce bylo zjištění, že v dané oblasti v Číně probíhalo zpracování kozího, ovčího a kravského mléka již nejméně před 2300 lety [77]. Dále byla použita technika MALDI-FT-ICR-MS (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací za účasti matrice v kombinaci s iontovou cyklotronovou rezonancí) pro analýzu zbytků triacylglycerolů v estonské keramice z 12. až 13. století nalezené na pohřebišti [78].

Zajímavé bylo použití MALDI-TOF-MS pro peptidové mapování (PMF) reziduí pokrmů z rakve Gristhorpského muže (Gristhorpe Man). Dříve bylo zjištěno, že tento muž byl náčelník z doby bronzové. Datace se udává 2200 až 2020 let př. n. l. V jeho rakvi byly nalezeny dvě nádoby obsahující zbytky potravin. Z reziduí byly extrahovány rozpustné peptidy, ty byly přečištěny, zakoncentrovány a podrobeny analýze. Po analýze pomocí MALDI-TOF-MS, LC-ESI-LTQ-MS/MS (kapalinová chromatografie spojený s hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem a analyzátorem typu lineární kvadrupólové iontové pasti) a srovnání s databází byla zjištěna přítomnost lidského keratinu, hovězího (Bos taurus) keratinu, hovězího kolagenu a hovězího α-S1-kaseinu. Lidský keratin byl do vzorku nejspíše zanesen při manipulaci s předměty při nálezu vzorku, neboť Gristhorpský muž byl objeven již v roce 1843 kdy nebyla sledována pravidla zamezující kontaminaci nálezu recentními látkami [79].

Velmi zajímavou aplikací MALDI-TOF-MS metody je analýza vlasů a dalších vláken v archeologických nálezech. Ta byla použita například pro analýzu vlasů a oblečení z mumie ledového muže, Oetziho, objeveného v roce 1991. Tato 5 300 let stará mumie byla objevena v tyrolském ledovci ve velmi dobrém stavu.

Vlasy a odebrané vzorky kožešin byly zpracovány, extrahovány (trypsinova digesce) a byla provedena měření pomocí metody MALDI-TOF-MS a MALDI-TOF/TOF-MS/MS. Bylo zjištěno, že Oetzi měl velmi vysoký stupeň poškození vlasových peptidů oproti jiným mumiím. Tento jev byl nejspíše způsoben dlouhým vystavením těla slunci. Dalším výsledkem bylo zjištění, že horní kožená část jeho mokasín byla vyrobena ze skotu a jeho kabát a kalhoty byly vyrobeny s největší pravděpodobností z ovčí kůže [80]. Novější výzkum uvádí, že jeho kalhoty byly vyrobeny z jeleních a kozích kůží sešitých dohromady. Také byly nalezeny stopy po využití kůže ze skupiny psovitých šelem. Mohlo se jednat o lišku obecnou, vlka obecného nebo psa domácího. Horní část bot byla vyrobena z kůže jelena, jazyk z kůže skotu a podrážka pravděpodobně z kůže medvěda hnědého. Jeho čepice byla nejspíš také vyrobena z medvědí kůže [81]. Tyto a další informace pomohly dotvořit obraz života tohoto neolitického člověka.

Mimo výše zmíněné využití techniky MALDI při analýze archeologických nálezů, byl tento přístup také aplikován na analýzu barviv [82], olejů [83], bílkovinných pojiv [84] či laků [85].

3.7.2.3. (MA)LDI pro studium polymerů

Analýza polymerů pomocí (MA)LDI se stala velmi oblíbeným přístupem k jejich charakterizaci [7]. Tento postup je používán i v této bakalářské práci a bude mu věnována bližší pozornost. V této kapitole uvedu některá stěžejní použití (MA)LDI pro výzkum polymerů.

Jedním z cílů této práce byla detailní charakterizace vybraných makromolekulárních látek, které by mohly sloužit k analýze archeologických objektů.

Výzkumem polymerů pomocí LDI-MS technik se zabývali výzkumníci již na začátku 90. let, kdy se tyto metody začaly rozšiřovat. Bahr a kol. studovali polymery jako PMMA, PEG a PS o různé polydisperzitě a střední molekulové hmotnosti. [86]. Jak bylo již zmíněno, pro efektivní MALDI-MS analýzu je významné volit správným způsobem matrici. Už v devadesátých letech minulého století zjistili Lehrle a Sarsonová, že kyselina sinapová není vhodná matrice pro měření PMMA spekter. Naproti tomu 2,4-dihydroxybenzoová kyselina se velmi dobře osvědčila [87].

Typickým úkolem je identifikace koncových skupin polymerů. Tímto problémem se zabývali již Maloney a kol. v polovině 90. let. Ve své práci dokázali určit oba typy koncových skupin připraveného polymeru PMMA, které se lišily podle použité polymerační metody. Jako matrici použili 2,5-dihydroxybenzoovou kyselinu rozpuštěnou v acetonu s přídavkem NaCl [88].

V průběhu času byly pomocí MALDI-MS analyzováno velké množství polymerů, na mnohé z nich odkazuje ve svých pracích Räder a Schrepp nebo Nielen [89, 90]. Ti rovněž uvádí jako zásadní přípravu vzorku a výběr vhodné matrice. Jako matrice se začaly vedle 2,5-DHB používat také dithranol, CHCA, HABA, IAA nebo kyselina sinapová. Vhodnost matrice se nedala přesně určit a volba byla prováděna na základě podobné polarity jako má studovaný polymer [90], anebo použití matrice, která má stejný retenční čas jako polymer v RP-HPLC [91]. Úplně nový typ matrice vhodné pro analýzu polymerů připravili Liang a kol. [92], kteří použili kromě běžných matric (dithranol 2,5-DHB) i nanočástice železa uzavřené v „obálce“ z kyseliny citronové. Způsob volby matrice není doposud uspokojivě vyřešen a lze do budoucna lze očekávat na toto téma zajímavý výzkum.

Jako blízce související téma je vhodné zmínit kationizaci syntetických polymerů. U polárních syntetických polymerů není nutné uměle přidávat soli kovů, které polymery kationizují. Při měření jsou sodné nebo draselné adukty efektivně tvořeny ze stopových množství sodíku a draslíku, které jsou přítomny jako znečištění. Nepolárních polymery bez heteroatomů je nutné kationizovat pomocí stříbrných nebo měďných solí kovů. Polyolefiny je dokonce nutné před měřením pomocí MALDI modifikovat [93].

Dalším často diskutovaným tématem je příprava vzorku polymeru pro MALDI-MS měření. Velkou zde hraje roli jen částečná nebo velmi špatná rozpustnost některých polymerů v běžných rozpouštědlech. Jedno z řešení uvádí Skelton, Dubois a Zenobi [94], kteří studovali polyamidy nerozpustné nebo špatně rozpustné v organických rozpouštědlech. Jejich řešením byla podobná příprava vzorku jako při měření infračervených spekter pomocí slisovaných tablet vzorku s bromidem draselným. Dobrých výsledků dosáhli při poměru matrice:polymer 1:1 až 1:5. Jagtap a Ambre uvádí jako doporučená rozpouštědla pro polymery aceton, hexan, dichlormethan, tetrahydrofuran a chloroform [95].

MALDI je dnes běžně používaná metoda k zjištění struktury polymeru, koncových skupin řetězců, průměrné molekulové hmotnosti nebo polydisperzity polymerů [96]. Jako největší překážku pro studium polymerů pomocí MALDI-TOF vidí Kang a kol. nedostupnost dostatečně komplexního softwaru s optimalizovaným algoritmem pro studium

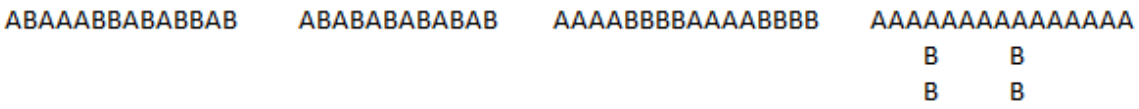
fragmentačních vzorů a distribuce molekulární váhy. Jako další problém vidí nemožnost analýzy polymerů s větší molekulární hmotností jak 100 kDa [96].

4. Polymery

V následující kapitole budou stručně diskutovány polymerní látky se zaměřením na jejich klasifikaci dle strukturních jednotek a jejich vlastností. Zástupci z každé diskutované skupiny byly podrobněji studovány a výsledky jsou uvedeny v experimentální části této bakalářské práce.

4.1. Popis a vlastnosti polymerů

Polymery jsou makromolekulární látky, jenž se skládají z velkého počtu základních jednotek, které mohou být všechny stejného druhu. V tom případě polymer označujeme jako homopolymer. V případě, že polymer obsahuje více různých jednotek jedná se o kopolymer. Kopolymery dělíme podle vzájemného uspořádání obou druhů jednotek na statistické, alternující, blokové a roubované.



Obrázek 2 Statistické, alternující, blokové a roubované uspořádání kopolymeru [97]

U polymerů také popisujeme jejich stereochemii (nejčastěji s ohledem na prostorové uspořádání substituentů v řetězci). Pak dělíme polymery na ataktické, když zde nenalézáme žádnou pravidelnost a na taktické, když určitou pravidelnost mají. Taktické polymery dělíme dále na izotaktické a syndiotaktické. Při izotaktickém uspořádání substituentů vypadá polymerní řetězec ze všech stran uhlíkového řetězce stejně. Při syndiotaktickém uspořádání substituentů vypadá polymerní řetězec ze dvou sousedních uhlíků jako zrcadlový obraz. Dále můžeme najít polymery s různou konfigurací. Takové polymery tvoří cis a trans izomery [97]

Každý polymer se skládá ze základní stavební jednotky, která se označuje jako mér. Stavební jednotka je v přímém vztahu k výchozí látce, z které by polymer mohl nebo měl vzniknout a strukturní jednotka je periodicky se opakující seskupení atomů. Může tedy nastat situace, kdy strukturní jednotka obsahuje dvě stavební jednotky [98].

Z pohledu délky makromolekulárního řetězce můžeme odlišovat oligomery, které mají malý počet stavebních jednotek, od polymerů, které mají stavebních jednotek velmi velké množství. Přechod mezi oligomery a polymery je plynulý. Dále můžeme popsat polymer z pohledu polydisperzity, která se odvíjí od různé délky řetězců stejného polymeru a je dán

distribuční křivkou [98]. Z výše uvedeného vyplývá, že polymery stejného druhu nemusí mít stejnou molekulovou hmotnost a, i když budou mít stejnou střední molekulovou hmotnost, tak se mohou lišit distribuční křivkou.

Reakce vedoucí k tvorbě syntetických polymeru se nazývá polyreakce. Tyto polyreakce dělíme na řetězové polymerace, polykondenzace a polyadice. Polymerace se dále dělí na radikálové, iontové a koordinační. V průmyslu se setkáváme s několika způsoby příprav polymerů. Mezi nejběžnější způsoby přípravy patří: bloková polymerace, roztoková polymerace, srážecí polymerace, suspenzní polymerace a emulzní polymerace. Dále se v průmyslu polymery modifikují, čímž se vylepšují jejich vlastnosti [97].

4.1.1. Rozpustnost polymerů

Každý nezesíťovaný polymer se rozpouští v nějakém rozpouštědle. Ve velmi zředěných roztocích jsou od sebe jednotlivá polymerní vlákna vzdálená natolik, že na sebe téměř vzájemně nepůsobí. V koncentrovaných roztocích jsou jednotlivé molekuly propletené a hovoříme o „propleteném roztoku“ nebo o fyzikálním gelu [98].

Obecně lze říct, že amorfní polymery se rozpouštějí lépe než krystalické polymery. Některé z polymerů se rozpouštějí jen za vysokých teplot, např. lineární polyolefiny. Ve výsledku je velmi důležité vzájemné působení mezi molekulami rozpouštědla a molekulami polymeru a jejich mírou je např. veličina druhý viriální koeficient (zjistitelný například osmometrickým experimentem nebo měřením rozptylu světla). Je-li druhý viriální koeficient kladný, tak dochází k potlačení kontaktů mezi jednotlivými molekulami polymeru a dochází k expanzi polymerního řetězce. V takovém případě je větší afinita rozpouštědla k molekulám polymeru než afinita mezi dvěma molekulami polymeru. Při použití jiného méně termodynamicky vhodného rozpouštědla může být druhý viriální koeficient záporný a v takovém případě je afinita mezi polymerními segmenty převládající a dochází ke kontrakci a asociaci polymerních klubek [98].

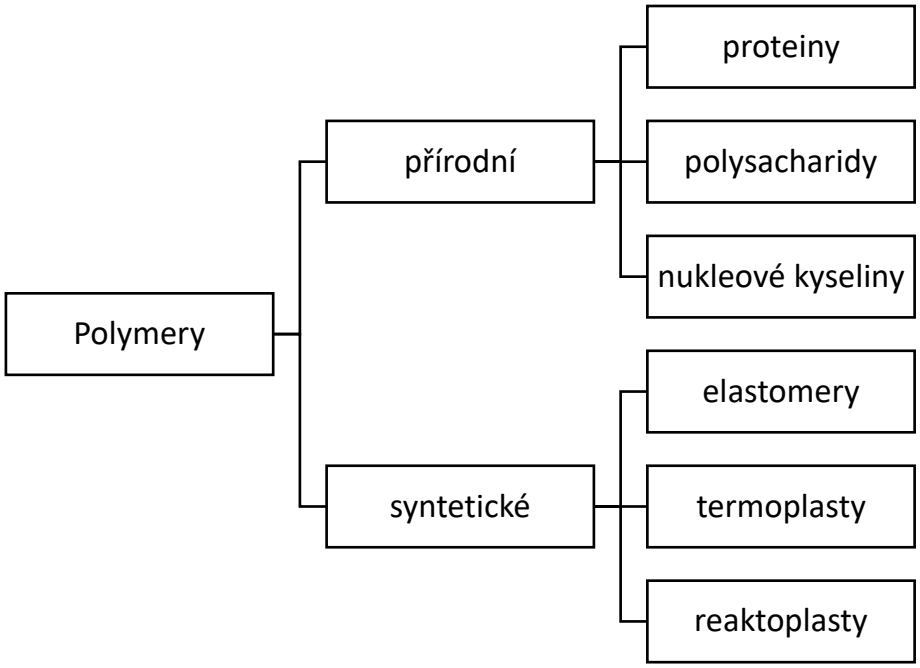
4.1.2. Teplotní charakterizace polymerů

Polymery jsou typické tím, že se nevyskytují v plynné fázi, tzn. že jejich teplota varu je vyšší než teplota rozkladu. Jednotlivé polymery se liší průběhem termochemických křivek, které popisují závislost deformace polymeru na teplotě. Rozdíl vidíme mezi amorfními a krystalickými polymery. I krystalické polymery obsahují určitý amorfní podíl, který způsobuje snížení tuhosti a pevnosti krystalických polymerů. Zjištění, do jaké míry je daný polymer amorfní, je velmi složité. Amorfní polymery se obvykle charakterizují teplotou skelného přechodu. Krystalické polymery je možno vedle toho obvykle popisovat i

teplotou tání. Celkem odlišujeme s ohledem na teplotu čtyři stavy, ve kterých se může polymer vyskytovat. Pod teplotou skelného přechodu je polymer velmi křehký a zvládá jen malou elastickou deformaci, než dojde k jeho lomu. Mezi teplotou skelného přechodu a teplotou toku se nachází stav viskoelastický, který se vyznačuje, tím že polymer podléhá snadno vratné deformaci. Teplota toku je poslední významný bod na termomechanické křivce. Za teplotou toku jsou všechny deformace polymeru již nevratné a polymer se nachází ve stavu plastickém [97, 98]. Všechny tyto body se nemusí vyskytovat u všech polymerů, existují polymery, které mohou být jen ve stavu skelném, např. celulóza [97]. Tyto vlastnosti závisí především na molekulové hmotnosti a chemickém složení [98].

4.2. Dělení polymerů

Jelikož jsou makromolekulární látky (polymery) velmi pestrou skupinou látek je velmi výhodně je dělit do skupin podle určitých vlastností a použití. Jednoduché dělení je uvedeno na Obrázek 3. Termoplasty je možné opakovaně pomocí tepla tvarovat, naopak u reaktoplastů jde o nevratnou reakci a nelze je opět převést do plastického stavu. Elastomery jsou skupinou polymerů, které působením malé síly podléhají velké deformaci – jsou elastické. Do této skupiny patří kaučuk a výrobky z něho, např. guma.



Obrázek 3 Dělení polymerů [98]

V následujících kapitolách jsou v přehledu popsány běžné polymery podle svého chemického složení.

4.2.1. Polyolefiny

Do této skupiny řadíme všechny homopolymery a kopolymery alkenů. Mezi nejdůležitější polyolefiny patří polyethylen a polypropylen. Jsou široce rozšířené a jejich výroba je poměrně levná [97].

Polyethylen podobný plastu se povedlo připravit až v roce 1935 polymerací plynného ethenu za vysokého tlaku, teploty a kyslíku jako katalyzátoru [97]. Polyethylen můžeme dělit podle hustoty na nízkohustotní LDPE a vysokohustotní HDPE, další varianty polyethylenu jsou středněhustotní, lineární nízkohustotní a polyethylen o velmi vysoké molekulové hmotnosti. Všechny tyto varianty se liší strukturou polymerního řetězce a způsobem výroby. LDPE je silně větven, naproti tomu HDPE je větven jen minimálně, a proto je někdy nazýván jako lineární polyethylen [97, 99]

Výroba polyethylenu dříve probíhala především radikálovým způsobem, kromě této metody se dnes používá také emulzní, suspenzní a roztoková polymerace. Velký přelom nastal po představení Ziegler-Nattových katalyzátorů připravených z alkylderivátů hliníků a chloridu titaničitého [100]. Současně se Ziegler-Nattovými katalyzátory byla představena metoda používající oxidy kovů jako katalyzátory. Moderní způsob přípravy polyethylenu využívá metalocenové katalyzátory. Použití Ziegler-Nattových katalyzátorů je výhodné především díky vysoké konverzi a použití mírných reakčních podmínek [99].

Polyethylen je chemicky velmi odolný. Nereaguje s neoxidujícími kyselinami a zásadami, nepodléhá změnám ani v polárních rozpouštědlech za běžných podmínek. Není stálý v kontaktu s oxidačními činidly a také je méně odolný v kontaktu s nepolárními rozpouštědly. Reaguje i s některými polárními rozpouštědly za zvýšené teploty. Rozpouští se v tetrachlormethanu při teplotě 76,7 °C, v benzenu při 80 °C a toluenu při 110,6 °C. Teplotně je polyethylen také velmi stabilní, křehne až při -120 °C a v závislosti na typu je tvarově stálý až do 90-110 °C [97]. Malá je odolnost polyethylenu vůči fotooxidaci. Tento problém se částečně řeší přídavkem antioxidantů [99].

Použití polyethylenu je velmi široké. Obecně se polyethylen používá k výrobě folií, trubek, kabelů, hraček a částí průmyslových zařízení. Praktické použití si také našly kopolymery ethenu s vinylacetátem, kyselinou methakrylovou a propylenem [97].

Dalším významných polyolefinem je polypropylen. Před objevem Ziegler-Nattových stereospecifických katalyzátorů byla známá pouze ataktická nízkomolekulární forma polypropylenu, která měla špatné mechanické vlastnosti. Působením Ziegler-Nattových katalyzátorů vzniká izotaktická vysoce krystalická forma, která má dobré mechanické

vlastnosti. Čistá izotaktická forma má teplotu tání 176 °C. Polypropylen je tedy použitelnější pro vyšší teploty než polyethylen. Ve svých vlastnostech se dále odlišuje od polyethylenu nižší hustotou, nižší odolností při nízkých teplotách, nižší odolností proti oxidaci a povětrnostním vlivům. Jeho výhodou je vyšší tvrdost, odolnost proti oděru, pevnost, chemická stálost při zvýšených teplotách a menší propustnost pro plyny oproti polyethylenu. V aromatických a chlorovaných uhlovodících se polypropylen rozpouští až při teplotě kolem 80-90 °C [71, 73].

Použití a zpracování polypropylenu je dosti podobné s polyethylenem. Jeho vyšší tepelná a mechanická odolnost se využívá pro výrobu součástí strojů, domácích přístrojů, automobilů nebo částí zdravotnické techniky. Polypropylen se také používá pro výrobu odolných textilních vláken.

Z dalších polyolefinů je důležitý poly-1-buten, který se používá na výrobu trubek. Další velmi významnou kategorií jsou polyhalogenolefiny, které vznikají záměnou vodíkových atomů za atomy fluoru, chloru, nebo fluoru a chloru v polyolefinech. Řadíme sem například polytetrafluorethylen, polychlortrifluorethylen, polyvinylfluorid, polyvinylidenfluorid a polyvinylchlorid [97].

4.2.2. Polydieny

Polydieny jsou polymery, jejichž stavební jednotka obsahuje dvě konjugované dvojné vazby. Všechny polymery tohoto typu řadíme mezi kaučuky. Tyto polymery jsou elastomerní. Pro dosažení vhodných vlastností musí splňovat několik kritérií. Mezi základní kritéria patří vysoká molekulová hmotnost, amorfní struktura a nízká teplota skelného přechodu.

Izoprenový kaučuk je analogem přírodního kaučuku získávaného z kaučukovníku. Chemicky se jedná o cis-1,4-polyizopren. Historicky se izoprenový kaučuk vyráběl roztokovou polymerací, nověji se vyrábí koordinační polymerací pomocí stereospecifických Ziegler-Nattových katalyzátorů. Pro většinu účelů lze přírodní i syntetický kaučuk zaměňovat. Většinu vlastností, které od polydienů očekáváme, získávají až po zpracování na pryž vulkanizací. Při vulkanizaci dochází k zesíťování struktury polymerů řadou vazeb pomocí vhodného vulkanizačního činidla, kterým bývá nejčastěji síra. Pryž, která vzniká tímto procesem se nejčastěji využívá pro výrobu pneumatik nebo dopravních pásů.

Dalším zástupcem této skupiny je kopolymer butadienu se styrenem. Butadienstyrenový kaučuk se vyrábí především radikálovou emulzní polymerací a používá se hlavně na výrobu pneumatik a podešví. Mezi další zástupce patří například butadienový

kaučuk, ethylenpropylenový kaučuk, butylkaučuk, chlorprenový kaučuk, butadienakrylonitrilový kaučuk, akrylátový kaučuk, polysulfidový kaučuk a další [97, 99].

4.2.3. Polystyrenové plasty

Polystyren dnes patří k nejrozšířenějším plastům vůbec. Připravuje se různými technikami, ale především radikálovou polymerací. Polystyrenové plasty jsou širokou skupinou plastů, do které spadají křehké a lesklé homopolymery styrenu, zpěňovatelné plasty, houževnaté plasty roubované kaučukem, kopolymery styrenu s akrylonitrilem a kopolymer akrylonitrilu, butadienu a styrenu (ABS). Posledně zmíněný kopolymer je velmi zajímavý ve svých vlastnostech a byl využit i v experimentální části této práce. Oproti běžnému polystyrenu má ABS vyšší chemickou odolnost a houževnatost. ABS je technologicky dobře zpracovatelný a má široké využití, od obalové techniky, přes plastové díly používané v automobilovém průmyslu až po materiál pro 3D tiskárny [102, 104]. Galvanickým pokovováním se ještě dají vylepšit jeho vlastnosti a zabrání se tak přímému působení povětrnostních vlivů a rozpouštědel [97, 99]. Když se při výrobě ABS zamění butadienový kaučuk za akrylátový, tak vznikne akrylonitril-styren-akrylát (ASA). ASA je stejně dobře zpracovatelný kopolymer jako ABS, ale má vyšší odolnost vůči povětrnostním vlivům. Díky tomu, že méně žloutne na slunci, tak je to skvělý materiál na výrobu zahradního nábytku, kryty přístrojů, schránky na dopisy a svítidla [99].

4.2.4. Polyvinylestery

Polyvinylestery jsou polymery připravované polymerací vinylesterů. Existuje řada monomerů a kopolymerů. Mezi nejvýznamnější látky, které řadíme do této skupiny patří polyvinylacetát a kopolymery vinylacetátu, polyvinylalkohol a polyvinylacetaly.

Polyvinylacetát (PVAc) je bezbarvý, čirý a dosti křehký polymer s teplotou skelného přechodu kolem 28 °C. Teplota tání je kolem 60-80 °C a pyrolyzovat začíná u 130 °C. PVAc lze snadno hydrolyzovat na polyvinylalkohol pomocí roztoků hydroxidů nebo kyselin. Rozpouští se v alkoholech, esterech, ketonech, aromatických a chlorovaných uhlovodících [97, 99].

PVAc se vyrábí především radikálovým roztokovým, emulzním nebo suspenzním způsobem [106]. Na trhu je k dostání jako prášek, rozpuštěný ve vhodném rozpouštědle nebo jako latex. Používá se především pro výrobu lepidel, latexů a nátěrových hmot [97].

4.2.5. Akrylové polymery

Mezi akrylové polymery řadíme homopolymery a kopolymery kyseliny akrylové, methakrylové a jejich estery, amidy a nitrily Jinak se též označují jako polyakryláty. Rozsah jejich použití a vlastnosti závisí na použitém druhu monomeru, molekulové hmotnosti a v neposlední řadě na způsobu přípravy [108]. Obecně se dá říci, že se jedná o transparentní látky s dobrou odolností vůči povětrnostním vlivům [97].

Polyakryláty se používají jako nátěrové hmoty, lepidla nebo fólie. Pevnost v tahu, tažnost, teplota skelného přechodu, teplota rozkladu a další fyzikální veličiny závisí na počtu uhlíkových atomů v alkoholovém zbytku esterové skupiny [97].

Nejdůležitějším polymethakrylátem je polymethylmethakrylát, který je více známý jako plexisklo nebo organické sklo. PMMA je čirý bezbarvý materiál, který je dobře rozpustný v polárních rozpouštědlech, jako jsou ketony, ethery, estery a chlorované uhlovodíky. Není rozpustný ve zředěných kyselinách ani zásadách. Z rozpouštědel dobře odolává alifatickým uhlovodíkům a olejům. Má výtečnou odolnost vůči povětrnostním vlivům a dokáže zůstat nezměněn po dlouhá léta i v těžkých klimatických podmínkách. Vyrábí se blokovým způsobem a používá se na výrobu trubek, desek a má využití v řadě odvětví jako je stavební průmysl, v lékařství, optika a elektrotechnika [97, 99].

4.2.6. Polyestery a polyesterové pryskyřice

Jedná se o polymery s esterovou vazbou v hlavním polymerním řetězci. Hlavními podskupinami jsou lineární termoplastické polyestery a rozvětvené reaktoplastické polyesterové pryskyřice, u kterých dochází nakonec k zesíťovaní struktury [99].

V současné době je nejvýznamnějším zástupcem lineární polyesterů polykondenzát kyseliny tereftalové a ethylenglykolu. Polyethylentereftalát (PET nebo PETP) byl velmi oblíbený pro výrobu vláken, fólií a magnetofonových pásků [99]. Jeho použití dominuje především v obalovém průmyslu, kde se z tohoto polymeru vyrábí plastové lahve [100].

Dalším zajímavým zástupcem je kyselina polymléčná (polylaktid, PLA). PLA se řadí k biologicky odbouratelným materiálům, a proto se s ohledem na životní prostředí stává v současné době předmětem zájmu. PLA se vyrábí polykondenzací kyseliny mléčné nebo metodou „ring-opening polymerization“ jejího laktidu (cyklického diesteru), Kyselina mléčná se dá ekologicky vyrábět fermentací obnovitelných zdrojů, jako je kukuřice nebo brambory. Další možný způsob zahrnuje chemickou syntézu přes laktonitril. Vlastnosti PLA jsou závislé na obsahu krystalické fáze a na hodnotě molekulové hmotnosti. Tvrdost a

pružnost má podobnou jako PET. Nerozpouští se v cyklohexanu, methanolu ani v ethanolu. Dobře se rozpouští v chloroformu, dichlormethanu a benzenu [101].

Mezi další zástupce lineárních polyesterů patří polykarbonáty, což jsou obecně polyestery kyseliny uhličité a dihydroxysloučenin [97].

Druhou důležitou skupinou látek jsou nenasycené polyesterové pryskyřice. Polyesterové pryskyřice jsou výsledkem polyesterifikace nenasycených dikarboxylových kyselin nebo jejich anhydridů s dioly. Z těchto skupin látek se nejčastěji používá kyselina fumarová, maleinanhydrid a propylenglykol. Pro vylepšení výrobních vlastností se připravují ve směsi s aromatickými látkami jako je například ftalanhydrid. Výroba trvá několik hodin při 210 °C. Nakonec polyester rozpustí v reaktivním monomeru např. styrenu a vzniká tak bezbarvá nebo nažloutlá hustá kapalina. Kopolymerací nenasyceného polyesteru s nenasyceným monomerem dochází k vytvrzení pryskyřice. Vytvrzování probíhá po přidání iniciátorů za zvýšené teploty, nebo za účasti urychlovačů, kterým může být kobaltnatá sůl organické kyseliny [97]. Jinou možností jak pryskyřici vytvrdit je pomocí UV záření po přidání fotoiniciátoru, kterým může být benzildimethylketal [99]. Vytvrzením vznikají nové vazby a dojde k zesíťování struktury, proto polyesterové pryskyřice řadíme mezi reaktoplasty. Polyesterové pryskyřice se používají na výrobu obkladaček, bižuterie, umělého mramoru, laminátů, tmelů, lepidel, bezrozpouštědlových nátěrových hmot a hmot vyztužených skleněnými vlákny [97].

4.2.7. Epoxidové pryskyřice

Epoxidovými pryskyřicemi se rozumí takové pryskyřičné látky, které obsahují větší počet epoxidových skupin. Alkalickou kondenzací dianu (2,2-bis(4-hydrofenyl)propanu) s epichlorhydrinem vzniká jeden z nejběžnějších typů epoxidových pryskyřic. Epoxidové pryskyřice mají konzistenci nažloutlé kapaliny až tvrdé hmoty. Mají dobré mechanické vlastnosti. Při jejich vytvrzování nedochází ke smršťování, mají skvělé adhezní vlastnosti a jsou chemicky odolné. Chemická a mechanická odolnost je z části závislá na použitém tvrdidle a z části na molekulové hmotnosti a stupni zesíťování. Dobře odolávají zředěným zásadám i kyselinám[111]. Nízkomolekulární epoxidové pryskyřice jsou rozpustné v aromatických uhlovodících, vysokomolekulární se rozpouští v ketonech a esterech [97].

Vytvrzení epoxidových pryskyřic se obvykle realizuje pomocí reakce epoxidové skupiny se sloučeninami obsahujícími aktivní vodík. Tvrdidlem jsou polyaminy, polythioly, anhydridy polykarboxylových kyselin nebo pryskyřice obsahující methylové skupiny. Vytvrzování trvá obvykle několik hodin až dnů do dokonalého vytvrzení. Při použití

primárních nebo sekundárních alifatických nebo cykloalifatických polyaminů dochází k vytvrzení epoxidových pryskyřic i při běžné teplotě a za krátkou dobu. Epoxidové pryskyřice se používají jako lepidla, nátěrové, zalévací a lisovací hmoty. Dále se používají jako pojiva skelných laminátů a lakařské pryskyřice [97, 99].

4.2.8. Polyamidy

Do této skupiny řadíme lineární i aromatické polymery, které ve svojí molekule obsahují amidovou skupinu -CO-NH-. Z anglosaské literatury byl pro tuto skupinu přejat termín nylony, u nás se ještě setkáváme s názvem silon, který ovšem označuje pouze polyamid 6. Polyamidy vznikají polykondenzací ω-aminokarboxylových kyselin, polymerací jejich laktamů, polykondenzací diaminů s dikarboxylovými kyselinami nebo jejich dichloridy. Z laktamů se polyamidy nejčastěji vyrábí aniontovou a hydrolytickou polymerací. Jako iniciátory se pro alkalickou polymeraci používají alkalické kovy, jejich alkoholáty, hydroxidy nebo jejich hydridy. Při hydrolytické polymeraci se využívá vody, popřípadě alkoholů ve směsi s kysele reagující látkou jako aktivátorů reakce [97]. Běžné polyamidy jsou odolné vůči roztokům alkalií, olejům, vodě a běžným rozpouštědlům. V kyselinách se rozpouštějí a štěpí. Polyamidy slouží hlavně pro výrobu textilních vláken [99].

4.2.9. Polyurethany

Polyurethany jsou skupinou polymerů, která vzniká reakcí vícefunkčních isokyanátů s hydroxylovými skupinami jiných molekul, nejčastěji polyalkoholů. Reakce vedoucí k přípravě polyurethanů se urychluje pomocí sloučenin cínu a terciárních aminů [99] Běžně připravovaný polyurethan ze směsi 1,4-butandiolu a hexamethylendiizokyanátu taje při 180 °C a rozkládá se při 220 °C na původní složky. Rozpustnost těchto polymerů je za normálních podmínek dobrá ve fenolech, kyselině mravenčí a kyselině sírové [97].

Nejznámějším produktem jsou lehčené pěny, které se vyrábí reakcí diisokyanátů, polyhydroxysloučenin a vody. Po reakci vody s diizokyanáty vzniká plynný oxid uhličitý, který slouží jako nadouvadlo. Tyto pěny mají široké pole využití, například slouží pro výrobu matrací, montážních a izolačních pěn a obalové účely. Dále jsou polyurethany také využívány k výrobě umělých usní, licích pryskyřic, lepidel, nátěrových hmot [97].

4.2.10. Speciální skupina (stacionární fáze pro LC)

V kapalinové chromatografii využíváme některé polymery jako stacionární fáze. Mezi nejpoužívanější nepolární stacionární fáze patří uhlíkové řetězce C4 až C18, které jsou

vázané na hydroxylovou skupinu silikagelu nebo i jiné (organické) polymerní nosiče [103]. Silikagel je jedna z podob amorfního oxidu křemičitého. Jeho struktura je složena z křemíkových atomů obklopenými čtyřmi kyslíkovými atomy ve vrcholech tetraedru. Ve vodě je rozpuštěn jako kyselina křemičitá, která při vyšších koncentracích polykondenzuje a po vysušení polymerní struktury vzniká xerogel silikagel [105].

Mezi další zástupce polymerních sorbentů patří kopolymery styrenu s divinylbenzenem. Jedná se například o materiál Strata SDB-L od firmy Phenomenex. Dalším velice známým polymerem, který se používá jako sorbent, je Amberlit. Amberlit se vyrábí v mnoha verzích s různou pórovitostí a plochou povrchu. V praktické části jsem pracoval s variantou XAD16, což je neiontový polystyrenový absorbent [107].

Mezi další polymerní materiály, s kterými se můžeme setkat při studiu stacionárních fázi můžeme zařadit agarózu nebo methakrylátové gely [109].

Měniče iontů jsou pevné makromolekulární látky nebo gely nerozpustné ve vodě a organických rozpouštědlech. Měniče iontů můžeme dělit na katexy a anexy. Katexy jsou měniče kationtů, které obsahují kyselé funkční skupiny. Anexy jsou měniče aniontů, které obsahují zásadité funkční skupiny. Měniče mohou obsahovat i oba typy funkčních skupin. Důležitá veličina, která charakterizuje každý iontový měnič je výměnná kapacita, která udává množství iontů vyměněných na hmotnostní nebo objemovou jednotku měniče iontů [99]. Mezi silně kyselé měniče iontů patří kopolymery styrenu a divinylbenzenu sulfonované kyselinou sírovou. Vyměňují většinu kationtů. Kopolymerací kyseliny methakrylové s divinylbenzenem se připravují slabě kyselé měniče iontů. V obou případech množství divinylbenzenu ovlivňuje hustotu zesíťování a tím mění pórovitost a bobtnavost měniče iontu. Karboxylové měniče, které patří mezi slabě kyselé měniče iontů, mají asi dvakrát vyšší celkovou kapacitu než sulfonové měniče, ale jejich použití je omezeno jen na bazickou a neutrální oblast pH [99].

Silně bazické měniče iontů lze připravit pomocí Friedel-Craftsových reakcí. Po zavedení chlormethanu na kopolymer divinylbenzenu a styrenu se chlor zamění za terciární aminy, např. trimethylamin nebo dimethylaminoethanol. Chemicky a tepelně jsou tyto látky nestálejší než porovnatelné kyselé měniče iontů a také mají nižší výměnnou kapacitu. U slabě bazických měničů iontů se místo terciárních aminů používají např. sekundární aminy nebo diethylentriamin. Z roztoku na sebe vážou anionty silných kyselin. Někdy se také používají k odstraňování organických látek ve filtrech, jako ochrana silně bazických měničů iontů. [99].

V praxi se měniče iontů používají především na změkčování, demineralizaci a deionizaci vody. Dále se používají k zachycení aminokyselin z roztoků, odbarvování cukerných šťáv v cukrovarnictví a při dalších postupech k zachycení cenných látek ze zředěných roztoků [99]. Velmi oblíbenou aplikací používanou i v analytické chemii je extrakce tuhou fází (SPE). Zde se tyto iontoměniče s výhodou používají. Velké množství kolonek pro SPE extrakci vyrábí například firma Waters pod označením Oasis. Tato řada obsahuje sedm produktů, které poskytují velké možnosti použití a některé byly použity i v experimentální části této práce. Materiál Oasis MCX (mixed-mode, strong cation-exchange) je vodou smáčitelný a v organických rozpouštědlech stabilní sorbent, která je selektivní pro extrakci bazických látek. Oasis WAX (weak anion-exchange) je také vodou smáčitelný a v organických rozpouštědlech stabilní polymer a je použitelný pro zadržení silných kyselin [110].

5. Experimentální část

5.1. Chemikálie

Při práci v laboratoři byly použity tyto chemikálie: aceton (p.a., Lach-ner s.r.o., Neratovice , CZ), benzen (99,7 %, Lachema a.s., Brno, CZ), chloroform (p.a., Penta s.r.o., Praha, CZ), dichlormethan (p.a., Penta s.r.o., Praha, CZ), tetrachlormethan (p.a., Lachema a.s., Brno, CZ), tetrahydrofuran (for HPLC, ≥99,9 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA), dimethylsulfoxid (puriss, ≥99,5 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA), xylen (Lachema, Brno, CZ), n-hexan (p.a., Lach-ner s.r.o., Neratovice , CZ). Jako matrice byl použit 2,4,6-trihydroxyacetofenon (THAP, Sigmal-Aldrich; St. Louis, MI, USA). Roztok matrice byl připraven rozpuštěním 25 mg THAP v 1 ml směsi acetonitrilu a destilované vody (1:1, v/v). Pro měření přesné a správné hodnoty m/z byla provedena kalibrace a „lock mass“ měření pomocí suspenze červeného fosforu. Ta byla připravena navážením 1 mg červeného fosforu (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA) a jeho dispergováním v 1 ml acetonu.

5.2. Vzorky – polymery

Pro studii byly vybrány následující polymery a polymerní materiály: polyvinylsiloxan (PVS, Kerr Corporation, MI, USA), Oasis WAX (Waters Ges.m.b.H., Vídeň, Rakousko), Oasis MCX (Waters Ges.m.b.H., Vídeň, Rakousko), polypropylen (PP; isotaktický; průměrná M_w ~ 12 000; průměrná M_n ~ 5 000; Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA), Lichroprep RP-18 (Merck KGaA, Darmstadt, Německo), Cosmoloid H80 (Manahuna, CZ), Paraloid B72 (CSC stavby, s.r.o., CZ), SEPRA SDB-L (Phenomenex Inc., CA, USA), Amberlit XAD16 (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA), epoxidová pryskyřice (pryskyřice dvousložková epoxidová 1200; střední číselná molekulová hmotnost ≤ 700; tvrdidlo: triethylentetramin, Epolex, Barvy a laky Hostivař a.s., CZ), Polyester 109 (Epolex, Barvy a laky Hostivař a.s., CZ), poly(N-(2-hydroxypropyl)methakrylamide (PHPMA, Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA), polyvinylacetát (PVAc; průměrná M_w ~ 100 000; Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA).

Dále byly také použity polymery, které se používají jako materiály pro 3D tisk: Nylon CF15 Carbon (Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ), vytvrzená methakrylátová fotopolymerní pryskyřice (Formlabs Inc., MA, USA), akrylonitril-styren-akrylát (ASA; Parzlich s.r.o., Hulín, CZ), polyethylentereftalát-glykol (PET-G; Devil Design Ryszka Mateja Sp. J., Mikolow, PL), kyselina polymléčná (polylactic acid, PLA; Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ), akrylonitrilbutadienstyren (ABS; Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ), akrylonitrilbutadienstyren (ABS; Devil Design Ryszka Mateja Sp. J., Mikolow,

PL), termoplastický polyuretan (Flexfill 98A; TPU; Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ). Dále byl ještě použit parafínový vosk (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA).

5.3. Metodika měření na MALDI (Synapt G2-S)

Vzorky byly měřeny na vysokorozlišujícím tandemovém hmotnostním spektrometru Synapt G2-S (Waters) vybaveném vakuovým MALDI iontovým zdrojem. Při měření spekter všech makromolekulárních látek byly použity různé rychlosti pohybu laseru s frekvencí 5, 10, 15 a 20 Hz. Energie laseru byla nastavena na 400 arbitrárních jednotek. Měření probíhalo v pozitivním i negativním modu v rozsahu 50 – 2000 Da. Jedno měření probíhalo 60 sekund. Délka skenu byla nastavena na 1 s, inter scan delay na 0,020 s a frekvence laseru na 1000 Hz.

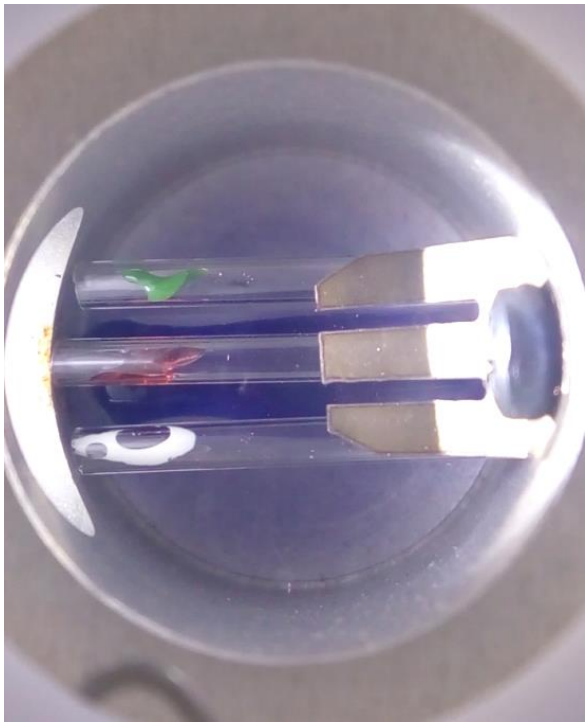
Další experiment spočíval v analýze tří vybraných polymerů (ABS (CZ), ABS (PL) a PVAc). Byly připraveny dvě série měření – jednou bez matrice a podruhé s matricí 2,4,6-trihydroxyacetofenonem (THAP). Energie laseru a délka měření zůstala stejná jako při minulém experimentu. Měření probíhalo v pozitivním i negativním modu a rychlost pohybu laseru byla zvolena na 10 Hz.

Pro experiment s MALDI zobrazováním byl jako matrice opět zvolen roztok THAP. Matrice byla nanesena sprejováním pomocí přístroje SunCollect (5 vrstev, rychlost sprejování 20 µl/min). Měření probíhalo v pozitivním i negativním modu v rozsahu 100 – 2 000 Da. Energie laseru 300 arbitrárních jednotek; velikost jednoho pixelu 100x100 µm; kolizní energie byla na Trap kolizní cele nastavena na 4 eV a na kolizní cele Transfer na 2 eV.

5.4. Charakterizace a MS měření polymerů

5.4.1. Teplotní charakterizace polymerů

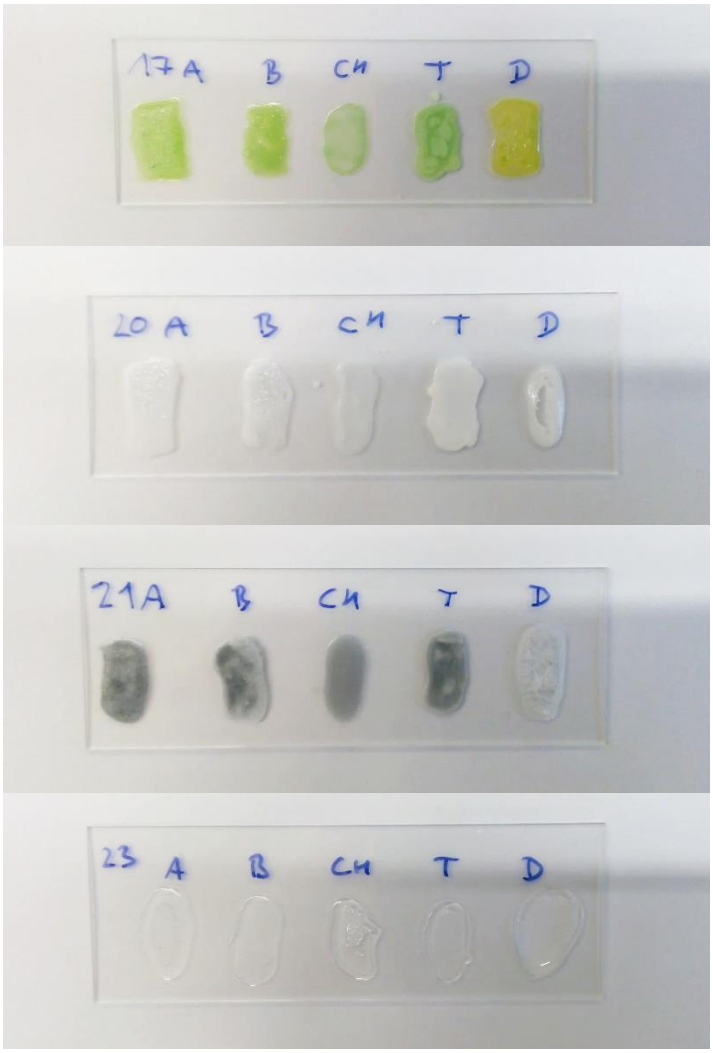
K měření teplotní stability byl použit bodotávek Stuart SMP 11 (Verkon s.r.o., Praha, CZ). Malá část polymeru byla oddělena z dodaného kusu materiálu pomocí skalpelu nebo byla část polymeru rozdrcena v třecí misce. Malá část polymeru byla následně vložena do oboustranně otevřené kapiláry, která byla následně vložena do přístroje. Měření bylo zastaveno při roztavení materiálu, při jeho pyrolýze nebo při dosažení 250 °C.



Obrázek 4 Měření na bodotávku (pohled na kapiláry s měřeným materiálem přes zvětšovací sklo)

5.4.2. Rozpustnost polymerů a jejich adheze k hladkému povrchu

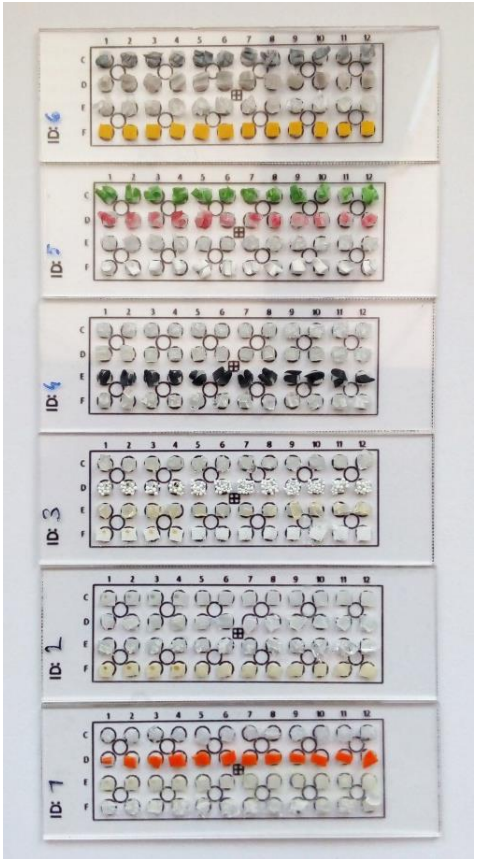
Dále byla studována rozpustnost vybraných polymerů. Do mikrozkumavky s nominálním objemem 1,5 ml bylo naváženo 50 mg polymeru. K polymerům bylo přidáno 0,5 ml rozpouštědla (n-hexan, chloroform, dichlormethan, tetrachlormethan, benzen, tetrahydrofuran (THF), dimethylsulfoxid (DMSO), aceton nebo xylen). Poté byly všechny vzorky umístěny na 24 hodin do třepačky. Vzorky polymerů, u kterých došlo k částečnému nebo úplnému rozpuštění byly naneseny na podložní sklíčko. Po odpaření rozpouštědla byl proveden pokus o opatrné odstranění polymeru bez poškození podkladu.



Obrázek 5 Příklady polymerů deponovaných na podložním sklíčku po odpaření rozpouštědla;
17 – ASA, 20 – ABS (PL), 21 – ABS (CZ), 23 – PVAc;
rozpouštědla: A – aceton, B – benzen, CH – chloroform, T – THF, D – DMSO

5.4.3. LDI-MS měření polymerů

Dalším krokem byla analýza polymerních látek pomocí LDI-MS. Mikroskopické podložní sklíčko bylo podlepeno z rubové strany průhlednou nalepovací folií, která určovala umístění spotu. Na jednotlivé pozice byly poté přilepeny pomocí oboustranné samolepící pásky jednotlivé vzorky polymerů. Při (MA)LDI-MS měření bylo pozorováno chování polymerů při desorpci laserem na kameře, která je součástí přístroje.

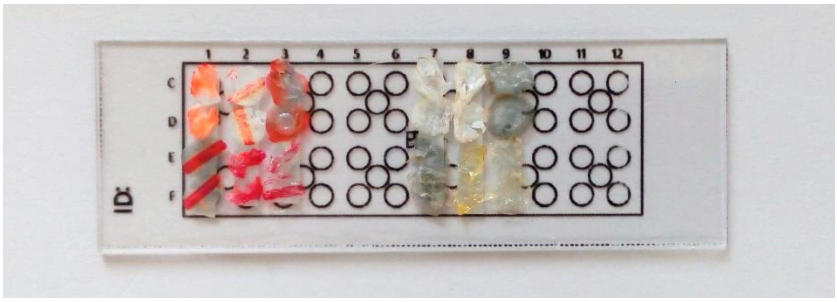


Obrázek 6 Polymery připravené k měření na LDI-MS (ID: 1 – C: vosk, D: polyvinylsiloxan, E: OASIS WAX, F: PP; ID: 2 – C: Lichroprep RP-18, D: Cosmoloid H80, E: Paraloid B72, F: MCX; ID: 3 – C: epox. prysk., D: Amberlit, E: polyester. prysk. 109, F: SEPRA SDB-L; ID: 4 – C: PHPMA, D: -, E: Nylo-carbon, F: fotopolymerní prysk.; ID: 5 – C: ASA, D: PET-G, E: PLA, F: ABS (PL); ID: 6 – C: ABS (CZ), D: TPU, E: PVAc, F: -)

Na základě získaných spekter byly pro další experimenty vybrány tři materiály, které poskytovaly málo intenzivní signály v LDI-MS spektrech, které je předpokladem malého pozadí při měření analytů extrahovaných do polymeru z archeologických materiálů.

5.5.LDI-MS a MALDI-MS měření vybraných polymerů

50 mg ABS (CZ), ABS (PL) a PVAc bylo zvlášť rozpuštěno v mikrozkumavkách s 0,5 ml benzenu nebo acetonu. Rozpouštění bylo urychleno pomocí ultrazvukové lázně. Podložní mikroskopické sklíčko bylo popsáno červeným popisovacím fixem na lihové bázi a následně byl pipetou nanesen roztok polymeru. Po vypaření rozpouštědla byl vzorek jemně odstraněn z povrchu podložního sklíčka, otočen a přilepen pomocí oboustranné pásky na připravené

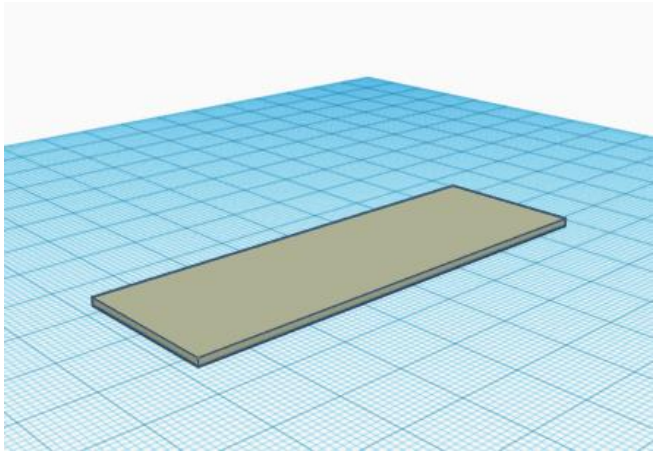


Obrázek 7 Podložní sklíčko s nalepenými vzorky

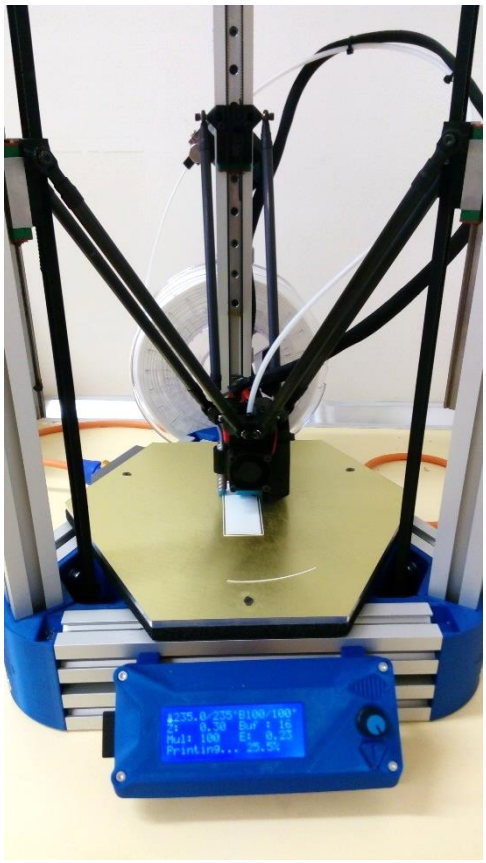
podložní sklíčko. Pro srovnání byl jeden spot popsán samotným popisovacím fixem a druhý byl po popsání popisovacím fixem následně překryt matricí.

5.6.MALDI-MS zobrazování

Pomocí on-line aplikace Tinkercad (Autodesk, Inc.) byl vytvořen 3D model podložního sklíčka. Tento model byl následně upraven freeware softwarem KISSlicer a s využitím filamentu ABS vytisknut na 3D tiskárně TRILAB DeltiX (TriLAB Group s.r.o., Brno, CZ).

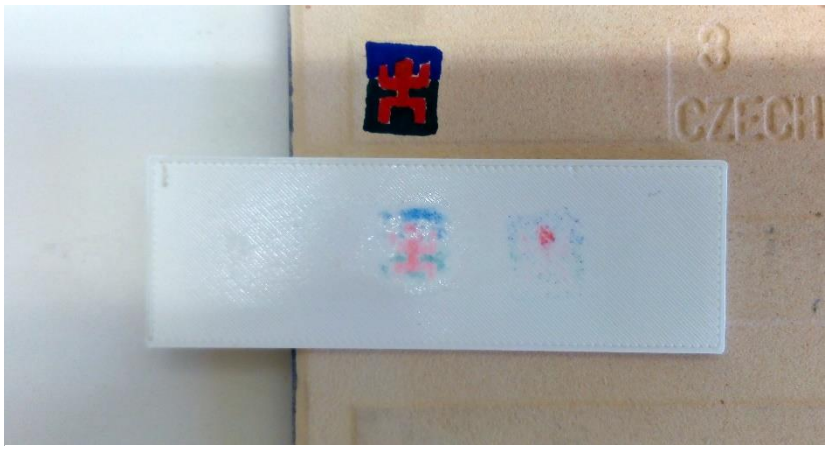


Obrázek 8 Model podložního sklíčka v online nástroji Tinkercad



Obrázek 9 3D tiskárna při tisku modelu podložního sklíčka z ABS

Na rubovou (porézní, neglazurovanou) stranu keramické dlaždice (HOB, Horní Bříza a. s., CZ) byl na rovnou plochu namalován pomocí různobarevných popisovacích fixů obrázek, který byl následně přenesen na vytištěný model podložního sklíčka. Toto bylo vyzkoušeno dvakrát.



Obrázek 10 Srovnání původního obrazu a obrazu přeneseného na model z ABS (oba obrazy na modelu vznikly po extrakci acetonem).

Nejprve byl model sklíčka navlhčen acetonem pomocí kousku buničiny, čímž došlo k částečnému rozpuštění a nabobtnání povrchu polymeru, následně byl model sklíčka pevně přitisknut k dlaždici po dobu asi 30 vteřin. Tímto došlo k částečné extrakci látek do rozpouštědla.

Poté byl proveden experiment s MALDI-MS zobrazováním

Obrázek 11 Polymerní model podložního sklíčka s otiskem barviv upevněný v držáku pro MALDI měření

6. Výsledky a diskuze

6.1. Rozpustnost a teplotní charakteristika vybraných látek (polymerů)

Makromolekulární látky byly charakterizovány pomocí teploty tání a rozpustnosti ve vybraných rozpouštědlech, výsledky obou experimentů jsou shrnuty v Tabulka 2.

Tabulka 2 Teplotní vlastnosti a rozpustnost studovaných látek

(+ rozpustné; - nerozpustné; (+) částečně rozpustné, výrazné nabobtnání)

Materiál	Teplota tání	Termická degradace	Rozpustnost								
			aceton	benzen	chloroform	dichlormethan	dimethyl sulfoxid	hexan	tetrachlormethan	tetrahydrofuran	xylen
vosk	50-53	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Polyvinylsiloxan	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OASIS WAX	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OASIS MCX	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polypropylen (PP)	147-157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cosmoloid H80	78-84	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Paraloid B72	140-146	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
SEPRA SDB-L	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amberlit XAD16	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lichroprep RP-18	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epoxidová pryskyřice	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polyesterová pryskyřice 109	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Poly(N-(2-hydroxypropyl) methakrylamid (PHPMA)	>250	>250	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Nylon-Carbon	165-178	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methakrylátová fotopolymerní pryskyřice	>250	>250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Akrylonitril-styren-akrylát (ASA)	185-200	>250	+	(+)	+	+	+	-	+	+	+
Polyethylentereftalát-glykol (PET-G)	168-194	>250	-	-	+	(+)	-	-	-	-	(+)
Kyselina polymléčná (PLA)	50-60	152-160	-	+	+	+	-	-	-	+	-
Akrylonitril-butadien-styren (ABS)	100-105	180-205	(+)	(+)	(+)	+	(+)	-	-	+	+
Termoplastický polyuretan (TPU, FlexFill 98A)	176-180	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-
Polyvinylacetát (PVAc)	98-110	-	+	+	+	+	(+)	-	+	+	+

Podle získaných údajů můžeme vybrané látky rozdělit do tří skupin podle teplotní stability. Mezi teplotně stabilní látky patří všechny, u kterých nedošlo k žádným změnám s měnící se teplotou. Zde můžeme zařadit polyvinylsiloxan, OASIS WAX a MCX, SEPRA SDB-L, Amberlit XAD16, Lichroprep RP-18, epoxidovou pryskyřici, polyesterovou pryskyřici 109, PHPMA a methakrylátovou fotopolymerní pryskyřici. Tyto látky tedy nejsou vůbec vhodné pro extrakci analytu z archeologických předmětů do změklého polymeru.

Do další skupiny bychom mohli zařadit teplotně tvárné polymery s teplotu tání mezi 120 až 200 °C. Do této skupiny patří PP, Paraloid B72, Nylon-Carbon, ASA, PET-G a TPU. Zmíněné polymery by bylo možné použít pro extrakci zahříváním, ale jejich použití by bylo omezené jen pro látky, které by se nerozkládaly při dosažení takto vysokých teplot.

Do poslední skupiny bychom mohli zařadit vosk, Cosmoloid H80, PLA, ABS a PVAc. Teplota tání těchto termicky labilních látek nedosahuje ani 120 °C a byly by tedy vhodné pro extrakci látek s nízkou teplotou rozkladu.

Z Tabulka 2 vyplývá, že mezi dobře rozpustné polymery (ve dvou a více rozpouštědlech se podařilo polymer úplně rozpustit) patří Paraloid B72, ASA, PLA, ABS a PVAc.

Vůbec se nepodařilo rozpustit polyvinylsiloxan, OASIS WAX, OASIS MCX, polypropylen, SEPRA SDB-L, Amberlit XAD 16, Lichroprep RP-18 a všechny pryskyřice. Tyto látky nejsou tedy vhodné pro nanášení na archeologický materiál ve formě roztoku.

V acetonu se velmi dobře rozpouštěl Paraloid B72, ASA, PVAc a hůře už ABS. Benzen velmi dobře rozpouštěl vosk, Paraloid B72, PLA a PVAc. Méně rozpustné v benzenu byly ASA a ABS. Chloroform dobře rozpouštěl vosk, Paraloid B72, ASA, PET-G, PLA a PVAc. O něco hůře rozpouštěl ABS. Podle předpokladu má vysoké rozpouštěcí schopnosti v širokém rozsahu polarit a struktur dichlormethan. V dichlormethanu se dobře rozpouštěl Cosmoloid H80, Paraloid B72, ASA, PLA, ABS a PVAc. PET-G v dichlormethanu pouze výrazně nabobtnal. DMSO skvěle rozpouštěl PHPMA a ASA. Dále DMSO částečně rozpouštěl ABS, TPU a PVAc. V hexanu se rozpouštěl pouze vosk. V tetrachlormethanu se dokonale rozpouštěl vosk, Cosmoloid H80, Paraloid B72, ASA a PVAc. V THF se velmi dobře rozpouštěl vosk, Paraloid B72, ASA, PLA, ABS a PVAc. V xylenu se dobře rozpouštěl vosk, Paraloid B72, ASA, ABS, PVAc. Hůře se v xylenu rozpouštěl PET-G.

Po přípravě velmi koncentrovaných roztoků vhodných polymerů vybraných na základě výše uvedených informací je možné je nanést na povrch archeologických objektů.

Po vypaření rozpouštědla vzniklou vrstvu polymeru s extrahovanými látkami jemně sloupnout z povrchu objektu a podrobit (MA)LDI-MS analýze.

6.2. Výsledky LDI-MS měření

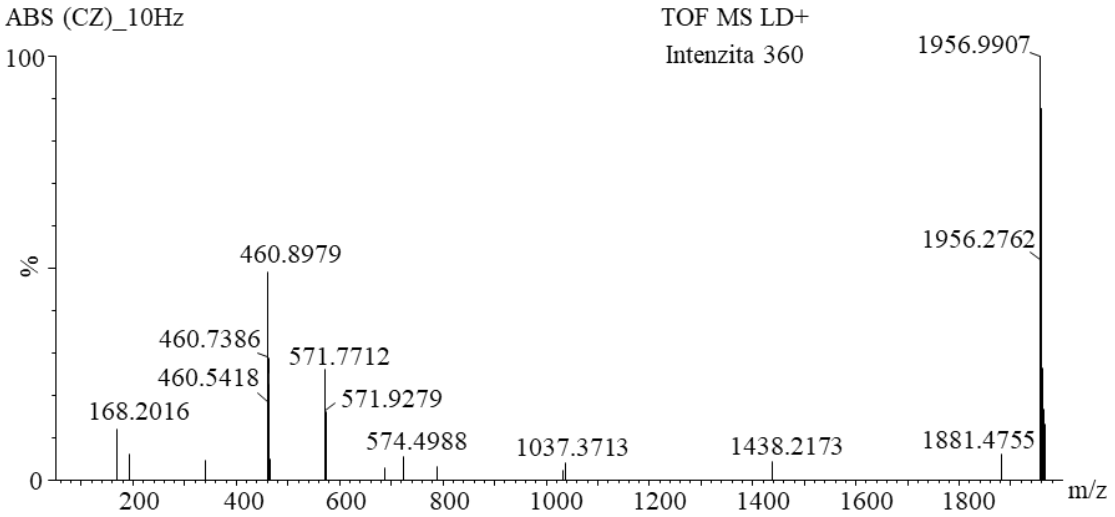
Po LDI-MS analýze vybraných makromolekulárních látek, byla získaná spektra porovnána na základě intenzity dominantního signálu (základního píku ve spektru). Pro tento typ vyhodnocení byly brány v potaz všechny signály nejenom ty známé. Nejnižší pozadí bylo naměřeno u PVAc, ABS (CZ), ABS (PL) a TPU.

Tabulka 3 Hodnoty intenzit spekter v závislosti na rychlosti pohybu laseru (vztaženo na dominantní signál ve spektru)

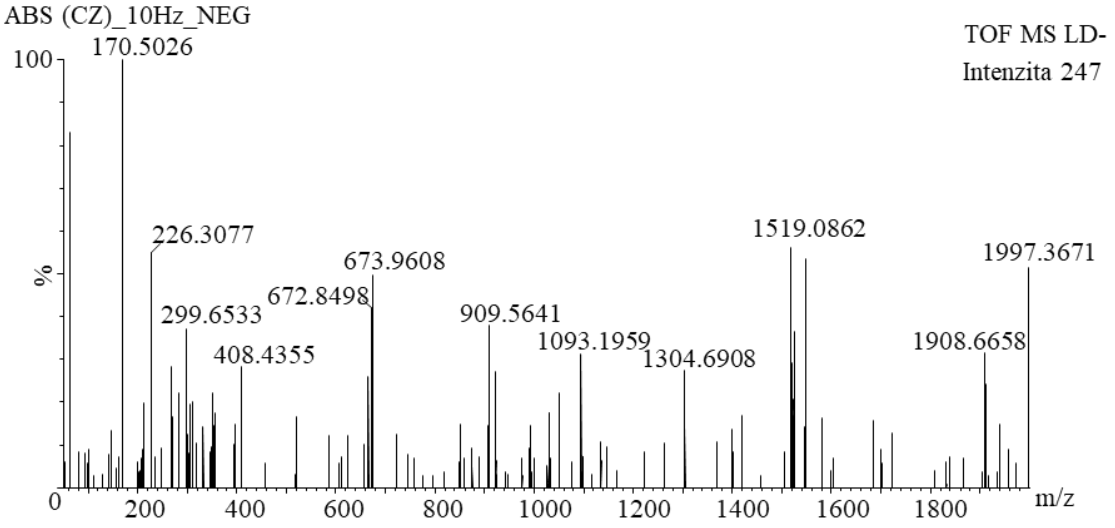
Materiál	**pozitivní mód**				**negativní mód**			
	5 Hz	**10 Hz**	**15 Hz**	**20 Hz**	**5 Hz**	**10 Hz**	**15 Hz**	**20 Hz**
vosk	$5{,}49 \cdot 10^4$	2 210	153	239	3 110	1 590	1 690	1 230
Polyvinylsiloxan	1 340	657	2 240	3 450	8 450	1 590	1 580	986
OASIS WAX	6 360	4 650	599	$1{,}01 \cdot 10^4$	1 030	2 340	845	2 540
OASIS MCX	$6{,}16 \cdot 10^4$	$2{,}21 \cdot 10^4$	8 950	$2{,}66 \cdot 10^4$	$3{,}89 \cdot 10^5$	$5{,}11 \cdot 10^5$	$2{,}11 \cdot 10^5$	$7{,}36 \cdot 10^5$
Polypropylen (PP)	1 890	1 420	1 190	454	948	2 460	685	2 430
Cosmoloid H80	7 930	411	578	222	1 910	1 020	824	1 050
Paraloid B72	563	447	743	226	1 660	1 460	849	2 280
SEPRA SDB-L	$1{,}34 \cdot 10^5$	$1{,}14 \cdot 10^5$	$1{,}42 \cdot 10^5$	$1{,}39 \cdot 10^5$	$1{,}50 \cdot 10^4$	$1{,}94 \cdot 10^4$	$2{,}36 \cdot 10^4$	$4{,}82 \cdot 10^4$
Amberlit XAD16	$8{,}81 \cdot 10^6$	$1{,}92 \cdot 10^8$	$7{,}10 \cdot 10^7$	$3{,}31 \cdot 10^8$	$8{,}14 \cdot 10^5$	$3{,}11 \cdot 10^5$	$2{,}42 \cdot 10^5$	$2{,}56 \cdot 10^5$
Lichroprep RP-18	2 710	8 060	6 050	5 340	986	678	660	1 890
Epoxidová pryskyřice	$1{,}55 \cdot 10^4$	$1{,}44 \cdot 10^4$	$1{,}65 \cdot 10^4$	3 460	2 510	295	684	448
Polyesterová pryskyřice 109	$4{,}31 \cdot 10^4$	5 130	3 570	$6{,}24 \cdot 10^4$	3 700	1 280	456	748
Poly(N-(2-hydroxypropyl) methakrylamide (PHPMA)	284	276	263	366	3 110	1 300	3 320	1 450
Nylon-Carbon	271	572	396	487	1 990	1 940	1 750	2 930
Methakrylátová fotopolymerní pryskyřice	119	132	219	499	2 480	2 100	2 970	2 060
Akrylonitril-styren-akrylát (ASA)	2 170	330	601	464	2 560	1 550	357	704
polyethylentereftalát-glykol (PET-G)	242	538	73	52	528	1 730	1 550	738
Kyselina polymléčná (PLA)	391	391	146	174	456	1 390	2 170	1 410
Akrylonitril-butadien-styren (ABS) (CZ)	3000	360	536	584	831	287	1050	400
Akrylonitril-butadien-styren (ABS) (PL)	104	131	181	342	1 410	466	1 610	638
Termoplastický polyuretan (TPU, FlexFill 98A)	71	55	163	136	354	2 960	457	254
Polyvinyl acetát (PVAc)	1 250	51	225	230	1 520	108	509	1160

Z tabulky 3 je patrné, že v rámci celého setu měření poskytují relativně nízké signály akrylonitril-butadien-styren, termoplastický polyuretan a polyvinylacetát.

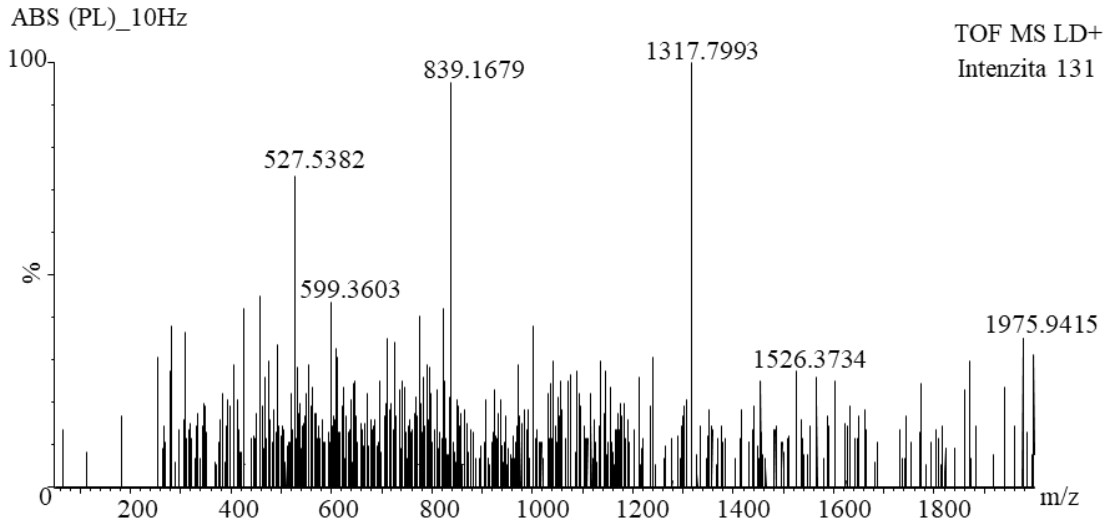
Hmotnostní spektrum ABS (CZ) je uvedeno na Obrázek 12 a Obrázek 13, spektrum ABS (PL) je uvedeno na Obrázek 14 a Obrázek 15. Spektrum PVAc je uvedeno na Obrázek 16 a Obrázek 17. Dalším materiálem s nízkým pozadím byl TPU, avšak jeho špatná rozpustnost a vyšší teplota tání ho z následných experimentů vyloučila.



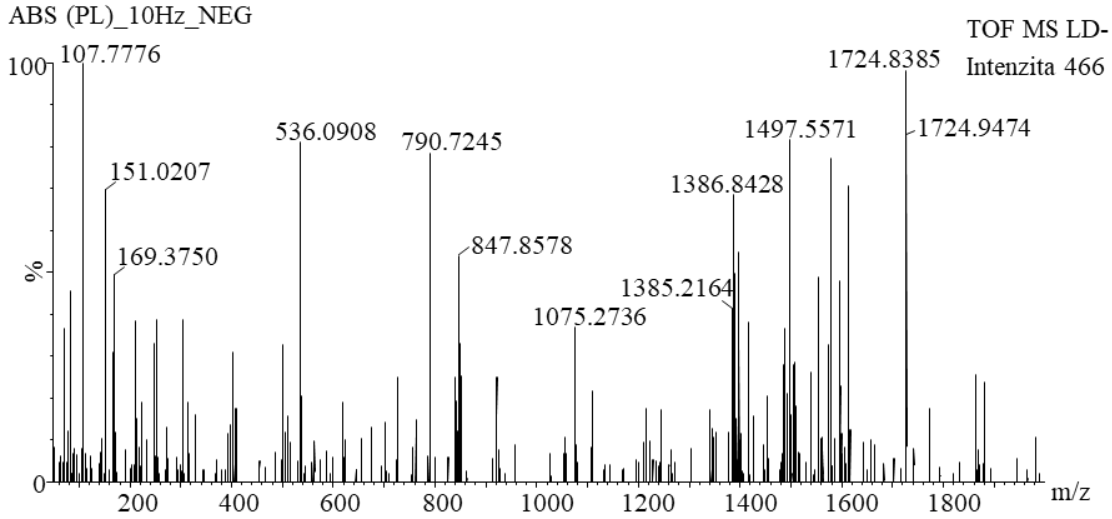
Obrázek 12 Spektrum ABS (CZ) v pozitivním modu



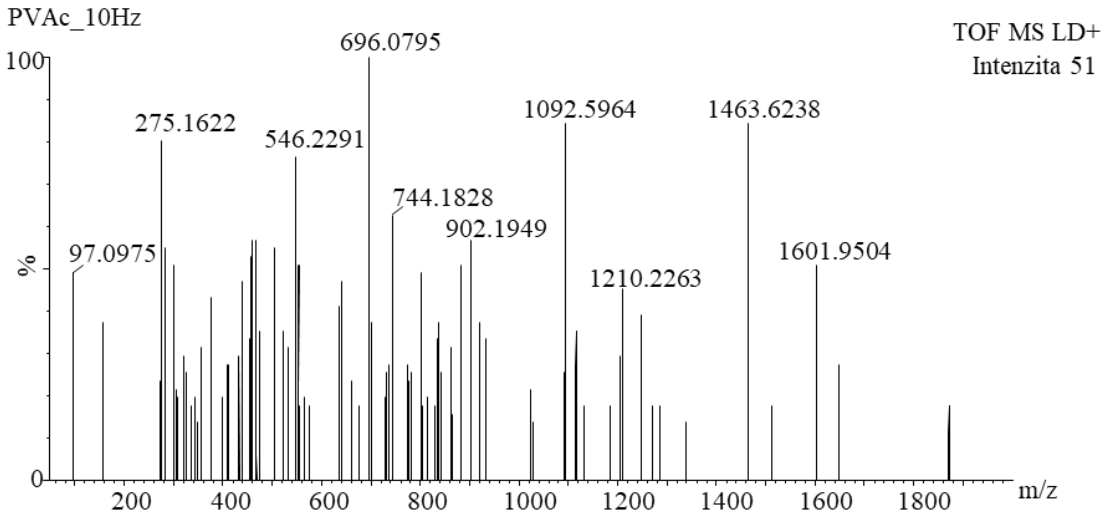
Obrázek 13 Spektrum ABS (CZ) v negativním modu



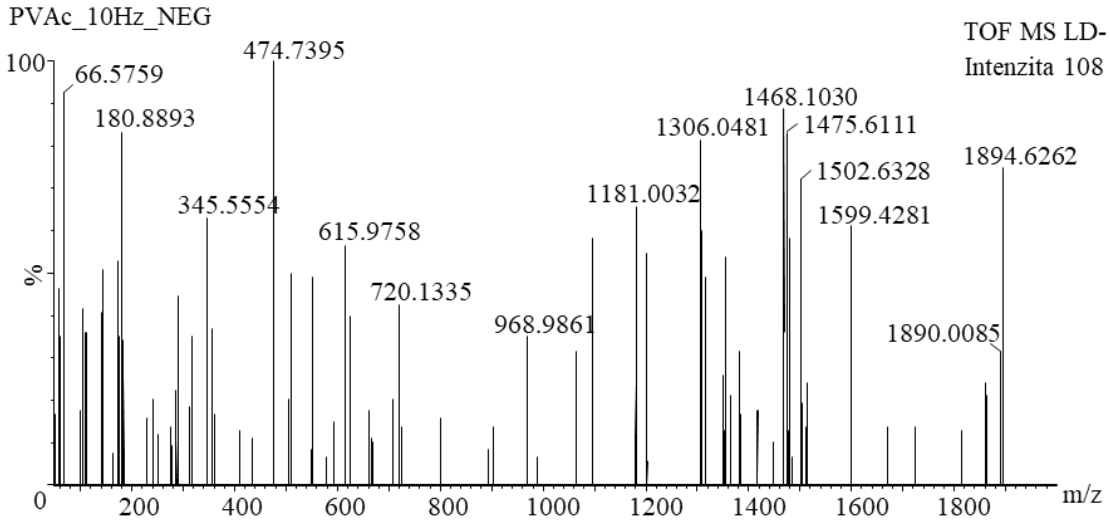
Obrázek 14 Spektrum ABS (PL) v pozitivním modu



Obrázek 15 Spektrum ABS (PL) v negativním modu

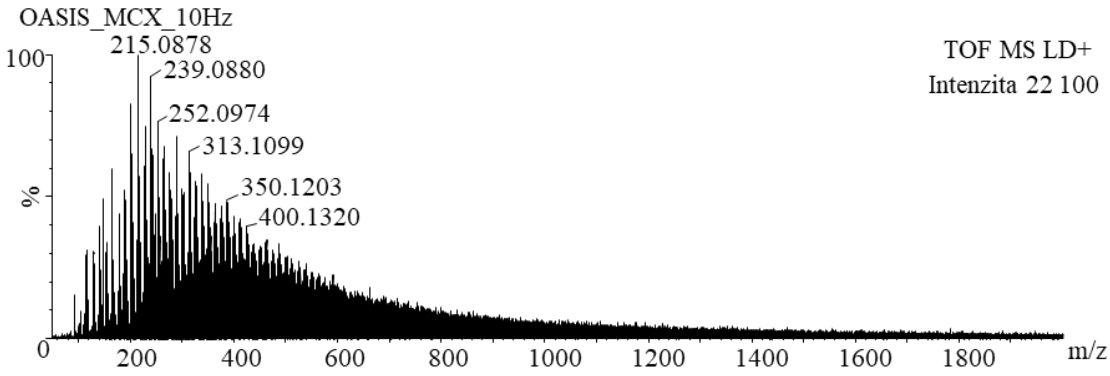


Obrázek 16 Spektrum PVAc v pozitivním modu



Obrázek 17 Spektrum PVAc v negativním modu

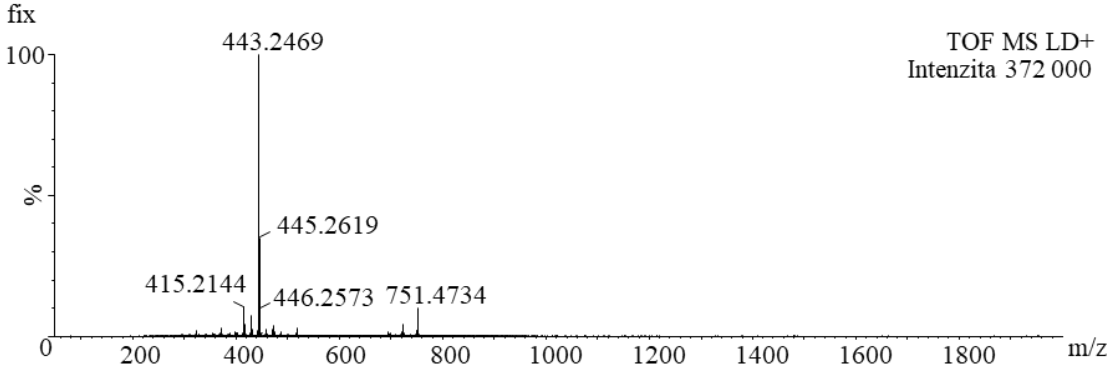
Všechny píky ve výše uvedených spektrech mají velmi intenzity, a proto se ABS a polyvinylacetát jeví jako vhodné materiály pro extrakci analytů z povrchů archeologických objektů s následnou LDI-MS analýzou. Pro srovnání je na Obrázek 18 zobrazeno spektrum OASIS MCX, které má vysokou intenzitu a spektrum má tvar typický pro polymery.



Obrázek 18 Typická polymerní obálka u OASIS MCX

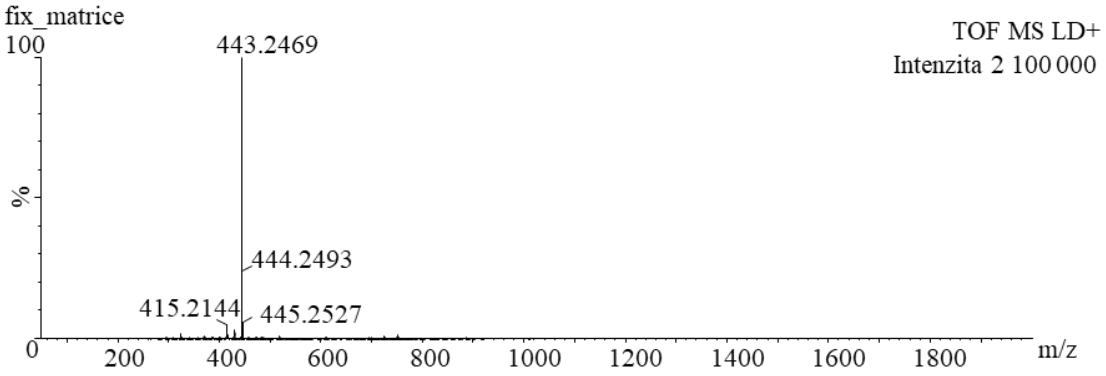
6.3. Extrakce červeného barviva a následná (MA)LDI-MS

Další pokus zahrnoval extrakci červeného barviva z popisovacího fixu na lihové bázi ze skleněného povrchu. V rámci přípravy na měření na (MA)LDI-MS bylo nutné odstranit polymer z podložního sklíčka, pak jej otočit a přilepit na spot na MALDI destičce. Pokud porovnáme mechanické chování ABS a PVAc, tak lépe je možno manipulovat s ABS. Jeho tenký film jde ze skleněného povrchu snadno sloupnout, materiál zůstává kompaktní a je možno jej snadno připevnit na MALDI destičku. PVAc šel sloupnout výrazně obtížněji, docházelo k rolování materiálu a trhání polymerní vrstvy.



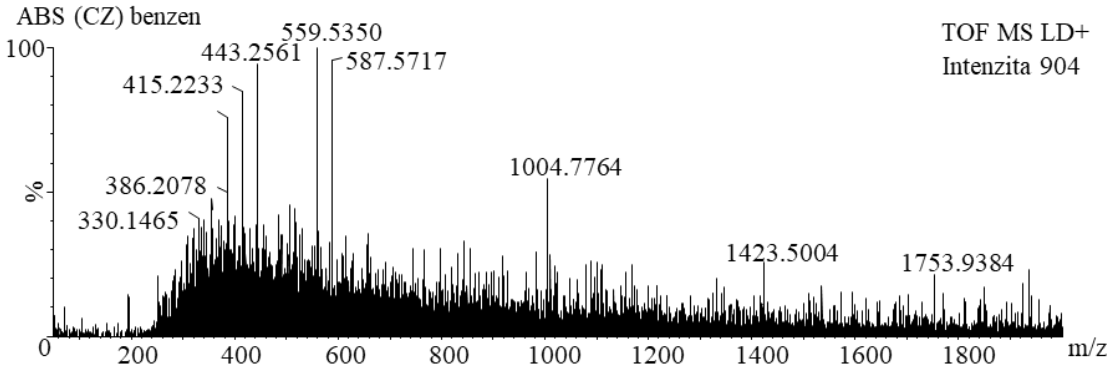
Obrázek 19 Hmotnostní spektrum popisovacího fixu na alkoholové bázi bez matrice (pozitivní mód)

Při měření samotného fixu a samotného fixu s matricí v pozitivním modu byl pozorován dominantní signál m/z 443,2469. Jedná se o kation červeného barviva Rhodaminu B (odchylka od vypočtené hodnoty m/z, d = +13,4 mDa).

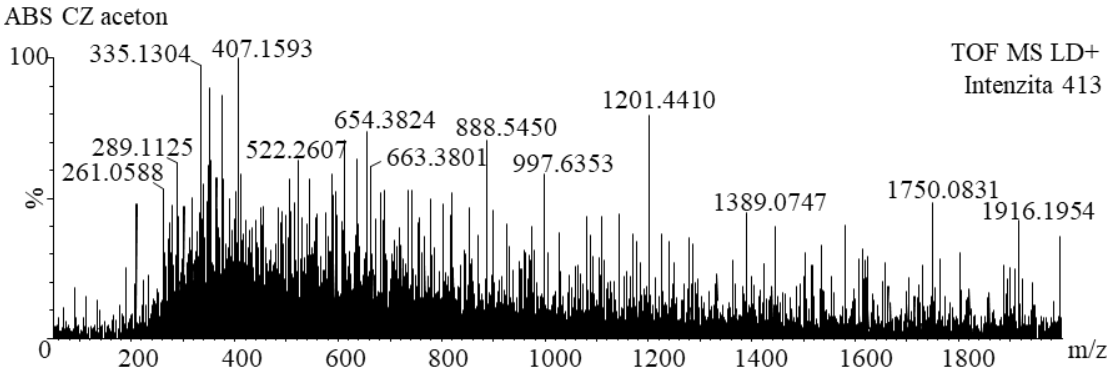


Obrázek 20 Hmotnostní spektrum popisovacího fixu na alkoholové bázi s matricí (pozitivním mód)

Další otázkou bylo, zda měřit za použití matrice. Z pořízených spekter je patrné, že bez matrice nedochází k dostatečné ionizaci molekul barviva. Z tohoto důvodu byly další pokusy prováděny již jen s matricí.

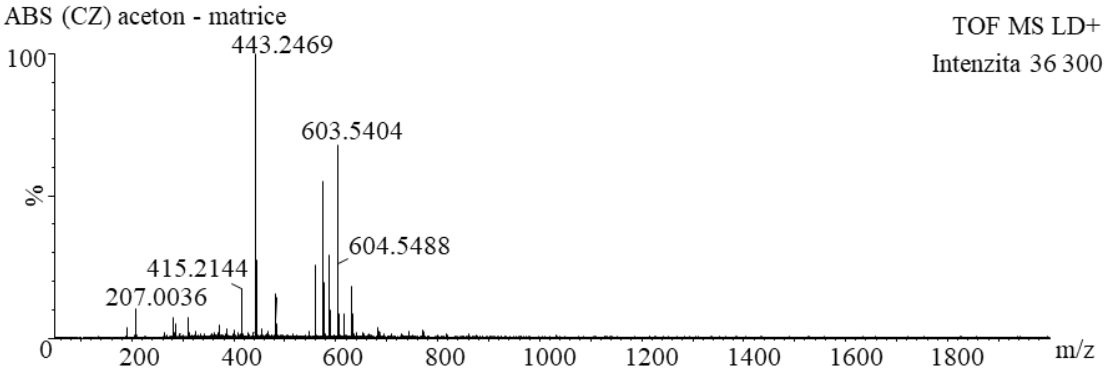


Obrázek 21 Spektrum ABS (CZ) – benzen – bez matricí v pozitivním modu

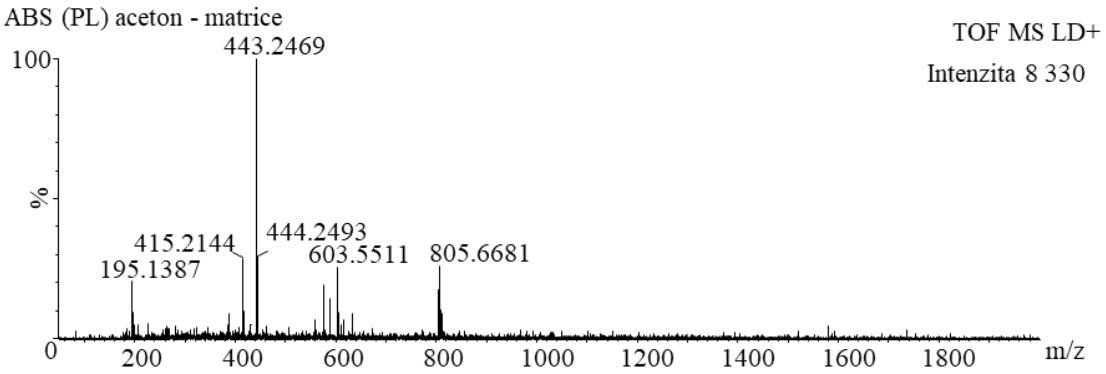


Obrázek 22 Spektrum ABS (CZ) – aceton – bez matrice v pozitivním modu

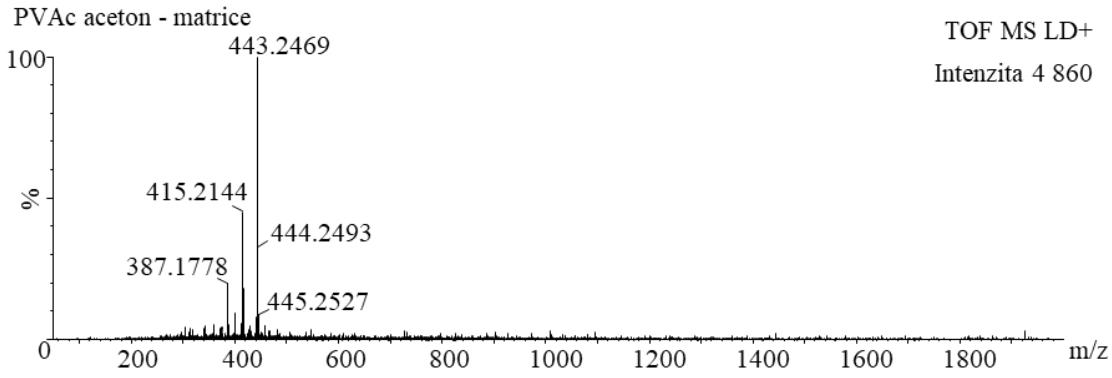
Dále byl zkoumán vliv rozpouštědla na efektivitu přenesení barviva na polymer a následně na signál v LDI-MS spektru. Pro tento pokus byly na základě předchozích zkušeností vybrány aceton a benzen. Při použití obou rozpouštědel byla látka s m/z 443,2469 dominantním iontem ve spektru. Obě rozpouštědla jde tedy pro tyto experimenty použít. Intenzity dominantního signálu barviva v pozitivním modu byly vyšší u benzenu (1,31krát v případě ABS (PL), 3,84krát pro ABS (CZ) a 354krát pro PVAc). Z pohledu možného nasazení rozpouštědla v rutinním archeologickém výzkumu je ovšem vhodné zvážit i toxicitu obou rozpouštědel. Vzhledem k vysoké toxicitě a prokázané karcinogenitě benzenu [112] byl pro další experimenty používán aceton. Ten byl využit v následných experimentech.



Obrázek 23 Spektrum ABS (CZ) s matricí v pozitivním modu



Obrázek 24 Spektrum ABS (PL) s matricí v pozitivním modu



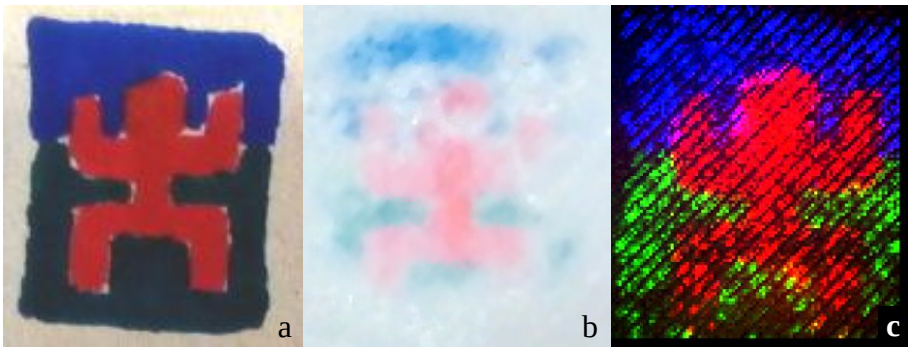
Obrázek 25 Spektrum PVAc s matricí v pozitivním modu

Na výše uvedených spektrech (Obrázek 23 a Obrázek 24) můžeme vidět, že se liší spektra ABS od obou výrobců. Vyšší intenzita signálu m/z 443,2469 byla dosažena u značky Fillamentum (CZ). Technologie výroby je tedy nezanedbatelným parametrem, který je třeba uvážit při případném vývoji rutinního postupu extrakce polymerem.

6.4.MALDI imaging

Pro studium archeologických objektů může být významné znát distribuci signálů na povrchu. Například může jít o studium barevné ozdoby (obrázku) na keramice. Pro podobné aplikace je významné zachovat distribuci barviv (případně pojiv a pomocných látek) na povrchu při přenosu analytů do hmotnostního spektrometru. Toto by vyvíjená aplikace využívající transfer analytů pomocí polymeru mohla nabídnout. Pro tento účel byl na keramické destičce nakreslen tříbarevný obrázek (detaily jsou uvedeny v experimentální části práce). Ten byl poté přenesen výše diskutovaným způsobem do polymeru (extrakce barviv do acetonem zbobtnalé destičky z ABS) a barviva na polymeru analyzována LDI-MS v režimu hmotnostního zobrazování. Po naměření byla data vyhodnocena pomocí programu HDImaging. Zde byly nalezeny ve hmotnostním spektru 3 nejintenzivnější signály v pozitivním modu (m/z 443,2237; m/z 470,2487 a m/z 478,3153). Ion s m/z 443,2237 odpovídá Rhodaminu B (d = -9,8 mDa), ion s m/z 470,2487 odpovídá modrému barvivu „Basic Blue 26“ (d = -11,8 mDa) a poslední ion s m/z 478,3153 pravděpodobně odpovídá modrému barvivu „Basic Blue 7“ (d = -6,9 mDa). Zelený fix obsahuje s největší pravděpodobností směs několika barviv (snad modrého a žlutého). Pro přesnější určení jednotlivých barviv by bylo vhodné provést porovnání s autentickými standardy barviv a MS/MS experimenty. Toto ovšem překračují rámec této bakalářské práce a z toho důvodu nebyly tyto experimenty provedeny.

Tvar obrazce, který jsme tímto získali se shodoval s obrazcem, který byl namalován na rubovou stranu dlaždice a přenesen na model z ABS. Na obrázku níže můžeme vidět srovnání původního obrazce, přeneseného obrazce na polymerním nosiči a zobrazeného pomocí programu HDImaging z naměřených dat. Červená představuje signál m/z 443,2237, modrá signál m/z 478,3153 a zelená signál m/z 470,2487.



Obrázek 26 Srovnání obrazce nakresleného na dlaždici(a), přeneseného na polymerním nosiči (b) a obrazce vytvořeného z naměřených dat (c)

Tento pokus nám tedy potvrdil, že je možné provést tento způsob měření. Jistým problémem zůstává způsob tisku ABS destičky na 3D tiskárně, při kterém na materiálu zůstávají pravidelné diagonální výstupky, které je na hmotnostním zobrazení (c.) viditelné jako šrafování. Toto by šlo nejspíše odstranit povrchovou úpravou polymeru – leptáním nebo broušením. V budoucnu je plánováno pokračování v optimalizaci této slibné metody a její testování na analytech extrahovatelných z autentických archeologických vzorků.

7. Závěr

Cílem této bakalářské práce byl vývoj metody pro selektivní extrakci látek z nalezených keramických archeologických objektů pomocí polymerního nosiče.

Nejdříve byla hledána vhodná makromolekulární sloučenina. Byli vybráni zástupci různých skupin polymerů, s různou polaritou, molekulární hmotností a různými mechanickými a chemickými vlastnostmi. Bylo zkoumáno jejich chování v různých rozpouštědlech a dále byl studován jejich signál při měření na LDI-MS, který ukazuje, jak silné bude pozadí (balastní signály) při měření analytů přenášených z archeologických objektů. Pozadí s nejnižší intenzitou poskytoval akrylonitril-butadien-styrenový kopolymer od dvou různých výrobců a polyvinylacetát. Pro další pokusy s těmito vybranými polymery byl jako rozpouštědlo vybrán aceton, který tyto materiály dobře rozpouští, práce s ním byla rychlá (dochází k rychlému odpaření) a je málo toxický a. Poté byl vybrán jednoduchý modelový analyt, kterým se stalo barvivo červeného popisovacího fixu na lihové bázi. Tento fix poskytoval v pozitivním ionizačním modu jeden intenzivní pík m/z 443,2225 odpovídající barvivu Rhodaminu B; který byl poté nalezen ve vybraných polymerech po extrakci barviva ze skla (z podložního mikroskopického sklíčka). Dále byl diskutován vliv matrice. Jako matrice se osvědčilo použití 2,4,6-trihydroxyacetofenonu.

Posledním praktickým pokusem byla částečná extrakce barviv z keramické dlaždice pomocí vyvinuté metody, což mělo otestovat celkovou funkčnost této metody na jednoduchém příkladu. Obtisk, který byl získán po naleptání ABS acetonem, byl analyzován MALDI-MS technikou v modu hmotnostního zobrazování (MALDI imagingu). Výsledkem tohoto pokusu bylo úspěšné a pro keramický povrch málo invazivní přenesení barevného vzoru z objektu do iontového zdroje hmotnostního spektrometru. Z naměřených MS dat bylo možno zpětně distribuci barviv na povrchu (obrazec) rekonstruovat.

Tato metoda se jeví jako velmi perspektivní pro extrakci látek z archeologických předmětů. Velmi výrazný pozitivní vliv pro vývoj metody mělo použití 3D tisku. Použitím předtištěného modelu podložního sklíčka došlo k zjednodušení celého procesu a do budoucna tento postup potenciálně nabízí reprodukovatelné měření (sériový tisk většího počtu destiček téměř identických vlastností). Tato technologie by také umožnila extrakci látek ze zaoblených předmětů, protože by bylo možné si navrhnout zakřivený model polymerního nosiče.

Do budoucna jsou naplánovány další pokusy, které by měly tuto metodu posunout blíže reálnému použití na archeologických předmětech. Jde především o zkoumání vzorků blíže imitujících archeologické objekty i autentických keramických nálezů s ohledem na analyty, které mohou být na povrchu vzorků přítomny (historicky používaná barviva, zbytky potravin atp.).

8. Seznam použité literatury

[1] M. Manfredi, E. Barberis, F. Gosetti, E. Conte, G. Gatti, C. Mattu, E. Robotti, G. Zilberstein, I. Koman, S. Zilberstein, E. Marengo, P.G. Righetti, Method for Noninvasive Analysis of Proteins and Small Molecules from Ancient Objects. Anal. Chem. 2017, 89(6), 3310–3317.

[2] Online Etymology Dictionary. [vid. 2017-12-10]. Dostupné z: https://www.etymonline.com/word/archaeology

[3] FF UK Praha. Ústav pro archeologii. 2011 [vid. 2018-04-05]. Dostupné z: http://uprav.ff.cuni.cz/?q=system/files/6_Doba zelezna.pdf

[4] V. Mikešová, K. Svobodová, L. Vélová, Ľ. Novák, Slovníček pojmů. 2016 [vid. 2018-04-05]. Dostupné z: http://www.archeologienadosah.cz/o-archeologii/slovnicek-pojmu

[5] T. Velímský, Úvod k metodám archeologické práce. [vid. 2018-04-05]. Dostupné z: https://pf.ujep.cz/~velimskyt/pravek/01metody/01metody.htm

[6] Vývoj osídlení a kultury českých zemí z archeologického hlediska. [vid. 2018-04-05]. Dostupné z: http://uprav.ff.cuni.cz/?q=system/files/chronologická tabulka_0.pdf

[7] E. Howell, P. Vandenabeele, Ed. Analytical Archaeometry: Selected Topics Edited by Howell Edwards and Peter Vandenabeele, 2012 Published by the Royal Society of Chemistry. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2012.

[8] M.L. Saladino, S. Ridolfi, I. Carocci, D.C. Martino, R. Lombardo, A. Spinella, G. Traina, E. Caponetti, A multi-analytical non-invasive and micro-invasive approach to canvas oil paintings. General considerations from a specific case. Microchem. J. 2017, 133(April), 607–613.

[9] R.L. Easton, W.A. Christens-Barry, K.T. Knox, Spectral image processing and analysis of the Archimedes Palimpsest. In: European Signal Processing Conference. 2011, s. 1440–1444.

[10] F. Mairinger, The infrared examination of paintings. Radiat. Art Archeometry. 2000, 40–55.

[11] P.G. Dorrell, Photography in archaeology and conservation. Cambridge manuals in archaeol. 1994, 2, 266.

[12] F. Mairinger, G. Banik, W. Koehler, H. Stachelberger, Nondestructive sampling on objects of graphic art for x-ray microanalysis. In: ICOM Committee for Conservation 6th triennial meeting: Ottawa, 21-25 September 1981: preprints. 1981, s. 7.

[13] S. Tanner, G. Bearman, Digitising the Dead Sea Scrolls. In: Archiving 2009: preservation strategies and imaging technologies for cultural heritage institutions and memory organizations: final program and proceedings. 2009, s. 119–123.

[14] I. Montani, E. Sapin, A. Pahud, P. Margot, Enhancement of writings on a damaged medieval manuscript using ultraviolet imaging. J. Cult. Herit. 2012, 13(2), 226–228.

[15] D. Bomford, R. Billinge, Underdrawings in Renaissance paintings. London: National Gallery Company, 2002.

[16] J.R.J. Van Asperen De Boer, Current techniques in the scientific examination of paintings. In: The Princeton Raphael Symposium: science in the service of art history. 1990, s. 3–6.

[17] J.K. Delaney, G. Trumpy, M. Didier, P. Ricciardi, K.A. Dooley, A high sensitivity, low noise and high spatial resolution multi-band infrared reflectography camera for the study of paintings and works on paper. Herit. Sci. 2017, 5(1), 32.

[18] I. Catapano, M. Picollo, K. Fukunaga, Sensing the Past. Cham: Springer International Publishing, 2017. Geotechnologies and the Environment.

[19] A. Cosentino, Terahertz and Cultural Heritage Science: Examination of Art and Archaeology. Technologies. 2016, 4(1), 6.

[20] J.B. Jackson, J. Labaune, R. Bailleul-Lesuer, L. D'alessandro, A. Whyte, J.W. Bowen, M. Menu, G. Mourou, Terahertz pulse imaging in archaeology. Front. Optoelectron. 2015, 8(1), 81–92.

[21] J.M. Chalmers, H.G.M. Edwards, M.D. Hargreaves, Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2012.

[22] P. Vandenabeele, H.G.M. Edwards, L. Moens, A Decade of Raman Spectroscopy in Art and Archaeology. Chem. Rev. 2007, 107(3), 675–686.

[23] B. Strauch, Možnosti laserové Ramanovy spektrometrie. In: J. Zýka, ed. Nové směry v analytické chemie. Praha: SNTL, 1988, s. 171–203.

[24] D.A. Long, Handbook of Raman spectroscopy. From the research laboratory to the process line. Edited by Ian R. Lewis and H. G. M. Edwards. M. Dekker, New York and Basel, 2001. J. Raman Spectrosc. 2004, 35(1), 91–91.

[25] H.G.M. Edwards, J.M. Chalmers, Raman Spectroscopy in Archaeology and Art History. 2005. ISBN 978-0-85404-522-8.

[26] E.A. Carter, M.L. Wood, D. De Waal, H.G.M. Edwards, Porcelain shards from Portuguese wrecks: Raman spectroscopic analysis of marine archaeological ceramics. Herit. Sci. 2017, 5(1), 17.

[27] Ruční rentgenové analyzátory, ruční XRF spektrometry. [vid. 2018-05-04]. Dostupné z: https://www.spektrometry.cz/analyzatory/rucni_rentgenove_analyzatory_xrf.php?gclid=Cj0KCQjw5qrXBRC3ARIsAJq3bwpNC_u7wwi6e1h82O9KtB_xLECchNMHBeSuqWnjnFpmCMPnJbPmqdsaArJIEALw_wcB

[28] L. De Viguerie, P. Walter, E. Laval, B. Mottin, V.A. Solé, Revealing the sfumato Technique of Leonardo da Vinci by X-Ray Fluorescence Spectroscopy. Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49(35), 6125–6128.

[29] M. Sawczak, A. Kamińska, G. Rabczuk, M. Ferretti, R. Jendrzejewski, G. Śliwiński, Complementary use of the Raman and XRF techniques for non-destructive analysis of historical paint layers. Appl. Surf. Sci. 2009, 255(10), 5542–5545.

[30] B. Kanngiesser, W. Malzer, A.F. Rodriguez, I. Reiche, Three-dimensional micro-XRF investigations of paint layers with a tabletop setup. Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc. 2005, 60(1), 41–47.

[31] J. Dik, K. Janssens, G. Van Der Snickt, L. Van Der Loeff, K. Rickers, M. Cotte, Visualization of a Lost Painting by Vincent van Gogh Using Synchrotron Radiation Based X-ray Fluorescence Elemental Mapping. Anal. Chem. 2008, 80(16), 6436–6442.

[32] X. Wei, Y. Lei, T. Sun, X. Lin, Q. Xu, D. Chen, Y. Zou, Z. Jiang, Y. Huang, X. Yu, X. Ding, H. Xu, Elemental depth profile of faux bamboo paint in Forbidden City studied by synchrotron radiation confocal μ-XRF. X-Ray Spectrom. 2008, 37(6), 595–598.

[33] C. Calza, M.J. Anjos, S.M.F. Mendonça De Souza, A. Brancaglion, R.T. Lopes, X-ray microfluorescence analysis of pigments in decorative paintings from the sarcophagus cartonnage of an Egyptian mummy. Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms. 2007, 263(1), 249–252.

[34] P. Wobrauschek, G. Halmetschlager, S. Zamini, C. Jokubonis, G. Trnka, M. Karwowski, Energy-dispersive x-ray fluorescence analysis of Celtic glasses. X-Ray Spectrom. 2000, 29(1), 25–33.

[35] J. Kunicki-Goldfinger, J. Kierzek, A Kasprzak, B. Malozewska-Bucko, A study of eighteenth century glass vessels from central Europe by x-ray fluorescence analysis. X-Ray Spectrom. 2000, 29(4), 310–316.

[36] P.L. Leung, H. Luo, A study of provenance and dating of ancient Chinese porcelain by x-ray fluorescence spectrometry. X-Ray Spectrom. 2000, 29(1), 34–38.

[37] E. Figueiredo, M.F. Araújo, R.J.C. Silva, J.C. Senna-Martinez, J.L. Inês Vaz, Characterisation of Late Bronze Age large size shield nails by EDXRF, micro-EDXRF and X-ray digital radiography. Appl. Radiat. Isot. 2011, 69(9), 1205–1211.

[38] A. Castellano, G. Buccolieri, S. Quarta, M. Donativi. Portable EDXRF surface mapping of sulfate concentration on Michelangelo's David. X-Ray Spectrom. 2006, 35(5), 276–279.

[39] D. Hradil, T. Grygar, J. Hradilová, P. Bezdička, V. Grűnwaldová, I. Fogaš, C. Miliani, Microanalytical identification of Pb-Sb-Sn yellow pigment in historical European paintings and its differentiation from lead tin and Naples yellows. J. Cult. Herit. 2007, 8(4), 377–386.

[40] R. Arletti, M.C. Dalconi, S. Quartieri, M. Triscari, G. Vezzalini, Roman coloured and opaque glass: a chemical and spectroscopic study. Appl. Phys. A 2006, 83(2), 239–245.

[41] C. Knappett, D. Pirrie, M.R. Power, I. Nikolakopoulou, J. Hilditch, G. K. Rollinson, Mineralogical analysis and provenancing of ancient ceramics using automated SEM-EDS analysis (QEMSCAN®): a pilot study on LB I pottery from Akrotiri, Thera. J. Archaeol. Sci. 2011, 38(2), 219–232.

[42] M.C. Bernard, S. Joiret, Understanding corrosion of ancient metals for the conservation of cultural heritage. Electrochim. Acta. 2009, 54(22), 5199–5205.

[43] I. Rezić, L. Ćurković, M. Ujević, Simple methods for characterization of metals in historical textile threads. Talanta. 2010, 82(1), 237–244.

[44] E.S. Friedman, A.J. Brody, M.L. Young, J.D. Almer, C.U. Segre, S.M. Mini, Synchrotron radiation-based x-ray analysis of bronze artifacts from an Iron Age site in the Judean Hills. J. Archaeol. Sci. 2008, 35(7), 1951–1960.

[45] M. Eveno, B. Moignard, J. Castaing, Portable Apparatus for In Situ X-Ray Diffraction and Fluorescence Analyses of Artworks. Microsc. Microanal. 2011, 17(05), 667—673.

[46] D. Harvey, ANALYTICAL chemistry. Manufacturing chemist and aerosol news. 1950, 21(6), 256–8.

[47] F. Scholz, L. Nitschke, G. Henrion, A new procedure for fast electrochemical analysis of solid materials. Naturwissenschaften. 1989, 76(2), 71–72.

[48] D. Harvey, Analytical Chemistry 2.0—an open-access digital textbook. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2011, 399(1), 149–152.

[49] P. Nováková, Derivatizace v plynové chromatografii, diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2011.

[50] S.A. Buckley, K.A. Clark, R.P. Evershed, Complex organic chemical balms of Pharaonic animal mummies. Nature. 2004, 431(7006), 294–299.

[51] M. Regert, V. Alexandre, N. Thomas, A. Lattuati-Derieux, Molecular characterisation of birch bark tar by headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry: a new way for identifying archaeological glues. J. Chromatogr. A. 2006, 1101(1–2), 245–53.

[52] F. Modugno, E. Ribechini, M.P. Colombini, Aromatic resin characterisation by gas chromatography–mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 2006, 1134(1–2), 298–304.

[53] L. Salvini, A. Pecci, G. Giorgi, Cooking activities during the Middle Ages: organic residues in ceramic vessels from the Sant'Antimo Church (Piombino-Central Italy). J. Mass Spectrom. 2007, 43(1), 108–115.

[54] J. Baeten, K. Romanus, P. Degryse, W. De Clercq, H. Poelman, K. Verbeke, A. Luypaerts, M. Walton, P. Jacobs, D. De Vos, M. Waelkens, Application of a multi-analytical toolset to a 16th century ointment: Identification as lead plaster mixed with beeswax. Microchem. J. 2010, 95(2), 227–234.

[55] I. Vanden Berghe, M. Gleba, U. Mannering, Towards the identification of dyestuffs in Early Iron Age Scandinavian peat bog textiles. J. Archaeol. Sci. 2009, 36(9), 1910–1921.

[56] A.L. Burlingame, T.A. Baillie, D.H. Russell, Mass spectrometry. Anal. Chem. 1992, 64(12), 467–502.

[57] T. Warchilová, T. Vaculovič, O. Matal, T. Šimo, V. Kanický, Laterální mapování kovových materiálů pomocí laserové ablace ve spojení s ICP-MS*. Chem. Listy. 2012, 106, 236–239.

[58] M. Jarošová, P. Sulovský, D. Milde, Současný stav a perspektivy spojení laserové ablace s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem v geochemii. Chem. Listy. 2016, 110(11), 769–778.

[59] V. Možná, Studium laserové ablace ocelí ve spojení s ICP-OES a ICP-MS, diplomová práce, Masarykova univerzita, Brno 2006.

[60] L. Kučera, L. Richtera, M. Zmrzlý, M. Jarošová, P. Kučerová, P. Bednář, Determination of the Fineness of Medieval Coins-Evaluation of Methods in a Case Study of a Medieval Pfennig. Archaeometry. 2018, 60(2), 325–341.

[61] J. Peter-Katalinic, F. Hillenkamp, MALDI MS. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013.

[62] S.R. Shanta, L. Zhou, Y.S. Park, Y.H. Kim, Y. Kim, K.P. Kim, Binary Matrix for MALDI Imaging Mass Spectrometry of Phospholipids in Both Ion Modes. Anal. Chem. 2011, 83(4), 1252–1259.

[63] A. Tholey, E. Heinzle, Ionic (liquid) matrices for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry—applications and perspectives. Anal. Bioanal. Chem. 2006, 386(1), 24–37.

[64] MALDI Sample Preparation Quick & Dirty Crystallization. [vid. 2018-04-17]. Dostupné z: https://msr.dom.wustl.edu/maldi-sample-preparation-quick-dirty-crystallization/

[65] N. Zaima, Y. Matsuyama, M. Setou, Principal Component Analysis of Direct Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometric Data Related to Metabolites of Fatty Liver. J. Oleo Sci. 2009, 58(5), 267–273.

[66] J.A. Hankin, R.M. Barkley, R.C. Murphy, Sublimation as a method of matrix application for mass spectrometric imaging. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2007, 18(9), 1646–1652.

[67] G. Montaudo, F. Samperi, M.S. Montaudo, Characterization of synthetic polymers by MALDI-MS. Prog. Polym. Sci. 2006, 31(3), 277–357.

[68] I. Rážová, Příprava vzorků pro zobrazení tkání pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI (Imaging MALDI MS), diplomová práce, Masarykova univerzita, Brno 2012.

[69] ImagePrep. [vid. 2018-04-18]. Dostupné z: https://www.bruker.com/products/mass-spectrometry-and-separations/maldi-toftof/imageprep/overview.html

[70] MALDI Sprayer. [vid. 2018-04-27]. Dostupné z: https://sunchrom.de/maldi-sprayer-suncollect/

[71] E. Van Elslande, V. Guérineau, V. Thirioux, G. Richard, P. Richardin, O. Laprévote, G. Hussler, P. Walter, Analysis of ancient Greco–Roman cosmetic materials using laser desorption ionization and electrospray ionization mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. 2008, 390(7), 1873–1879.

[72] E. Ribechini, J. Pérez-Arantegui, M.P. Colombini, Positive and negative-mode laser desorption/ionization-mass spectrometry (LDI-MS) for the detection of indigoids in archaeological purple. J. Mass Spectrom. 2013, 48(3), 384–391.

[73] A. Nevin, G. Spoto, D. Anglos, Laser spectroscopies for elemental and molecular analysis in art and archaeology. Appl. Phys. A. 2012, 106(2), 339–361

[74] M. Buckley, S.W. Kansa, Collagen fingerprinting of archaeological bone and teeth remains from Domuztepe, South Eastern Turkey. Archaeol. Anthropol. Sci. 2011, 3(3), 271–280.

[75] M. Buckley, S.W. Kansa, S. Howard, S. Campbell, J. Thomas-Oates, M. Collins, Distinguishing between archaeological sheep and goat bones using a single collagen peptide. J. Archaeol. Sci. 2010, 37(1), 13–20.

[76] A. Bona, Z. Papai, G. Maasz, G.A. Toth, E. Jambor, J. Schmidt, C. Toth, C. Farkas, L. Mark, Mass Spectrometric Identification of Ancient Proteins as Potential Molecular Biomarkers for a 2000-Year-Old Osteogenic Sarcoma. PLoS ONE. 2014, 9(1).

[77] Ch. Hong, H. Jiang, E. Lü, Y. Wu, L. Guo, Y. Xie, C. Wang, Y. Yang, Identification of Milk Component in Ancient Food Residue by Proteomics. PLoS ONE. 2012, 7(5), e37053.

[78] E. Oras, S. Vahur, S. Isaksson, I. Kaljurand, I. Leito, MALDI-FT-ICR-MS for archaeological lipid residue analysis. J. Mass Spectrom. 2017, 52(10), 689–700.

[79] M. Buckley, N.D. Melton, J. Montgomery, Proteomics analysis of ancient food vessel stitching reveals >4000-year-old milk protein. Rapid commun. mass spectrom. : RCM. 2013, 27(4), 531–8.

[80] K. Hollemeyer, W. Altmeyer, E. Heinzle, Ch. Pitra, Species identification of Oetzi's clothing with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry based on peptide pattern similarities of hair digests. Rapid commun. mass spectrom. 2008, 22(18), 2751–2767.

[81] K. Hollemeyer, W. Altmeyer, E. Heinzle, C. Pitra, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry combined with multidimensional scaling, binary hierarchical cluster tree and selected diagnostic masses improves species identification of Neolithic keratin sequences from furs o. Rapid commun. mass spectrom. 2012, 26(16), 1735–1745.

[82] M.S. Maier, S.D. Parera, A.M. Seldes, Matrix-assisted laser desorption and electrospray ionization mass spectrometry of carminic acid isolated from cochineal. Int. J. Mass Spectrom. 2004, 232(3), 225–229.

[83] J.D.J. Van Den Berg, N.D. Vermist, L. Carlyle, M. Holčapek, J.J. Boon, Effects of traditional processing methods of linseed oil on the composition of its triacylglycerols. J. Sep. Sci. 2004, 27(3), 181–199.

[84] S. Kuckova, M. Crhova, L. Vankova, A. Hnizda, R. Hynek, M. Kodicek, Towards proteomic analysis of milk proteins in historical building materials. Int. J. Mass Spectrom. 2009, 284(1–3), 42–46.

[85] G. Spoto, G. Grasso, Spatially resolved mass spectrometry in the study of art and archaeological objects. TrAC Trends Anal. Chem. 2011, 30(6), 856–863.

[86] U. Bahr, A. Deppe, M. Karas, F. Hillenkamp, U. Giessmann, Mass spectrometry of synthetic polymers by UV-matrix-assisted laser desorption/ionization. Anal. Chem. 1992, 64(22), 2866–2869.

[87] R.S. Lehrle, D.S. Sarson, Degradation and selective desorption of polymer can cause uncertainty in MALDI (matrix-assisted laser desorption ionisation) measurements. Polym. Degrad. Stab. 1996, 51(2), 197–204.

[88] D.R. Maloney, K.H. Hunt, P.M. Lloyd, A.V.G. Muir, S.N. Richards, P.J. Derricka, D.M. Haddleton, Polymethylmethacrylate End-group Analysis by Matrix-assisted Laser Desorption lonisation Time-of-flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS). J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1995, 0(5), 561–562.

[89] H.J. Räder, W. Schrepp, MALDI-TOF mass spectrometry in the analysis of synthetic polymers. Acta Polym. 1998, 49(6), 272–293.

[90] M.W.F. Nielen, Maldi time-of-flight mass spectrometry of synthetic polymers. Mass Spectrom. Rev. 1999, 18(5), 309–344.

[91] A.J. Hoteling, W.J. Erb, R.J. Tyson, K.G. Owens, Exploring the Importance of the Relative Solubility of Matrix and Analyte in MALDI Sample Preparation Using HPLC. Anal. Chem. 2004, 76(17), 5157–5164.

[92] Q. Liang, J. Sherwood, T. Macher, J.M. Wilson, Y. Bao, C.J. Cassady, Citric Acid Capped Iron Oxide Nanoparticles as an Effective MALDI Matrix for Polymers. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2017, 28(3), 409–418.

[93] K. Mazanec, J. Chmelík, Využití MALDI-TOF MS při analýze směsi polymerů. Chem. listy. 2005, 99, 175–178.

[94] R. Skelton, F. Dubois, R. Zenobi, A MALDI Sample Preparation Method Suitable for Insoluble Polymers. Anal. Chem. 2000, 72(7), 1707–1710.

[95] R.N. Jagtap, A.H. Ambre, Overview literature on matrix assisted laser desorption ionization mass spectroscopy (MALDI MS): Basics and its applications in characterizing polymeric materials. Bull. Mater. Sci. 2005, 28(6), 515–528.

[96] M. Kang, Y. Seong, M. Kim, M.S. Kim, J. Pyun, Analysis of Polymer Characteristics Using Matrix-assisted Laser Desorption / Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry. Appl. Chem. Eng. 2017, 28(3), 263–271.

[97] V. Ducháček, Polymery – výroba, vlastnosti, zpracování, použití. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2011. ISBN 978-80-7080-788-0.

[98] K. Nálepa, Stručné základy chemie a fyziky polymerů. 1. Olomouc: rektorát Univerzity Palackého v Olomouci, 1990.

[99] J. Mleziva, Polymery – výroba, struktura, vlastnosti a použití. 1. Praha: Sobotáles, 1993. ISBN 04-616-93.

[100] I. Prokopová, Makromolekulární chemie. 2. vyd. Praha: VŠCHT Praha, 2007. ISBN 978-80-7080-662-3.

[101] P. Kucharczyk, Kyselina mléčná a syntéza polylaktidu, bakalářská práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín 2008.

[102] M. Starý a kol., Terpolymery ABS, zpracování a použití. Praha: STNL, 1977.

[103] P. Vyslyšelová, Chromatografická frakcionace rostlinných extraktů, diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2012.

[104] 3D-tisk: ABS. [vid. 2018-05-04]. Dostupné z: https://www.3d-tisk.cz/abs/

[105] J. Barek, Vliv koloidního oxidu křemičitého na vybrané vlastnosti cementových past a malt, diplomová práce, Vysoké učení technické v brně, Brno 2016.

[106] Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology. New York: Wiley, 1997.

[107] Amberlite XAD16 Product data sheet. [vid. 2018-04-16]. Dostupné z: http://file.yizimg.com/140240/2006926132310250301258.pdf

[108] O. Marek, M. Tomka, Akrylové polymery. Praha: SNTL, 1964.

[109] V.R. Meyer, Practical High-Performance Liquid Chromatography, Fifth Edition. 2010.

[110] Oasis Sample Extraction Products. [vid. 2018-04-15]. Dostupné z: http://www.waters.com/waters/en_CZ/Waters-Oasis-Sample-Extraction-SPE-Products/nav.htm?cid=513209&locale=en_CZ

[111] M. Lidařík a kol., Epoxidové pryskyřice. 3. vydání. Praha: SNTL, 1984.

[112] International Agency for Research on Cancer – Benzene. [vid. 2018-04-30]. Dostupné z: http://www.inchem.org/documents/iarc/suppl7/benzene.html