

Recenzní posudek na diplomovou práci

Název práce: **Využití moderních analytických metod při studiu archeologických nálezů**

Autor práce: Bc. Diana Sokolovská

Recenzent: RNDr. Ondřej Kurka, Ph.D., Katedra analytické chemie, 17. listopadu 12, 771 46, Olomouc

Práce Diany Sokolovské se věnuje analýze extraktů z povrchu keramiky a přímé analýze povrchu vybraných archeologických artefaktů. Zvolenými analytickými metodami jsou GC/MS a MALDI-MS, popř. LDI-MSI. Součástí práce je optimalizace protokolu pro necílenou L-L extrakci analytů ze vzorku keramiky.

Práce je psána ve slovenském jazyce, má rozsah 67 číslovaných stran, cituje 76 pramenů a je členěná klasickým způsobem na úvod, teoretickou část, experimentální část, výsledky a diskuzi a závěr. Kromě seznamu zkratk a použité literatury obsahuje rovněž seznam obrázků a tabulek.

Teoretická část práce se zabývá vývojem archeologie a popisem analytických metod při studiu archeologických vzorků se zvláštním zaměřením na úlohu GC/MS a laserových desorpčních technik v archeologické analýze. Kromě toho je v práci diskutován vztah a překryv archeologie a forenzních věd. Teoretická část práce je psána čtivě, přehledně a použití jednotlivých analytických technik je vhodně ilustrováno citacemi na primární literaturu.

V experimentální části je uveden seznam chemikálií, použité přístroje a nejdůležitější parametry použitých instrumentálních metod. Kromě toho kapitola popisuje detaily metod pro extrakci analytů organické povahy nanesené na povrch keramiky (tj. standardy vybraných sloučenin, které mohou sloužit jako markery konkrétních typů potravin), extrakci analytů z výplně předem připravených nádob (viz níže) a popis extrakce látek z reálných archeologických artefaktů – slunečního symbolu a bronzového nýtu.

Diskuzní část je podobně jako experimentální rozdělena na tři logické celky věnující se jednotlivým řešeným problémům. V první kapitole autorka srovnává dva postupy pro extrakci analytů ze seškrábaného povrchu keramiky. Jako univerzálnější se jeví postup, kdy jsou analyty extrahovány směsí voda-acetonitril, která je postupně jak okyselena, tak alkalizována, aby došlo ke kvantitativní extrakci co nejširšího spektra látek. Následuje přidavek hexanu a analýza obou fází (polární i nepolární). S využitím tohoto postupu bylo možné nalézt signály více standardů než při použití alternativního postupu zahrnujícího extrakci methanolem, popř. chloroformem bez úpravy

pH. V obou případech byly získané extrakty podrobeny MALDI-MS a GC/MS analýzám, kdy GC/MS měření předcházela derivatizace extraktu pomocí N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamidu (BSTFA). V rámci práce bylo takto úspěšně detekováno všech 10 testovaných standardů, z toho 6 pomocí MALDI-MS a 7 pomocí GC/MS.

V rámci druhé kapitoly se autorka zabývá možností detekce zbytků potravin v extraktu hlíny ze dna nádob, které byly naplněny potravinami a na dobu 1 roku zakopány do země. Analýza nádoby s červeným vínem a nádoby s plnotučným tvarohem neukázala na významnou odlišnost od referenčního vzorku hlíny, zatímco v případě uložení prosa (jáhel) do nádoby byl v extraktu pomocí GC/MS nalezen signál miliacinu – charakteristické složky této potraviny. Identita miliacinu byla potvrzena analýzou standardu této látky a v rámci práce byla provedena rovněž analýza pomocí ASAP-MS. Touto technikou bylo možné miliacin v extraktu detekovat na rozdíl od MALDI-MS. Dále byly nalezeny mastné kyseliny a fytosteroly v nádobě obsahující konopný olej. Analýzy dalších dvou nádob, obsahujících celá vejčeka, resp. jablko, neodhalily významné rozdíly ve složení extraktu hlíny ze dna nádoby a reference.

Poslední kapitola diskuze se zabývá analýzou organické krusty na „slunečním symbolu“ – bronzovém artefaktu, jemuž se přikládá spirituální význam, a analýzou povrchu bronzového nýtu, který byl součástí nádoby určené k ukládání potravin. Nejzajímavějším výsledkem v této kapitole je LDI-MSI analýza slunečního symbolu, který byl přichycen na upravenou MALDI destičku a bez přídavku matrice přímo analyzován. Vizualizace vícerozměrných dat ukazuje, že krusta je tvořena sacharidovými (hexosovými) řetězci, což bylo potvrzeno i MALDI-MS analýzou extraktu této krusty. Pravděpodobně se tedy jedná o pozůstatek rostlinných vláken – textile, kterou mohl být bronzový artefakt omotán. Na povrchu bronzového nýtu pak byly pomocí GC/MS nalezeny deriváty mastných kyselin a cholesterolu. Z těchto zjištění autorka práce usuzuje, že nádoba, jejíž součástí byl zkoumaný nýt, pravděpodobně sloužila k uchovávání potravin na bázi živočišných tuků.

Závěr práce pak shrnuje poznatky komentované v diskuzní části.

Práci hodnotím jako povedenou jak po formální, tak po obsahové stránce. Obsahuje menší množství překlepů a stylistických nedokonalostí, např. „Následne bola aplikovaná matrica (THAP) na vzorky.“, či nesprávné použití velkých písmen („Sluneční symbol“, „Čínský papír“), které byly vyznačeny přímo v práci. Celkově však textu neubírají na srozumitelnosti. Je psána v logickém sledu na dobré vědecké úrovni a její výsledek je přínosný pro pracoviště, vzhledem k tomu, že archeologický výzkum je v současnosti jedním z dominantních směrů, kterému se věnují laboratoře GC/MS a LC/MS na Katedře analytické chemie. Vyvinutý postup pro extrakci markerů potravin bude do budoucna využíván pro analýzu neznámých archeologických vzorků a rovněž možnost

přímé LDI-MS analýzy povrchů otevírá nové možnosti pro zkoumání archeologických artefaktů. K recenzované práci mám následující připomínky, resp. dotazy:

- Popisky obrázků nejsou v práci ukončeny tečkou.
- Seznam zkratk bych doporučil seřadit podle abecedy pro zjednodušení vyhledávání.
- U zkratk „EPMA“ a „SEM-WDS“ by v seznamu prospělo uvedení plného názvu podobně jako např. u zkratk „MRM“ a „TIC“ – ze slovenského překladu nevyplývá originální význam zkratky; na obhajobu autorky je však nutno uvést, že v přímo v textu práce je při zmínce těchto zkratk uveden i plný anglický výraz.
- Str. 12: Datace pravěku a starověku se podle uvedených letopočtů překrývá.
- Str. 13: Vysvětlete, prosím, význam pojmu „letecká archeologie“.
- Str. 14: V textu uvádíte: „Absorpce fluoru... může poskytnout údaj, který nám dopomůže ke zjištění věku kostního pozůstatku“. Je tím míněno stáří nálezu, nebo stáří jedince?
- Str. 14: Mohla byste, prosím, popsat rozdíl mezi jantarem a gagátem?
- Str. 15: Jakým způsobem je možné podle uvedených analytických metod zjistit teplotu při spalování keramiky (citace 12)?
- Str. 21: Při zmínce o Rayleighově a Ramanově rozptylu by bylo vhodné uvést rozdíl mezi nimi.
- Str. 27: V tabulce I uvádíte jako aplikace jednotlivých matic především biomolekuly. Jsou tyto matrice použitelné i pro analýzu malých molekul (např. metabolitů), popř. jaké jsou v tomto případě vhodné matrice?
- Str. 30: Co konkrétně bylo v případě analýzy kosmetiky předmětem výzkumu (typ vzorku)?
- Str. 38: Při popisu hmotnostního spektrometru je v obou případech uveden typ Agilent 5975C. Vzhledem k tomu, že v jednom případě se má jednat o jednoduchý kvadrupól a v druhém případě o trojitý kvadrupól, předpokládám, že došlo k chybě označení jednoho z přístrojů.
- Str. 39: Jak v kapitole 3.2.1, tak v kapitole 3.2.2 uvádíte, že MRM měření probíhalo s využitím kolizní energie 20 eV. Byla tato hodnota nějak optimalizována?
- Str. 39: Kapitola 3.3 má velmi obecný název („Postup“). Vhodnější by byl konkrétnější název, např. „Předpříprava vzorků“.
- Str. 40: Zatímco v postupu 1 byl pomocí MALDI analyzován jak methanolický, tak chloroformový extrakt povrchu keramiky, v postupu 2 byla použita pouze vodně-acetonitrilová fáze a ne hexanová. Můžete tento postup zdůvodnit?

- Str. 42: V textu píšete: „...kapalný podíl methanolu byl přenesen do nové nádoby...“ a následně pak „Dekantované podíly byly odfoukány...“. Znamená to, že tento „přenos“ probíhal dekantací jednotlivých rozpouštědel?
- Str. 46: Na obrázku 6 je vidět velmi malý pík kyseliny gallové, který z mého pohledu hraničí se šumem. Máte k dispozici hodnotu S/N pro tuto kyselinu v dané analýze?
- Str. 46: Proběhlo v rámci analýzy hlíny z nádob pomocí MALDI-MS také srovnání přímo se spotovanými extrakty použitých potravin? Pokud ne, proč?
- Str. 52: V nádobě číslo 4 byly identifikovány mastné kyseliny a fytosteroly, jejichž výskyt byl vysvětlen jako důsledek přítomnosti konopného oleje v nádobě. Bylo by možné na základě přítomnosti těchto konkrétních látek, příp. jejich poměru odlišit např. jednotlivé druhy rostlinných olejů (lněný, konopný apod.)?
- Str. 54: Mastné kyseliny byly nalezeny také v referenčním vzorku. Je pravděpodobnější, že se jednalo o kontaminaci, nebo je možné, že nález byl zapříčiněn např. vzlínavostí tuků v hlíně v nádobě?

Přes uvedené připomínky autorka danou problematiku zvládla po teoretické i experimentální stránce a proto po zodpovězení výše uvedených dotazů tuto práci **doporučuji** k obhajobě.

V Olomouci 6. 5. 2018

RNDr. Ondřej Kurka, Ph.D.
recenzent