

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE

Využití analytické chemie pro studium hmotného kulturního dědictví
HABILITAČNÍ PRÁCE - ERRATUM

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE

Využití analytické chemie pro studium hmotného kulturního dědictví
HABILITAČNÍ PRÁCE

RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

Olomouc 2024

Prohlašuji, že jsem habilitační práci vypracoval samostatně a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Olomouci dne. 04. 03. 2024

Podpis 

Na tomto místě chci poděkovat všem, kteří mě podporovali či stále podporují v mém badatelském a pedagogickém snažení. V první řadě děkuji svému učiteli a kolegovi panu docentu Petru Bednářovi, který mi předal cenné rady a naučil mě správné organizaci vědecké práce, která je občas „zavalující“. Dále děkuji kolegům, kteří vytvářejí příjemné tvůrčí a přátelské prostředí, kteří mi pomáhají lidsky i profesionálně a jsou mi inspirací i vzorem. Poděkování patří také mým studentům, kteří se svou pilnou a poctivou prací na nejrůznějších tématech posouvají výzkumy rychlým krokem kupředu. Velké poděkování také patří mé rodině a ženě Pavle za toleranci, lásku a pochopení.

Obsah

Abstrakt.....	6
Seznam použitých zkratek	7
1. Úvod	9
2. Interdisciplinární přístup	10
3. Multimodální přístup.....	19
4. Destruktivní vs. nedestruktivní přístup.....	28
5. Závěr.....	40
6. Literatura	41

Abstrakt

Aplikace přírodovědných analýz pro studium hmotného kulturního dědictví má velmi dlouhou tradici a v posledních několika desetiletích je toto propojení nedílnou součástí archeologie. V této práci je převážně diskutováno zapojení analytické chemie pro studium vzorků hmotného kulturního dědictví. Práce je dělena na tři samostatné kapitoly, jako je Interdisciplinární přístup, Multimodální přístup a Destruktivní vs. nedestruktivní přístup. Ač jsou kapitoly diskutovány samostatně, tak jsou navzájem velmi úzce propojeny a analýza hmotného kulturního dědictví je tedy významně závislá na vzájemné komunikaci, na jejímž základě dojde k využití nejvhodnější analytické techniky od nedestruktivních postupů k těm invazivním a destruktivním.

Seznam použitých zkratk

AFM	mikroskopie atomárních sil
AL	akcentovaná linie
ASAP-MS	hmotnostní spektrometrií s přímou sondou
ASAP-IM-MS	ASAP-MS v kombinaci s iontovou mobilitou
CO	Cribrá orbitalia
DM	digitální mikroskopie
dtm	odchylka od teoretické hmotnosti
EDJ	rozhraní mezi zubní sklovinou a dentinem
FIA/ESI-MS	průtoková injekční analýza s hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GC/MS	plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem
LDI-MS	hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí/ionizací
LM	mikroskopie ve viditelném světle
MALDI-MS	hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí/ionizací za přítomnosti matrice
MRM	monitorování vícenásobných reakcí
PB	pruská modř
PCA	analýza hlavních komponent
py-GC/MS	GC/MS s pyrolýzní jednotkou
Q-TOF	hmotnostní analyzátor ve spojení kvadrupól-měření doby letu
RGB	barevné zobrazení, R červená, G zelená, B modrá
RM	Ramanova mikrospektroskopie
RT	retenční čas
SEM/EDS	skenovací elektronová mikroskopie s energiově-disperzní rentgenovou spektroskopií

SIM	monitoring vybraných iontů
TAG	triacylglycerol
XPS	rentgenová fotoelektronová spektroskopie
XRF	rentgenová fluorescenční spektroskopie
μ -XRPD	rentgenová prášková mikrodifrakce

1. Úvod

Analytická chemie v analýze hmotného kulturního dědictví má velmi dlouhou tradici. Zejména stanovení chemického složení kovových archeologických artefaktů bylo využíváno již před více jak 200 lety, a to především pro účely klasifikace materiálu. Jako jeden z příkladů může být uvedena kvantitativní analýza římských mincí Martinem Heinrichem Klaprothem v Berlíně v roce 1799 (pozn. tento chemik je známý spíše jako objevitel prvku uranu). Materiálová chemická analýza například také pomohla dánskému archeologovi Christianu Jurgensen Thomsenovi ve dvacátých letech 19. století formálně zavést třístupňový systém pravěké archeologie - dobu kamennou, dobu bronzovou a dobu železnou.

V roce 1958 se poprvé objevil termín „vědecky podložená archeologie“ (z angl. science-based archaeology) neboli také archeometrie. Termín archeometrie je v posledních několika desetiletích hojně využíván a většinou archeologů označován za nepostradatelnou a nedílnou součást archeologie. V přírodovědných analýzách pojem "archeometrie" označuje převážně vývoj a použití přírodovědných metod s cílem přispět k rozvoji archeologie a pochopení socio-ekonomických vztahů lidské populace v minulosti.

Tato práce je věnována využití analytické chemie při analýze hmotného kulturního dědictví. Práce vychází ze souboru dvanácti publikací [I-XII] uvedených v příloze, které vznikly v laboratořích na katedře analytické chemie, Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Jejím cílem je poukázat na tři základní přístupy aplikované při analýze unikátních vzorků. Dvě práce IX a XII vznikly v rámci spolupráce se studenty středních škol při přípravě práce SOČ. Obě studentky takto dokázaly kromě práce SOČ také napsat plnohodnotný vědecký článek a v příslušných publikacích jsou uvedeny jako prvoautorky.

2. Interdisciplinární přístup

Archeometrické projekty se zaměřují na relevantní archeologické otázky, k nimž se snaží přispět získáním nových poznatků. Problémem může být položení archeologické otázky v takové formě, aby na ní bylo možné odpovědět přírodními vědami. Nicméně, následně je nutné získaná přírodovědná data převést zpět do takové podoby, aby je bylo možné interpretovat humanitními obory. Intenzivní a neustálá výměna informací mezi přírodovědnými a humanitními obory je tedy zásadní pro pokládání správných otázek a interpretaci získaných dat¹.

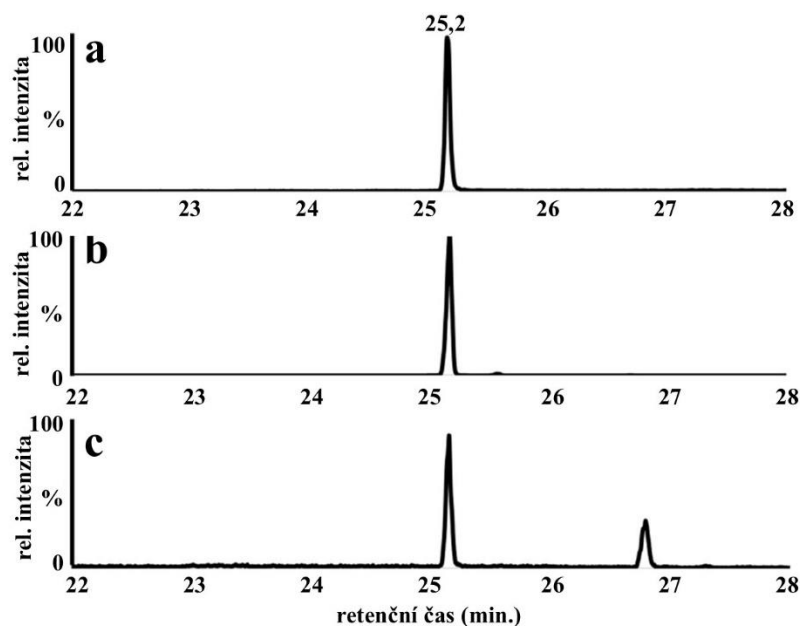
Práce I-IV popisují využití interdisciplinárního přístupu pro získání relevantních dat, díky kterým bylo možné detailně interpretovat archeologický kontext a přinést zásadní informace pro současnou archeologii.

V publikované práci I byla cílem výzkumu chemická analýza výplně archeologické nádoby (záchranný výzkum v blízkosti obce Držovice; okres Prostějov) datované do období eneolitu. Vzorky z výplně nádoby (tj. hlína z hrdla a horní části výdutí) byly extrahovány postupně čtyřmi různými rozpouštědly, tj. vodou, 0,05% hydroxidem amonným v methanolu, 1% kyselinou mravenčí v methanolu (obě v/v) a acetonem. Všechny extrakty byly analyzovány pomocí plynové chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) a hmotnostní spektrometrií s přímou sondou (ASAP-MS). Ve srovnání s GC/MS (standardní technika pro detekci středně polárních a nepolárních látek z archeologických vzorků), technice ASAP-MS nepředchází chromatografická separace, ale díky kombinaci s tandemovou vysoko-rozlišující hmotnostní spektrometrií je možné měření přesné hmoty (m/z). To nám následně umožňuje stanovit prvkové složení látek, které má klíčový význam pro spolehlivou identifikaci analytu (mimo srovnání s autentickým standardem).

Pomocí GC/MS byl v chromatogramu vzorku hlíny detekován intenzivní signál m/z 440 (retenční čas 25,2 min.). Tato sloučenina byla identifikována jako rostlinný triterpenoid miliacin, který je popisován jako biomarker prosa setého (*Panicum miliaceum*). Je nutno zmínit, že tento signál nebyl nalezen ani v první a ani v druhé vrstvě půdy odebrané z nádoby (tzn. horní vrstvy). Tato skutečnost vylučuje křížovou kontaminaci vzorků půdy z okolí. Na tomto místě je tedy nutné zmínit, že měření vhodných referenčních vzorků je tedy zásadní pro analýzu archeologických vzorků.

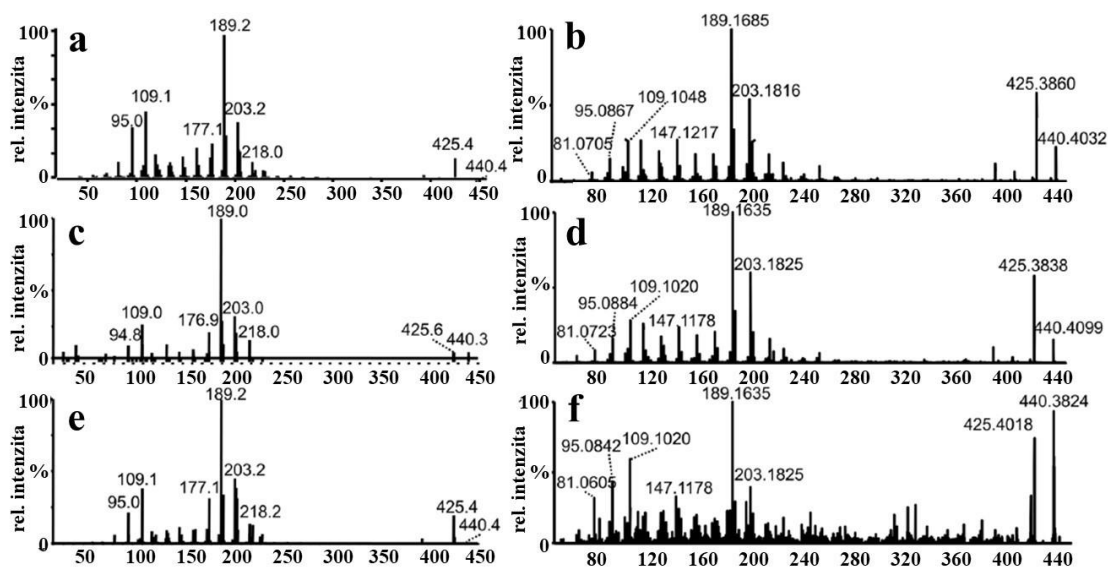
¹ Herrman, B., Wagner, G.A. Natural Science in Archaeology, Springer, Berlin 2009, DOI: 10.1007/978-3-540-87438-6

Identifikace této sloučeniny byla založena na hodnotě m/z , porovnání s autentickým standardem, extraktem z prosa setého (hodnota m/z a retenční čas) a údajů z literatury (Obr. 1).



Obr. 1: Chromatogram standardu miliacinu (a), miliacin v prosu (b), neznámá sloučenina z výplně keramické nádoby (c).

Jednoznačné určení přítomnosti prosa není založeno pouze na přítomnosti miliacinu, ale také dalších pentacyklických triterpenů. Monitorování vícenásobných reakcí (MRM), tj. $440 \rightarrow 189$, detekovalo další dva píky (RT 27,3 a 30,0 min) ve vzorku, jejichž obsah byl výrazně nižší ve srovnání s miliacinem. Nicméně při monitoringu vybraných iontů (SIM) m/z 189 a 218 byla potvrzena přítomnost těchto fragmentů v látkách s RT 27,3 a 30,0, čímž byla potvrzena struktura pentacyklických triterpenů. Naměřená MS/MS spektra miliacinu identifikovaného ve vzorku dále potvrzuje jeho identitu (Obr. 2a,c,e).



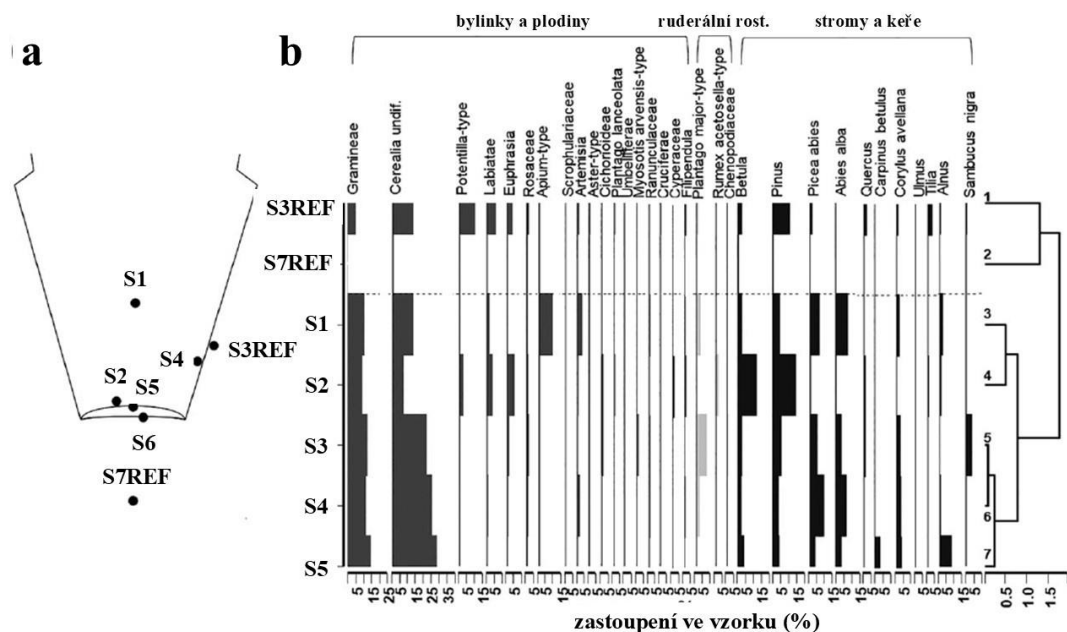
Obr. 2: Fragmentační spektra standardu miliacinu (a - GC/MS, b - ASAP-MS), miliacinu v prosu (c - GC/MS, d - ASAP-MS) a látky detekované ve výplni keramické nádoby (e - GC/MS, f - ASAP-MS)

V popisovaném článku byla také jako první využita technika ASAP-MS pro analýzu archeologického materiálu. Získané výsledky potvrzují přítomnost miliacinu ve vzorku (Obr. 2b,d,f). Technika ASAP-MS v použitém uspořádání (tj. v kombinaci s Q-TOF hmotnostním analyzátozem) poskytla informaci o přesné hodnotě m/z miliacinu v archeologickém vzorku, která silně podporuje jeho identifikaci (naměřena m/z 440,3824 má relativně malou odchylkou od jeho teoretické hmotnosti, dtm, 0,0194 Da, $C_{31}H_{52}O$). Nejdůležitější fragmenty detekované ve spektru jsou hodnoty m/z 203,1825 ($C_{15}H_{23}^+$, dtm 0,0025 Da), 189,1635 ($C_{14}H_{21}^+$, dtm - 0,0008 Da) a 109,1020 ($C_8H_{13}^+$, dtm - 0,0003 Da), které lze vysvětlit jako štěpení uhlovodíkového skeletu triterpenoidů (2,4a,7,7-tetramethyl-1-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahydronaftalen-yl, 2,7,7-trimethyl-1-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-oktahydronaftalen-ylum a protonizovaný 5,5-dimethyl-cyklohexa-1,3-dien). ASAP-MS má velký potenciál při analýze archeologického materiálu díky vysoké citlivosti a možnosti měření přesné hmoty (v konfiguraci s vysokorozlišujícím hmotnostním spektrometrem), ovšem bez možnosti rozlišení polohových izomerů.

Získaná data byla následně vyhodnocena odborníky z oblasti archeobotaniky (kolegové z Laboratoře archeobotaniky a paleoekologie, Jihočeská univerzita). Dosavadní výzkumy poukazují, že používání prosa v Čechách a na Moravě mezi neolitem a střední dobou bronzovou jsou řídké a náhodné. Na druhou stranu, využívání

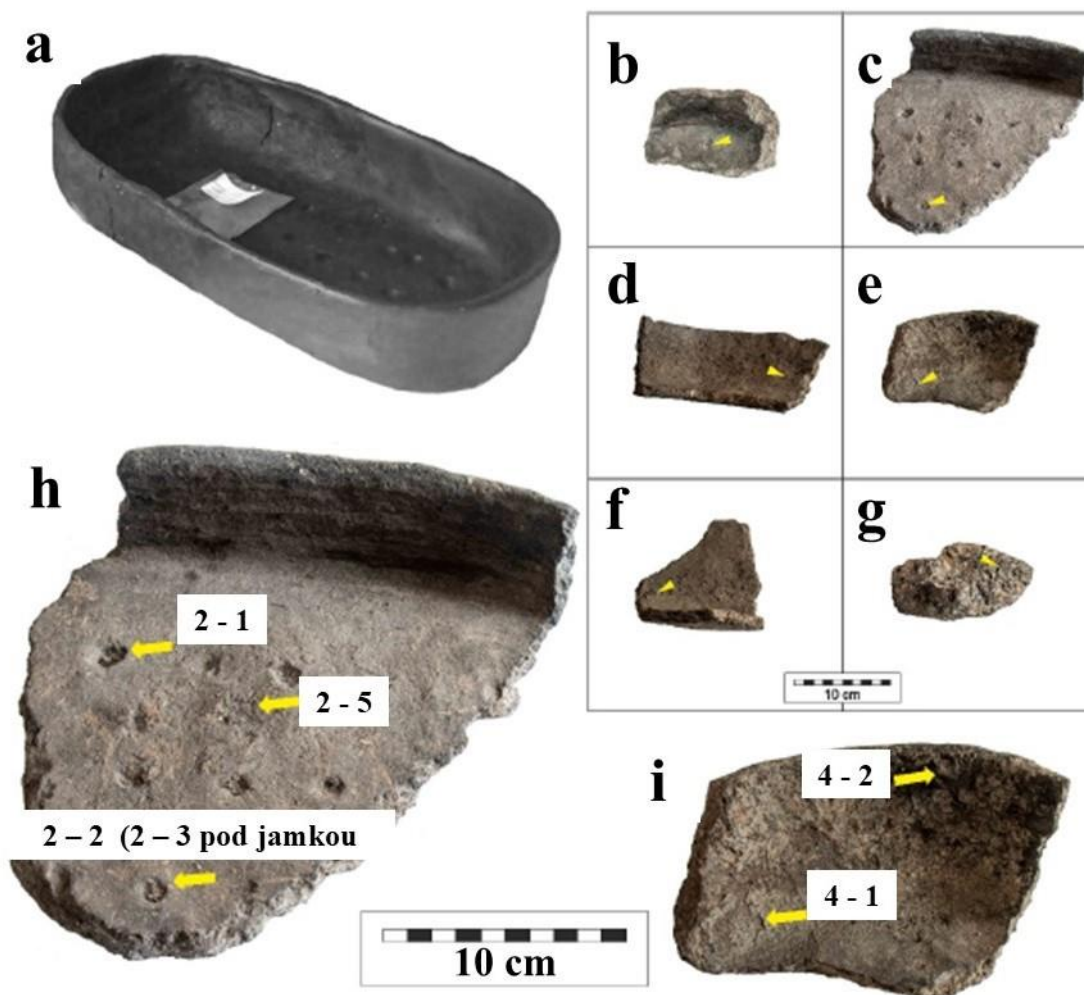
prosa se stalo běžnou praxí v průběhu střední doby bronzové (první objevy botanických zbytků prosa). Detekce biomarkerů prosa v pohřebním kontextu kultury se šňůrovou keramikou (Eneolit) je velmi důležitá a mimořádná, a je možné ji hodnotit jako první přímý důkaz využívání prosa ve střední Evropě.

Publikace II také popisuje detekci miliacinu pomocí GC/MS v archeologické nádobě a musíme říci, tento výsledek by bez dalších přírodních věd neposkytl důkaz nejstaršího bylino-prosného piva ve střední Evropě. Nejvýznamnější je palynologická analýza popisující přítomnost velkého spektra bylin a stromů (Obr. 3). Některé rody mají charakteristické vlastnosti (aroma, chuť, lékařské využití) a jsou známé jako přísady pro přípravu bylinných piv. Dále archeobotanická analýza škrobových zrn pomocí optické mikroskopie v polarizovaném světle poukázala na tepelné a kvasné procesy v minulosti. Kombinace výsledků z přírodovědných analýz tedy poskytla informaci o bylino-prosné směsi, která byla vystavena „mokrému“ teplu (vaření) a kvasnému procesu. Přenesení tohoto výsledku do archeologie a kulturní antropologie poukázalo na jistou podobnost s izolovanými africkými kmeny, kde se do současnosti vyrábí prosné pivo dle historických postupů. To následně vedlo k závěru, že nádoba obsahovala podobný nápoj.



Obr. 3: Odběrová místa pro palynologickou analýzu (a; S1 – výplně ve střední části, S2 – dno, S3REF – vnější povrch, S4 – vnitřní povrch, S5 – horní bronzový kryt dvojitého dna; S6 – spodní bronzový kryt dvojitého dna, S7REF – písek z okolí), pylový diagram (b)

Interdisciplinární přístup je nejlépe patrný na publikaci III, která je zaměřena na analýzu archaeobotanických a organických reziduí ze 7000 let starých keramických pekáčů (Obr. 4).

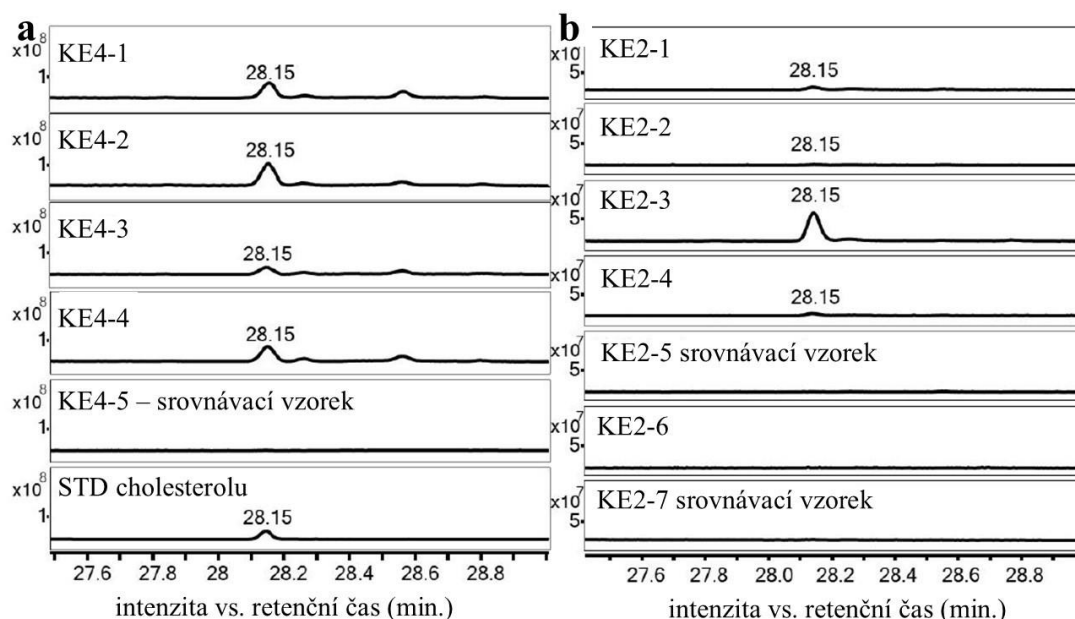


Obr. 4: Rekonstruovaný keramický pekáč KE7 (a), odebrané vzorky KE1 (b), KE2 (c), KE3 (d), KE4 (e), KE5 (f), KE6 (g), detail KE2 (h) a KE4(i).

GC/MS analýza organických reziduí odebraných z povrchu keramických pekáčů KE1-KE7 prokázala přítomnost živočišné složky bohaté na tuky na základě signálu cholesterolu (Tab 1). Identifikace cholesterolu byla potvrzena na základě srovnání s autentickým standardem cholesterolu, retenčním časem a fragmentačním spektrem (Obr. 5). Nejvýznamnějším vzorkem z keramických pekáčů byl vzorek KE4, kde byly nalezeny silné vrstvy připálené hmoty. Obsah cholesterolu v těchto vzorcích se pohyboval v rozmezí $0,44 - 0,66 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (v referenčním vzorku z horního okraje pekáče byla koncentrace cholesterolu pod $0,01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Tento významný rozdíl v koncentraci

cholesterolu ve vzorcích KE4 vylučuje křížovou kontaminaci z okolí. Vzorky z KE4 byly také analyzovány pomocí imunologických testů pro detekci denaturovaných proteinů. Tyto testy nejsou standardně vyráběny pro archeologickou praxi, ale v případě dodržení přesných postupů výrobce, je možné využít testy pro detekci alergenů. Vzorek KE4-2 (s vysokou koncentrací cholesterolu), poskytl pozitivní reakci na vepřové proteiny. Pozitivní reakce však byla zjištěna také u referenčního vzorku KE4-5. Na základě těchto výsledků byl proveden test kontaminace na vepřové bílkoviny. Testy poukázaly na rozdíly ve vepřových proteinech u vzorků KE4-2 a KE4-5. Proteiny ve vzorku KE4-2 byly denaturovány při vysokých teplotách, zatímco u vzorku KE4-5 se vyskytovaly pouze nativní vepřové proteiny (pravděpodobně z vepřové kejdy).

Vedle cholesterolu byly ve vzorcích detekovány pomocí GC/MS také látky poukazující na přítomnost rozloženého dřeva/pryskyřic, tj. 18-norabietan (RT 16,65 min.) a reten (RT 18,64 min.). Tyto látky byly detekovány také v referenčním vzorku, avšak intenzita signálu byla 2-32krát nižší.

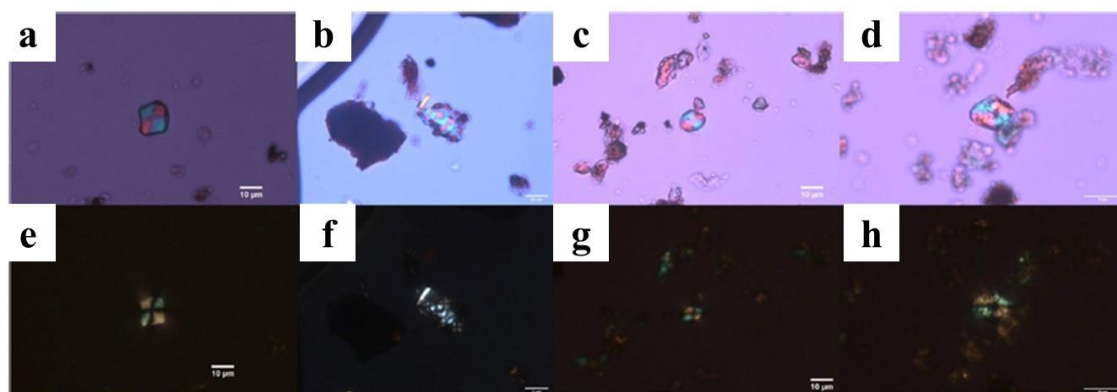


Obr. 5: GC chromatogram standardu cholesterolu a látky ve vzorcích odebraných z keramických pánví KE4 (a) a KE2 (b)

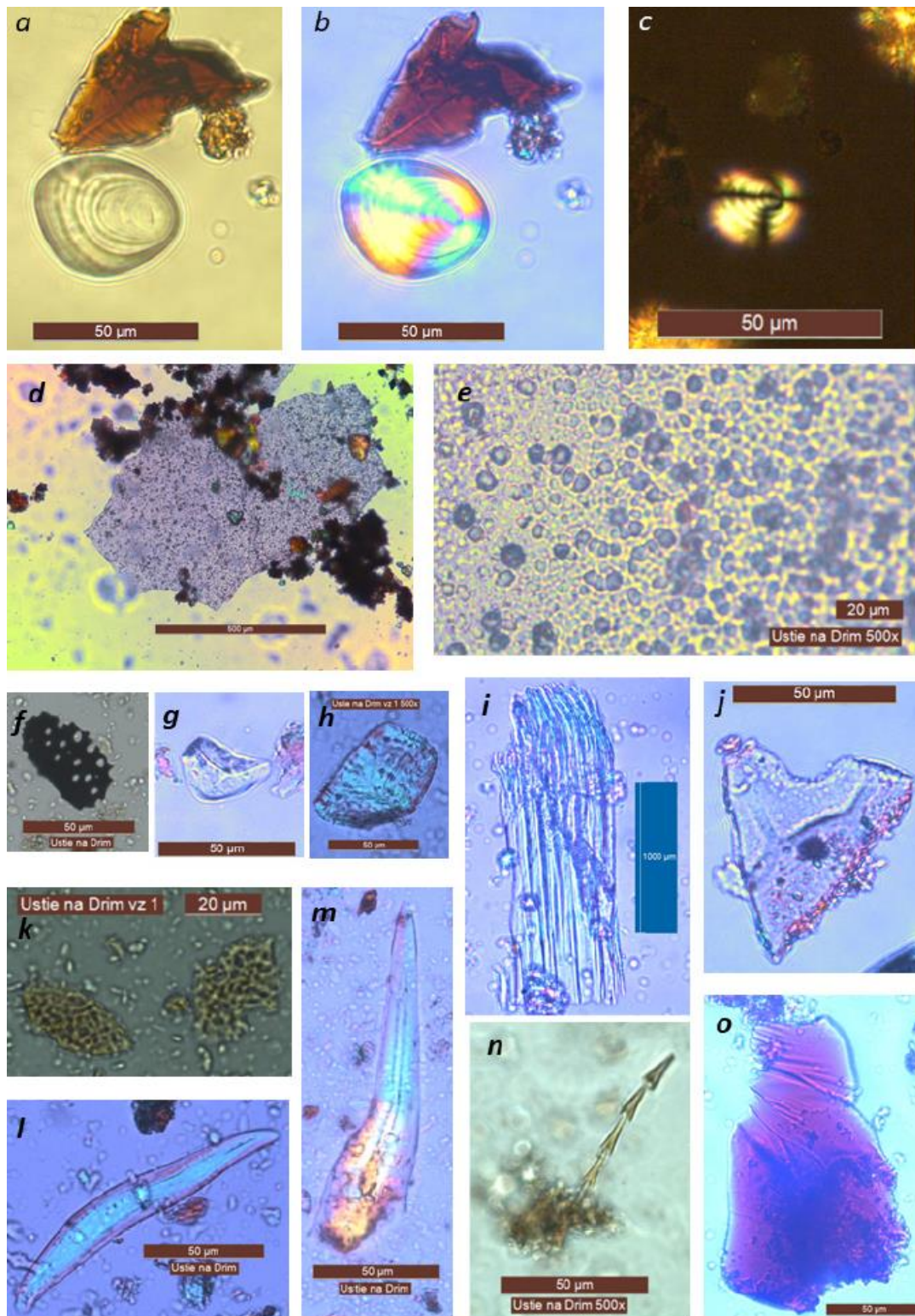
Tab. 1. Seznam analyzovaných vzorků se zaměřením na koncentraci cholesterolu, identifikaci škrobových zrn, fytolitu a mikrozbytků. SP: vzorek byl odebrán k mikroskopickému vyhodnocení; pozitivní: byl nalezen mikroobjekt; negativní: nebyl nalezen mikroobjekt).

Artefakt	Vzorek	Koncentrace cholesterolu (mg.g ⁻¹)	Fytolity a nepylvé objekty	Škrob	Pozice vzorku v pekáči
KE1	1	0,05	-	-	jamka (reziduum)
KE1	2	0,08	-	-	jamka (keramika pod KE1-1)
KE1	3	0	-	-	okraj, srovnávací vzorek
KE1	SP1	-	pozitivní	pozitivní	jamka
KE1	SP2	-	-	pozitivní	okraj
KE2	1	0,03	-	-	jamka (reziduum)
KE2	2	0,01	-	-	jamka (keramika pod KE2-1)
KE2	3	0,92	-	-	jamka (reziduum)
KE2	4	0,04	-	-	jamka (keramika pod KE2-3)
KE2	5	0	-	-	dno, srovnávací vzorek
KE2	6	0	-	-	vnitřní povrch (organická vrstva)
KE2	7	0,01	-	-	vnější povrch (srovnávací vzorek)
KE2	SP3	-	-	negativní	jamka
KE2	SP4	-	-	-	jamka
KE2	SP5	-	-	pozitivní	okraj
KE3	1	0,02	-	-	vnitřní povrch (blízko dna, připálená hmota)
KE3	2	0,13	-	-	vnitřní povrch (pod okrajem, připálená hmota)
KE3	3	0,01	-	-	vnitřní povrch (keramika pod KE3-1)
KE3	4	0,34	-	-	vnitřní povrch (keramika pod KE3-2)
KE3	5	0,04	-	-	okraj (srovnávací vzorek)
KE3	SP6	-	pozitivní	pozitivní	jamka
KE3	SP7	-	-	negativní	jamka
KE4	1	0,44	-	-	vnitřní okraj (blízko dna, připálená vrstva)
KE4	2	0,66	-	-	vnitřní okraj (blízko horní části, připálená vrstva)
KE4	3	0,19	-	-	vnitřní okraj (keramika pod KE4-1)
KE4	4	0,46	-	-	vnitřní okraj (keramika pod KE4-2)
KE4	5	0,01	-	-	okraj (srovnávací vzorek)
KE4	SP8	-	pozitivní	pozitivní	jamka
KE4	SP9	-	-	pozitivní	jamka
KE5	1	0,09	-	-	vnitřní okraj (blízko spodní části, tenká vrstva)
KE5	2	0,24	-	-	vnitřní okraj (v blízkosti KE5-1)
KE5	3	0,02	-	-	vnitřní okraj (keramika pod KE5-1)
KE5	4	0,16	-	-	vnitřní okraj (keramika pod KE5-2)
KE5	5	0,01	-	-	okraj (srovnávací vzorek)
KE6	1	0	-	-	stěna (blízko horní části, připálená hmota)
KE6	2	0,02	-	-	stěna (blízko KE6-1)
KE6	3	0	-	-	okraj (srovnávací vzorek)
KE7	1	0,17	-	-	organická hmota (odebráno před konzervací)

Archaeobotanické analýzy prokázaly přítomnost různých druhů rostlin na základě přítomnosti škrobových zrn (Obr. 6) a fytolitů (Obr. 7). Přítomnost čeledi Lipnicovitých není jednoznačným ukazatelem využívání obilovin. Nicméně, ve vzorcích byly nalezeny chloupky larvy kožojedovitého brouka (*Trogoderma sp.*, Obr. 7n), který je hlavním škůdcem skladovaných produktů. Entomologická analýza přiřadila chloupek larvě *Trogoderma granarium* (Rušník obilní), která je hlavním škůdcem v obilí, luštěninách a výrobcích z nich. Kombinace pokročilé chemické analýzy s mikroskopickým hodnocením přineslo nové důkazy o životě pravěkých lidí. Nalezené keramické pekáče tedy byly pravděpodobně použity pro přípravu pokrmů obsahujících maso z běžných hospodářských zvířat v kombinaci s obilovinami a planě rostoucími rostlinami.



Obr. 6: Škrobová zrna Běru z keramického pekáče KE2-SP5 (a,e); škrobová zrna Orobince nalezená v KE4-SP9 (b, f); škrobová zrna Lipnicovitých z KE2-SP5 (c,g); škrobová zrna Dubu v KE2-SP5 (d,h) (snímky pořízeny ve viditelném světle (a–d); snímky v polarizovaném světle (e–h)).



Obr. 7: Mikrozbýtky ve vzorcích SP1 (h,i,k), SP6 (f,l-o) a SP8 (a-e,g,j). (a-c) pravděpodobně škrobové zrno z vyšších rostlin, Liliovitě; (d,e) struktura složená z malých sféroidních fytolitů; (f) fragment dřevěného uhlí; (g-k) fytolity; (l-o) jiné organické zbytky (pravděpodobně živočišné); (n) fragment chlupu larev kožojedovitého brouka. Zvětšení 500x (kromě d.i).

3. Multimodální přístup

V mnoha případech je chemická analýza pouze jednou technikou nedostačující a získaná data je možné brát jako jeden z dílků „skládačky“. Z tohoto důvodu je vhodné správně kombinovat moderní instrumentální metody pro dosažení co nejdětailsnějšího popsání, ve většině případů unikátního, vzorku. Publikace IV je zaměřena na rozbor surové barevné hmoty, která byla v 19. století používána pro přípravu fajánsů (Obr. 8). Je nutné zmínit, že v této době si každý toufar² hlídal své složení barevných směsí a jejich dílna připomínala spíše alchymistickou laboratoř.



Obr. 8: Surové hmoty fajánsů z 19. století nalezených v keramické nádobě (Prostějov)

V prvním kroku byla provedena geochemická analýza vzorků barevných směsí pomocí elektronové mikroskopie (Tab. 2). V případě bílého prášku byl nalezen výrazný obsah olova v rozmezí od 6 % do 18 % (m/m). S největší pravděpodobností se olovo vyskytuje ve formě oxidu z důvodu nízké koncentrace síry ve vzorku. Pozoruhodné je, že vysoké množství olova v různých formách bylo potvrzeno také pomocí LDI-MS v obou ionizačních módech, kde dominují signály klastrů s různým elementárním složením. Růžově zbarvený, jemnozrný, prášek obsahoval oxidy SiO_2 , Al_2O_3 , CaO , PbO a K_2O (dále (hydr)oxidy P_2O_5 , FeO , TiO_2 , MgO a Na_2O v množství <1 hmot. %). Modrý prášek obsahuje hojné krystaly barytu (analýza EDX), který je běžnou přísadou při výrobě fajánsů. Tento minerál plnil funkci jako tavidlo, pro zvýšení lesku glazury a snížení množství bublin při tavení. Zbývající hmota obsahuje také SiO_2 , Al_2O_3 , PbO a FeO a v menších nebo stopových množstvích také CaO , P_2O_5 , MgO , SrO nebo Na_2O .

Kromě SEM-EDX byla provedena ICP-MS analýza pro získání přesné koncentrace prvků ve studovaných práscích a za účelem odhalení původu barvy (Tab. 3.). Jedním z nejběžnějších červených pigmentů používaných v glazurách/fajánsech bývá hematit

² Řemeslník (hrcíř) vyrábějící fajánsové nádoby

α -Fe₂O₃ (resp. maghemit γ -Fe₂O₃), který způsobuje červené až hnědé odstíny v závislosti na podmínkách během vypalování. ICP-MS analýza poukázala, že barvivo v růžovém prášku je způsobeno sloučeninou železa, které se zde nachází v koncentraci 0,50 mg.g⁻¹, pravděpodobně ve formě hematitu. V minulosti se také využívala měď ve formě měďnatých nebo měděných nanočástic jako červené barvivo ve sklářství, ale množství Cu použité v takových případech bylo asi 100x větší než v červeném prášku z Prostějova (0,26 mg.g⁻¹).

Tab. 2: EDX výsledky tří vzorků fajansů (wt%)

#	Vzorek	Na	Mg	Al	Si	P	S	K	Ca	Ti	Fe	Sr	Ba	Pb
1	#1	0,98	0,17	8,52	65,21	0,05	0,22	2,42	0,22	-	0,94	ND	0,27	11,76
2	#1	0,85	0,27	6,40	66,54	0,05	0,15	1,87	0,27	-	1,30	ND	ND	18,13
3	#1	0,36	0,28	0,62	101,83	0,42	0,43	0,11	0,05	-	0,05	ND	ND	0,13
4	#1	1,37	0,69	9,21	75,92	0,54	0,65	2,16	0,33	1,45	1,70	ND	ND	6,59
1 (plocha)	#2	0,26	0,60	20,95	38,58	1,39	1,31	1,69	4,21	0,69	0,60	ND	ND	1,97
1 (plocha)	#3	0	0	4,23	9,17	0	8,51	0,04	0,83	-	1,33	0,19	20,34	9,22
3 (plocha)	#3	0,03	0,32	21,92	33,99	2,67	1,11	1,08	4,22	-	7,85	0,67	0,27	8,21
2 (baryt)	#3	-	-	-	-	-	17,81		0	-	0	0	52,60	0
4 (baryt)	#3	0	0	0	-	-	27,83	0	0	-	0	0	56,26	0

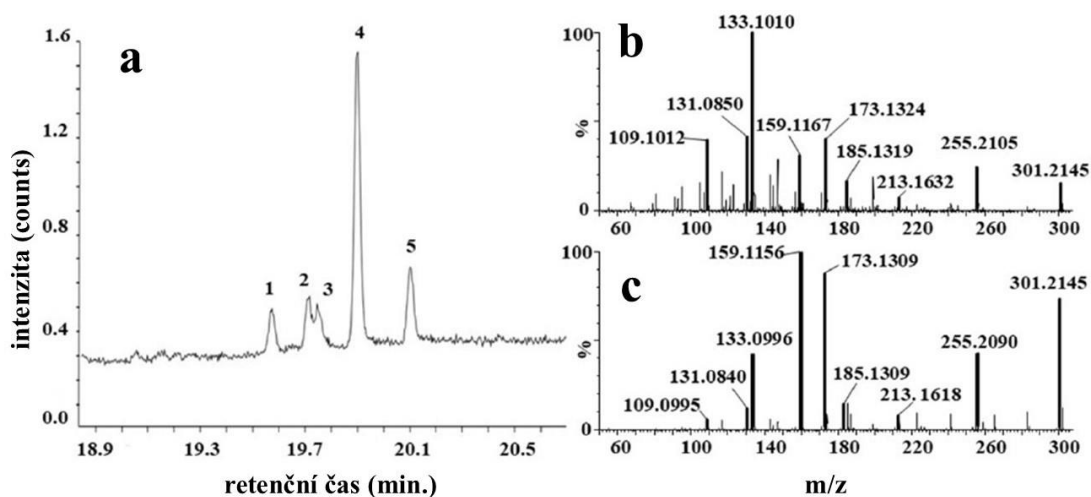
Tab. 3: ICP-MS výsledky v mg.g⁻¹

Vzorek	P	S	Ca	Na	Mg	Al	Si	K	Ti	V	Mn	Fe	Cu	Zn	Ga	Sr	Sn	Sb	Ba	Hg	Pb
1	0,3	0,6	<LOD	34,6	0,8	32	317	5,2	0,86	0,02	0,02	2,0	0,08	0,01	0,02	0,02	0,44	0,01	0,3	<LOD	6
2	3,2	3,3	4,4	1,1	1,3	51	223	4,0	0,07	0,03	0,01	0,5	0,26	0,02	0,22	0,15	0,02	0,05	4,3	0,01	35
3	0,6	14,0	14,0	1,2	0,6	11	101	0,9	0,04	0,03	0,03	4,0	0,13	0,10	4,84	3,52	0,17	0,10	86,0	0,43	232

U vzorku byla také provedena analýza za účelem potvrzení/vyvrácení přítomnosti organického pojiva. GC/MS s pyrolýzní jednotkou (py-GC/MS) prokázala přítomnost kyseliny abietové a pimarové ve vzorku růžové směsi (Obr. 9). Tyto látky jsou v přírodě významně zastoupeny v pryskyřici produkované jehličnany, např. borovice, modřín či smrk.

Pro detailní analýzu organických látek se zaměřením jak na polární, tak i nepolární látky, byla aplikovaná metoda ASAP-MS v kombinaci s iontovou mobilitou (ASAP-IM-MS). Tato metoda potvrdila přítomnost pryskyřice. Sloučenina s m/z 301,2145 (C₂₀H₂₉O₂⁺) odpovídá struktuře protonizované kyseliny dehydroabietové s odchylkou od teoretické hmotnosti (dtm) -2,3 mDa. Fragmentační spektra kyseliny dehydroabietové v růžovém prášku a autentického standardu jsou uvedena na obrázku 9b,c. Kromě signálů náležejících k pryskyřici byly ve vzorku detekovány signály

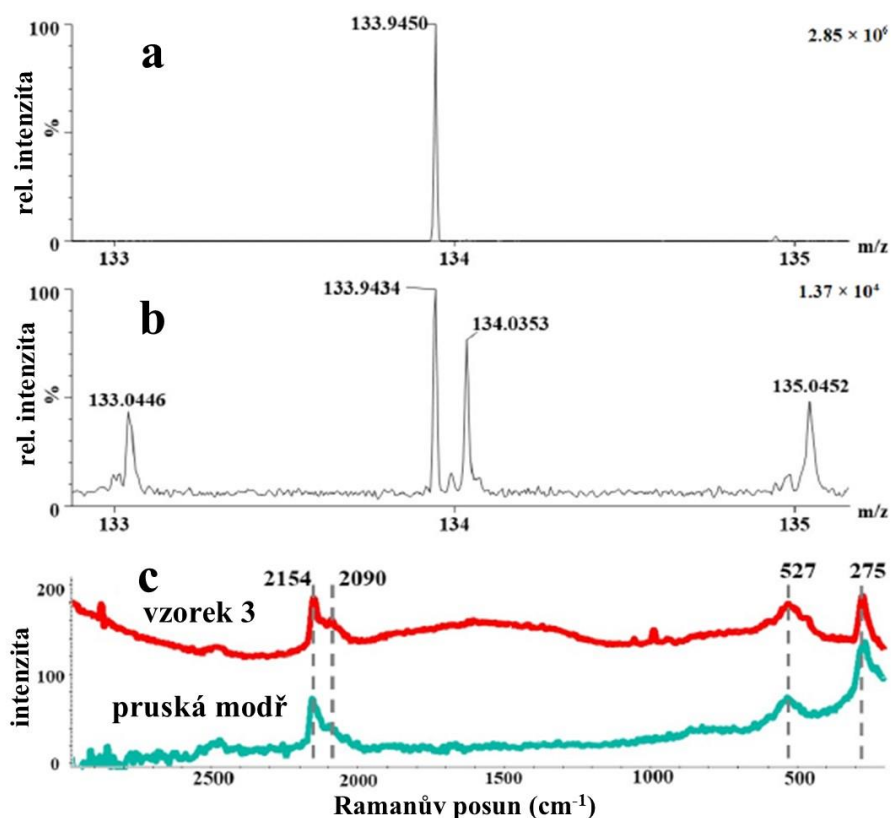
s hodnotou m/z 463,4858, 491,5186 a 519,5491 odpovídají látkám $C_{32}H_{63}O_1^+$, $C_{34}H_{67}O_1^+$, $C_{36}H_{71}O_1^+$. Tyto signály byly předběžně identifikovány jako degradované složky včelího vosku na základě srovnání s hmotnostním spektrem standardu. Důkazem přítomnosti včelího vosku byla molekula $C_{42}H_{83}O_2^+$ (619,6393 Da) s dtm $-0,8$ mDa indetifikována jako ester kyseliny palmitové, který je typickou složkou včelího vosku. Vedle těchto látek byly detekovány také diacylglyceroly s m/z 607,5640 ($C_{39}H_{75}O_4^+$; dtm $-2,5$ mDa; distearoylglycerol, SS), 579,5327 ($C_{37}H_{71}O_4^+$; dtm $-2,5$ mDa; palmitoyl-stearoyl glycerol; PS) a 551,4991 ($C_{35}H_{67}O_4^+$; dmt $-4,8$ dtm; dipalmitoylglycerol, PP). Tyto sloučeniny se běžně nacházejí v materiálech bohatých na tuky. Růžový prášek byl tedy pravděpodobně připravován podobným způsobem jako pigmenty pro tradiční olejomalby.



Obr. 9: Pyrogram růžového prášku (1: kyselina pimarová, 2: kyselina isopimarová, 3: neznámá sloučenina, 4: kyselina dehydroabietová a 5: kyselina abietová) (a); ASAP-IM-MS fragmentační spektra sloučeniny m/z 301,2152 v růžovém prášku (kolizní energie 20 V) (b) a ve standardu kyseliny dehydroabietové (kolizní energie 20 V) (c).

Při analýze modrého prášku se vycházelo z předpokladu, že modré barvy při výrobě glazury se běžně dosahuje přidávkem Cr, Co nebo Cu. Nicméně, ve vzorku prášku nebyl detekován žádný z výše uvedených prvků. Na základě výsledků ICP-MS obsahovala většina modrého prášku zvýšené množství železa (přibližně $4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), které by mohlo být zdrojem modrého zbarvení jako hexakynoželezitanový pigment $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, běžně známý jako pruská modř (PB). Přítomnost PB byla následně identifikována a prokázána pomocí průtokové injekční analýzy v kombinaci s hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem (FIA/ESI-MS) a Ramanovy spektroskopie.

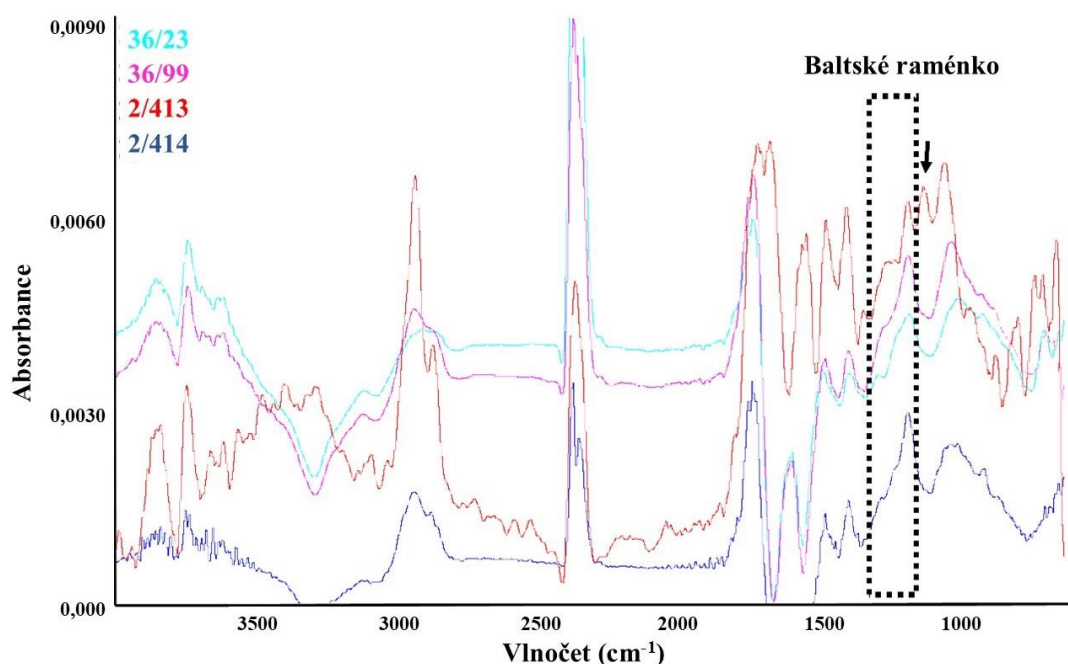
Spektrum FIA/ESI-MS standardu PB obsahovalo nejintenzivnější signál $[\text{Fe}(\text{CN})_3]^-$ při m/z 133,9443 (Obr. 10a). Stejný signál byl detekován také ve vzorku modrého prášku, tj. m/z 133,9434, $\text{dtm} -0,8 \text{ mDa}$ (Obr. 10b). Tyto výsledky byly následně podpořeny Ramanovými spektry referenčního materiálu a vzorku (Obr. 10c). V Ramanových spektrech byly nalezeny čtyři významné pásy, tj. 2154, 2090, 527 a 275 cm^{-1} . Vibrace při 2154 cm^{-1} a 2090 cm^{-1} odpovídají $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$ vibraci. Zbývající dva pásy při 527 a 275 cm^{-1} odkazují na vibrace vazby Fe–C a deformační vibrace vazby Fe–CN–Fe. Pomocí SEM-EDX a ICP-MS byl ve vzorku stanoven vyšší obsah síry, který pravděpodobně poukazuje na tradiční přípravu PB, tj. použití zeleného vitriolu ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) a sušené hovězí krve jako zdroje kyano a/nebo ferrokyanidových skupin.



Obr. 10: MS spektrum PB standardu (a) a připraveného extraktu ze vzorku modrého prášku (b), spektrum modrého prášku a standardu PB měřeno pomocí Ramanovy spektroskopie (c).

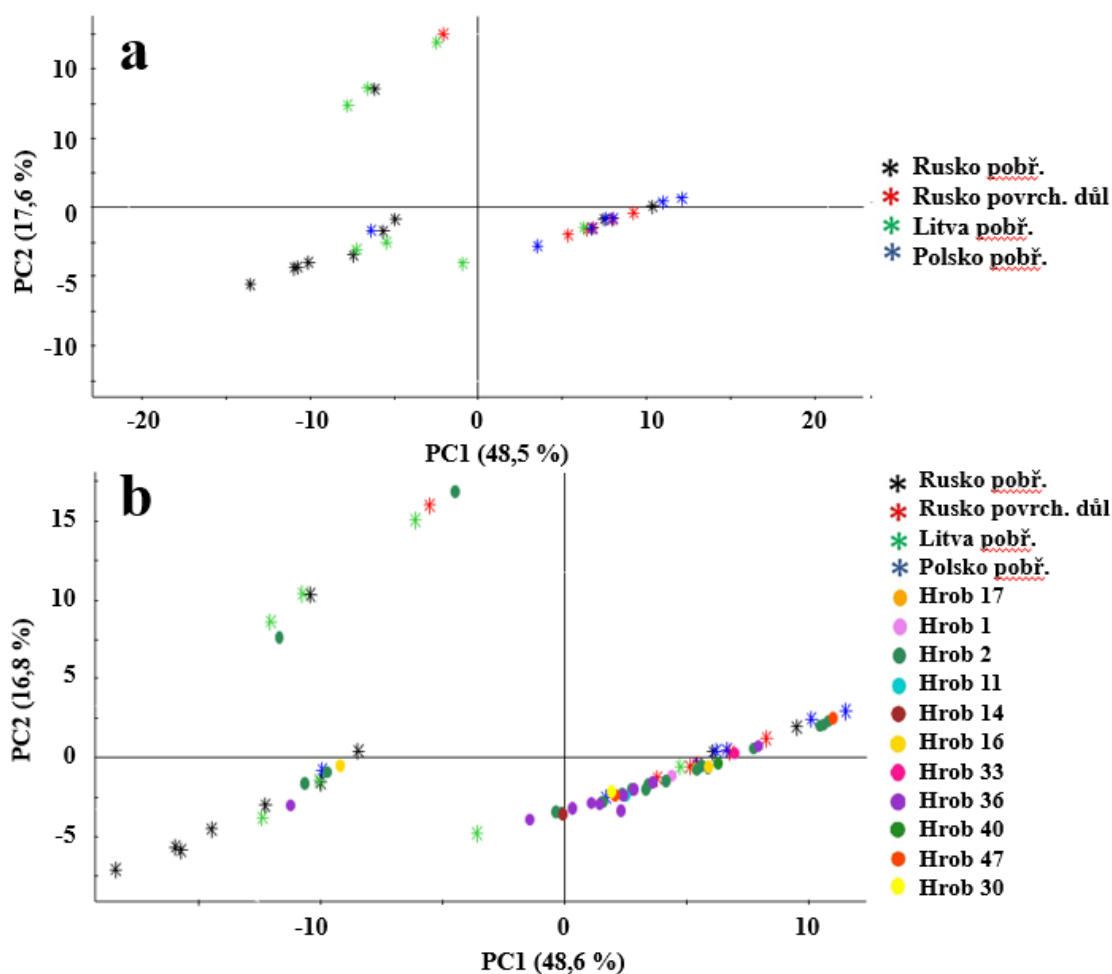
V publikacích V a VI je zdůrazněna nutnost aplikace série různých analytických technik pro stanovení původu jantarových artefaktů. Jantar, jak je známo, je fosilizovaná pryskyřice a její ložiska lze v podstatě nalézt po celém světě. Vznik jantaru

je ovlivněn mnoha faktory (druhem rostliny, stářím, geografickým podnebím atd.) a z tohoto důvodu se jednotlivé vzorky mohou lišit svými chemickými a fyzikálními vlastnostmi. V současné době se k analýze jantarových artefaktů využívá velká řada analytických technik, kde nejrozšířenější je infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR), u které je sledován pás s vrcholem při 1160 cm^{-1} a „raménkem“ od 1175 do 1250 cm^{-1} (signál je označován jako tzv. „Baltské raménko“) (Obr. 11)



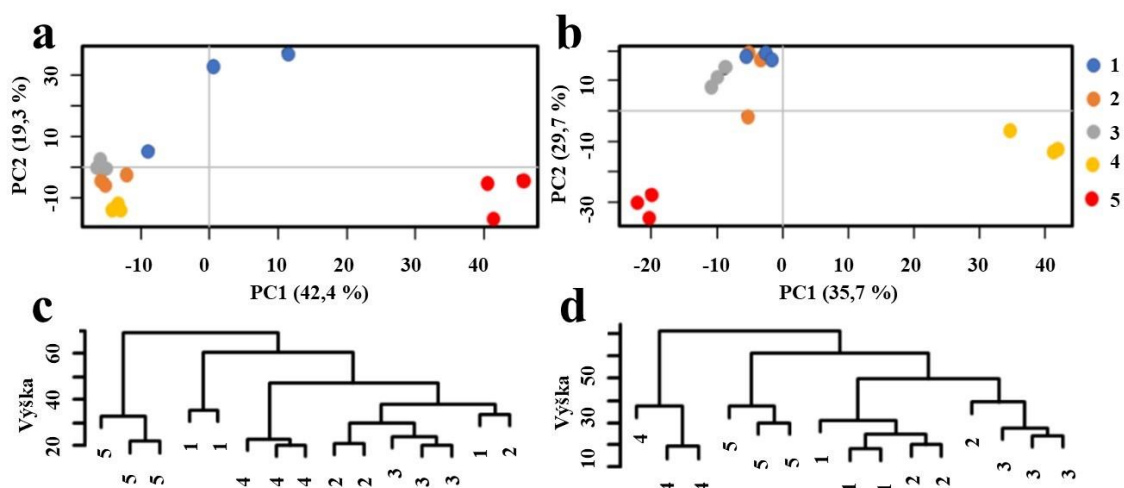
Obr. 11: Infračervená spektra jantarů z archeologického výzkumu v Mikulovicích u Pardubic

Pro podrobnější charakteristiku jantarů byla na našem pracovišti jako první aplikována LDI-MS v kombinaci s vícerozměrnou statistickou analýzou (analýza hlavních komponent, PCA). Předběžná data z LDI-MS analýzy surových jantarů z pobřeží Ruska (Donskoe), Litvy (Palanga) a Polska (Gdaňsk) a povrchového ruského dolu (Jantarny) poukázaly na chemickou podobnost vzorků z pobřeží Polska a ruského povrchového dolu (Obr. 12a). Do připraveného statistického modelu byla následně zahrnuta data z LDI-MS analýzy vzorků jantaru z lokality Mikulovice u Pardubic. V PCA modelu je patrná segregace dat ve směru první komponenty. Většina studovaných vzorků se nachází v klastru odpovídající lokalitám polského pobřeží a/nebo ruského povrchového dolu (Obr. 12b).



Obr. 12: PCA score plot vzorků surových jantarů z lokalit v blízkosti Baltského moře (a) a archeologické vzorky z lokality Mikulovice (b).

Statistická analýza, jako hlavní nástroj pro nalezení významných rozdílů v datech, byla aplikována také v publikaci VII. Extrakty ze dvou výplní nádob byly analyzovány pomocí hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací za přítomnosti matrice (MALDI–MS) a naměřená data byla následně vyhodnocena pomocí statistických metod jako je PCA, klastrová analýza a ortogonální projekce do latentních struktur – diskriminační analýza (OPLS-DA) (lokalita a postup extrakce je stejný jako v publikaci I). Z obrázku 13 je patrné, že vzorky hlíny ze dna (tj. vrstvy 4 a 5) se výrazně liší od vzorků hlíny z horní části nádoby. Tento výsledek nám ukazuje výraznou změnu chemického složení horních a spodních částech výplně nádob. Ke studiu podobnosti konkrétních vrstev bylo použito hierarchické shlukování. Obrázek 13c,d ukazují dendrogramy vztahů mezi měřenými vzorky z keramických nádob č. 4 a 5.



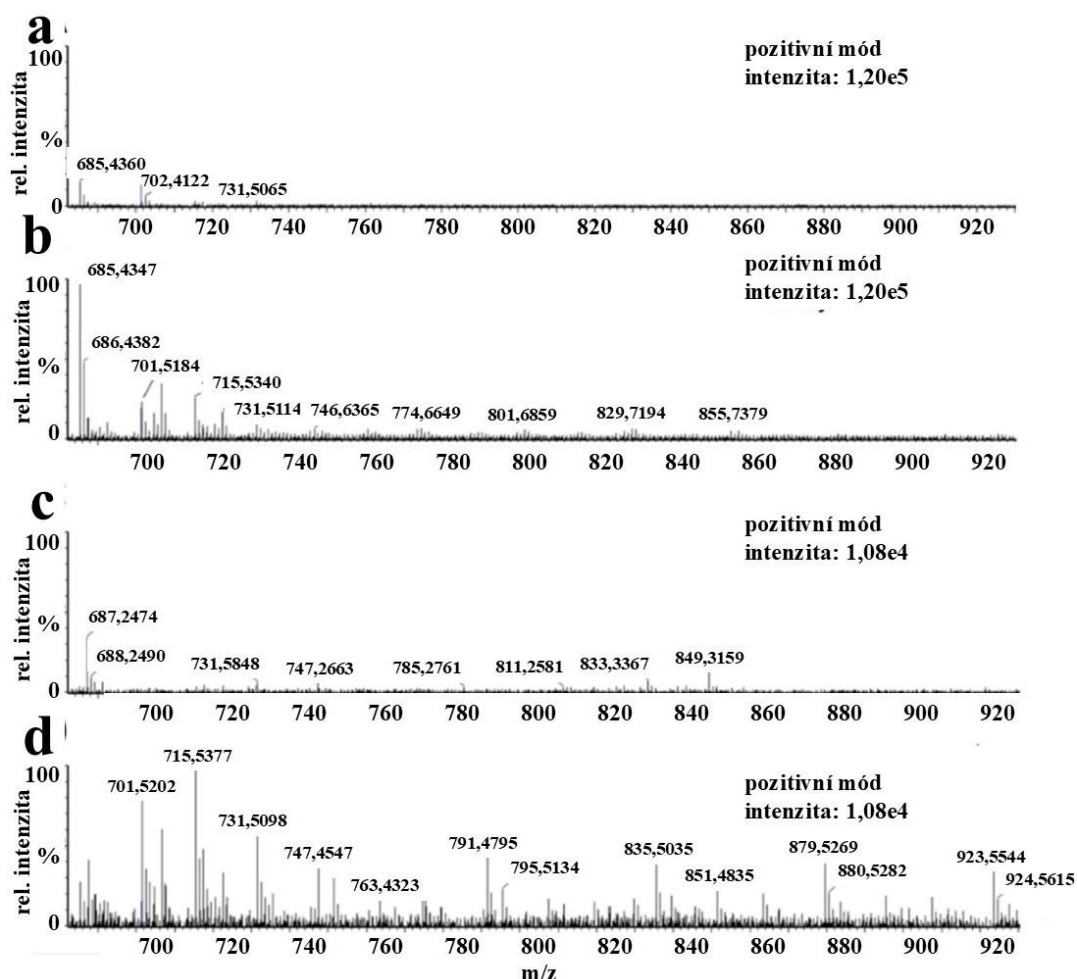
Obr. 13: PCA analýze MALDI-MS dat z acetonových extraktů hlíny a dendrogramy pro nádobu č. 4 (a,c) a nádobu č. 5 (b,d).

Pro nalezení významných markerů ve spodních vrstvách výplně nádob byla použita OPLS-DA. Markery s nejvyšší variabilitou a současně spolehlivostí byly odebrány z nízkorizikové oblasti vhodného S-grafu. Pro naše účely byl region s nízkým rizikem definován jako rámeček s následujícími souřadnicemi: $p[1] = 30\text{--}100\%$ a $p[2] = 75\text{--}100\%$ od nejvyšší hodnoty na ose x a y. Tab. 4 zobrazuje významné markery spodních půdních vrstev z keramických nádob č. 4 a č. 5. Rozdíly mezi dvěma sousedními signály příslušných markerů odpovídaly homologním přírůstkům skupiny CH_2 (tj. $\Delta m/z(1) = 687,4951\text{--}673,4808 = 14,0143$; $\Delta m/z(2) = 14,0163$; $\Delta m/z(3) = 14,01$) a kyslík $\Delta m/z(4) = 15,9721$). Tyto signály byly identifikovány jako draselné adukty triacylglycerolů (TAG). Výsledky byly srovnávány s literaturou³ a profil detekovaných TAG odpovídá mléčným tukům (Obr. 14).

³ Picariello, G.; Sacchi, R.; Addeo, F. (2007) One-step characterization of triacylglycerols from animal fat by MALDI-TOF MS. *Eur. J. Lipid Sci. Technol* 109, 511–524.

Tab. 4: Seznam nejvýznamnějších markerů detekovaných ve spodních vrstvách keramických nádob (CN – počet uhlíků v molekule; DB – počet dvojitých vazeb).

	m/z	CN/DB	Sumární vzorec	dtm(mDa)
Keramická nádoba č.4	673,4879	36:2	C ₃₉ H ₇₀ O ₆ K	-7,0
	687,5005	37:2	C ₄₀ H ₇₂ O ₆ K	-3,9
	701,5178	38:2	C ₄₁ H ₇₄ O ₆ K	-5,6
	715,5337	39:2	C ₄₂ H ₇₆ O ₆ K	-5,8
Keramická nádoba č.5	673,4808	36:2	C ₃₉ H ₇₀ O ₆ K	0,1
	687,4951	37:2	C ₄₀ H ₇₂ O ₆ K	1,5
	701,5114	38:2	C ₄₁ H ₇₄ O ₆ K	0,8
	715,5286	39:2	C ₄₂ H ₇₆ O ₆ K	-0,7
	731,5007	39:2	C ₄₂ H ₇₆ O ₇ K	22,1



Obr. 14: MALDI-MS spektra acetonových extraktů půdních vzorků z keramické nádoby č. 4 (a,b) a č. 5 (c,d). Spektra a,c jsou referenční extrakty z horních vrstev nádob a spektra b,d ze dna nádob.

Výsledky z MALDI-MS dokázaly celý výzkum nasměřovat konkrétním směrem, a z tohoto důvodu bylo nutné provést cílené imunochemické testy na nativní β -laktoglobulin (Tab. 5). Data potvrdila přítomnost zbytků hovězí mléčné bílkoviny ve spodní vrstvě půdy nádoby č. 5 (u vzorku půdy ze dna nádoby č. 4 nebyla pozitivní reakce na β -laktoglobulin). Přítomnost mléčných výrobků byla také testována ELISA kitem na kasein. Pozitivní reakce byla pozorována v obou studovaných nádobách. Tyto údaje potvrdily přítomnost mléčných výrobků v obou keramických nádobách. Využití mléčných výrobků ve starověké stravě již prokázalo mnoho autorů, ale v tomto konkrétním příkladu se jedná o první aplikaci hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí/ionizací za spoluúčasti matrice pro analýzu zbytků mléčného tuku v pravěkých keramických nádobách. Tyto výsledky představují první přímý doklad o využití mléčných výrobků v období eneolitu v kultuře Moravské šňůrové keramiky. Naše data týkající se využití mléka v období raného neolitu–eneolitu ve východní/střední Evropě (střední Podunají) významně rozšiřují dřívější důkazy o používání mléčných výrobků v západní/střední Evropě (Německo, Švýcarsko)

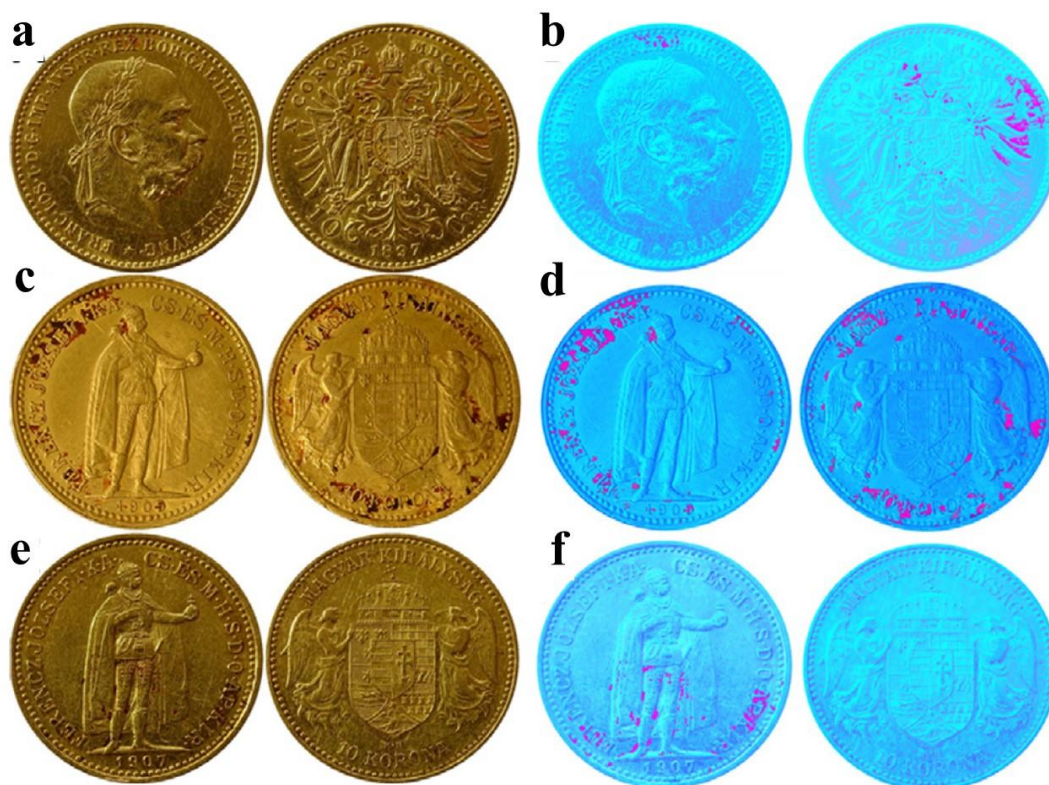
Tab. 5: Výsledky imunochemických testů vzorků hlíny ze dna nádob.

	Kasein (ppm)	Vyhodnocení	βLG (ppm)	Vyhodnocení
Negativní kontrola	0,02	0	1,32	0
Pozitivní kontrola	0,2*	+	0,021**	+
Keramická nádoba č.4	0,36	+	1,81	0
Keramická nádoba č.5	0,52	+	0,044	+

4. Destruktivní vs. nedestruktivní přístup

Spolupráce mezi humanitními (archeologie, historie umění apod.) a přírodními vědami nabývá se vzrůstajícími technickými možnostmi stále většího významu. S vývojem instrumentálních technik a současným zvyšováním citlivosti těchto přístrojů jsou požadavky na množství vzorku stále menší. Nicméně, před započítím odběru vzorků je velmi důležité provést průzkum pomocí neinvazivních a nedestruktivních metod. Tento přístup je preferován, neboť většina vzorků hmotného kulturního dědictví podléhá určitému typu ochrany a odběry nejsou žádoucí. Navíc je možné takto zachovat strukturu a vlastnosti vzorku, což je důležité pro další studium nebo aplikace. Příkladem nedestruktivního přístupu jsou publikace VIII a IX.

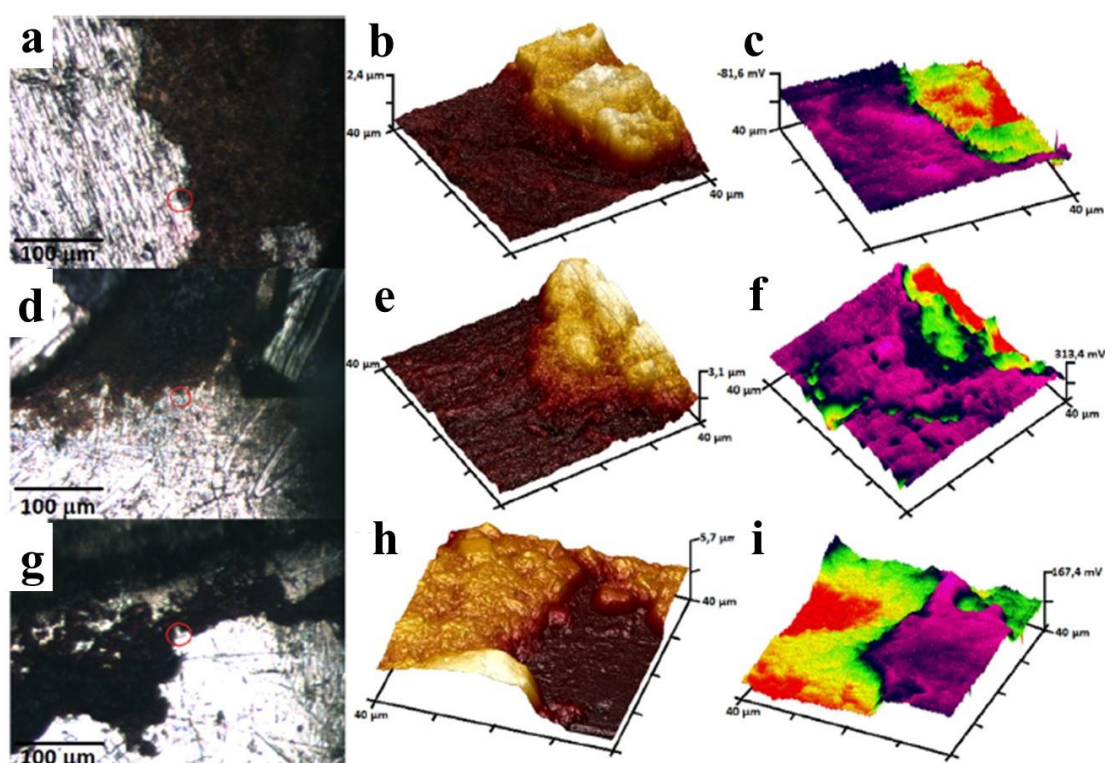
Publikaci VIII by sice bylo možné zařadit do kapitoly Multimodální přístup z důvodu využití velkého množství analytických technik, ale hlavní cílem byla nedestruktivní analýza "zkorodovaných" zlatých mincí (Obr. 15) pomocí energiově-disperzní rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF), mikroskopie ve viditelném světle (LM), digitální mikroskopie (DM), skenovací elektronové mikroskopie kombinované s energiově-disperzní rentgenovou spektroskopií (SEM/EDS), rentgenové fotoelektronové spektroskopie (XPS), Ramanové mikrospektroskopie, rentgenové práškové mikrodifrakce (μ -XRPD), mikroskopie atomárních sil (AFM) a Mössbauerovy spektroskopie za účelem určení původ červených („korozních“) skvrn.



Obr. 15: Tři Rakousko-uherské 10 Korony 1897 (mincovna Vídeň, a,b), a 10 Korona 1905 (c, d) a 1907 (e, f) (mincovna Kremnice). Obrázky b, d, f jsou zobrazeny ve falešných barvách pro zvýraznění „korozních“ vrstev.

Mince v této studii byly ve větším měřítku pokryty červenými skvrnami. Pomocí digitální mikroskopie bylo možné přibližně stanovit tloušťku povrchové vrstvy, která se pohybovala okolo 14 μm . Pro detailní určení morfologie a elektrochemického potenciálu v oblastech zasažených "korozi" byla použita technika AFM. Zaznamenané topografické snímky ukazují rovný povrch zlaté mince a poté výrazně vyvýšené zkorodované části (Obr. 16). Výškový rozdíl činí přibližně 1,7, 2,2 a 4,6 μm u zlatých mincí. Tyto hodnoty jsou zhruba 3-8 krát nižší než výška stanovená z digitální mikroskopické analýzy. Tento rozdíl v určení výškového profilu může být způsoben měřením relativně menší plochy a okraje skvrny technikou AFM ve srovnání s DM. Naopak měření tloušťky v DM může být silně ovlivněno odrazem (tj. DM nemůže přesně zaostřit). Současně získaná mapa elektrochemických potenciálů z povrchu vzorku (Obr. 15 c,f,i) ukazuje rozdíl mezi zkorodovanou částí (červená) a zbytkem skenované oblasti (fialová), která je na základě vyššího potenciálu tvořena ušlechtlejšími kovy.

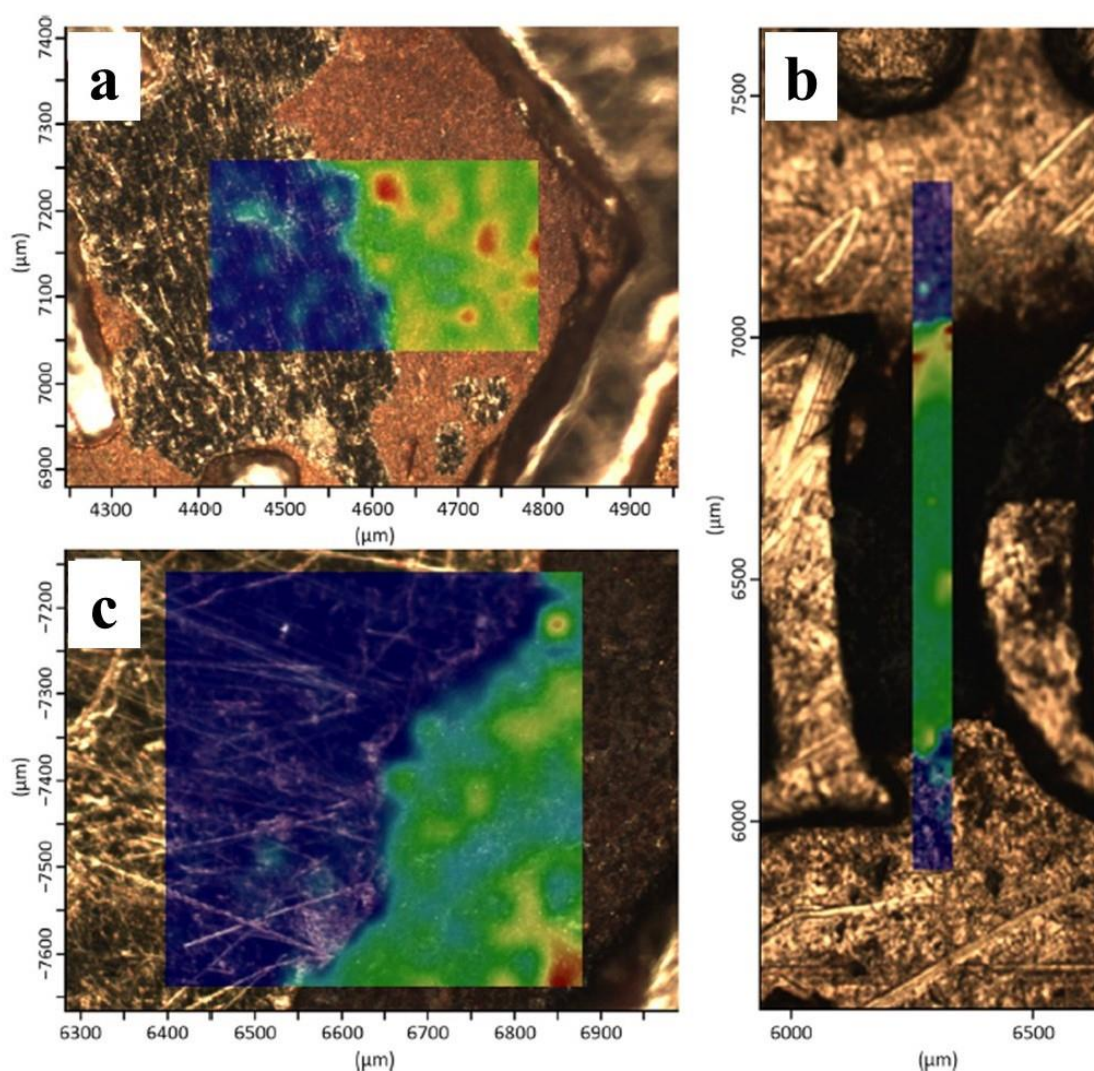
Stanovení chemického složení červených skvrn bylo v prvním kroku provedeno pomocí XRF s Mo aperturou. Přístroj XRF Spectro Xepos neumožňuje přesnou lokalizaci rentgenového paprsku na vzorku a měření velké plochy může být nepraktické. Z tohoto důvodu byla pro přesné vymezení zájmové oblasti vytvořena Mo apertura (do Mo plíšku byl vyříznut otvor o velikosti $3,1 \times 3,3$ mm, tj. $10,5 \text{ mm}^2$), která byla umístěna přímo na povrch mince. Měření ukazuje vyšší obsah železa ve všech třech vzorcích zlatých mincí. K podobným závěrům bylo dosaženo pomocí Mössbauerovy spektroskopie, tedy že korozní vrstva je tvořena železem.



Obr. 16: Vybraná oblast na povrchu mincí z let 1897, 1905 a 1907 (a, d, g), 3D topografický obraz získaný pomocí AFM v režimu „Tapping Mode“ a 3D potenciálová mapa mince z roku 1897 (b, c), 1905 (e, f) a 1907 (h, i)

Pro určení oxidačního stavu železa byla použita technika XPS, kdy bylo prokázáno, že v korozní vrstvě převažuje oxidační stav Fe^{3+} , nicméně oxidační stav Fe^{2+} byl detekován také, i když ve výrazně nižší intenzitě. Tím, že korozní vrstva je tvořena krystalickou strukturou železa, bylo možné využít Ramanovu mikro-spektroskopii pro přesnější určení složení Fe vrstvy, kdy předpokládáme přítomnost goethitu nebo

hematitu. Goethit lze v Ramanově spektru snadno identifikovat díky signálu při 385 cm^{-1} . Nicméně, někdy jsou pásy goethitu překryty pásem hematitu při 412 cm^{-1} (vibrace Fe-O), tím může dojít k posunu maxima pro pás 385 cm^{-1} . V analyzovaných vzorcích byl detekován nejvýznamnější signál při 394 cm^{-1} . Tento signál náleží Fe-O/-OH. Zajímavý poznatek byl, že zvyšováním výkonu laseru z 10 na 20 mW docházelo k přeměně goethitu na hematit, což bylo možné pozorovat změnou poměru signálů $394/293\text{ cm}^{-1}$. Výsledky z Ramanovy mikrospektroskopie ukazují konzistentní distribuci goethitu v červených skvrnách při 394 cm^{-1} (Obr. 17 a-c). Pro jednoznačné potvrzení fázového složení korozního produktu železa bylo použito μ -XRPD, kde spektra jednoznačně potvrzují přítomnost oxy-hydroxidu železa v červených skvrnách.



Obr. 17. Ramanova mikrospektroskopie povrchu Rakousko-Uherské 10 Korony 1897 (a), 1905 (b) a 1907 (c) a distribuce signálu 394 cm^{-1} . (Nejnižší intenzita signálu je zobrazena modrou barvou a nejvyšší červenou barvou).

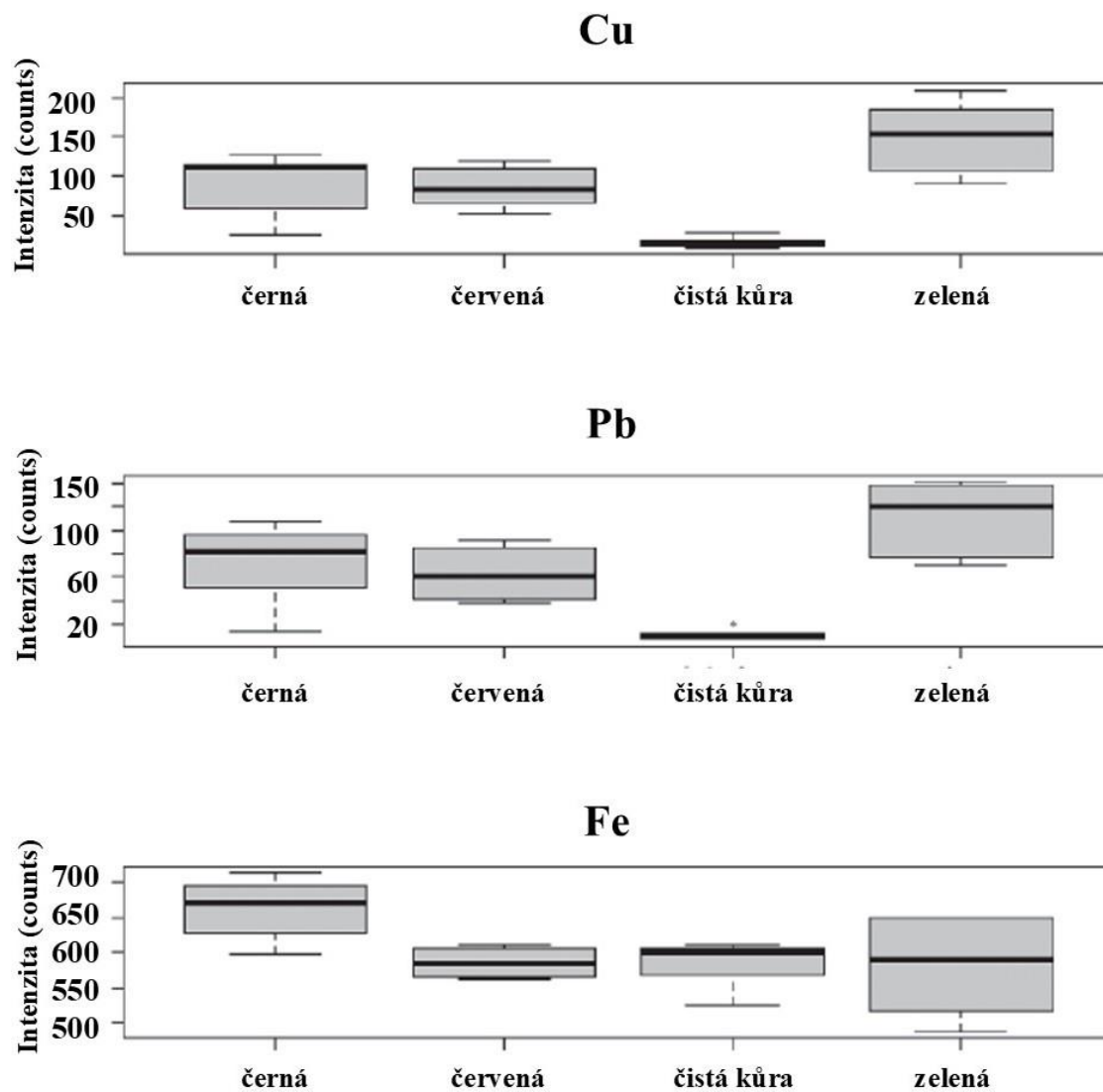
Ramanova mikrospektroskopie a XRF byly také hlavními technikami v publikaci IX. Během archeologického výzkumu v kostele sv. Marka v Litovli v roce 1999 byla nalezena březová kůra s kresleným ornamentem s rostlinným motivem (Obr. 18). Na kůře je vyobrazen zelený list, stonky s červeně zbarveným poupětem a vše je zvýrazněno tmavou linkou. Jelikož se jedná o unikátní nález bylo vyžadováno použití pouze nedestruktivních a neinvazivních metod.



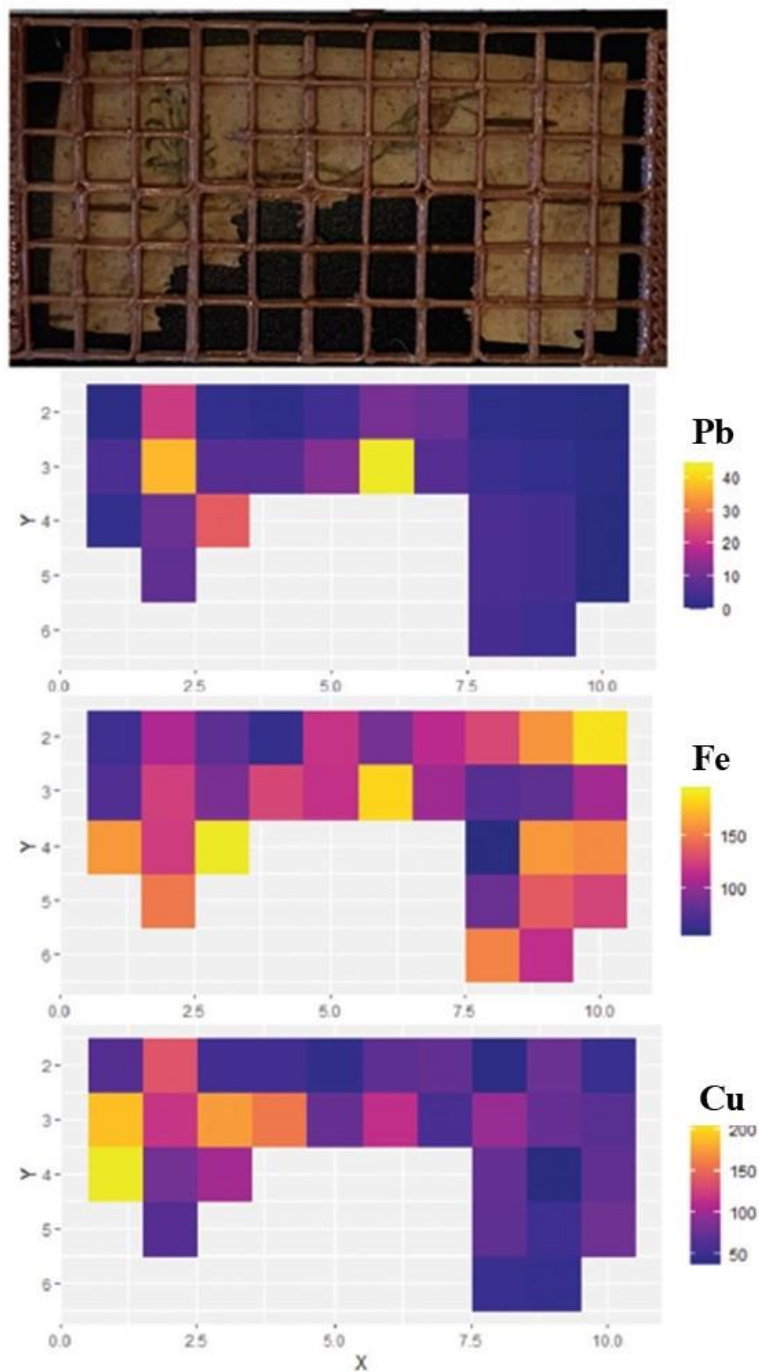
Obr. 18: Fotografie vzorku březové kůry

V prvním kroku byly vybrané barevné oblasti měřeny pomocí ručního XRF a naměřené intenzity jednotlivých prvků byly zobrazeny v podobě krabicových grafů (každá oblast byla měřena 6krát; Obr. 19). Zajímavý je zvýšený obsah železa v černé oblasti, který může poukazovat na použití železito-duběnkového inkoustu. V zelené oblasti byl pozorován zvýšený obsah mědi, což pravděpodobně souvisí s nejběžnějším pigmentem v minulosti, malachitu. V těchto oblastech byl také pozorován zvýšený obsah olova. Pro zjištění distribuce jednotlivých prvků na povrchu březové kůry bylo provedeno měření pomocí vytvořené mřížky (Obr. 20). Vyšší obsah mědi se vyskytuje v oblasti lístků a zelené části květu. Ve stejné oblasti je patrný také vyšší obsah olova. Můžeme předpokládat, že byl připraven světlejší pigment smícháním malachitu a olovnaté běloby. Distribuce železa je bohužel velmi heterogenní a není tedy možné jednoznačně určit vyšší obsah železa v konkrétních částech kresby. Pro přesnější určení pigmentů byla použita Ramanova mikrospektroskopie a získaná data byla srovnávána s autentickými standardy. Červený pigment obsahoval charakteristické signály pro hematit a můžeme tedy konstatovat, že se jedná o červenou hlinku. Spektrum zeleného

pigmentu se v základních signálech shodovalo se standardem malachitu. Získaná data jsou tedy ve shodě s XRF výsledky. Tato publikace byla původně zpracována jako Stredoškolská odborná činnost. Studentka projevila zájem práci rozvíjet dál a dokázala již na střední škole vytvořit vědecko-výzkumný článek. Publikace navíc ukazuje potenciál využití kombinace nedestruktivního měření pomocí ručního přístroje XRF a statistického zpracování dat v programu R pro zobrazení rozdílů v ploše.



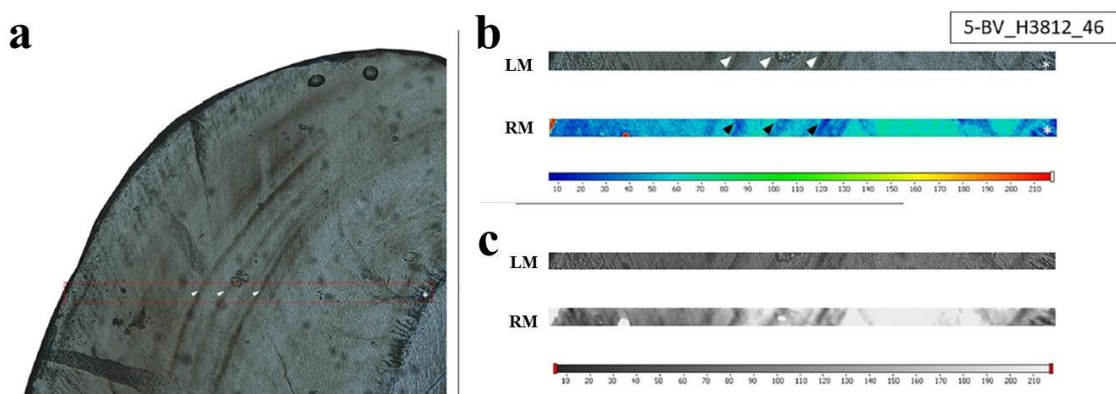
Obr. 19: Krabicové grafy intenzit Cu, Pb a Fe na vzorku březové kůry



Obr. 20: XRF zobrazování distribuce prvků na vzorku březové kůry

Dalším možným přístupem je invazivní zásah do materiálu, ale odebraný vzorek je měřen nedestruktivně, čímž je uchován pro případná měření v budoucnu. Tento postup byl aplikován v publikacích X a XI.

Během života člověka může dojít k narušení metabolických procesů, což následně ovlivní mineralizaci zubní skloviny, v níž dojde ke vzniku zvýrazněných linií (akcentované linie). Tyto zvýrazněné linie ve sklovině souvisejí se stresovými událostmi, které daný jedinec absolvoval v různých ontogenetických fázích. Akcentované linie je možné pozorovat ve výbrusu zubu pomocí optické mikroskopie v procházejícím světle (tmavší než okolí), ale jejich vzhled je však proměnlivý i v rámci jednoho zubu. Cílem této studie bylo sledovat distribuci fosfátů v lidské sklovině pomocí Ramanovy mikrospektroskopie (RM) a porovnat naměřená data se záznamy z optické mikroskopie.



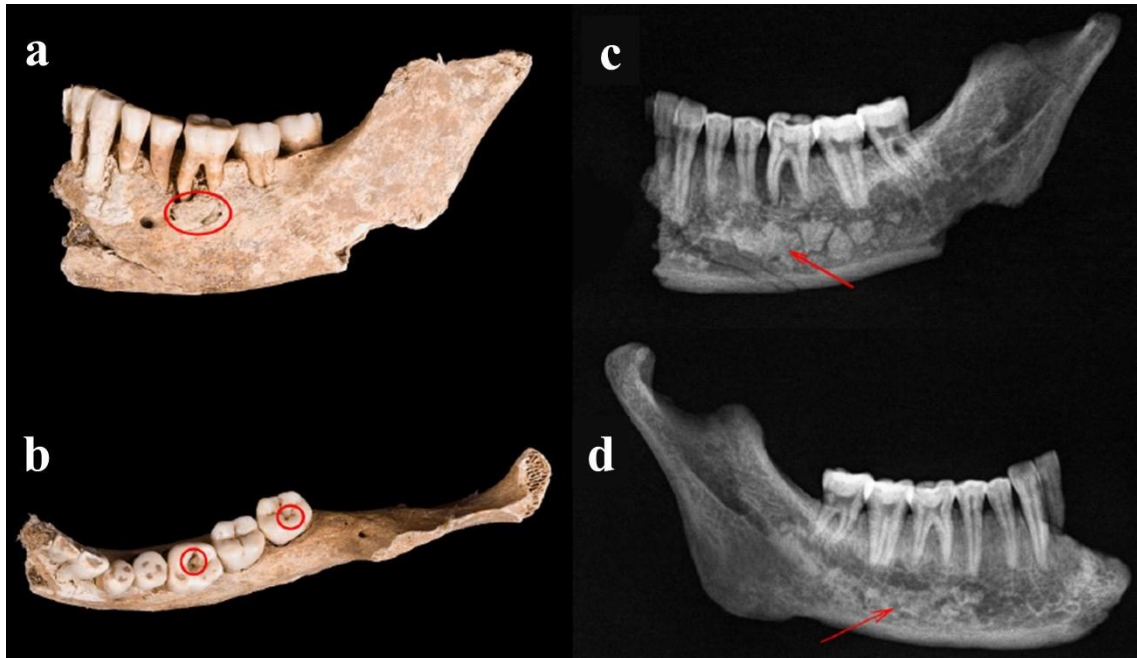
Obr. 21: Mikrofotografie pravého 1. moláru (a; zvětšení 50×). Červený tečkovaný obdélník vymezuje oblast analýzy pomocí RM. Šipky ukazují na AL ve sklovině, hvězdička na rozhraní sklovina-dentin (EDJ). Detail řezu z části a (b, zvětšení 100×). Řezy z části b převedené do stupňů šedi. (c; LM = záznam z transmisního světelného mikroskopu, RM = záznam z Ramanovy spektroskopie, AL = akcentovaná linie).

Kombinovaná data z LM a RM jsou na většině vzorků v dobré shodě a poukazují na fakt, že místa stresových linií jsou hypomineralizována (nízký obsah fosfátů; signál při 960 cm^{-1} , Obr. 21). Nicméně může nastat situace, kdy RGB zobrazení je ve shodě se záznamem LM (pokles signálu v jedné poloze AL a v poloze přechodu sklovina-dentin, EDJ), ale záznam RM ve stupních šedi se od LM ve stupních šedi liší. Jedna z možných variant vysvětlení je, že režim zobrazování ve stupních šedi vnesl více "šumu" do výsledků LM a tím bylo následně ovlivněno statistické vyhodnocení. Další komplikací pro správné vyhodnocení připraveného nábrusu je dodržení stejné tloušťky výbrusu napříč zubem. Kvalita záznamu světelné mikroskopie silně závisí na kvalitě tenkého řezu. Pokud je výbrus relativně tlustý (v důsledku nedůslednosti při přípravě), může být

výsledný záznam z mikroskopie v procházejícím světle posunutý/rozmažený, a proto se nemusí dobře shodovat se záznamem z Ramanovy mikrospektroskopie. Publikace X poukázala na nové možnosti studia zubní skloviny pomocí nedestruktivní Ramanovy mikrospektroskopie v případech, kdy připravený nábrus nesplňuje požadavky pro světelnou mikroskopii.

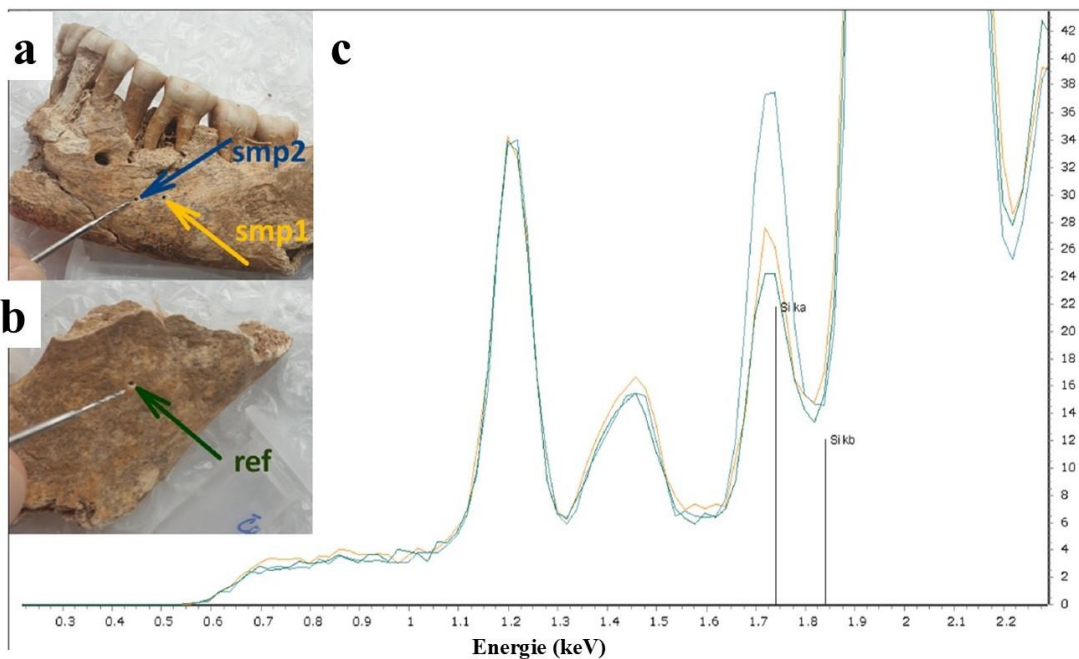
Obecně lze ovšem říct, že při práci s naměřenými daty z kosterních pozůstatků je nutné počítat s tafonomickými faktory, které mohou ovlivnit mikrostrukturu skloviny (bakteriální degradace a rozklad skloviny) a metodické faktory (např. bublinky v pryskyřici) mohou vnést "šum", který může vážně zvýšit složitost výsledků a ztížit jejich vyhodnocení. V některých případech je nutné také počítat na možnou kontaminaci vzorků okolním prostředím, což může mít za následek nesprávnou interpretaci.

Kosterním pozůstatkům je věnována také publikace XI, kde jsou popisovány makroskopicky viditelné patologické změny na dolní čelisti. Rentgenové snímky kostní tkáně poukazují na četná, do značné míry splývající, zastínění husté hmoty (Obr. 22) a místy jsou přítomny granulární a fibrilární struktury.



Obr. 22. Levá dolní čelist v bočním (a) a horním (b) pohledu s vyznačenými kazovými defekty na prvním a třetím zubu; rentgenové snímky levé (c) a pravé dolní čelisti (d) s místy s vyšší hustotou (šipky).

Na základě předcházejících výsledků byla vyslovena hypotéza, že oblasti s vyšší hustotou mohou být způsobeny aluviálními sedimenty. Za tímto účelem byly vzorky z dolní čelisti analyzovány pomocí rentgenové fluorescenční spektrometrie (XRF) se zaměřením na vyhodnocení obsahu křemíku, vápníku, a fosforu. Vzhledem k tomu, že křemík se v horninách a půdě vyskytuje hlavně ve formě oxidu křemičitého, by zvýšený obsah křemíku mohl poukazovat na mechanický průnik materiálu do vnitřních struktur kosti (voda + písek). Obr. 23 zobrazuje intenzitu $K\alpha$ linie křemíků v odebraných vzorcích. Výsledky tedy potvrdily hypotézu a průniku sedimentu do vnitřních pórů kostní tkáně. Publikace XI ilustruje užitečnost mezioborové spolupráce během paleopatologického hodnocení a důležitost rozlišování „skutečných“ patologií od posmrtných změn.



Obr. 23: Odběrová místa pro XRF měření (a, b); Srovnání intenzit křemíků ve vzorcích (barvy odběrových míst odpovídají barvám linií spektra; c).

XRF analýza pro analýzu kosterního materiálu je velmi užitečná díky své jednoduchosti. Nicméně, stále je zde otázka, zdali tato semikvantitativní analýza je vhodná k tomuto účelu. Studium patologie Cribra orbitalia (Obr. 24) byla věnována publikace XII, kde byl testován jak destruktivní (ICP-MS), tak i nedestruktivní (XRF) přístup pro měření kosterního materiálu. Během záchranného archeologického výzkumu v centru města Olomouce bylo nalezeno několik hrobů. Tyto hroby byly součástí

zaniklého hřbitova, který se nacházel na území v dnešní době neexistujícího kostela Petra a Pavla.



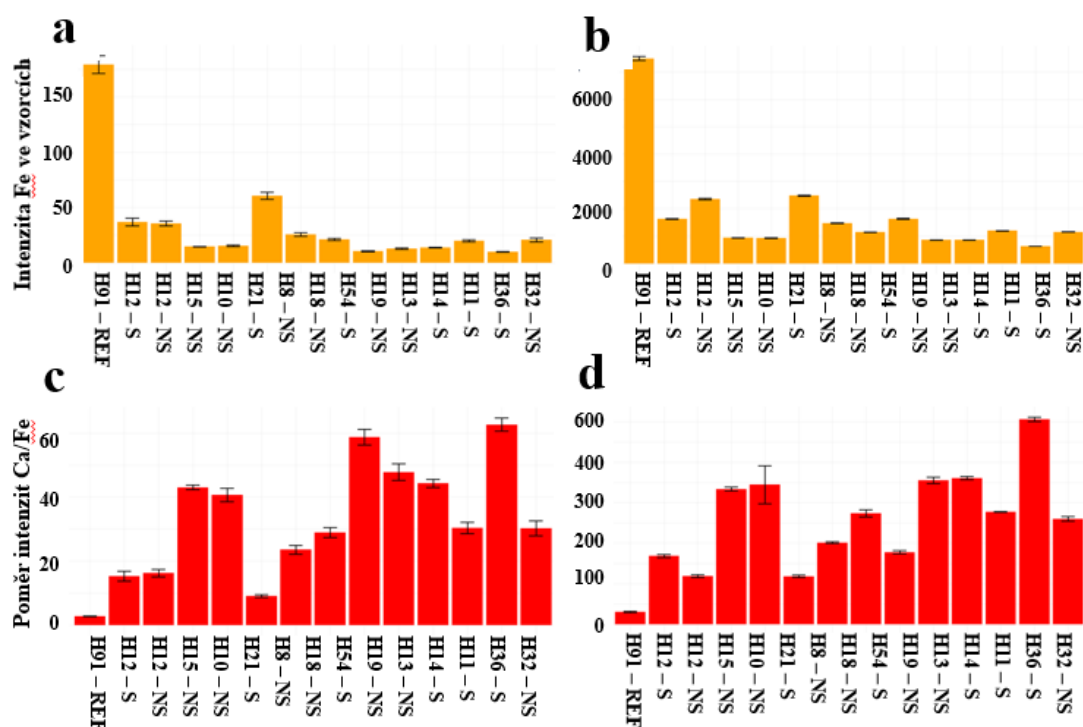
Obr. 24: Ukázka poškození kostní tkáně (Cribra orbitalia)

Výzkum byl zaměřen na analýzu 13 vzorků dětských lebek postižených chronickým onemocněním známým jako "cribra orbitalia" (CO, Tab. 6). Hlavními technikami pro analýzu vzorků byla nedestruktivní rentgenová fluorescenční analýza (XRF) a destruktivní hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem (ICP-MS). Obr. 25 ukazuje vysokou intenzitu železa v referenčním vzorku a velmi nízkou intenzitu ve vzorcích kostí postižených CO. Můžeme tedy předpokládat, že u těchto jedinců s CO by snížená hladina železa v kostech mohla být příčinou vzniku anémie. Pokud se však zaměříme na poměr Ca/Fe (Obr. 25cd), můžeme vidět závislost obsahu železa na věku. Tento poměr se postupně zvyšuje s věkem dítěte, ale nekoreluje se stupněm poškození kostní tkáně. Výsledky tedy poukazují, že běžně uváděný závěr o korelaci mezi anemií a mírou poškození CO není správný. Snížený obsah železa u jedinců s CO je tedy pravděpodobně pouze doprovodný jev. V rámci této studie je důležité si také všimnout dobré shody mezi nedestruktivním měřením pomocí XRF a destruktivním měřením

ICP-MS. V případě vzorků, u kterých není umožněn odběr vzorků kostní tkáně je tedy možné využít XRF.

Tab. 6: Seznam studovaných vzorků s uvedením věku, míry poškození a zjištěných patologií

Hrob	Věk	Pozice CO	Stupeň porozity	Zjištěné nemoci
H91	2 roky (± 8 měsíců)	-	-	-
H12	2 roky (± 8 měsíců)	levá očníce	vysoký	anemie, křivice
H15	2 roky (± 8 měsíců)	pravá očníce	nizký	-
H10	2-4 let	levá očníce	nizký	-
H21	2-4 let	pravá a levá očníce	vysoký	křivice
H8	2-4 let	pravá očníce	nizký	-
H18	4 let (± 12 měsíců)	pravá a levá očníce	vysoký	-
H54	4-6 let	levá očníce	vysoký	křivice
H19	6 let (± 24 měsíců)	pravá očníce	nizký	-
H13	6-9 let	pravá a levá očníce	nizký	anemie
H14	9-12 let	pravá očníce	vysoký	-
H11	10 let (± 30 měsíců)	pravá očníce	vysoký	anemie
H36	10 let (± 30 měsíců)	pravá očníce	vysoký	anemie
H32	12-15 let	pravá očníce	nizký	-



Obr. 25: Intenzita Fe ve studovaných vzorcích měřených metodami XRF (a) a ICP-MS (b) a poměr signálů Ca/Fe z XRF dat (c) a ICP-MS dat (d) (REF - referenční vzorek, S - významná pórovitost CO, NS – bez významné pórovitosti CO).

5. Závěr

Výsledky uvedeny v této habilitační práci prezentují nutné zapojení analytické chemie do studia vzorků hmotného kulturního dědictví. Práce byla dělena na tři samostatné kapitoly:

1) Interdisciplinární přístup, kde byla demonstrována nezbytnost úzké spolupráce mezi přírodovědnými obory, ale také s obory z jiných, nepřírodovědných, oblastí. Každý z nás je odborníkem na specifickou oblast, a tudíž nemusíme být schopni dokonale zasadit výsledky do konkrétních historických souvislostí.

2) Druhá kapitola, Multimodální přístup, poukázala na nutnost kombinovat analytické techniky. V případě hmotného kulturního dědictví se ve většině případů jedná o necílenou analýzu, kde sice existuje předpoklad, jaké látky mohly zůstat zachovány ve vzorku, a kompletní náhled na vzorek pomocí různých technik (detekce různých skupin látek) je nezbytný. V případě malého množství vzorku je volba vhodné techniky pouze na chemikovi, ale měla by jí předcházet odborná diskuse se zadavatelem. Je zde tedy úzké propojení mezi obory (Interdisciplinární přístup).

3) Poslední kapitola, Destruktivní VS nedestruktivní přístup, popisuje možnosti nedestruktivního měření, která je zásadní pro vzácné vzorky hmotného kulturního dědictví. Nedestruktivní přístup je také důležitý pro uchování vzorků pro případné budoucí měření technikami, které dokážou získat nová data.

Závěrem lze tedy říci, že všechny tři kapitoly jsou navzájem úzce propojeny a analýza hmotného kulturního dědictví je tedy významně závislá na vzájemné komunikaci a spolupráci, na základě, které dojde k využití nejvhodnější analytické techniky. V prvním kroku se aplikují nedestruktivní postupy a teprve až poté invazivní a destruktivní postupy.

6. Literatura

- I. Kučera, L., Peška, J., Fojtík, P., Barták, P., Kučerová, P., Pavelka, J., Komárková, V., Beneš, J., Polcerová, L., Králík, M., & Bednář, P. (2019). First direct evidence of broomcorn millet (*Panicum miliaceum*) in Central Europe. *Archaeol. Anthropol. Sci.* 11, 4221–4227. DOI:10.1007/s12520-019-00798-4
- II. Jilek, J., Golec, M., Bednar, P., Chytracsek, M., Vich, D., Zavoral, T., Mirova, Z., Petr, L., Kovarnik, J., Milo, P., Kucera, L., 2021, The oldest millet herbal beer in the Europe? The ninth century BCE bronze luxury bucket from Kladina, Czech Republic, *Archaeometry*. DOI: 10.1111/arc.12711
- III. Beneš, J., Todoroska, V., Budilová, K., Kovárník, J., Pavelka, J., Atanasoska, N., Bumerl, J., Florenzano, A., Majerovičová, T., Vondrovský, V., Ptáková, M., Bednář, P., Richtera, L., Kučera, L., 2021. What about Dinner? Chemical and Microresidue Analysis Reveals the Function of Late Neolithic Ceramic Pans, *Molecules* 26, 3391. DOI: 10.3390/molecules26113391
- IV. Jagošová, K.; Moník, M.; Kapusta, J.; Pechancová, R.; Nádvorníková, J.; Fojtík, P.; Kurka, O.; Závodná, T.; Bednář, P.; Richtera, L.; Kučera, L. , 2022, Secret Recipe Revealed: Chemical Evaluation of Raw Colouring Mixtures from Early 19th Century Moravia. *Molecules* 27, 5205. DOI: 10.3390/molecules27165205
- V. Bliujiene A., Kučera L.: Some remarks on amber usage tradition and amber provenance in the interfluvium of Nemunas and Daugava rivers in the migration period, in: Niezabitowska-Wisniewska B. a kol. *Studia Barbarica*, UMCS, Lublin 2018, ISBN 978-83-7825-044-9
- VI. Kučera L., Bednář, P., Chemická analýza vzorků jantaru, in: Enreé, M., Langová, M. (Eds) *Mikulovice – Pohřebiště starší doby bronzové na Jantarové stezce*, Archeologický ústav AVČR, Praha 2020, ISBN 978-80-7581-025-0
- VII. Kučera, L., Peška, J., Fojtík, P., Barták, P., Sokolovská, D., Pavelka, J., Komárková, V., Beneš, J., Polcerová, L., Králík, M., & Bednář, P. (2018). Determination of Milk Products in Ceramic Vessels of Corded Ware Culture from a Late Eneolithic Burial. *Molecules*, 23(12), 3247. DOI:10.3390/molecules23123247
- VIII. Kučera, L., Rozsypal, J., Bednář, P., Březina, M., Kalina, L., Bezdička, P., Mašláň, M., Richtera, L., 2021. “Gold corrosion”: An alternative source of red stains on gold coins, *Materialia* 15, 101025. DOI:10.1016/j.mtla.2021.101025

- IX. Schönwälderová N; Šlězár P; Kučera L. 2022, Analýza zbytků barev z fragmentu kresby na březové kůře z Litovle, *Studia archaeologica Brunensia* 27 (1), 143-152.
- X. Vacková, S., Králík, M., Marečková, K., Ráčková, L., Quade, L., Sedláčková, L., Fojtík, P., Kučera, L. (2021) Human “barcode”: Link between phosphate intensity changes in human enamel and light microscopy record of accentuated lines, *Microchemical Journal* 168, 106370. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106370
- XI. Fojtová, M; Krístek, J; Kucera, L. 2023, A pathological lesion or a postmortem artefact? An interdisciplinary approach to deal with an interesting early medieval case, *Int. J. Paleopath* 43, 93-98. DOI:10.1016/j.ijpp.2023.10.003
- XII.** Lundova, M; Sin, L; Dehnerova, H; Pechancova, R; Kurka, O; Bednar, P; Kucera, L, 2022, Evaluation of chemical composition of cribra orbitalia from post-medieval children graves (Olomouc, Czech Republic), *Preahistorische Z*