

ACTA HYGIENICA
 EPIDEMIOLOGICA
 ET MICROBIOLOGICA
 5/2021



Metodický návod pro dekontaminaci vybraných mykotoxinů v laboratořích

Vladimír Ostrý
Jan Šmoldas
Jana Řeháková
Jiří Ruprich

Státní zdravotní ústav

ISSN 1804-9613

Metodický návod pro dekontaminaci vybraných mykotoxinů v laboratořích

Abstrakt: Mykotoxiny, sekundární toxické produkty vláknitých mikroskopických hub (plísňí), mohou způsobovat řadu onemocnění a otrav člověka, tzv. mykotoxikózy. V posledních desetiletích jsou vybrané mykotoxiny výzkumně sledovány v řadě pracovišť ČR z hlediska hodnocení jejich nebezpečí (akutních, chronických a pozdních toxických účinků), incidence výskytu mykotoxinů v potravinách, krmivech a biologickém materiálu a zjištění expozice člověka uvedeným mykotoxinům včetně hodnocení zdravotního rizika. Aflatoxiny, ochratoxin A, fumonisiny, trichoteceny (např. deoxynivalenol, T-2 toxin), citrinin, patulin, kyselina cyklopiazonová a sterigmatocystin byly vyhodnoceny jako významné toxické látky pro člověka z hlediska svého chronického působení a pozdních toxických účinků (např. karcinogenních).

Pracovníci NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích na SZÚ – CZVP v Brně připravili aktualizovaný „*Metodický návod pro dekontaminaci vybraných mykotoxinů v laboratořích.*“ Cílem metodického návodu je poskytnout i dalším pracovníkům z jiných laboratoří, kteří se zabývají ve své laboratorní činnosti vybranými mykotoxiny, takové informace, které povedou k praktickému používání efektivních metod k dekontaminaci reziduí vybraných mykotoxinů, např. v laboratorních odpadech, v laboratorním sklu a v kontaminovaných osobních ochranných pomůckách a dale k následnému zabezpečení pracoviště takovým způsobem, aby byla minimalizována profesionální expozice laboratorních pracovníků uvedeným mykotoxinům, a s tím i spojená možná zdravotní rizika. Získané poznatky by pak měly umožnit laboratorním pracovníkům bezpečnou práci s uvedenými mykotoxiny.

Klíčová slova: Mykotoxiny, dekontaminace, laboratoř, odpady, laboratorní sklo, osobní ochranné pomůcky

Systematic instructions for decontamination of selected mycotoxins in laboratories

Mycotoxins are the toxic secondary products of microscopic filamentous fungi (moulds) and can cause diseases and cases of poisoning in humans, so-called mycotoxicoses. In past decades, selected mycotoxins have been researched at a number of laboratories in the CR for assessment of their acute, chronic and delayed toxic effects, their incidence in foodstuffs, animal feed and biological material, and determination of human exposure and health risk. Aflatoxins, ochratoxin A, trichotecenes (for example, deoxynivalenol, T-2 toxin) citrinin, patulin, cyclopiazonic acid and sterigmatocystin were identified as significant human toxins due to their chronic and delayed toxic effects which can be carcinogenic.

Staff at the NRC for Microscopic Fungi and their Toxins in the Food Chain at the NIPH – CHNF in Brno have prepared updated “Systematic Instructions for Decontamination of Selected Mycotoxins in Laboratories”. The aim of these instructions is to provide laboratory staff from other labs engaged in work with selected mycotoxins pertinent information on effective decontamination of mycotoxin residues in lab waste, laboratory glassware and contaminated personal protective equipment, as well as methodology for reducing occupational exposure and subsequent health risks in the workplace. The collected information aims to enable laboratory workers to secure safe working conditions with these specific mycotoxins.

Key words: Mycotoxins, decontamination, laboratory, waste, laboratory glassware, personal protective equipment

Doporučená citace: Ostrý V, Šmoldas J, Řeháková J, Ruprich J. Metodický návod pro dekontaminaci vybraných mykotoxinů v laboratořích. Acta Hyg Epidemiol Microbiol. 2021;(5):1-45.

© Státní zdravotní ústav 2021

Žádná část časopisu nesmí být reprodukována tiskem, fotografickou cestou, počítačovými soubory dat nebo jinými způsoby bez předchozího písemného svolení vydavatele.

Redakční rada: Prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc., Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK, RNDr. František Rettich, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, MUDr. Jaroslav Volf, Oddělení pracovního a preventivního lékařství, FN Ostrava, Mgr. Jana Veselá, Středisko vědeckých informací, Státní zdravotní ústav

Adresa redakce:

Státní zdravotní ústav, redakce časopisu AHM, Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10, telefon: 267082288, e-mail: vaclava.novakova@szu.cz

Publikováno 15. 12. 2021

ACTA HYGIENICA
EPIDEMIOLOGICA
ET MICROBIOLOGICA

Metodický návod pro dekontaminaci vybraných mykotoxinů v laboratořích

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., Mgr. Jan Šmoldas, RNDr. Jana Řeháková,
prof. MVDr. Jiří Ruprich, CSc.

Státní zdravotní ústav, Centrum zdraví, výživy a potravin, Brno

Obsah

Úvod	5
Dekontaminace aflatoxinů za použití chlornanu sodného	6
Dekontaminace ochratoxinu A za použití chlornanu sodného	11
Dekontaminace T-2 toxinu alkalickým roztokem chlornanu sodného	17
Dekontaminace fumonisinu B ₁ za použití alkalického roztoku chlornanu sodného.....	22
Dekontaminace citrininu za použití chlornanu sodného	26
Dekontaminace patulinu za použití manganistanu draselného v alkalickém prostředí	31
Dekontaminace sterigmatocystinu za použití chlornanu sodného.....	34
Dekontaminace aflatoxinu B ₁ , ochratoxinu A a fumonisinu B ₁ za použití detergentu RBS-35 (fy Pierce).....	39
Zkratky	42
Příloha	43
Literatura	44

Úvod

Mykotoxiny, sekundární toxické produkty vláknitých mikroskopických hub (plísní), mohou způsobovat řadu onemocnění a otrav člověka i hospodářských zvířat – tzv. mykotoxikózy.

V posledních desetiletích jsou vybrané mykotoxiny výzkumně sledovány v řadě pracovišť ČR z hlediska hodnocení jejich nebezpečí (akutních, chronických a pozdních toxických účinků), incidence výskytu mykotoxinů v potravinách, krmivech a biologickém materiálu a zjištění expozice člověka uvedeným mykotoxinům včetně hodnocení zdravotního rizika.

Aflatoxiny (AF), ochratoxin A (OTA), fumonisiny (FUM), deoxynivalenol (DON), T-2 toxin, patulin (PAT), sterigmatocystin (STC) a citrinin (CIT) byly zhodnoceny jako významné toxické látky pro člověka z hlediska svého chronického působení a pozdních toxických účinků (např. karcinogenních).

Pracovníci Národního referenčního centra (NRC) pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích v SZÚ – CZVP v Brně připravili aktualizovaný metodický návod pro zajištění bezpečné práce při manipulaci s mykotoxiny ve svých laboratořích. Metodický návod má však sloužit a být i metodickou pomůckou:

- *pro všechny laboratoře, kde se manipuluje s mykotoxiny,*
- *pro všechny laboratoře, které se zabývají stanovením mykotoxinů v potravinách, krmivech a biologickém materiálu,*
- *pro laboratoře, které se zabývají biologickým testováním účinků uvedených mykotoxinů na laboratorních zvířatech a dalších biologických modelech (tkáňové kultury, bezobratlí apod.),*
- *pro laboratoře, které manipulují s potenciálně toxinogenními kmeny vláknitých mikroskopických hub (producentů uvedených mykotoxinů),*
- *a další.*

Metodický pokyn vychází z materiálů IARC – WHO, z výsledků vlastních výzkumných projektů NRC v SZÚ – CZVP v Brně a odborné literatury. Uvedené poznatky by měly umožnit pracovníkům bezpečnou práci s uvedenými mykotoxiny.

Cílem publikace, je poskytnout pracovníkům, kteří se zabývají ve své laboratorní činnosti vybranými mykotoxiny takové informace, které povedou:

- *k praktickému používání efektivních metod k dekontaminaci reziduí uvedených mykotoxinů v laboratorních odpadech, v laboratorním skle, v kontaminovaných osobních ochranných pomůckách apod.,*
- *k následnému zabezpečení pracoviště takovým způsobem, aby byla minimalizována profesionální expozice laboratorních pracovníků uvedeným mykotoxinům a s tím i spojená možná zdravotní rizika.*

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc.
vedoucí NRC

Dekontaminace aflatoxinů za použití chlornanu sodného

1. MOŽNÉ APLIKACE

Tato metoda uvádí proces dekontaminace následujících laboratorních odpadů kontaminovaných aflatoxiny: pevné látky (6.1), roztoky v organických rozpouštědlech (6.1), tuky (6.2), vodné roztoky (6.3), biologické materiály (6.4), sklo (6.5), osobní ochranné pomůcky (6.5), kontaminované povrchy (6.6) a desky z tenkovrstvé chromatografie (TLC) (6.7) (1).

Metoda byla studována u aflatoxinů (AF) za použití roztoků jednotlivých AFB₁ (PubChem CID: 186907) (2), AFB₂ (PubChem CID: 2724360), AFG₁ (PubChem CID: 14421), AFG₂ (PubChem CID: 2724362) ve vodě (1 mg/l), v chloroformu (0,1 a 10 mg/l) a v dimetylsulfoxidu (DMSO) (0,1 a 10 mg/l).

Metoda umožňuje více než **99% dekontaminaci AF**.

2. PRINCIP

Proces dekontaminace zahrnuje působení degradačního činidla chlornanu sodného na laboratorní materiály. Následuje aplikace acetonu, aby došlo k rozložení 2,3-dichloroafatoxinu B₁, který může vznikat reakcí s chlornanem sodným.

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost AF, chlornanu sodného a metanolu

3.1.1 Nebezpečnost AF

Aflatoxiny jsou vysoce toxické látky, karcinogenní pro člověka. Při všech manipulacích s těmito látkami a jejich roztoky je nutné používat rukavice. Vzhledem k tomu, že chloroform proniká přes latexové rukavice, je třeba opatrně manipulovat s roztoky AF rozpuštěných v chloroformu. Pokud dojde k potřísnění rukavic roztokem AF v chloroformu, musí být co nejdříve vyměněny, aby se zabránilo kontaktu AF s pokožkou (3).

AF v pevné formě mají tendenci dispergovat do atmosféry, proto se s nimi musí manipulovat pouze v digestoři s fungujícím odsáváním a musí se používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranný obličejový štít/ochranné brýle).

3.1.2 Nebezpečnost chlornanu sodného

Chlornan sodný je silné oxidační činidlo. Je proto nutné dbát na to, aby nedošlo ke smíchání se silnými redukčními nebo jinými oxidačními činidly (4).

3.1.3 Nebezpečnost metanolu

Metanol je zařazen mezi akutně toxické látky (5) (kategorie nebezpečnosti 3) a musí být proto uskladněn v uzamykatelné skříňce na chemikálie.

Smrtelná dávka metanolu je 30–100 g. Nadýchání par vyvolává šepot, škrábání v krku, bolesti hlavy, hučení v uších, třesy, zvracení a smrt. Po požití vznikají bolesti v končetinách, žaludku, třesy, rozšíření zornic, mlhavé vidění až slepota. Smrt nastává po 2–3 dnech. Vstřebává se i neporušenou kůží. V těle zůstává nezměněn 5–10krát déle než etanol.

Mezi požitím a prvními příznaky může uplynout různě dlouhá doba latence (několik hodin až dnů).

3.2 Ochranná opatření při kontaminaci AF nebo chlornanem sodným

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem AF nebo chlornanu sodného, nebo jejich požití, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí:* důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu:* okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omýt velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona);
- *při požití:* ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě pozření vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

3.3 Ochranná opatření při kontaminaci metanolem

Pokud dojde k jakékoliv kontaminaci člověka metanolem, je třeba provést následující první pomoc:

- *při požití:* vypít asi 1/2 litru vlažné vody s dvěma lžičkami hydrogenuhličitanu sodného (jedlá soda) a snažit se drážděním hrdla vyvolat zvracení. O vyvolání zvracení se pokoušet i v případě, když od požití uplynula již dlouhá doba (několik hodin). Nejeví-li postižený velmi výrazné známky opilosti, podat mu 1–2 malé skleničky (cca 20 ml) dobré lihoviny, event. lze opakovat až do známek mírné opilosti a udržovat tento stav až do předání do lékařské péče. Dále je nutno chránit oči před silnějším světlem, v případě poruch dýchání zavést umělé dýchání, případně masáž srdce;
- *při nadýchání:* přenést na čistý vzduch, nechat člověka chodit, dále postupovat jako při požití;
- *při potřísnění:* oči i kůži důkladně opláchnout vodou, omýt vlažnou vodou a mýdlem a dále postupovat jako při požití.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí

a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02.**

4. ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Aceton	C ₃ H ₆ O	technický
Dichlormetan	CH ₂ Cl ₂	technický
Metanol	CH ₄ O	technický
Chlornan sodný s obsahem min. 12,4 % aktivního chloru anebo 48 °Cl	NaClO	technický

POZNÁMKA:

Roztoky chlornanu sodného mají tendenci rozkládat se. Před použitím je tedy vhodné kontrolovat obsah aktivního chloru.

Procento (%) aktivního chloru = množství chloru v gramech, uvolněné okyselením 100 g roztoku chlornanu sodného.

Množství aktivního chloru se dá také obecně vyjádřit jako °Cl, což je objem chloru v litrech, uvolněného z jednoho litru (pro kapaliny) nebo z jednoho kilogramu (pro tuhé látky) komerčního chlornanu sodného působením HCl. Příklad: 1 M chlornanu sodného odpovídá 22,4 °Cl.

Naředěný pracovní roztok chlornanu sodného použitý pro toto kontrolní analytické stanovení, by měl mít obsah aktivního chloru přibližně 25–30 g na 1 l (2,5–3 % aktivního chloru).

Pracovní postup stanovení obsahu aktivního chloru v chlornanu sodném

- Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru se naředí na pracovní koncentraci 2,5–3 % aktivního chloru.
- Do 100 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml roztoku chlornanu sodného (2,5–3 % aktivního chloru) a doplní se po značku destilovanou vodou.
- Následně se odpipetuje 10 ml naředěného pracovního roztoku chlornanu sodného do kónické baňky, která již obsahuje 50 ml destilované vody, 1 g jodidu draselného a 12,5 ml kyseliny octové (2 M). Titruje se 0,05 M roztokem thiosíranu sodného. Jako indikátor se použije škrob.

1 ml Na₂S₂O₃ (0,05 M) odpovídá 3,545 mg aktivního chloru. Spotřeba titračního činidla by tedy neměla být menší než 11 ml.

V případě zjištění rozkladu chlornanu sodného, kdy množství aktivního chloru je menší než 2,5 %, není možné tento roztok k tomuto účelu používat!!!

4.2 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci AF.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení AF, kdy používá např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace AF.

6. POSTUP DEKONTAMINACE

20 µg AF v pevném stavu je úplně degradováno působením **20 ml roztoku chlornanu sodného (s 1,3 % aktivního chloru, tj. 5 °C)** po dobu **30 min.**

S chlornanem sodným mohou však také reagovat další komponenty, které odpad obsahuje. Proto se doporučuje ověřit účinnost dekontaminace AF analytickou koncovkou (viz kap. 5. PŘÍSTROJE). Mohou být použity menší objemy koncentrovanějších roztoků, ale výsledný objem musí postačovat k dekontaminaci AF. K účinné degradaci se používá nadbytek chlornanu sodného, minimálně dvojnásobek odhadovaného množství (viz 6.1.3).

6.1 Metoda použitelná pro pevné látky a roztoky v organických rozpouštědlech

- 6.1.1 U roztoků v organických rozpouštědlech se rozpouštědlo odpaří do sucha za sníženého tlaku v rotační odparce. Pokud je rozpouštědlem DMSO, před odpařováním se přidá stejný objem dichlormetanu.
- 6.1.2 U pevných látek nebo zbytků z 6.1.1 se přidá metanol pro rozpuštění a opláchnutí skla (1 ml).
- 6.1.3 Přidá se přibližně dvojnásobné množství roztoku chlornanu sodného. Protřepe se a nechá stát minimálně 2 hodiny, lépe přes noc.
- 6.1.4 Roztok se zředí tak, aby se snížila koncentrace chlornanu sodného pod 1,3 % aktivního chloru (5 °C). Následně se přidá aceton v množství 5 % z celkového objemu. Nechá se reagovat 30 min.

6.2 Metoda použitelná pro roztoky v oleji

- 6.2.1 Olej se převede do kónické baňky.
- 6.2.2 Přidá se přibližně dvojnásobné množství roztoku chlornanu sodného. Baňka se zazátkuje a nechá se minimálně 2 h třepat na mechanické třepačce.

6.2.3 Roztok se zředí tak, aby se snížila koncentrace chlornanu sodného pod 1,3 % aktivního chlóru (5 °Cl). Přidá se aceton v množství 5 % z celkového objemu. Nechá se reagovat 30 min.

U každé vrstvy se kontroluje, zda proběhla úplná degradace.

6.3 Metoda použitelná pro vodné roztoky

6.3.1 Přidá se přibližně dvojnásobné množství roztoku chlornanu sodného. Protřepe se a nechá stát minimálně 2 hodiny, lépe přes noc.

6.3.2 Roztok se zředí tak, aby se snížila koncentrace chlornanu pod 1,3 % (5 °Cl). Přidá se aceton v množství 5 % z celkového objemu. Nechá se reagovat 30 min.

6.4 Metoda použitelná pro biologický materiál

Postupuje se jako v 6.3, přidá se dostatečné množství kapaliny, aby vznikla po homogenizaci suspenze.

6.5 Metoda použitelná pro laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky

6.5.1 Sklo se opláchne malým množstvím metanolu, aby se rozpustily případné zbytky AF.

6.5.2 Sklo s metanolem nebo kontaminované osobní ochranné pomůcky se ponoří do roztoku chlornanu sodného (0,8 až 1,3 % a 3° až 5 °Cl) a ponechá se v něm minimálně 2 hod.

6.5.3 Přidá se aceton v množství odpovídajícím 5 % celkového objemu. Nechá se reagovat 30 min.

6.6 Metoda použitelná pro rozlité a rozsypané materiály

6.6.1 Roztok se utře savou textilií (případně obvazovou nebo buničitou vatou) a toto se dekontaminuje stejně jako kontaminované osobní ochranné pomůcky.

6.6.2 Potřísněný povrch se umyje roztokem chlornanu sodného, nechá se 10 min. působit. Přidá se 5% vodný roztok acetonu.

6.7 Metoda použitelná pro TLC desky

TLC desky se postříkají nebo zalijí roztokem chlornanu sodného (0,8 %, což odpovídá 3 °Cl). Nechá se působit 10 min. a postříkají se (nebo opět zalijí) 5% vodným roztokem acetonu.

7. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace ochratoxinu A za použití chlornanu sodného

1. MOŽNÉ APLIKACE

Tato metoda uvádí proces dekontaminace následujících laboratorních odpadů kontaminovaných ochratoxinem A (OTA) (8) (PubChem CID: 442530) (9): pevné látky (6.1), vodné roztoky (6.2), roztoky v těkavých organických rozpouštědlech (6.3), roztoky v dimethylformamidu (DMF) nebo dimethylsulfoxidu (DMSO) (6.4), laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky (6.5), kontaminované povrchy (6.6) a TLC desky (6.7).

Metoda byla testována s **400 µg OTA v 500 µl etanolu**. Metoda umožňuje více než **99%** degradaci OTA.

Po aplikaci této metody byly vzorky testovány na mutagenní aktivitu. Byla použita *Salmonella typhimurium*, kmeny TA 97, TA 98, TA 100 a TA 102 s a bez metabolické aktivace. Žádná mutagenní aktivita nebyla zjištěna.

2. PRINCIP

Roztoky OTA v malém objemu alkoholu byly zcela degradovány působením nadbytku roztoku chlornanu sodného (1,3%).

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost OTA, chlornanu sodného a metanolu

3.1.1 Nebezpečnost OTA

OTA je nefrotoxický a má teratogenní a karcinogenní účinky. Podle IARC/WHO je hodnocen jako možný karcinogen pro člověka (2B). Při všech manipulacích s tímto mykotoxinem a jeho roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle). Vzhledem k tomu, že chloroform proniká přes latexové rukavice, je třeba opatrně manipulovat s roztoky OTA rozpuštěnými v chloroformu. Pokud dojde k potřísnění rukavic roztokem OTA v chloroformu, musí být co nejrychleji vyměněny, aby se zabránilo kontaktu OTA s pokožkou (10).

Při práci s roztoky OTA používáme výhradně automatické pipety.

Aby se zabránilo problémům s elektrostatickými efekty, je vhodné pracovat se substancí standardu OTA v bavlněných rukavicích.

3.1.2 Nebezpečnost chlornanu sodného

Chlornan sodný je silné oxidační činidlo. Je proto nutné dbát na to, aby nedošlo ke smíchání se silnými redukčními nebo jinými oxidačními činidly (4).

3.1.3 Nebezpečnost metanolu

Metanol je zařazen mezi akutně toxické látky (5) (kategorie nebezpečnosti 3) a musí být proto uskladněn v uzamykatelné skříňce na chemikálie.

Smrtná dávka metanolu je 30–100 g. Nadýchání par vyvolává šepot, škrábání v krku, bolest hlavy, hučení v uších, třesy, zvracení a smrt. Po požití vznikají bolesti v končetinách, žaludku, třesy, rozšíření zornic, mlhavé vidění až slepota. Smrt nastává po 2–3 dnech. Vstřebává se i neporušenou kůží. V těle zůstává nezměněn 5–10krát déle než etanol.

Mezi požitím a prvními příznaky může uplynout různě dlouhá doba latence (několik hodin až dnů).

3.2 Ochranná opatření při kontaminaci OTA nebo chlornanem sodným

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem OTA nebo chlornanu sodného, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí:* důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu:* okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omývat (15 min.) velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona DEZ 87)
- *při požití:* ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě požití vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02.**

3.3 Ochranná opatření při kontaminaci metanolem

Pokud dojde k jakékoliv kontaminaci člověka metanolem, je třeba provést následující první pomoc:

- *při požití:* vypít asi 1/2 litru vlažné vody s dvěma lžičkami hydrogenuhličitanu sodného (jedlá soda) a snažit se drážděním hrdla vyvolat zvracení. O vyvolání zvracení se pokoušet i v případě, když od požití uplynula již dlouhá doba (několik hodin). Nejeví-li postižený velmi výrazné známky opilosti, podat mu 1–2 malé skleničky (cca 20 ml) dobré lihoviny, event. lze opakovat až do známek mírné opilosti a udržovat tento stav až do předání do lékařské péče. Dále je nutno chránit oči před silnějším světlem, v případě poruch dýchání zavést umělé dýchání, případně masáž srdce;
- *při nadýchání:* přenést na čistý vzduch, nechat člověka chodit, dále postupovat jako při požití;

- *při potřísnění*: oči i kůži důkladně opláchnout vodou, omýt vlažnou vodou a mýdlem a dále postupovat jako při požití.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02.**

4. ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Voda	H ₂ O	deionizovaná
Etanol	C ₂ H ₇ O	technický
Metanol	CH ₄ O	technický
Dichlormetan	CH ₂ Cl ₂	technický
Hydrogenuhličitan sodný	NaHCO ₃	technický
Chlornan sodný s obsahem min. 12,4 % aktivního chloru anebo 48 °Cl	NaClO	technický
Hydroxid sodný	NaOH	technický
Síran sodný (bezdodý)	Na ₂ (SO ₄)	technický

POZNÁMKA:

Roztoky chlornanu sodného mají tendenci rozkládat se. Před použitím je tedy vhodné kontrolovat obsah aktivního chloru.

Procento (%) aktivního chloru = množství chloru v gramech, uvolněné okyselením 100 g roztoku chlornanu sodného.

Množství aktivního chloru se dá také obecně vyjádřit jako °Cl, což je objem chloru v litrech, uvolněného z jednoho litru (pro kapaliny) nebo z jednoho kilogramu (pro tuhé látky) komerčního chlornanu sodného působením HCl. Příklad: 1 M chlornanu sodného odpovídá 22,4 °Cl.

Naředěný pracovní roztok chlornanu sodného použitý pro toto kontrolní analytické stanovení, by měl mít obsah aktivního chloru přibližně 25–30 g na 1 l (2,5–3 % aktivního chloru).

Pracovní postup stanovení obsahu aktivního chloru v chlornanu sodném

- Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru se naředí na pracovní koncentraci 2,5–3 % aktivního chloru.
- Do 100 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml roztoku chlornanu sodného (2,5–3 % aktivního chloru) a doplní se po značku destilovanou vodou.

- Následně se odpipetuje 10 ml naředěného pracovního roztoku chlornanu sodného do kónické baňky, která již obsahuje 50 ml destilované vody, 1 g jodidu draselného a 12,5 ml kyseliny octové (2 M). Titruje se 0,05 M roztokem thiosíranu sodného. Jako indikátor se použije škrob.

1 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,05 M) odpovídá 3,545 mg aktivního chloru. Spotřeba titračního činidla by tedy neměla být menší než 11 ml.

V případě zjištění rozkladu chlornanu sodného, kdy množství aktivního chloru je menší než 2,5 %, není možné tento roztok k tomuto účelu používat!!!

4.2 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci OTA.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení OTA, kdy používá např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace OTA.

6. POSTUP DEKONTAMINACE

Roztok **400 µg OTA** je úplně degradován působením **10 ml roztoku chlornanu sodného (1,3%) po dobu 30 min**. S chlornanem sodným mohou však také reagovat další komponenty, které odpad obsahuje. Proto se doporučuje ověřit účinnost dekontaminace AF analytickou koncovkou (viz kap. 5. PŘÍSTROJE).

6.1 Pevné látky

- 6.1.1 Odhadne se množství chlornanu sodného potřebného pro degradaci.
- 6.1.2 Na každých 400 µg OTA se přidá 400 µl etanolu.
- 6.1.3 Přidá se minimálně dvojnásobek odhadovaného množství chlornanu sodného (asi 20 ml na 400 µg).
- 6.1.4 Zkontroluje se, zda degradace proběhla úplně.
- 6.1.5 Zředí se a odstraní se do odpadu.

6.2 Vodné roztoky

- 6.2.1 Pokud je to nutné, zneutralizují se nebo zalkalizují.
- 6.2.2 Postupuje se podle 6.1.1 až 6.1.5.

6.3 Roztoky v těkavých organických rozpouštědlech

- 6.3.1 Rozpouštědlo se odpaří v rotační odparce za sníženého tlaku.
- 6.3.2 Odhadne se množství OTA k degradaci a přidá se dostatečné množství etanolu.
- 6.3.3 Postupuje se podle 6.1.2 až 6.1.5.

6.4 Roztoky v DMSO nebo v DMF

- 6.4.1 Přidá se voda v dvojnásobném množství než je objem roztoku.
- 6.4.2 3× se extrahuje stejným objemem dichlormetanu. Dichlormetanové extrakty se spojí a vysuší nad bezvodým síranem sodným. Přefiltruje se a promyje dalším dichlormetanem.
- 6.4.3 Rozpouštědlo se odpaří v rotační odparce za sníženého tlaku do sucha (pokud je to nutné, zvýšit teplotu lázně nebo vakuum).
- 6.4.4 Postupuje se jako v odst. 6.3.2 a 6.3.3.

6.5 Laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky

- 6.5.1 Přidá se dostatečné množství metanolu nebo etanolu k navlhčení skla nebo kontaminovaných osobních ochranných pomůcek.
- 6.5.2 Sklo nebo osobní ochranné pomůcky se ponoří do roztoku chlornanu sodného (1,3%) a nechá se 30 min. působit.
- 6.5.3 Dekontaminační roztok se zředí a jako odpad se odstraní (viz kap. 7).

6.6 Rozlité a rozsypané látky

- 6.6.1 Potřísněná plocha se ohraničí. Je třeba použít vhodného ochranného oděvu.
- 6.6.2 Kapaliny se setřou vhodnou tkaninou.
- 6.6.3 Tkanina se ponoří do lázně s roztokem chlornanu sodného (1,3%).
- 6.6.4 Povrch se otře textilií namočenou v roztoku hydrogenuhličitanu sodného, která se pak ponoří do lázně (viz 6.6.3).
- 6.6.5 Povrch se polije roztokem chlornanu sodného (1,3%).
- 6.6.6 Nechá se působit nejméně 30 min.
- 6.6.7 Roztok se setře a tkanina se vyhodí.
- 6.6.8 Zkontroluje se, zda proběhla úplná degradace: povrch se otře adsorbentem navlhčeným v metanolu, který se pak analyzuje.

6.7 Desky pro tenkovrstvou chromatografii

Desky se postříkají roztokem chlornanu sodného (1,3%) a roztok se nechá působit 30 min. Účinnost degradace je možno zkontrolovat tak, že se deska oškrabe a promyje vhodným rozpouštědlem.

7. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace T-2 toxinu alkalickým roztokem chlornanu sodného

1. MOŽNÉ APLIKACE

Metoda specifikuje postup pro dekontaminaci T-2 toxinu (11) (PubChem CID: 5284461) (12) v roztoku metanolu. Metoda byla vyzkoušena s **400 µg T-2 toxinu** a umožňuje **98%** degradaci T-2 toxinu. Po aplikaci této metody nebyly vzorky testovány na mutagenní aktivitu v Amesově testu.

2. PRINCIP

Roztok T-2 toxinu v malém objemu metanolu byl téměř degradován působením nadbytku roztoku alkalického chlornanu sodného (**chlornan sodný s obsahem min. 0,25 % aktivního chloru a 0,025 M NaOH**) tzn. 1 l roztoku NaClO s 0,25 % aktivního chloru s přídavkem 1 g NaOH. K účinné dekontaminaci T-2 toxinu je potřeba doba působení minimálně **48–72 hod.**

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost T-toxinu, chlornanu sodného a metanolu

3.1.1 Nebezpečnost T-2 toxinu

T-2 toxin je vysoce toxická látka a působí dermatotoxicky na kůži. Manipulace s touto látkou by se měla vždy provádět ve větratelných místnostech. Při všech operacích s tímto toxinem nebo s jeho roztoky **je nutné mít rukavice a další osobní ochranné pomůcky** (plášť, ochranné brýle) (13)!!!

Bylo zjištěno, že např. roztoky mykotoxinů v chloroformu mohou pronikat přes latexové a vinylové rukavice. Pokud rukavice přijdou do styku s roztokem mykotoxinu, **měly by být co nejrychleji vyměněny, aby se zabránilo kontaktu mykotoxinu s pokožkou!!!**

Aby se zabránilo problémům s elektrostatickými efekty, doporučuje se manipulovat s T-2 toxinem v pevné formě v bavlněných rukavicích.

Při práci s roztoky T-2 toxinu používáme výhradně automatické pipety!!!

3.1.2 Nebezpečnost chlornanu sodného

Chlornan sodný je silné oxidační činidlo. Je proto nutné dbát na to, aby nedošlo ke smíchání se silnými redukčními nebo jinými oxidačními činidly (4).

3.1.3 Nebezpečnost metanolu

Metanol je zařazen mezi akutně toxické látky (5) (kategorie nebezpečnosti 3) a musí být proto uskladněn v uzamykatelné skříňce na chemikálie.

Smrtelná dávka metanolu je 30–100 g. Nadýchání par vyvolává šepot, škrábání v krku, bolesti hlavy, hučení v uších, třesy, zvracení a smrt. Po požití vznikají bolesti v končetinách, žaludku,

třesy, rozšíření zornic, mlhavé vidění až slepota. Smrt nastává po 2–3 dnech. Vstřebává se i neporušenou kůží. V těle zůstává nezměněn 5–10krát déle než etanol.

Mezi požitím a prvními příznaky může uplynout různě dlouhá doba latence (několik hodin až dnů).

3.2 Ochranná opatření při kontaminaci T-2 toxinem nebo chlornanem sodným

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem T-2 toxinu nebo chlornanu sodného, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí:* důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu:* okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omývat (15 min.) velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona);
- *při požití:* ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě pozření vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02.**

3.3 Ochranná opatření při kontaminaci metanolem

Pokud dojde k jakékoliv kontaminaci člověka metanolem, je třeba provést následující první pomoc:

- *při požití:* vypít asi 1/2 litru vlažné vody s dvěma lžičkami hydrogenuhličitanu sodného (jedlá soda) a snažit se drážděním hrdla vyvolat zvracení. O vyvolání zvracení se pokoušet i v případě, když od požití uplynula již dlouhá doba (několik hodin). Nejeví-li postižený velmi výrazné známky opilosti, podat mu 1–2 malé skleničky (cca 20 ml) dobré lihoviny, event. lze opakovat až do známek mírné opilosti a udržovat tento stav až do předání do lékařské péče. Dále je nutno chránit oči před silnějším světlem, v případě poruch dýchání zavést umělé dýchání, případně masáž srdce;
- *při nadýchání:* přenést na čistý vzduch, nechat člověka chodit, dále postupovat jako při požití;
- *při potřísnění:* oči i kůži důkladně opláchnout vodou, omýt vlažnou vodou a mýdlem a dále postupovat jako při požití.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

4. CHEMIKÁLIE – ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Pro přípravu dekontaminační směsi byl použit koncentrovaný roztok chlornanu sodného (12,4 %, technický). Koncentrace zředěných roztoků chlornanu byla zjišťována jodometrickou titrací.

T-2 toxin		čistota 80–90%
Voda	H ₂ O	deionizovaná
Metanol	CH ₄ O	technický
Hydrogenuhličitan sodný	NaHCO ₃	technický
Chlornan sodný s obsahem min. 12,4 % aktivního chloru anebo 48 °Cl	NaClO	technický
Hydroxid sodný	NaOH	technický
Síran sodný (bezvodý)	Na ₂ (SO ₄)	technický

POZNÁMKA:

Roztoky chlornanu sodného mají tendenci rozkládat se. Před použitím je tedy vhodné kontrolovat obsah aktivního chloru.

Procento (%) aktivního chloru = množství chloru v gramech, uvolněné okyselením 100 g roztoku chlornanu sodného.

Množství aktivního chloru se dá také obecně vyjádřit jako °Cl, což je objem chloru v litrech, uvolněného z jednoho litru (pro kapaliny) nebo z jednoho kilogramu (pro tuhé látky) komerčního chlornanu sodného působením HCl. Příklad: 1 M chlornanu sodného odpovídá 22,4 °Cl.

Naředěný pracovní roztok chlornanu sodného použitý pro toto kontrolní analytické stanovení, by měl mít obsah aktivního chloru přibližně 25–30 g na 1 l (2,5–3 % aktivního chloru).

Pracovní postup stanovení obsahu aktivního chloru v chlornanu sodném

- Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru se naředí na pracovní koncentraci 2,5–3 % aktivního chloru.
- Do 100 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml roztoku chlornanu sodného (2,5–3 % aktivního chloru) a doplní se po značku destilovanou vodou.
- Následně se odpipetuje 10 ml naředěného pracovního roztoku chlornanu sodného do kónické baňky, která již obsahuje 50 ml destilované vody, 1 g jodidu draselného a 12,5 ml kyseliny octové (2 M). Titruje se 0,05 M roztokem thiosíranu sodného. Jako indikátor se použije škrob.

1 ml Na₂S₂O₃ (0,05 M) odpovídá 3,545 mg aktivního chloru. Spotřeba titračního činidla by tedy neměla být menší než 11 ml.

V případě zjištění rozkladu chlornanu sodného, kdy množství aktivního chloru je menší než

2,5 %, není možné tento roztok k tomuto účelu používat!!!

4.2 Dekontaminační roztoky:

Roztok č. 1	Chlornan sodný s obsahem 4 % aktivního chloru
Roztok č. 2	Chlornan sodný s obsahem 0,25 % aktivního chloru + 0,025 M NaOH (tzn. <u>1 l roztoku NaClO s 0,25 % aktivního chloru s přídavkem 1 g NaOH</u>)

4.3 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci T-2 toxinu.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení T-2 toxinu, kdy používá např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace T-2 toxinu.

6. POSTUP DEKONTAMINACE

Pro každý experiment bylo použito **400 µg** T-2 toxinu. Toxin byl rozpuštěn ve **200 µl metanolu** a smíchán s **9 ml dekontaminačního roztoku (č. 1** v prvním experimentu a **č. 2** v druhém experimentu) ve zkumavce se zábrusovou zátkou a ponechán při pokojové teplotě. Po dostatečné době byla dekontaminační směs nasycena chloridem sodným.

7. ANALÝZY PO DEKONTAMINACI

7.1 Parametry TLC pro T-2 toxin

7.1.1 Rezidua T-2 toxinu, popřípadě jeho degradační produkty byly extrahovány silným třepáním s 2 × 3 ml ethylesteru kyseliny octové. Organická fáze byla převedena do malé vialky a odpařena do sucha při 40 °C ve vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn ve 100 µl metanolu.

7.1.2 Série standardů a alikvotní podíly (5–10 µl) metanolických extraktů byly naneseny na TLC desky.

7.1.3 Vyvíjecí rozpouštědlo: ethylester kyseliny octové/toluen (3 : 1).

7.1.4 Toxin a jeho degradační produkty byly detekovány reakcí NBP/TEPA (4-(p-nitrobenzyl)pyridin/tetraetylen pentamin). Množství bylo stanoveno porovnáním barevné intenzity skvrn vzorků se standardy obsahující známé množství T-2 toxinu. Při použití popsaného postupu bylo

detekováno min. 0,2 mg T-2 toxinu, to je asi 0,5 % výchozího množství, použitého pro dekontaminaci.

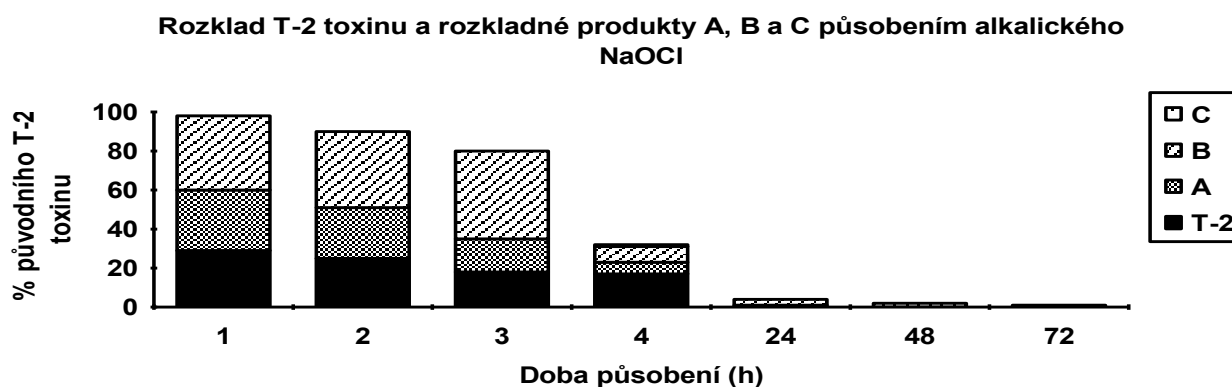
8. VYHODNOCENÍ

Samotný chlornan sodný není příliš efektivní pro degradaci T-2 toxinu. Pro likvidaci **98 %** toxinu je třeba minimálně **48 h** při koncentraci **4%** chlornanu sodného.

Pokud se do reakční směsi přidá zředěný NaOH, rychlost degradace T-2 toxinu se zvýší.

Při použití dekontaminačního roztoku **NaClO s obsahem 0,25 % aktivního chloru + 0,025 M NaOH** a reakční doby **4 hod.** byly detekovány výrazné zbytky nerozloženého T-2 toxinu: většinou 3-5 %, ale v některých případech i 15 %.

Byl sledován úbytek T-2 toxinu a jeho degradačních produktů v závislosti na době působení dekontaminačního činidla (NaClO s obsahem 0,25 % aktivního chloru + 0,025 M NaOH). Jak je vidět z grafu, k tomu, aby se rozložilo více než 98 % T-2 toxinu, je potřeba minimálně 48 hodin. Pokusy zkrátit reakční dobu vedou ke zvýšení koncentrace roztoku NaOH/NaClO.



Pozn.:

A, B, C jsou triviální názvy degradačních produktů T-2 toxinu, které jsou charakterizovány Rf: 0,60; 0,51 a 0,43 v mobilní směsi ethylester kyseliny octové : toluen (3 : 1)

K účinné dekontaminaci T-2 toxinu je potřeba doba působení minimálně **48–72 hod.** při použití alkalického chlornanu sodného (**NaClO s obsahem 0,25 % aktivního chloru + 0,025 M NaOH**).

9. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace fumonisinu B₁ za použití alkalického roztoku chlornanu sodného

1. MOŽNÉ APLIKACE

Tato metoda specifikuje postup pro dekontaminaci fumonisinu B₁ (**FUMB₁**) (14) (PubChem CID: 2733487) (15) v následujících laboratorních odpadech: pevné látky a laboratorní sklo.

Metoda byla odzkoušena s **400 µg FUMB₁**. V tomto případě uvedený postup poskytuje více než **99,999%** degradaci.

Po aplikaci této metody nebyly vzorky testovány na mutagenní aktivitu v Amesově testu.

2. PRINCIP

FUMB₁ se kompletně dekontaminuje nadbytkem alkalického roztoku chlornanu sodného.

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost FUMB₁, chlornanu sodného a metanolu

3.1.1 Nebezpečnost FUMB₁

FUMB₁ je toxický sekundární metabolit některých druhů mikroskopických hub rodu *Fusarium*. Jsou klasifikovány podle IARC WHO jako **možné karcinogeny pro člověka (třída 2B)**. FUMB₁ je **promotor karcinogenního procesu**, nevykazuje genotoxické a mutagenní účinky na dosud zvolených modelech, je toxický pro řadu savčích a ptačích buněk a inhibuje biosyntézu sfingolipidů (sfingomyelinu a glykosfingolipidů) (16).

Manipulace s FUMB₁ by se měla vždy provádět ve větratelných místnostech. Při všech operacích s FUMB₁ nebo jeho roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle).

Aby se zabránilo problémům s elektrostatickými efekty, doporučuje se manipulovat s FUMB₁ v pevné formě v bavlněných rukavicích.

Při práci s roztoky FUMB₁ používáme výhradně automatické pipety.

3.1.2 Nebezpečnost chlornanu sodného

Chlornan sodný je silné oxidační činidlo. Je proto nutné dbát na to, aby nedošlo ke smíchání se silnými redukčními nebo jinými oxidačními činidly (4).

3.1.3 Nebezpečnost metanolu

Metanol je zařazen mezi akutně toxické látky (5) (kategorie nebezpečnosti 3) a musí být proto uskladněn v uzamykatelné skříňce na chemikálie.

Smrtelná dávka metanolu je 30–100 g. Nadýchání par vyvolává šepot, škrábání v krku, bolesti hlavy, hučení v uších, třes, zvracení a smrt. Po požití vznikají bolesti v končetinách, žaludku,

třesy, rozšíření zornic, mlhavé vidění až slepota. Smrt nastává po 2–3 dnech. Vstřebává se i neporušenou kůží. V těle zůstává nezměněn 5–10krát déle než etanol.

Mezi požitím a prvními příznaky může uplynout různě dlouhá doba latence (několik hodin až dnů).

3.2 Ochranná opatření při kontaminaci FUMB₁ nebo chlornanem sodným

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem FUMB₁ nebo chlornanu sodného, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí:* důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu:* okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omývat (15 min.) velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona);
- *při požití:* ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě požití vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

3.3 Ochranná opatření při kontaminaci metanolem

Pokud dojde k jakémukoliv kontaminaci člověka metanolem, je třeba provést následující první pomoc:

- *při požití:* vypít asi 1/2 litru vlažné vody s dvěma lžičkami hydrogenuhličitanu sodného (jedlá soda) a snažit se drážděním hrdla vyvolat zvracení. O vyvolání zvracení se pokoušet i v případě, že od požití uplynula již dlouhá doba (několik hodin). Nejeví-li postižený velmi výrazné známky opilosti, podat mu 1–2 malé skleničky (cca 20 ml) dobré lihoviny, event. lze opakovat až do známek mírné opilosti a udržovat tento stav až do předání do lékařské péče. Dále je nutno chránit oči před silnějším světlem, v případě poruch dýchání zavést umělé dýchání, případně masáž srdce;
- *při nadýchání:* přenést na čistý vzduch, nechat člověka chodit, dále postupovat jako při požití;
- *při potřísnění:* oči i kůži důkladně opláchnout vodou, omýt vlažnou vodou a mýdlem a dále postupovat jako při požití.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

4. ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Metanol	CH ₄ O	technický
Chlornan sodný (12,4 % aktivního chloru nebo 48 °Cl)	NaClO	technický
100 ml saponát		např. Jar
250 g hydroxid draselný	KOH	technický

PŘÍPRAVA DEKONTAMINAČNÍ LÁZNĚ

K 5 l roztoku chlornanu sodného s obsahem **3 %** aktivního chloru se přidá **250 g** hydroxidu sodného a **100 ml** saponátu.

POZNÁMKA:

Roztoky chlornanu sodného mají tendenci rozkládat se. Před použitím je tedy vhodné kontrolovat obsah aktivního chloru.

Procento (%) aktivního chloru = množství chloru v gramech, uvolněné oxyselením 100 g roztoku chlornanu sodného.

Množství aktivního chloru se dá také obecně vyjádřit jako °Cl, což je objem chloru v litrech, uvolněného z jednoho litru (pro kapaliny) nebo z jednoho kilogramu (pro tuhé látky) komerčního chlornanu sodného působením HCl. Příklad: 1 M chlornanu sodného odpovídá 22,4 °Cl.

Naředěný pracovní roztok chlornanu sodného použitý pro toto kontrolní analytické stanovení, by měl mít obsah aktivního chloru přibližně 25–30 g na 1 l (2,5–3 % aktivního chloru).

Pracovní postup stanovení obsahu aktivního chloru v chlornanu sodném

- Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru se naředí na pracovní koncentraci 2,5–3% aktivního chloru.
- Do 100 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml roztoku chlornanu sodného (2,5–3% aktivního chloru) a doplní se po značku destilovanou vodou.
- Následně se odpipetuje 10 ml naředěného pracovního roztoku chlornanu sodného do kónické baňky, která již obsahuje 50 ml destilované vody, 1 g jodidu draselného a 12,5 ml kyseliny octové (2 M). Titruje se 0,05 M roztokem thiosíranu sodného. Jako indikátor se použije škrob.

1 ml Na₂S₂O₃ (0,05 M) odpovídá 3,545 mg aktivního chloru. Spotřeba titračního činidla by tedy neměla být menší než 11 ml.

V případě zjištění rozkladu chlornanu sodného, kdy množství aktivního chloru je menší než 2,5 %, není možné tento roztok k tomuto účelu používat!!!

4.2 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci FUMB₁.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení FUMB₁, kdy může používat např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace FUMB₁.

6. POSTUP DEKONTAMINACE

400 µg FUMB₁ v 1 ml metanolu se nanese na dno testovací nádoby (vialky). Metanol se odpaří při 40 °C odfoukáním dusíkem v digestoři. Testovací nádoby se uloží do dekontaminační lázně: alkalického roztoku chlornanu sodného na 24 hod. (10 ml dekontaminačního roztoku na 1 vialku).

7. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace citrininu za použití chlornanu sodného

1. MOŽNÉ APLIKACE

Metoda specifikuje postup pro dekontaminaci citrininu (CIT) (8) (PubChem CID: 54680783) (17) v různých laboratorních odpadech: pevné látky (6.1), vodné roztoky (6.2), roztoky v těkavých organických rozpouštědlech (6.3), roztoky v dimethylformamidu (DMF) nebo dimetylsulfoxidu (DMSO) (6.4), laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky (6.5), kontaminované povrchy (6.6) a TLC desky (6.7).

Metoda byla vyzkoušena se **400 µg** pevného CIT a umožňuje **99,5%** degradaci CIT.

Po aplikaci této metody byly vzorky testovány na mutagenní aktivitu. Byla použita *Salmonella typhimurium*, kmeny TA 97, TA 98, TA 100 a TA 102 s a bez metabolické aktivace. Žádná mutagenní aktivita nebyla prokázána.

2. PRINCIP

Pevný CIT a roztoky CIT v malém objemu alkoholu byly úplně degradovány působením nadbytku roztoku chlornanu sodného s obsahem 1,3 % aktivního chloru.

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost CIT, chlornanu sodného a metanolu

3.1.1 Nebezpečnost CIT

CIT je nefrotoxický a jeho karcinogenita byla prokázána na experimentálních zvířatech. Při všech manipulacích s tímto mykotoxinem a jeho roztoky je nutné používat rukavice. Vzhledem k tomu, že chloroform proniká přes latexové rukavice, je třeba opatrně manipulovat s roztoky CIT rozpuštěných v chloroformu. Pokud dojde k potřísnění rukavic roztokem CIT v chloroformu, musí být co nejrychleji vyměněny, aby se zabránilo kontaktu CIT s pokožkou (18).

CIT v pevné formě má tendenci dispergovat do atmosféry, proto se s ním musí manipulovat pouze v digestoři s fungujícím odsáváním a musí se používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, obličejový štít/ochranné brýle).

3.1.2 Nebezpečnost chlornanu sodného

Chlornan sodný je silné oxidační činidlo. Je proto nutné dbát na to, aby nedošlo ke smíchání se silnými redukčními nebo jinými oxidačními činidly (4).

3.1.3 Nebezpečnost metanolu

Metanol je zařazen mezi akutně toxické látky (5) (kategorie nebezpečnosti 3) a musí být proto uskladněn v uzamykatelné skřínce na chemikálie.

Smrtelná dávka metanolu je 30–100 g. Nadýchání par vyvolává šepot, škrábání v krku, bolesti hlavy, hučení v uších, třesy, zvracení a smrt. Po požití vznikají bolesti v končetinách, žaludku, třesy, rozšíření zornic, mlhavé vidění až slepota. Smrt nastává po 2–3 dnech. Vstřebává se i neporušenou kůží. V těle zůstává nezměněn 5–10krát déle než etanol.

Mezi požitím a prvními příznaky může uplynout různě dlouhá doba latence (několik hodin až dnů).

3.2 Ochranná opatření při kontaminaci CIT nebo chlornanem sodným

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem CIT nebo chlornanu sodného, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí*: důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu*: okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omýt velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona);
- *při požití*: ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě pozření vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

3.3 Ochranná opatření při kontaminaci metanolem

Pokud dojde k jakékoliv kontaminaci člověka metanolem, je třeba provést následující první pomoc:

- *při požití*: vypít asi 1/2 litru vlažné vody s dvěma lžičkami hydrogenuhličitanu sodného (jedlá soda) a snažit se drážděním hrdla vyvolat zvracení. O vyvolání zvracení se pokoušet i v případě, že od požití uplynula již dlouhá doba (několik hodin). Nejeví-li postižený velmi výrazné známky opilosti, podat mu 1–2 malé skleničky (cca 20 ml) dobré lihoviny, event. lze opakovat až do známek mírné opilosti a udržovat tento stav až do předání do lékařské péče. Dále je nutno chránit oči před silnějším světlem, v případě poruch dýchání zavést umělé dýchání, případně masáž srdce;
- *při nadýchání*: přenést na čistý vzduch, nechat člověka chodit, dále postupovat jako při požití;
- *při potřísnění*: oči i kůži důkladně opláchnout vodou, omýt vlažnou vodou a mýdlem a dále postupovat jako při požití.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

4. ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Voda	H ₂ O	deionizovaná
Etanol	C ₂ H ₇ O	technický
Metanol	CH ₄ O	technický
Dichlormetan	CH ₂ Cl ₂	technický
Hydrogenuhličitan sodný	NaHCO ₃	technický
Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru (48 °Cl)	NaClO	technický
Hydroxid sodný	NaOH	technický
Síran sodný (bezvodý)	Na ₂ (SO ₄)	technický

POZNÁMKA:

Roztoky chlornanu sodného mají tendenci rozkládat se. Před použitím je tedy vhodné kontrolovat obsah aktivního chloru.

Procento (%) aktivního chloru = množství chloru v gramech, uvolněné okyselením 100 g roztoku chlornanu sodného.

Množství aktivního chloru se dá také obecně vyjádřit jako °Cl, což je objem chloru v litrech, uvolněného z jednoho litru (pro kapaliny) nebo z jednoho kilogramu (pro tuhé látky) komerčního chlornanu sodného působením HCl. Příklad: 1 M chlornanu sodného odpovídá 22,4 °Cl.

Naředěný pracovní roztok chlornanu sodného použitý pro toto kontrolní analytické stanovení, by měl mít obsah aktivního chloru přibližně 25–30 g na 1 l (2,5–3% aktivního chloru).

Pracovní postup stanovení obsahu aktivního chloru v chlornanu sodném

- Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru se naředí na pracovní koncentraci 2,5–3 % aktivního chloru.
- Do 100 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml roztoku chlornanu sodného (2,5–3% aktivního chloru) a doplní se po značku destilovanou vodou.
- Následně se odpipetuje 10 ml naředěného pracovního roztoku chlornanu sodného do kónické baňky, která již obsahuje 50 ml destilované vody, 1 g jodidu draselného a 12,5 ml kyseliny octové (2 M). Titruje se 0,05 M roztokem thiosíranu sodného. Jako indikátor se použije škrob.

1 ml Na₂S₂O₃ (0,05 M/l) odpovídá 3,545 mg aktivního chloru. Spotřeba titračního činidla by tedy neměla být menší než 11 ml.

V případě zjištění rozkladu chlornanu sodného, kdy množství aktivního chloru je menší než 2,5 %, není možné tento roztok k tomuto účelu používat!!!

4.2 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci CIT.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení CIT, kdy může používat např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace CIT.

6. POSTUP DEKONTAMINACE

Pevný CIT (**400 µg**) nebo roztok **400 µg CIT v 800 µl metanolu** je úplně degradován působením **20 ml chlornanu sodného s obsahem 1,3 % aktivního chloru** po dobu **30 min**. S chlornanem sodným mohou reagovat také další látky přítomné v odpadu. Proto se doporučuje ověřit účinnost degradace CIT. K účinné dekontaminaci se používá nadbytek chlornanu sodného, minimálně dvojnásobek odhadovaného množství.

6.1 Metoda použitelná pro pevné látky

- 6.1.1 Odhadne se množství chlornanu sodného potřebného pro degradaci.
- 6.1.2 Na každých 400 µg CIT se přidá 800 µl metanolu.
- 6.1.3 Přidá se minimálně dvojnásobek odhadovaného množství chlornanu (asi 20 ml na 400 µg), protřepe a nechá reagovat nejméně 30 min.
- 6.1.4 Ověří se, zda degradace proběhla úplně (viz bod 8).
- 6.1.5 Zředí se a odstraní.

6.2 Vodné roztoky

- 6.2.1 Pokud je to nutné, roztoky se zneutralizují (roztokem HCl) nebo zalkalizují (roztokem NaOH).

6.3 Roztoky v těkavých organických rozpouštědlech

- 6.3.1 Rozpouštědlo se odpaří v rotační odparce za sníženého tlaku.
- 6.3.2 Odhadne se množství CIT k degradaci a přidá se dostatečné množství metanolu (pro CIT).
- 6.3.3 Postupuje se podle 6.1.2 až 6.1.5.

6.4 Roztoky v DMSO nebo v DMF

- 6.4.1 Přidá se voda v dvojnásobném množství než je objem roztoku.
- 6.4.2 3krát se extrahuje se stejným objemem dichlormetanu. Dichlormetanové extrakty se

spojí a vysuší nad bezvodým síranem sodným. Přefiltruje se a promyje dalším dichlormethanem.

6.4.3 Rozpouštědlo se odpaří v rotační odparce za sníženého tlaku do sucha (pokud je to nutné, zvýší se teplota lázně nebo vakuum).

6.4.4 Postupuje se jako v odst. 6.3.2 a 6.3.3.

6.5 Laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky

6.5.1 Přidá se dostatečné množství metanolu nebo etanolu k navlhčení skla nebo kontaminovaných osobních ochranných pomůcek.

6.5.2 Sklo nebo oděvy se ponoří do roztoku chlornanu sodného (1,3%) a nechá se 30 min. působit.

6.5.3 Použitý dekontaminační roztok se zředí a jako odpad odstraní (viz kap. 7).

6.6 Rozlité a rozsypané látky

6.6.1 Potřísněná plocha se ohraničí. Je třeba použít vhodného ochranného oděvu.

6.6.2 Kapaliny se setřou vhodnou tkaninou.

6.6.3 Tkanina se ponoří do lázně s roztokem chlornanu sodného (1,3%).

6.6.4 Povrch se otře textilií namočenou v roztoku hydrogenuhličitanu sodného, která se pak ponoří do lázně (viz 6.6.3).

6.6.5 Povrch se polije roztokem chlornanu sodného (1,3%).

6.6.6 Nechá se působit nejméně 30 min.

6.6.7 Roztok se setře a tkanina se vyhodí.

6.6.8 Zkontroluje se, zda proběhla úplná degradace: povrch se otře adsorbentem navlhčeným v metanolu, který se pak analyzuje.

6.7 Desky pro tenkovrstvou chromatografii

Desky se postříkají roztokem chlornanu sodného (1,3%) a roztok se nechá působit 30 min. Účinnost degradace je možno zkontrolovat tak, že se deska oškrabe, promyje vhodným rozpouštědlem a analyzuje se.

7. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace patulinu za použití manganistanu draselného v alkalickém prostředí

1. MOŽNÉ APLIKACE

Tato metoda uvádí proces dekontaminace patulinu (**PAT**) (8) (PubChem CID: 4696) (19) v laboratorních odpadech: pevné látky (6.1); roztoky v těkavých rozpouštědlech (6.2); sklo (6.3); vodné roztoky (6.4) a kontaminované povrchy (6.5).

Metoda byla studována za použití **100 µg PAT**. V tomto případě bylo dosaženo lepší než **99,9%** degradace.

2. PRINCIP

Dekontaminace je prováděna oxidací manganistanem draselným (0,3 M) v roztoku hydroxidu sodného (2 M).

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

PAT má imunosupresivní účinky, není však zatím prokázána jeho karcinogenita na pokusných zvířatech. Mutagenita PAT v Amesově testu je pozitivní. Manipulaci s mykotoxiny je doporučeno provádět vždy ve ventilovaném boxu. Při všech manipulacích s těmito látkami nebo jejich roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle). Pokud rukavice přijdou do styku s roztokem PAT, měly by být co nejrychleji vyměněny, aby se zabránilo kontaktu mykotoxinu s pokožkou.

Aby se zabránilo problémům s elektrostatickými efekty, doporučuje se manipulovat s mykotoxiny v pevné formě v bavlněných rukavicích.

3.1 Ochranná opatření při kontaminaci PAT

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem PAT, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí*: důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu*: okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omývat (15 min.) velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona DEZ 87);
- *při požití*: ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě požití vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

4. ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Manganistan draselný (20)	KMnO ₄	technický
Manganistan draselný roztok	KMnO ₄	0,3 M v hydroxidu sodném (2 M) připravovat denně
Hydroxid sodný	NaOH	technický
Hydroxid sodný - roztok		2 M ve vodě
Dichlormetan	CH ₂ Cl ₂	technický

4.2 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci PAT.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení PAT, kdy používá např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace PAT.

6. POSTUP

400 µg PAT je degradováno působením **10 ml 0,3 M manganistanu draselného ve 2 M hydroxidu sodném** po dobu **3 hod.** S manganistanem draselným mohou reagovat také další látky v odpadu – změna barvy z červené na zelenou nebo hnědou.

6.1 Pevné látky

- 6.1.1 Rozpustí se **400 µg PAT** v 5 ml acetonitrilu.
- 6.1.2 Ke každým 5 ml roztoku se přidá 10 ml 0,3 M manganistanu draselného v 2 M NaOH.
- 6.1.3 Za míchání se nechá reagovat minimálně 3 hodiny. Roztok musí být fialový nebo zelený. Pokud není, je nutné přidat další manganistan.
- 6.1.4 Na každých přidaných 10 ml roztoku KMnO₄/NaOH se přidá 10 ml 2 M disiřičitanu sodného.
- 6.1.5 Odstraní se po naředění do odpadu.

6.2 Roztoky v těkavých organických rozpouštědlech

- 6.2.1 Rozpouštědlo se odpaří do sucha v rotační vakuové odparce.
- 6.2.2 Postupuje se podle 6.1.1 až 6.1.5.

6.3 Sklo

- 6.3.1 Sklo se vypláchne malým množstvím dichlormetanu (pětkrát).

6.3.2 Spojené objemy dichlormetanu se odpaří na rotační vakuové odparce.

6.3.3 Postupuje se podle 6.1.1 až 6.1.5.

6.4 Vodné roztoky

6.4.1 Pokud je to nutné, naředí se vodou tak, aby koncentrace nebyla větší než 200 µg/ml a přidá tolik pevného hydroxidu sodného, aby jeho koncentrace byla 2 M.

6.4.2 Za míchání se přidá tolik manganistanu draselného, aby jeho koncentrace byla 0,3 M.

6.4.3 Postupuje se podle 6.1.3 až 6.1.4.

6.5 Kontaminované povrchy

6.5.1 Potřísněná plocha se ohraničí. Je třeba použít vhodného ochranného oděvu.

6.5.2 Kapaliny se setřou vhodnou tkaninou. Pevné látky se setřou tkaninou navlhčenou dichlormetanem. Tkaniny se ponoří do lázně obsahující 0,3 M manganistan draselný v 2 M NaOH.

6.5.3 Oblast se poleje dostatečným množstvím 0,3 M manganistanu draselného v 2 M NaOH a nechá působit minimálně 3 hodiny.

6.5.4 Roztok se setře textilií a ta se ponoří do 2 M thiosíranu sodného.

POZNÁMKA:

Změří se pH roztoku. Pokud je kyselý, zalkalizuje se hydroxidem sodným.

6.5.5 Povrch se opláchne 2 M roztokem disiřičitanu sodného.

6.5.6 Pokud je třeba kontrolovat, zda degradace proběhla úplně, povrch se otře absorpčním materiálem navlhčeným v metanolu.

7. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s dokumentem vypracovaným organizací, kam konkrétní laboratoř spadá. Může se jednat např. o „Organizační směrnici – nakládání s odpady“ nebo podobný typ dokumentu vypracovaný na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace sterigmatocystinu za použití chlornanu sodného

1. MOŽNÉ APLIKACE

Tato metoda specifikuje postup pro dekontaminace sterigmatocystinu (**STC**) (8) (PubChem CID: 5280389) (21) v následujících laboratorních odpadech: pevné látky (6.1), vodné roztoky (6.2), roztoky v těkavých organických rozpouštědlech (6.3), roztoky v dimethylformamidu (DMF) nebo dimetylsulfoxidu (DMSO) (6.4), laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky (6.5), rozlité roztoky (6.6) a TLC desky (6.7).

Metoda byla odzkoušena s **200 µg STC**. V tomto případě poskytuje lepší než **99,8 %** degradaci.

Po aplikaci této metody byly vzorky testovány na mutagenní aktivitu. Byla použita *Salmonella typhimurium*, kmeny TA 97, TA 98, TA 100 a TA 102 s a bez metabolické aktivace. Žádná mutagenní aktivita nebyla pozorována.

2. PRINCIP

STC se kompletně degraduje nadbytkem roztoku chlornanu sodného. Potom se roztok zředí a přidá se aceton, aby se rozložily případné nebezpečné dichloroderiváty.

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost STC, chlornanu sodného a metanolu

3.1.1 Nebezpečnost STC

STC je karcinogenní pro myši a laboratorní potkany. Manipulace se STC by se měla vždy provádět ve větratelných místnostech. Při všech operacích se STC nebo jeho roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle) (22).

Bylo zjištěno, že roztoky mykotoxinů v chloroformu mohou pronikat přes latexové a vinylové rukavice. Pokud rukavice přijdou do styku s roztokem mykotoxinu, měly by být co nejrychleji vyměněny, aby se zabránilo kontaktu mykotoxinu s pokožkou.

Aby se zabránilo problémům s elektrostatickými efekty, doporučuje se manipulovat se STC v pevné formě v bavlněných rukavicích.

Při práci s roztoky STC používáme výhradně automatické pipety.

3.1.2 Nebezpečnost chlornanu sodného

Chlornan sodný je silné oxidační činidlo. Je proto nutné dbát na to, aby nedošlo ke smíchání se silnými redukčními nebo jinými oxidačními činidly. Jestliže se do roztoku chlornanu sodného přidá aceton, dochází k haloformové reakci. Proto je nutné před přidáním acetonu snížit koncentraci chlornanu pod 1,3%, aby se zabránilo exotermické reakci (4).

3.1.3 Nebezpečnost metanolu

Metanol je zařazen mezi akutně toxické látky (5) (kategorie nebezpečnosti 3) a musí být proto uskladněn v uzamykatelné skříňce na chemikálie.

Smrtná dávka metanolu je 30–100 g. Nadýchání par vyvolává šepot, škrábání v krku, bolesti hlavy, hučení v uších, třesy, zvracení a smrt. Po požití vznikají bolesti v končetinách, žaludku, třesy, rozšíření zornic, mlhavé vidění až slepota. Smrt nastává po 2–3 dnech. Vstřebává se i neporušenou kůží. V těle zůstává nezměněn 5–10krát déle než etanol.

Mezi požitím a prvními příznaky může uplynout různě dlouhá doba latence (několik hodin až dnů).

3.2 Ochranná opatření při kontaminaci STC nebo chlornanem sodným

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem STC nebo chlornanu sodného, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí:* důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu:* okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omývat (15 min.) velkým množstvím vody a desinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona);
- *při požití:* ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě pozření vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

3.3 Ochranná opatření při kontaminaci metanolem

Pokud dojde k jakékoliv kontaminaci člověka metanolem, je třeba provést následující první pomoc:

- *při požití:* vypít asi 1/2 litru vlažné vody s dvěma lžičkami hydrogenuhličitanu (užívací soda) a snažit se drážděním hrdla vyvolat zvracení. O vyvolání zvracení se pokoušet i v případě, že od požití uplynula již dlouhá doba (několik hodin). Nejeví-li postižený velmi výrazné známky opilosti, podat mu 1–2 malé skleničky (cca 20 ml) dobré lihoviny, event. lze opakovat až do známek mírné opilosti a udržovat tento stav až do předání do lékařské péče. Dále je nutno chránit oči před silnějším světlem, v případě poruch dýchání zavést umělé dýchání, případně masáž srdce;
- *při nadýchání:* přenést na čistý vzduch, nechat člověka chodit, dále postupovat jako při požití;

- *při potřísnění:* oči i kůži důkladně opláchnout vodou, omýt vlažnou vodou a mýdlem a dále postupovat jako při požití.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS):** Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

4. ČINIDLA

4.1 Pro dekontaminaci

Metanol	CH ₄ O	technický
Aceton	C ₃ H ₆ O	technický
Dichlormetan	CH ₂ Cl ₂	technický
Chlornan sodný (12,4 % aktivního chloru nebo 48 °Cl)	NaClO	technický

POZNÁMKA:

Roztoky chlornanu sodného mají tendenci rozkládat se. Před použitím je tedy vhodné kontrolovat obsah aktivního chloru.

Procento (%) aktivního chloru = množství chloru v gramech, uvolněné okyselením 100 g roztoku chlornanu sodného.

Množství aktivního chloru se dá také obecně vyjádřit jako °Cl, což je objem chloru v litrech, uvolněného z jednoho litru (pro kapaliny) nebo z jednoho kilogramu (pro tuhé látky) komerčního chlornanu sodného působením HCl. Příklad: 1 M chlornanu sodného odpovídá 22,4 °Cl.

Naředěný pracovní roztok chlornanu sodného použitý pro toto kontrolní analytické stanovení, by měl mít obsah aktivního chloru přibližně 25–30 g na 1 l (2,5–3% aktivního chloru).

Pracovní postup stanovení obsahu aktivního chloru v chlornanu sodném

- Chlornan sodný s obsahem 12,4 % aktivního chloru se naředí na pracovní koncentraci 2,5–3 % aktivního chloru.
- Do 100 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml roztoku chlornanu sodného (2,5–3% aktivního chloru) a doplní se po značku destilovanou vodou.
- Následně se odpipetuje 10 ml naředěného pracovního roztoku chlornanu sodného do kónické baňky, která již obsahuje 50 ml destilované vody, 1 g jodidu draselného a 12,5 ml kyseliny octové (2 M). Titruje se 0,05 M roztokem thiosíranu sodného. Jako indikátor se použije škrob.

1 ml Na₂S₂O₃ (0,05 M) odpovídá 3,545 mg aktivního chloru. Spotřeba titračního činidla by tedy neměla být menší než 11 ml.

V případě zjištění rozkladu chlornanu sodného, kdy množství aktivního chloru je menší než 2,5 %, není možné tento roztok k tomuto účelu používat!!!

4.2 Pro analýzy k ověření účinnosti dekontaminace

Jedná se o chemikálie, které se v konkrétní laboratoři používají ke zpracování vzorků a k izolaci STC.

5. PŘÍSTROJE

Laboratorní vybavení je dáno tím, jaké laboratorní přístroje a analytickou metodu má konkrétní laboratoř zavedenu ke stanovení STC, kdy používá např. chromatografické metody (TLC, HPLC, LC-MS/MS) nebo imunochemické metody (ELISA, EIA). Touto analytickou koncovkou je pak možné ověřit účinnost dekontaminace STC.

6. POSTUP DEKONTAMINACE

200 µg STC ve 4 ml metanolu je úplně degradováno působením 5 ml roztoku chlornanu sodného (1,3% aktivního chlóru) po dobu 1 hod. Následná reakce s acetonem odstraní potenciální mutagenní látky.

6.1 Pevné látky

- 6.1.1 Odhadne se množství STC a objem metanolu, který má být přidán (10 ml metanolu na 0,5 mg STC).
- 6.1.2 Přidá se potřebné množství metanolu a ponechá se v ultrazvukové lázni při 50 °C do úplného rozpuštění STC.
- 6.1.3 Na každých 8 ml roztoku se přidá 10 ml roztoku chlornanu sodného (1,3%).
- 6.1.4 Nechá se reagovat 1 h.
- 6.1.5 Přidá se aceton tak, aby jeho koncentrace byla 5 %.
- 6.1.6 Nechá se reagovat 5 min.
- 6.1.7 Doporučuje se zkontrolovat účinnost degradace (viz kap. 5. PŘÍSTROJE).
- 6.1.8 Zředí se a odstraní do odpadu.

6.2 Vodné roztoky

- 6.2.1 K vodnému roztoku se přidá dvojnásobné množství roztoku chlornanu sodného.

6.3 Roztoky v těkavých organických rozpouštědlech

- 6.3.1 Odhadne se celkové množství STC k degradaci.
- 6.3.2 Rozpouštědlo se odpaří ve vakuové odparce za sníženého tlaku.
- 6.3.3 Postupuje se podle 6.1.2 až 6.1.8.

6.4 Roztoky v DMSO nebo v DMF

- 6.4.1 K roztoku v DMSO nebo v DMF se přidá dvojnásobné množství vody.
- 6.4.2 3krát se extrahuje se stejným objemem dichlormetanu. Dichlormetanové extrakty se spojí a vysuší nad bezvodým síranem sodným. Přefiltruje se a promyje dalším dichlormetanem.
- 6.4.3 V rotační odparce za sníženého tlaku se odpaří do sucha (pokud je to nutné, zvýší se teplota nebo sníží tlak).
- 6.4.4 Postupuje se podle 6.1.2 až 6.1.8

6.5 Laboratorní sklo a osobní ochranné pomůcky

- 6.5.1 Sklo se opláchne malým množstvím metanolu, aby se rozpustily případné zbytky STC, a postupuje se podle 6.3.
- 6.5.2 Sklo nebo kontaminované osobní ochranné pomůcky se ponoří do roztoku chlornanu sodného (1,3%) a nechá se působit 1 h.
- 6.5.3 Přidá se aceton v množství 5 % z celkového objemu. Nechá se reagovat minimálně 5 min.
- 6.5.4 Použitý dekontaminační roztok se zředí a jako odpad odstraní (viz kap. 7).

6.6 Rozlité a rozsypané látky

- 6.6.1 Potřísněná plocha se ohraničí. Je třeba použít ochranný oděv a zástěru.
- 6.6.2 Kapalina se utře, tuhé látky se setřou savou textilií navlhčenou v metanolu. Tkanina se dekontaminuje stejně jako ochranné oděvy.
- 6.6.3 Plocha se poleje roztokem chlornanu sodného (1,3%). Nechá se působit 1 h.
- 6.6.4 Setře se a postříká se 5% acetonem (ve vodě). Nechá se působit minimálně 5 min.
- 6.6.5 Povrch se znovu otře adsorbentem navlhčeným v metanolu a odstraní.

6.7 Desky pro tenkovrstvou chromatografii

Desky se postříkají roztokem chlornanu sodného (minimálně 1,3%). Nechají se 1 hodinu stát. Potom se postříkají 5% vodným roztokem acetonu. Nechá se působit 5 min.

7. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Dekontaminace aflatoxinu B₁, ochratoxinu A a fumonisinu B₁ za použití detergentu RBS-35 (fy Pierce)

1. MOŽNÉ APLIKACE

Metoda byla vyzkoušena k dekontaminaci laboratorního skla kontaminovaného vybranými mykotoxiny: **200 µg aflatoxinu B₁** (PubChem CID: 186907) (2), **400 µg ochratoxinu A** (PubChem CID: 442530) (9) a **400 µg fumonisinu B₁** (PubChem CID: 2733487) (15) za použití detergentu **RBS-35** (fy Pierce) (14).

Metoda umožňuje **99,9%** dekontaminaci aflatoxinu B₁ (**AFB₁**), **99,99%** ochratoxinu A (**OTA**) a více než **99,99%** fumonisinu B₁ (**FUMB₁**).

Po aplikaci této metody nebyly vzorky testovány na mutagenní aktivitu v Amesově testu.

2. PRINCIP

Testovací nádobky kontaminované vybranými mykotoxiny jsou uloženy do dekontaminační lázně: 50 °C teplého 2% roztoku RBS-35 detergentu, po dobu minimálně 30 minut.

3. NEBEZPEČNOST A OCHRANA ZDRAVÍ

3.1 Nebezpečnost aflatoxinů

AF jsou karcinogenní pro člověka, při všech manipulacích s těmito látkami a jejich roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle). U roztoků AF v chloroformu bylo zjištěno pronikání přes latexové a vinylové rukavice. Pokud rukavice přijdou do styku s roztokem AF, měly by být co nejrychleji vyměněny, aby se zabránilo kontaktu AF s pokožkou. AF v pevné formě mají tendenci dispergovat se v atmosféře.

3.2 Nebezpečnost ochratoxinu A

OTA je nefrotoxický, teratogenní a karcinogenní. Je klasifikován podle IARC/WHO jako možný karcinogen pro člověka (třída 2B). Manipulace s touto látkou by se měla vždy provádět ve větratelných místnostech. Při všech operacích s těmito látkami nebo jejich roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle).

3.3 Nebezpečnost fumonisinu B₁

FUMB₁ je klasifikován podle IARC/WHO jako možný karcinogen pro člověka (třída 2B), je promotorem karcinogenního procesu, nevykazují genotoxické a mutagenní účinky na dosud zvolených modelech. Manipulace s FUMB₁ by se měla vždy provádět ve větratelných místnostech. Při všech operacích s FUMB₁ nebo jeho roztoky je nutné používat osobní ochranné pomůcky (rukavice, plášť, ochranné brýle).

Aby se zabránilo problémům s elektrostatickými efekty, doporučuje se manipulovat s mykotoxiny v pevné formě v bavlněných rukavicích.

3.4 Ochranná opatření při kontaminaci vybranými mykotoxiny

Pokud dojde k jakémukoliv potřísnění roztokem mykotoxinů, je třeba provést následující první pomoc:

- *při zasažení očí:* důkladně vyplachovat oči 10–15 minut vlažnou vodou, při přetrvávajícím dráždění vyhledat lékařskou pomoc;
- *při zasažení kůže a oděvu:* okamžitě odložit potřísněný oděv a kůži omývat (15 min.) velkým množstvím vody a dezinfekčním mýdlem; kůži následně ošetřit reparačním krémem (např. Indulona);
- *při požití:* ihned vyplivnout obsah úst a mnohokrát je vypláchnout vodou; v případě pozření vypít 3–4 sklenice vody za účelem zředění, případně s živočišným uhlím.

Ve vážnějších případech poškození zdraví, jako je požití většího množství, zasažení očí a pokožky s přetrvávajícím drážděním, při vzniku bezvědomí, apod., je nutné uvedenou situaci konzultovat s **Toxikologickým informačním střediskem (TIS)**: Klinika pracovního lékařství, VFN a 1. LF UK, Na Bojišti 1, 120 00, Praha 2.

Telefon nepřetržitě: **224 91 92 93 nebo 224 91 54 02**

4. CHEMIKÁLIE – ČINIDLA

4.1 RBS-35 detergent

RBS-35 detergent dekontaminuje radioaktivní a odpadní proteiny, lipidy, oleje, destilační zbytky a vybrané mykotoxiny. Dříve se pipety a další laboratorní sklo, které se obtížně čistí, myly v nebezpečných chemikáliích (kyselina chromsírová). RBS-35 nabízí bezpečnou efektivní alternativu pro tyto účely. Navíc je RBS-35 biodegradabilní.

Tab.: Srovnání účinků RBS detergentu a kyseliny chromsírové

RBS	Kyselina chromsírová
Mírně alkalický, neškodí pokožce ani oděvům.	Silně kyselá, extrémně agresivní vůči pokožce a oděvům, jedovatá. Silně dráždí pokožku, oči, sliznice. Může působit dermatitidy, astma, poškození očí. V ohni může explodovat.
Je srovnatelný s 0,001 M roztokem NaOH.	Díky korozivním vlastnostem je použití obtížné.
Neleptá sklo.	Často leptá sklo.
Působí rychle za horka. Ve studených roztocích se urychlení dosáhne zvýšením koncentrace.	Účinkuje pomalu.
Vysoce efektivně čistí, působí jako rozpouštěcí a emulgující přísada – bez vzniku plyných radioaktivních sloučenin.	Čistí oxidací. Látky obsahující radioaktivní Cl, F, S, N, C atomy mohou při oxidaci poskytovat radioaktivní plyny.
Snadno odstraňuje nepoddajné látky, zejména dehet, destilační zbytky, oleje a mazadla, silikonové oleje, kanadský balzám a PE pryskyřice.	Má jen slabé účinky na tyto materiály.

4.2 Příprava a aplikace dekontaminačního roztoku

2% vodný roztok RBS-35 detergentu **v lázni, 50 °C teplý**, expozice po dobu minimálně **30 minut**.

5. POSTUP DEKONTAMINACE

Kontaminované laboratorní sklo vybranými mykotoxiny, např. vialky, je umístěno do lázně s dekontaminačním roztokem po dobu minimálně 30 min.

6. ODSTRANĚNÍ DEKONTAMINOVANÝCH ODPADŮ

Vzniklé dekontaminované odpady jsou následně odstraňovány v souladu s provozním řádem organizace, kam konkrétní laboratoř spadá, na základě souvisejících právních předpisů (6, 7).

Zkratky

AFB ₁	aflatoxin B ₁
AFB ₂	aflatoxin B ₂
AFG ₁	aflatoxin G ₁
AFG ₂	aflatoxin G ₂
CIT	citrinin
DMSO	dimetylsulfoxid
DON	deoxynivalenol
EIA	enzyme immunoassay
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
FUM	fumonisin
FUMB ₁	fumonisin B ₁
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IARC	International Agency for Research on Cancer
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí
NBP	4-(p-nitrobenzyl) pyridin
NRC	Národní referenční centrum
OTA	ochratoxin A
PAT	patulin
STC	sterigmatocystin
SZÚ – CZVP	Státní zdravotní ústav – Centrum zdraví, výživy a potravin
TEPA	tetraetylen pentamin
TLC	tenkovrstvá chromatografie
WHO	World Health Organization

Příloha

Kategorizace vybraných mykotoxinů z hlediska karcinogenního působení (podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny, Světové zdravotní organizace – IARC/WHO) (23, 24).

Mykotoxin	Kategorizace
Aflatoxin M ₁	2B
Aflatoxiny (B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂)	1
Citrinin	3
Deoxynivalenol	3
Fumonisin (B ₁ ,B ₂ ,B ₃)	2B
Fusarenon X	3
Fusarin C	2B
Nivalenol	3
Ochratoxin A	2B
Patulin	3
T-2 toxin	3
Zearalenon	3

Pozn.:

Prokázaný karcinogen pro člověka: 1

Možný karcinogen pro člověka: 2B

Zatím není klasifikován jako karcinogen pro člověka: 3

Literatura

1. Castegnaro M, Hunt DC, Sansone EB, Schuller PL, Siriwardana MG, Telling GM, et al. Laboratory decontamination and destruction of aflatoxins B1, B2, G1, G2 in laboratory wastes. IARC Sci Publ. 1980;(37):1-59.
2. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 186907, Aflatoxin B1. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aflatoxin-B1>.
3. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, Del Mazo J, Grasl-Kraupp B, et al. Scientific opinion - Risk assessment of aflatoxins in food. EFSA J. 2020 Jan 30;18(3):e6040. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6040>
4. Bezpečnostní list: Chlornan sodný, technický (s obsahem min. 12,3 % aktivního chloru) [online]. Neratovice: Spolana; 2010 [cit. 2021-11-16]. Dostupné z: https://www.spolana.cz/CZ/Produkty/Documents/BL_Chlornan_sodny_%20technicky_CZ.pdf.
5. Bezpečnostní list: Methylalkohol [online]. Praha: Ing. Petr Švec - PENTA; 2021 [cit. 2021-11-16]. Dostupné z: <https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/methylalkohol.pdf>.
6. Zákon č. 541 ze dne 1. prosince 2020 o odpadech. Sbírka zákonů ČR. 2020;částka 222:6082-185.
7. Vyhláška č. 273 ze dne 12. července 2021 o podrobnostech nakládání s odpady. Sbírka zákonů ČR. 2021;částka 119:2826-3027
8. Castegnaro M, Berek J, Frémy JM, Lafontaine M, Miraglia M, Sansane EB, et al, editors. Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory wastes: some mycotoxins. IARC Sci Publ. 1991;(113):1-63.
9. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 442530, Ochratoxin A. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ochratoxin-A>.
10. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Schrenk D, Bodin L, Chipman JK, Del Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, et al. Scientific opinion - Risk assessment of ochratoxin A in food. EFSA J. 2020 May 13;18(5):e6113. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6113>
11. Faifer GC, Velazco V, Godoy HM. Adjustment of the conditions required for complete decontamination of T-2 toxin residues with alkaline sodium hypochlorite. Bull Environ Contam Toxicol. 1994 Jan;52(1):102-8.
12. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 5284461, T-2 Toxin. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/T2-trichothecene>.
13. European Food Safety Authority (EFSA), Arcella D, Gergelova P, Innocenti ML, Steinkellner H. Scientific report - Human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin. EFSA J. 2017 Aug 14;15(8):e4972. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4972>
14. Ostrý V, Ruprich J. Zdravotní a hygienický význam mykotoxinů fumonisinů v potravinách. Závěrečná zpráva výzkumu v rámci plnění GÚ 2767-2 (1995-1996). Praha: IGA MZ ČR; 1997.

15. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 2733487, Fumonisin B1. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2733487>.
16. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen HK, Alexander J, Barregård L, Bignami M, Brüschweiler B, Ceccatelli S, et al. Risks for animal health related to the presence of fumonisins, their modified forms and hidden forms in feed. *EFSA J.* 2018 May 25;16(5):e05242. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5242>
17. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 54680783, Citrinin. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54680783>.
18. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risks for public and animal health related to the presence of CIT in food and feed. *EFSA J.* 2012 Mar 23;10(3):e2605. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2605>
19. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 4696, Patulin. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Patulin>.
20. Bezpečnostní list: Manganistan draselný [online]. Praha: Ing. Petr Švec - PENTA; 2019 [cit. 2021-11-16]. Dostupné z: https://www.pentachemicals.eu/soubory/bezpecnostni-listy/manganistan_draselny.pdf.
21. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004- [cited 2021 Nov 16]. PubChem Compound Summary for CID 5280389, Sterigmatocystin. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sterigmatocystin>.
22. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed. *EFSA J.* 2013 Jun 7;11(6):e3254. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3254>.
23. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chemical agents and related occupations. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.* 2012;100(Pt F):9-562.
24. Ostry V, Malir F, Toman J, Grosse Y. Mycotoxins as human carcinogens-the IARC Monographs classification. *Mycotoxin Res.* 2017 Feb;33(1):65-73.