

# **Biologické expoziční testy (BET) v České republice a ve Státním zdravotním ústavu v Praze**

**Současný stav, možnosti, výhled do budoucna**



**Jaroslav Mráz, Šárka Dušková**

*Oddělení pro hodnocení expozice chemickým látkám na pracovišti*

*+ NRL pro biologické monitorování expozice chemickým látkám  
v pracovním prostředí*

***Centrum hygieny práce a pracovního lékařství  
Státní zdravotní ústav, Praha***

## Obsah

- 1) Odkazy na BET v české hygienické legislativě
- 2) Základní předpis k BET: Vyhláška č. 432/2007 Sb. v platném znění (č. 107/2013)
- 3) Současný stav provádění BET v ČR, porovnání se zahraničím
- 4) Nabídka BET v SZÚ (*ing. Dušková*)
- 5) Další BET v ČR?
- 6) Výzkum v oblasti BET v SZÚ

## Odkazy na BET v české hygienické legislativě (1)

### Zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví

#### § 39 Rizikové práce

(2) Zaměstnavatel je povinen zjistit příčinu překročení limitních hodnot ukazatelů **BET** a zabezpečit její odstranění; o těchto skutečnostech je povinen neprodleně informovat zaměstnance. Výsledky **BET** podle věty první, v členění podle pracovišť, je zaměstnavatel povinen bezodkladně sdělit příslušnému orgánu ochrany veřejného zdraví.

(3) Překročení limitních hodnot ukazatelů **BET** sdělí zaměstnavateli bezodkladně poskytovatel pracovnělékařských služeb. Přitom je poskytovatel pracovnělékařských služeb povinen dodržet mlčenlivost o výsledcích testů jednotlivých zaměstnanců. Pro hodnocení míry expozice zaměstnanců faktory pracovních podmínek pomocí **BET** provede poskytovatel pracovnělékařských služeb odběr biologického materiálu za podmínek upravených prováděcím právním předpisem.

(4) Limitní hodnoty ukazatelů **BET** a podmínky jejich provedení upraví prováděcí právní předpis.

## Odkazy na BET v české hygienické legislativě (2)

### Zákon č. 258/2000 Sb.

#### § 82 Krajské hygienické stanice

(2) Krajské hygienické stanici náleží....

f) stanovit zaměstnavateli nebo fyzické osobě provádějící činnost nebo poskytující služby mimo pracovněprávní vztahy<sup>84)</sup> způsob a minimální četnost sledování zátěže organismu faktory pracovních podmínek, pokud je nestanoví zvláštní právní předpis.

#### § 83a Autorizace

(1) Autorizací se pro účely tohoto zákona rozumí postup zahájený na žádost fyzické osoby, která je podnikatelem, organizační složky státu, kraje nebo obce nebo právnické osoby, na jehož základě se vydává osvědčení o tom, že osoba je způsobilá ve vymezeném rozsahu provádět .....

i) **BET** a vyšetření v oboru genetické toxikologie, fyziologie a psychologie práce,

## Odkazy na BET v české hygienické legislativě (3)

### Zákon č. 258/2000 Sb.

#### § 84 Státní zdravotní dozor

(1) Při výkonu státního zdravotního dozoru orgány ochrany veřejného zdraví v rozsahu své působnosti...

*t)* mohou k ochraně zdraví zaměstnavateli stanovit přísnější nejvyšší přípustné hodnoty rizikových faktorů pracovních podmínek, než stanoví zvláštní právní předpisy, vyskytuje-li se na pracovišti současně více škodlivých faktorů, při vysokém fyzickém zatížení zaměstnanců vystavených na pracovišti působení škodlivých faktorů, při překračování limitních hodnot **BET**, nebo pokud to je třeba s ohledem na ochranu zdraví mladistvých zaměstnanců, studentů, spolupracujících mladistvých rodinných příslušníků nebo žáků a studentů při praktickém vyučování nebo praktické přípravě, které jsou součástí jejich přípravy na budoucí povolání.

#### § 86 Zdravotní ústavy a Státní zdravotní ústav

(1) K vyšetřování a měření složek životních a pracovních podmínek, výrobků, k vyšetřování biologického materiálu a k provádění **BET** pro účely výkonu státního zdravotního dozoru a dále ke sledování ukazatelů zdravotního stavu obyvatelstva, monitorování vztahů zdravotního stavu obyvatelstva a faktorů životního prostředí a životních a pracovních podmínek, ...atd.. atd... se zřizují zdravotní ústavy se sídlem v Ústí nad Labem a v Ostravě.

## Odkazy na BET v české hygienické legislativě (4)

### Zákon č. 258/2000 Sb.

#### § 92h Přestupky na úseku ochrany zdraví při práci a zajištění PLS

(1) Fyzická, právnická nebo podnikající fyzická osoba jako zaměstnavatel se dopustí přestupku tím, že...

c) nesplní povinnost v souvislosti s překročením **BET** podle §39 odst. 2 (zjistit příčinu a sdělit tuto skutečnost KHS)

(8) Poskytovatel PLS se dopustí přestupku tím, že...

- nesdělí zaměstnavateli údaj podle § 39 odst. 3 (sdělení překročení **BET** zaměstnavateli)

- nedodrží podmínky pro odběr biologického materiálu (pravidla odběru **BET** dle vyhlášky č. 432/2003 Sb.)

## Odkazy na BET v české hygienické legislativě (5)

### Zákon č. 373/2011 Sb. o specifických zdravotních službách

#### § 57

(1) Poskytovatel pracovnělékařských služeb je povinen...

*i)* zajistit nebo provádět odběry biologického materiálu pro stanovení hodnot **BET** stanovených orgánem ochrany veřejného zdraví podle Zákona o ochraně veřejného zdraví nebo jiným právním předpisem, včetně vyhodnocení výsledků **BET**, a při překračování jejich hodnot informovat orgán ochrany veřejného zdraví.

## Odkazy na BET v české hygienické legislativě (6)

### Vyhláška č. 79/2013 Sb. o provedení některých ustanovení zákona č. 373/2011 Sb.

#### § 2 Obsah pracovnělékařských služeb

...hodnocení výsledků sledování zátěže organismu zaměstnanců působením rizikových faktorů pracovního prostředí (dále jen „rizikové faktory“), včetně výsledků **BET**

#### § 5

Součástí dokumentace o pracovnělékařských službách jsou dále výsledky provedených analýz **BET**

#### § 7

Základní vyšetření se rozšiřuje o další odborná vyšetření, jestliže taková vyšetření jsou indikována posuzujícím lékařem...

3. na základě zhodnocení ukazatelů **BET**

#### §12

Mimořádná prohlídka se provádí, pokud bylo opakovaně zjištěno překročení limitní hodnoty ukazatelů **BET**



## Předpisy k ochraně zdraví při práci

### Slovensko

**Nariadenie vlády č. 355/2006 Z.z.** o ochrane před rizikami súvisiacími s expozíciou chemickým faktorom pro práci

- Příloha č.1: **najvyššie prípustné expozičné limity (NPEL)** priemerné a krátkodobé
- Příloha č.2: **biologické medzné hodnoty (BMH)**

### Česká republika

**Nařízení vlády č. 361/2007 Sb.** v platném znění, kterým se stanoví podmínky ochrany zdraví při práci

- Příloha č.2: **přípustný expoziční limit (PEL), nejvyšší přípustná koncentrace (NPK-P)**

**Vyhláška č. 432/2003 Sb.** v platném znění, kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů BET, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění BET a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli.

- Příloha č.2: **limitní hodnoty ukazatelů BET** (návrh: biologické limitní hodnoty, BLH)

## Vyhláška č. 432/2003 Sb. v platném znění (107/2013 Sb.)

### § 4

(1) **BET** jsou jedním z prostředků hodnocení expozice skupin osob nebo jednotlivých osob chemickým látkám na základě stanovení vhodných ukazatelů ve vzorcích biologického materiálu, odebraného exponovaným osobám ve vhodnou dobu.

2) Limitní hodnoty ukazatelů **BET**, jejichž překročení svědčí o zvýšení expozice chemickým látkám nad hygienicky přípustnou úroveň, a podmínky doby odběrů biologického materiálu pro provádění **BET** jsou upraveny v příloze č. 2.

#### ■ Příloha č. 1: Kritéria kategorizace prací/ *Chemické látky*

Základním kritériem je hodnocení výsledků koncentrace těchto látek v pracovním ovzduší v dýchací zóně zaměstnance, dále se v odůvodněných případech berou v úvahu výsledky vyšetření pomocí **BET**.

#### ■ Příloha č. 2: Limitní hodnoty ukazatelů **BET**

**Tab. č. 1:** Limitní hodnoty ukazatelů **BET** v moči

**Tab. č. 2:** Limitní hodnoty ukazatelů **BET** v krvi

**Vyhláška č. 432/2003 Sb., Příloha 2, Tab. 1: Limitní hodnoty ukazatelů BET v moči**

Látka	Ukazatel	Limitní hodnoty		Doba odběru
Anilin	p-Aminofenol	50 mg/g kreat.	52 μmol/mmol kreat.	konec směny
Arsen a arsenovodík	Arsen	0,05 mg/g kreat.	0,075 μmol/mmol kreat.	konec prac. týdne
Benzen	S-Fenylmerkapturová kyselina	0,05 mg/g kreat.	0,024 μmol/mmol kreat.	konec směny
	t,t-Mukonová kyselina	1,5 mg/g kreat.	1,2 μmol/mmol kreat.	konec směny
Cyklohexanon	1,2-Cyklohexandiol (po hydrolyze)	50 mg/g kreat.	0,049 mmol/mmol kreat.	konec směny na konci prac. týdne
Dimethylformamid	N-Methylformamid	15 mg/g kreat.	0,029 mmol/mmol kreat.	konec směny
Ethylbenzen	Mandlová kyselina	1500 mg/g kreat.	1100 μmol/mmol kreat.	konec směny
Ethylenglykolmonobutylether	Butoxyoctová kyselina (po hydrolyze)	200 mg/g kreat.	0,17 mmol/mmol kreat.	konec směny na konci prac. týdne
Ethylenglykolmonobutyletheracetát	Butoxyoctová kyselina (po hydrolyze)	200 mg/g kreat.	0,17 mmol/mmol kreat.	konec směny na konci prac. týdne
Ethylenglykolmonoethylether	Ethoxyoctová kyselina (po hydrolyze)	50 mg/g kreat.	0,048 mmol/mmol kreat.	konec směny na konci prac. týdne
Ethylenglykolmonoethyletheracetát	Ethoxyoctová kyselina (po hydrolyze)	50 mg/g kreat.	0,048 mmol/mmol kreat.	konec směny na konci prac. týdne
Fenol	Fenol	300 mg/g kreat.	360 μmol/mmol kreat.	konec směny
Fluoridy	Fluorid	10 mg/g kreat.	60 μmol/mmol kreat.	konec směny
Fural	Pyroslizová kyselina (2-furoová)	200 mg/g kreat.	200 μmol/mmol kreat.	konec směny
Chrom (VI), sloučeniny	Celkový chrom	0,030 mg/g kreat.	0,065 μmol/mmol kreat.	konec směny na konci prac. týdne
Kadmium	Kadmium	0,005 mg/g kreat.	0,005 μmol/mmol kreat.	nerozhoduje
Methanol	Methanol	15 mg/l	0,47 mmol/l	konec směny
Nikl	Nikl	0,04 mg/g kreat.	0,077 μmol/mmol kreat.	nerozhoduje
Nitrobenzen	p-Nitrofenol	5 mg/g kreat.	4 μmol/mmol kreat.	konec směny
Olovo	5-Aminolevulová kyselina	15 mg/g kreat.	13 μmol/mmol kreat.	nerozhoduje
	Koproporfyryn	0,2 mg/g kreat.	0,035 μmol/mmol kreat.	
Pentachlorfenol	Pentachlorfenol	2 mg/g kreat.	0,85 μmol/mmol kreat.	před poslední směnou prac. týdne
Rtuť a její sloučeniny anorganické a fenylrtuťnaté	Rtuť	0,1 mg/g kreat.	0,056 μmol/mmol kreat.	nerozhoduje
Sírouhlík	2-Thiothiazolidin-4-karboxylová kys.	1,5 mg/g kreat.	1,04 μmol/mmol kreat.	konec směny
Styren	Mandlová kyselina	400 mg/g kreat.	300 μmol/mmol kreat.	konec směny
	Mandlová + fenylglyoxylová kyselina	600 mg/g kreat.		konec směny
Toluen	o-Kresol (po hydrolyze)	1,5 mg/g kreat.	1,6 μmol/mmol kreat.	konec směny
	Hippurová kyselina**	1600 mg/g kreat.	1000 μmol/mmol kreat.	konec směny
Trichlorethylen	Trichloroctová kyselina	100 mg/g kreat.	70 μmol/mmol kreat.	konec prac. týdne
	Trichlorethanol	200 mg/g kreat.	150 μmol/mmol kreat.	konec směny
Xyleny	Methylhippurová kyselina	1400 mg/g kreat.	820 μmol/mmol kreat.	konec směny

Metody


 provádí CHPL – OHECHPL, RNDr. Jaroslav Mráz, CSc , [jaroslav.mraz@szu.cz](mailto:jaroslav.mraz@szu.cz), 267 082 667(8)

 provádí CZŽP – Pracoviště analýzy stopových prvků, RNDr. Lucie Kašparová, [lucie.kasparova@szu.cz](mailto:lucie.kasparova@szu.cz), 267 082 670 (62)

## Vyhláška č. 432/2003 Sb., Příloha 2, Tab. 2: Limitní hodnoty ukazatelů BET v krvi

Látka	Ukazatel	Limitní hodnoty	Doba odběru
Anilin	Methemoglobin	1.5 % hemoglobinu	konec směny
Ethylenoxid	N-(2-Hydroxyethyl)valin v globinu	0.3 µg/g globinu; 1.9 nmol/g globinu	nerozhoduje
Kadmium	Kadmium	0.005 mg/l; 0.045 µmol/l	nerozhoduje
Inhibitory cholinesterázy a acetylcholinesterázy	Aktivita cholinesterázy a acetylcholinesterázy	Pokles o 20 % z hodnoty před započítáním prací	konec směny
Nitrobenzen	Methemoglobin	1.5 % hemoglobinu	konec směny
Oxid uhelnatý	Karboxylhemoglobin	5 % hemoglobinu	konec směny
Olovo	Olovo	0.4 mg/l	nerozhoduje
Polychlorované bifenyly	Polychlorované bifenyly	0.05 mg/l	nerozhoduje

Metody

- provádí CHPPL – OHECHPL, RNDr. Jaroslav Mráz, CSc., [jaroslav.mraz@szu.cz](mailto:jaroslav.mraz@szu.cz), 267 082 667(8)
- provádí CZŽP – Pracoviště analýzy stopových prvků, RNDr. Lucie Kašparová, [lucie.kasparova@szu.cz](mailto:lucie.kasparova@szu.cz), 267 082 670 (62)

### Poslední změny Tab. 1 a 2 v roce 2013:

- nové látky
- nové ukazatele
- změněné hodnoty limitů (návaznost na hodnoty PEL), změny jednotek z mg/l na mg/g kreatininu

## Počet látok a ukazatelů BET v různých zemích

Země	Počet látek s BET	Počet ukazatelů v moči	Počet ukazatelů v krvi	Počet ukazatelů celkem	Název limitu
<b>ČR</b>	30	31	8	39	Limitní hodnota ukazatele <b>BET</b>
<b>SR</b>	41	35	18	53	Biologická smerná hodnota ( <b>BSH</b> )
<b>Německo (DFG)</b>	112	99	38	137	Biologischer Arbeitsstoff-Toleranz-Wert ( <b>BAT</b> ) a další (BLW, EKA, BAR)
<b>USA (ACGIH)</b>	51	44	11	59	Biological exposure index ( <b>BEI</b> )
<b>V. Británie (HSE)</b>	17	14	1	17	Biological monitoring guidance value ( <b>BMGV</b> )

### Poznámka:

Počet zavedených BET zavedených v jednotlivých státech neodráží jejich skutečný dostupný počet. Např. v ČR nebo SR se provádí jen část zavedených BET, zatímco britská Health and Safety Laboratory (HSL) nabízí 85 druhů vyšetření.

Ukazatel	SZÚ Praha	ZÚ Ústí n. L.	ZÚ Ostrava
Karboxylové kys. (MA, PGA, HA, MHA)	+	+	
Kys. hippurová	+	+	+
Kys. pyroslizová	+		
Kys. t,t-mukonová	+		
Kys. TTCA	+		
Kys. MAA, EAA, BAA	+		
Kys. trichloroctová	+		+
Kys. 5-aminolevulová			
Fenol	+		
o-Kresol	+		
N-(2-Hydroxyethyl)valín v krvi (HEV)	+		
4,4'-MDA	+		
1,2-cyklohexandiol	(+)		
N-Methylformamid	(+)		
Cd, Cr, Ni, Pb, Hg v moči	+	+	+
As v moči			+
Cd, Pb v krvi	+	+	+
Fluoridy			+

Ukazateľ	SZÚ Praha	ZÚ Ú. n. L.	ZÚ Ostrava	ÚVZ Bratislava
Karboxylové kys. (MA, PGA, HA, MHA)	+	+		(+)
Kys. hippurová	+	+	+	(+)
Kys. pyroslizová	+			
Kys. t,t-mukonová	+			+
Kys. TTCA	+			
Kys. MAA, EAA, BAA	+			
Kys. trichloroctová	+		+	(+)
Kys. 5-aminolevulová				(+)
Fenol	+			
o-Kresol	+			+
N-(2-Hydroxyethyl)valín v krvi (HEV)	+			
4,4'-MDA	+			
1,2-cyklohexandiol	(+)			
N-Methylformamid	(+)			
Cd, Cr, Ni, Pb, Hg v moči	+	+	+	(+)
As v moči			+	(+)
Cd, Pb v krvi	+	+	+	+
Fluoridy			+	

## Další BET v ČR?

Pokud budeme chtít seznam BET rozšířit, návrhy kandidátských látek i způsoby provedení testu (tj. výběr ukazatele a hodnota biologického expozičního limitu resp. podklady pro jeho odvození) jsou k dispozici.

Budou nové BET využívány? Mají být zaváděny s tím, že „třeba se jednou budou hodit“, nebo až poté, co bude o ně projevem zájem?

## Jak povzbudit větší využívání BET?

- Vzdělávání, propagace
- Legislativa
- Jsou výsledky BET osobním údajem?



## Akreditace nových metod BET?

Mají být k novým BET rovnou zaváděny akreditované metody, i když jejich využití není předem známo?

Podle zákona č. 258/2001 a nařízení vlády č. 361/2007, pro kategorizaci mohou být použity jen výsledky získané akreditovanými metodami. Ale: proces akreditace je kapacitně i finančně náročný.

A co měření pro jiný účel než pro kategorizaci? Tam musí být též použity akreditované metody?

## Návrh NRL pro biologické monitorování (SZÚ)

Není-li v ČR metoda akreditována, OOVZ akceptují i výsledky získané metodou neakreditovanou (nebo nedostanou nic). Akreditována bude až metoda, o jejíž používání bude přiměřený zájem.

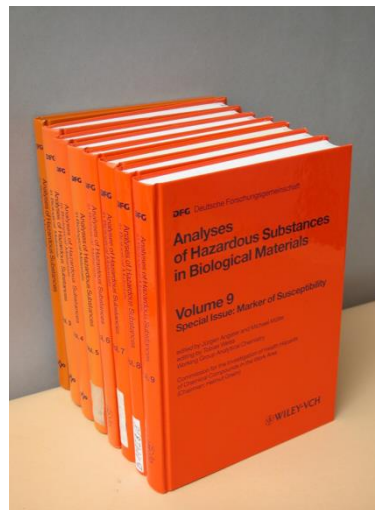
## Kandidátské látky navrhované pro zavedení nových BET v ČR

Aceton	Oxid vanadičný
n-Butylalkohol	Tetrachlorethen
p-terc-Butylfenol	Tetrahydrofuran
Dichlormethan	1,1,1-Trichlorethan
Ethylen	PAH
Halothan	N-Methyl-2-pyrrolidon
2-Hexanon	Difenylmethan-4,4'-diisokyanát (MDI)
Methylisobutylketon	2,4-Toluendiisokyanát (2,4-TDI)
Hliník	Hexamethylenendiisokyanát (HDI)
Chlorbenzen	1,5-Naftalendiisokyanát (NDI)
Kobalt a sloučeniny	

Všechny uvedené látky mají zaveden BET v Německu a některých dalších zemích

## Metodické postupy pro stanovení chemických látek v biologickém materiálu pro účely BET

- V ČR ani ve světě nejsou závazné metody
- Literatura ČR (zastaralá):
  - Standardní metody pro stanovení škodlivin a jejich metabolitů v biologickém materiálu: Příloha k AHEM č. 30/1977; Doplněk: Příloha k AHEM č.4/1985
  - Biologické expoziční testy v průmyslové toxikologii, Avicenum 1980
- Doporučeno přejímat ověřené metody z různých zdrojů, např. Deutsche Forschungsgemeinschaft: Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials



## Činnost OS a NRL pro biologické monitorování (BM)

### 1) Činnosti referenční

- provádění analýz v oblasti BM (BET)
- vývoj analytických postupů
- konzultace v oblasti BM
- sledování trendů v oblasti BM, analytické instrumentace, hygienické legislativy apod.

### 2) Laboratorní servis pro další pracoviště SZÚ

### 3) Činnosti vzdělávací a legislativní

### 4) Výzkum

## Výzkumná činnosť v oblasti BM v SZÚ

- Identifikace nových biomarkerů expozice
- Vývoj analytických postupů pro tradiční i nové biomarkery expozice
- Studium kvantitativních vztahů mezi velikostí expozice cizorodým látkám z prostředí a hladinou biomarkerů v organismu; validace biomarkerů

### Hlavní zájmová oblast

Adukty cizorodých látek s globinem jako biomarkery dlouhodobé kumulativní expozice

## Proč adukty s globinem?

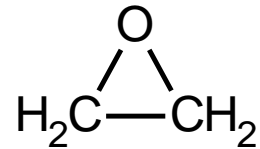


- Vhodná náhrada za adukty s DNA
- Dlouhodobá persistence v organismu po celou dobu života erythrocytů (u člověka ca. 125 dní)
- Dostupnost v dostatečném množství (140 mg/ml krve)
- Zavedené analytické postupy
- Doporučené pro hodnocení expozice na pracovištích (biologické limity, BET)
- Použitelné pro alkylační činidla (např. epoxidy), arylaminy, isokyanáty, N,N-dimethylformamid

## Vyhláška č. 432/2003 Sb., Příloha 2, Tab. 2: Limitní hodnoty ukazatelů BET v krvi

Látka	Ukazatel	Limitní hodnoty	Doba odběru
Anilin	Methemoglobin	1.5 % hemoglobinu	konec směny
<b>Ethylenoxid</b>	<b>N-(2-Hydroxyethyl)valin v globinu</b>	<b>0.3 µg/g globinu 1.9 nmol/g globinu</b>	<b>nerozhoduje</b>
Kadmium	Kadmium	0.005 mg/l; 0.045 µmol/l	nerozhoduje
Inhibitory cholinesterázy a acetylcholinesterázy	Aktivita cholinesterázy a acetylcholinesterázy	Pokles o 20 % z hodnoty před započítím prací	konec směny
Nitrobenzen	Methemoglobin	1.5 % hemoglobinu	konec směny
Oxid uhelnatý	Karboxylhemoglobin	5 % hemoglobinu	konec směny
Olovo	Plumbémie	0.4 mg/l	nerozhoduje
Polychlorované bifenyly	Polychlorované bifenyly	0.05 mg/l	nerozhoduje

## Ethylenoxid (EO)



### Fyzikálně-chemické vlastnosti

- za normální teploty plynná látka (bod varu 10,7 °C)
- neomezeně rozpustný ve vodě
- za nízkých koncentrací bez zápachu
- chemicky reaktivní
- krátký biologický poločas (10-40 min)

### Použití

- meziprodukt v chemickém průmyslu
- sterilizace zdravotnického materiálu

### Zdroje expozice

- sterilizace zdravotnického materiálu
- chemické výroby a petrochemie
- cigaretový kouř
- expozice ethylenu



## Akutní účinky (při vysokých koncentracích)

- mírné dráždění očí, sliznic, dýchacích cest
- bolesti hlavy, nevolnost

## Mutagenita, genotoxicita a karcinogenita

- mutagenní a genotoxický in vitro a in vivo
- profesionální expozice: leukemie, lymfomy, nádory i v dalších orgánech (???)
- chromosomové aberace
- karcinogen třídy 1 (IARC)

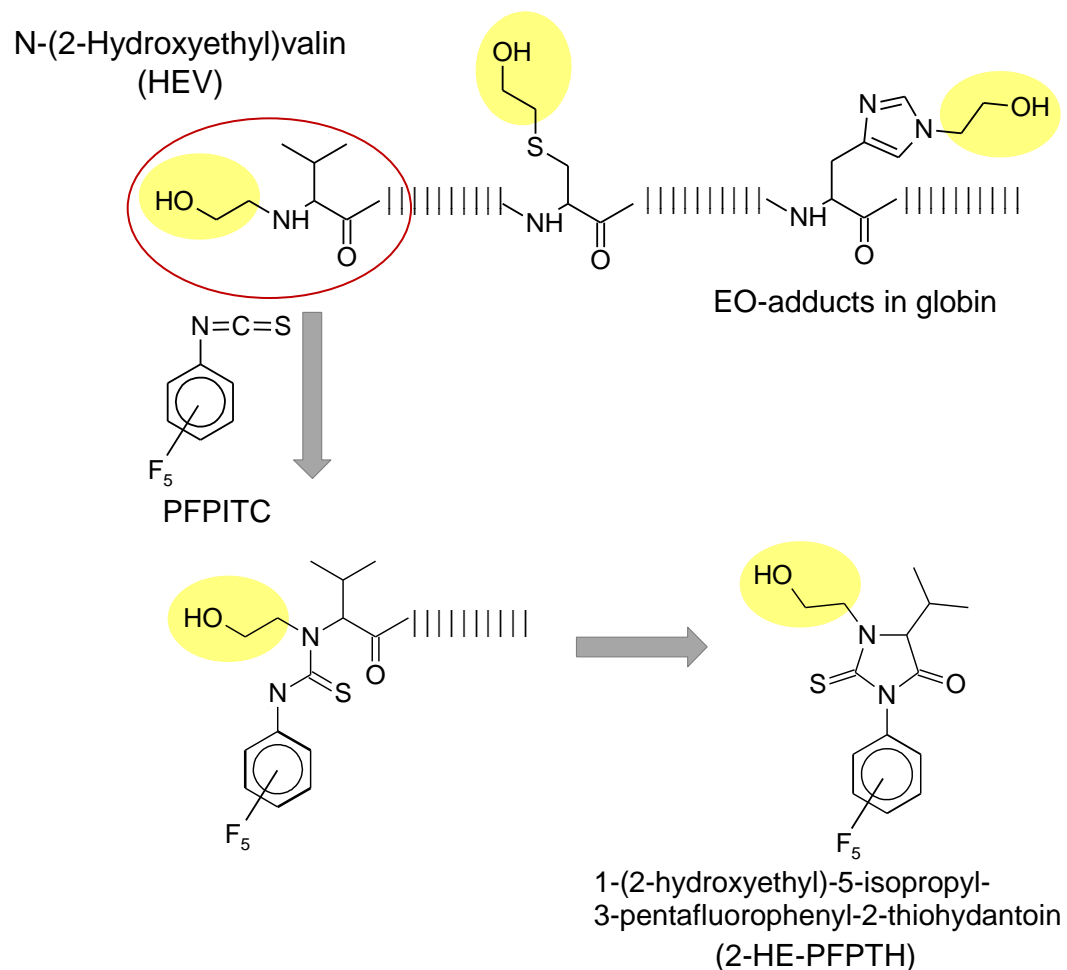
## Přípustný expoziční limit (PEL)

- 1 mg/m<sup>3</sup> (ČR), ostatní státy často 1 ppm (1.8 mg/m<sup>3</sup>)

## Čichový práh

- 700 mg/m<sup>3</sup> (tj. zápach nevaruje před nadměrnou expozicí)

# Stanovení 2-(hydroxyethyl)valinu v globinu modifikovaná Edmanova degradace (MED) + GC/MS



## **Špatná reprodukovatelnost stanovení HEV metodou MED**

pravděpodobná příčina: malá robustnost metody

### **Princip metody MED:**

derivatizace s nekompletním výtěžkem, který závisí na reakčních podmínkách

### **Požadován reprodukovatelný výtěžek derivatizace**

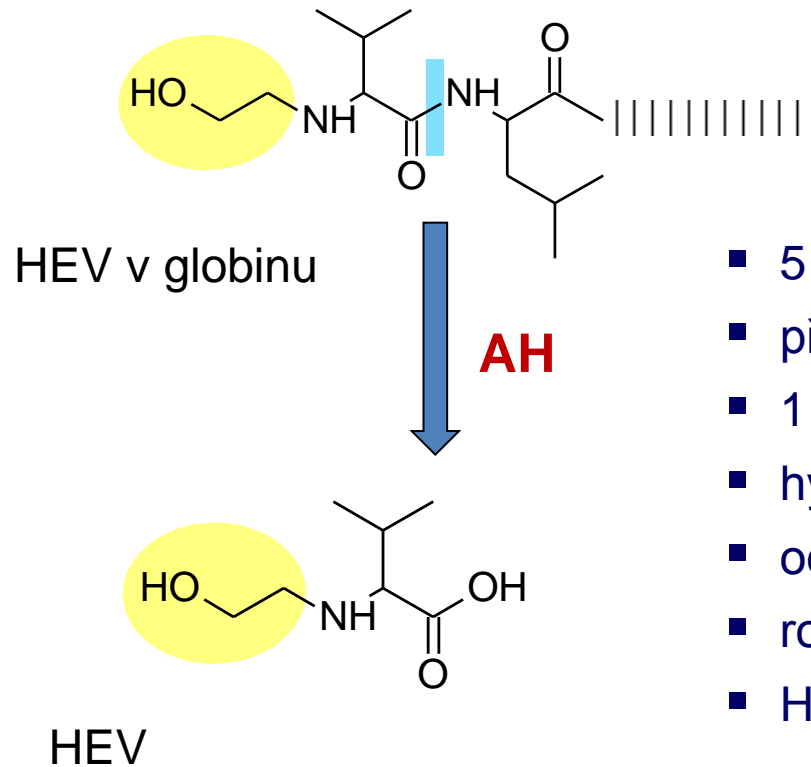
- vlastního globinového aduktu
- kalibračního standardu
- vnitřního standardu

### **Alternativní postup stanovení HEV?**

### **Totální kyselá hydrolýza globinu (AH) + HPLC/MS**

univerzální metoda pro stanovení stabilních aduktů v proteinech

## Kyselá hydrolýza (AH) globínu



- 5 mg globínu
- prídavek vnútorného standardu (HEV-d<sub>4</sub>)
- 1 ml 12 M HCl
- hydrolýza 100 °C x 16 h
- odľufkání HCl dosucha
- rozpušľení odparku
- HPLC/MS analýza

# Účasť na MPZ (G-EQUAS, University of Erlangen)

1/2017

7/2017

