

Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy

Nr 3(129) 2026

Rok XLII
ISSN 3072-4287

CIOP  **PIB**

Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy

Nr 3(129) 2026

Rok XLII
ISSN 3072-4287

REDAKTOR NACZELNA / EDITOR-IN-CHIEF

Małgorzata Pośniak
Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Polska

REDAKTORZY / CO-EDITORS

Joanna Jurewicz
Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Polska
Stanisław Wincenciak
Politechnika Warszawska, Polska
Lidia Zapór
Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Polska

REDAKTORZY DZIAŁOWI / ASSOCIATE EDITORS

Joanna Bugajska, Jolanta Karpowicz, Katarzyna Miranowicz-Dzierżawska, Jan Radosz, Agnieszka Wolska
Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Polska

REDAKTORZY STATYSTYCZNI / STATISTICS EDITORS

Sylwia Bedyńska
Uniwersytet SWPS, Polska
Wojciech Sobala
Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Polska

RADA NAUKOWA / EDITORIAL BOARD

Christian Giguère University of Ottawa, Kanada	Marta Mendel Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Polska
Rafał L. Górny Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Polska	Tadeusz Pałko Politechnika Warszawska, Polska
Wojciech Karlik Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Polska	Małgorzata Pawlaczyk-Łuszczynska Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Polska
Anna Kilanowicz-Sapota Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska	Dariusz Pleban Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Polska
Christoph Kling Physikalisch-Technische Bundesanstalt, Niemcy	Diana I. Popescu Technical University of Cluj-Napoca, Rumunia
Janusz Kowal Akademia Górniczo-Hutnicza, Polska	Tiina Santonen Finnish Institute of Occupational Health, Finlandia
Małgorzata Kupczewska-Dobacka Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Polska	Nobuyuki Shibata National Institute of Occupational Safety and Health, Japonia
Paolo Lauriola University of Modena and Reggio Emilia, Włochy	Paweł Struciński Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy, Polska
Len Levy Workplace Health Expert Committee, Health and Safety Executive, Wielka Brytania	

Redaktorzy językowi / Language Editors

Dominika Cichocka, Krystyna Lewandowska, Dorota Marzec

Projekt okładki / Cover Design

Anna Antoniszewska

Skład / Typesetting

Dorota Marzec

Adres Redakcji / Editor's Office Address

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy
Redakcja kwartalnika „Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy”
ul. Czerniakowska 16, 00-701 Warszawa
Telefon: (+48 22) 623 36 82, e-mail: pimosp@ciop.pl

© Copyright by Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy
Warszawa 2026
Wersja elektroniczna publikowana na licencji Open Access CC BY-NC



Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy
Central Institute for Labour Protection – National Research Institute

ul. Czerniakowska 16, 00-701 Warszawa
tel. (+48 22) 623 36 98, <http://www.ciop.pl>

TREŚĆ

1,2-Dichloropropan. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego <i>Małgorzata Kucharska</i>	5
Zakres badań wstępnych i okresowych, narządy (układy) krytyczne, przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia w narażeniu na 1,2-dichloropropan <i>Marcin Rybacki</i>	49
D-limonen. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego <i>Magdalena Ponicka, Joanna Jurewicz</i>	51
Zakres badań wstępnych i okresowych, narządy (układy) krytyczne, przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia w narażeniu na D-limonen <i>Marcin Rybacki</i>	81
Kwas tereftalowy –frakcja wdychalna. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego <i>Małgorzata Kupczewska-Dobecka</i>	83
Zakres badań wstępnych i okresowych, narządy (układy) krytyczne, przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia w narażeniu na kwas tereftalowy –frakcja wdychalna <i>Marcin Rybacki</i>	133
Oznaczanie <i>p</i> -benzochinonu w powietrzu na stanowiskach pracy metodą chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym <i>Wioletta Mysur, Agata Ciemcioch, Marzena Bonczarowska, Sławomir Brzeźnicki</i>	135
Oznaczanie kwasu pentadekafluorooktanowego w powietrzu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas <i>Marzena Bonczarowska, Wioletta Mysur, Agata Ciemcioch, Sławomir Brzeźnicki</i>	149

ABSTRACTS

1,2-Dichloropropane. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs) <i>Małgorzata Kucharska</i>	6
D-limonene. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs) <i>Magdalena Ponicka, Joanna Jurewicz</i>	52
Terephthalic acid – inhalable fraction. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs) <i>Małgorzata Kupczewska-Dobecka</i>	84
Determination of <i>p</i> -benzoquinone in workplace air with high performance liquid chromatography with spectrophotometric detection <i>Wioletta Mysur, Agata Ciemcioch, Marzena Bonczarowska, Sławomir Brzeźnicki</i>	136
Determination of perfluorooctanoic acid in workplace air with high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometer <i>Marzena Bonczarowska, Wioletta Mysur, Agata Ciemcioch, Sławomir Brzeźnicki</i>	150

Czasopismo naukowe z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska, górnictwa i energetyki, indeksowane w bazach: ARIANTA, BazTech, Chemical Abstracts, Index Copernicus, OSH UPDATE, PBN

Publikacja opracowana na podstawie wyników VII etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie zadań służb państwowych ze środków Ministerstwa Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej. Zadanie nr 6.AS.02 pt. „Opracowywanie i wydawanie krajowego czasopisma naukowego *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.



1,2-Dichloropropan

Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1,2}

1,2-Dichloropropane

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

MAŁGORZATA KUCHARSKA

<https://orcid.org/0000-0001-6885-123x>

e-mail: malgorzata.kucharska@umed.lodz.pl

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Medical University of Lodz, Łódź, Poland

NDS	4,4 mg/m ³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono

Skóra wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową
Carc. 1B substancja rakotwórcza kategorii 1B

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25-27.09.2024 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 25.03.2026 r.

Streszczenie

1,2-Dichloropropan (DCP) jest bezbarwną, łatwopalną cieczą o zapachu zbliżonym do chloroformu. Jest substancją lotną, umiarkowanie rozpuszczalną w wodzie. Obecnie znajduje zastosowanie jako środek czyszczący i odtłuszczający, składnik klejów oraz spoiw, a także jako półprodukt w syntezie innych związków chemicznych. W warunkach narażenia zawodowego kontakt z 1,2-dichloropropanem może następować drogą inhalacyjną oraz przez skórę. Przewlekłe narażenie w miejscu pracy może prowadzić do ostrego zapalenia wątroby oraz encefalopatii. Wśród pracowników japońskich drukarni narażonych na 1,2-dichloropropan stwierdzono liczne przypadki raka dróg żółciowych (CCA). 1,2-Dichloropropan jest klasyfikowany jako substancja rakotwórcza kategorii Carc. 1B. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaklasyfikowała 1,2-dichloropropan jako substancję rakotwórczą dla ludzi (grupa 1). 1,2-Dichloropropan szybko i niemal

¹ Wartość NDS kwasu heptadekafluorooktanosulfonowego została w dniu 25.03.2026 r. przyjęta na 113. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 129) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr II.PB.03. pt.: „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

całkowicie wchłaniania się po podaniu per os oraz w wyniku narażenia inhalacyjnego. Po wchłonięciu 1,2-dichloropropan jest rozprowadzany w całym organizmie, a następnie szybko i intensywnie metabolizowany w wątrobie. Metabolity są wydalane z moczem oraz częściowo z wydychanym powietrzem. Za krytyczny skutek działania 1,2-dichloropropanu należy uznać jego działanie rakotwórcze, jednak nie jest możliwe określenie zależności między poziomem narażenia a ryzykiem zachorowania na CCA. Ze względu na niepewność oszacowanego ryzyka, odmienny metabolizm oraz częste współwystępowanie zakażeń pasożytniczych wśród osób pochodzenia azjatyckiego wydaje się, że w populacji europejskiej ryzyko wystąpienia CCA mogło zostać przeszacowane. Na podstawie nienowotworowych skutkach działania 1,2-dichloropropanu (przerostu nabłonka nosa i dróg oddechowych) przyjęto wartość NDS dla 1,2-dichloropropanu na poziomie 4,4 mg/m³. Nie było podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) ani wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB). Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny pracy, będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: 1,2-dichloropropan, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

1,2-Dichloropropane (DCP) is a colourless, flammable liquid with an odour like chloroform. It is volatile and moderately soluble in water. It is currently used as a cleaner, degreaser, a component of adhesives and binders, and as an intermediate in the synthesis of other chemical compounds. Under occupational exposure conditions, contact with 1,2-dichloropropane may occur through the respiratory system and skin. Chronic occupational exposure can lead to acute hepatitis and encephalopathy. Many cases of biliary tract cancer (CCA) have been found among Japanese printing industry workers exposed to DCP. 1,2-Dichloropropane is classified as a substance of Carc. 1B. The IARC has classified DCP as 'carcinogenic to humans' (group 1). 1,2-Dichloropropane is rapidly and almost completely absorbed per os and following inhalation exposure. Once absorbed, DCP is distributed throughout the body and is rapidly and extensively metabolised in the liver. Metabolites are excreted in the urine and partially in exhaled air. Carcinogenicity should be considered a critical effect of 1,2-dichloropropane, but it is not possible to determine the relationship between exposure and risk of CCA. Due to the uncertainty of the calculated risk, different metabolism and often coexisting parasitic infections among people of Asian origin, it appears that in the European population, the risk of occurrence has been overestimated. Based on the non-carcinogenic effects of DCP (nasal and respiratory epithelial hyperplasia), the MAC for 1,2-dichloropropane was assumed to be 4.4 mg/m³. There was no basis for adopting a maximum allowable instantaneous concentration (MAC-STEL) or the Biological Exposure Index (BEI). The scope of this article covers issues relating to occupational safety and health, which are the subject of research in the fields of health sciences and environmental engineering.

Keywords: 1,2-dichloropropane, toxicity, occupational exposure, MAC, health sciences, environmental engineering.

Adres do korespondencji/Contact details: Małgorzata Kucharska, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, 90–419 Łódź, Al. Kościuszki 4, e-mail: małgorzata.kucharska@umed.lodz.pl

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

1,2-Dichloropropan (DCP) jest jednym z izomerów propanu podstawionych dwoma atomami chloru. Jest to bezbarwna, łatwopalna ciecz o zapachu zbliżonym do chloroformu. W warunkach normalnych łatwo odparowuje i wykazuje umiarkowaną rozpuszczalność w wodzie (ATSDR 2021; ECHA 2024; PubChem 2024).

W Unii Europejskiej 1,2-dichloropropan posiada zharmonizowaną klasyfikację zgodnie

z tabelą 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE L 353 z późn. zm.), zwanego dalej rozporządzeniem CLP (2008). Klasyfikację 1,2-dichloropropanu przedstawiono w tabeli 1, natomiast oznakowanie substancji – na rycinie 1.

Ogólna charakterystyka 1,2-dichloropropanu (ATSDR 2021; ECHA 2024; GESTIS 2024; IARC 2016; OECD 2003; PubChem 2024):

– nazwa chemiczna 1,2-dichloropropan

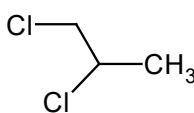
– wzór sumaryczny	$C_3H_6Cl_2$	– synonimy:	dichloropropan; dichlorek propylenu
– wzór strukturalny		– współczynniki przeliczeniowe (w temp. 20 °C, przy ciśnieniu 101,3 kPa):	1 ppm = ,7 mg/m ³ ; 1 mg/m ³ = 0,21 ppm.
– nazwa w rejestrze CAS	1,2-dichloropropane		
– numer w rejestrze CAS	78-87-5		
– numer w rejestrze WE	201-152-2		
– numer indeksowy (EC)	602-020-00-0		

Tabela 1. Klasyfikacja i oznakowanie 1,2-dichloropropanu (DCP) zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP)

Table 1. Classification and labelling of 1,2-dichloropropane (DCP) in accordance with Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council (CLP Regulation)

Numer indeksowy	Numer wykazu WE	Numer CAS	Nazwa chemiczna (wzór, nazwa IUPAC)	Klasyfikacja		Oznakowanie			Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	dodatkowe kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	
602-020-00-0	201-152-2	78-87-5	1,2-dichloropropan ($C_3H_6Cl_2$), 1,2-dichloropropane, propylene dichloride	Flam. Liq. 2 Acute Tox. 4 * Acute Tox. 4 * Carc. 1B	H225 H302 H332 H350	GHS07 GHS08 GHS02 Dgr	H225 H302 H332 H350		

Objaśnienia:

Flam. Liq. 2

Acute Tox. 4*

1B

H225

H302

H332

CarcH350

Dgr

Ciecz łatwopalna, kategoria 2.

Toksyczność ostra po połknięciu i w następstwie narażenia inhalacyjnego, kategoria zagrożenia 4.

Działanie rakotwórcze, kategoria zagrożenia 1B.

Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

Działa szkodliwie po połknięciu.

Działa szkodliwie w przypadku wdychania.

Może powodować raka.

Hasło ostrzegawcze: „niebezpieczeństwo”.



GHS02



GHS07



GHS08

Rycina 1. Kody haseł ostrzegawczych: GHS02 – substancja łatwopalna; GHS07 – substancja drażniąca, GHS08 – substancja stwarzająca zagrożenie dla zdrowia. Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Figure 1. Hazard pictograms: GHS02 – flammable substance; GHS07 – irritant; GHS08 – health hazard. The pictograms specified in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) consist of a black symbol on a white background with a red border wide enough to be clearly visible

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne 1,2-dichloropropanu:

- masa cząsteczkowa 112,99 g/mol
- temperatura wrzenia 96,4°C
- temperatura topnienia -100,4°C
- gęstość (w temp. 20°C) 1,155 g/cm³
- prężność par (w temp. 25°C) 66,2 hPa
- gęstość względna
- par (powietrze = 1) 3,9
- temperatura zapłonu (tygiel zamknięty) 13 ÷ 15°C
- temperatura zapłonu (tygiel otwarty) 21°C
- granice stężeń wybuchowych 3,4 ÷ 14,5%
- współczynnik podziału węgiel organiczny/ woda (log K_{oc}) 1,67
- współczynnik podziału n-oktanol/ woda (log P_{ow}) (w temp. 25°C) 1,98
- stała prawa Henry’ego (w temp. 25°C) 274 Pa · m³/mol
- lepkość (w temp. 20°C) 0,757 mm²/s
- rozpuszczalność w wodzie (w temp. 25°C) słaba rozpuszczalność w wodzie (2800 mg/l)
- rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach: rozpuszczalny w etanolu, eterze dietylowym, benzenie, chloroformie.

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Otrzymywanie

1,2-Dichloropropan może być wytwarzany w procesie chlorowania propylenu, jednak obecnie związek ten, podobnie jak 1,2,3-trichloropropan, powstaje głównie jako produkt uboczny procesu wytwarzania tlenu propylenu metodą chlorohydrynową (Rossberg i in. 2006). 1,2-Dichloropropan jest produkowany w Ameryce Północnej, Europie,

Azji i Ameryce Południowej. Jego produkcja od lat 80. XX wieku została znacznie ograniczona. W 1980 r. tylko w USA produkowano 77 mln ton, natomiast w 2001 r. całkowitą roczną wielkość światowej produkcji 1,2-dichloropropanu oszacowano na 350 tys. ton, z czego około 19 ÷ 25% przypadało na Europę (IARC 2016).

Zastosowanie

1,2-Dichloropropan był wcześniej stosowany jako rozpuszczalnik przemysłowy do usuwania farb, lakierów, żywic, smarów, tłuszczów itp., a także jako składnik fumigantów i insektycydów. Jednak wiele z tych zastosowań zostało zakazanych w Unii Europejskiej; przykładowo od 2003 r. nie może być stosowany jako fumigant glebowy, podobnie jak w Japonii. Jednak w niektórych krajach nadal jest powszechnie stosowany (OECD 2003). Obecnie jest wykorzystywany głównie jako półprodukt w produkcji chlorowanych rozpuszczalników organicznych, a także przy wytwarzaniu wymienników jonowych, filmów fotograficznych, powlekaniu papieru oraz regeneracji katalizatorów naftowych (ECHA 2024; PubChem 2024) Zgodnie z danymi dostępnymi na stronach ECHA 1,2-dichloropropan jest stosowany na terenie Unii Europejskiej jako środek czyszczący i odtłuszczający oraz jako składnik klejów i spoiw (ECHA 2024). W Japonii, choć obecnie 1,2-dichloropropan jest wykorzystywany głównie jako półprodukt, jeszcze do 2006 r. był stosowany jako środek czyszczący w procesach druku offsetowego, w związku z wycofaniem wcześniej używanego 1,1,1-trichloroetanu z powodu jego toksyczności (Kumagai i in. 2013). Brak jest informacji o podobnym zastosowaniu 1,2-dichloropropanu w innych krajach świata (OECD 2003).

Narażenie zawodowe

Ponieważ 1,2-dichloropropan nie występuje naturalnie w środowisku, narażenie na tę substancję praktycznie nie występuje w populacji generalnej. Natomiast w środowisku pracy narażenie na 1,2-dichloropropan może wystąpić głównie drogą inhalacyjną oraz, w mniejszym stopniu, poprzez kontakt ze skórą. We Włoszech tylko jeden z ośmiu badanych małych warsztatów lakierniczych zgłosił narażenie na 1,2-dichloropropanu (Vitali i in. 2006). Zmierzone średnie stężenia wynosiły 5,3 mg/m³ podczas 5,5-godzinnych pomiarów indywidualnych i stacjonarnych. Kolejne badania przeprowadzono we Włoszech wśród pracowników

przemysłu tworzyw sztucznych, farb oraz przemysłu chemicznego (Ghittori i in. 1987). W tym przypadku odnotowano znacznie wyższe stężenia, mieszczące się w zakresie $10 \div 150 \text{ mg/m}^3$, a dwukrotnie zmierzono również stężenia przekraczające 400 mg/m^3 . Wykonywane jednocześnie pomiary stężenia 1,2-dichloropropanu w moczu były ściśle skorelowane ze stężeniami w powietrzu. W kolejnych badaniach możliwe było jedynie oszacowanie stężeń, na jakie byli narażeni w latach 1985–2006 pracownicy małej drukarni w Osace w Japonii. Stwierdzono u nich zwiększoną częstość występowania nowotworów dróg żółciowych, co skłoniło Kumagai i in. (2013) do zainteresowania się warunkami pracy w tym zakładzie. Okoliczności narażenia były dość specyficzne, ponieważ pracownicy usuwali farbę z wałków za pomocą lotnych rozpuszczalników od 300 do 800 razy dziennie, a pomieszczenie miało słabą wentylację. W ciągu kilku lat występowało jednocześnie narażenie zarówno na 1,2-dichloropropan, jak i dichlorometan (DCM). Ze względu na brak monitoringu w tamtym okresie możliwe było jedynie oszacowanie stężeń na podstawie ilości zużywanych rozpuszczalników, na które pracownicy mogli być narażeni. Według szacunków narażenie na 1,2-dichloropropan i dichlorometan oszacowano odpowiednio na poziomie: $100 \div 670 \text{ ppm}$ ($\sim 460 \div 3090 \text{ mg/m}^3$) oraz $80 \div 540 \text{ ppm}$ ($275 \div 1870 \text{ mg/m}^3$). Wśród 62 mężczyzn zatrudnionych przez co najmniej rok w latach 1991–2006 zidentyfikowano 11 przypadków nowotworów dróg żółciowych.

Kolejne prace wykazują korelację między narażeniem na 1,2-dichloropropan w powietrzu a stężeniem niezmetabolizowanej postaci tej substancji w moczu. W pracy Kawai i in. (2015) przedstawiono wyniki badań przeprowadzonych wśród 33 mężczyzn narażonych na 1,2-dichloropropan, którzy stosowali go do czyszczenia rolek drukarskich. Grupę kontrolną stanowiło 5 osób nienarażonych. Średnie stężenie 1,2-dichloropropanu w strefie oddychania pracowników drukarni wyniosło $7,1 \text{ ppm}$ ($33,4 \text{ mg/m}^3$), natomiast maksymalne zmierzone stężenie osiągnęło $23,1 \text{ ppm}$ ($108,6 \text{ mg/m}^3$). Średnie stężenie niezmetabolizowanego 1,2-dichloropropanu w moczu pobranym od monitorowanych osób po zakończeniu zmiany roboczej wyniosło 77 µg/l , a maksymalnie 247 µg/l . W próbkach moczu pobranych od osób nienarażonych badanej substancji nie wykryto. Wysoka korelacja oraz niskie stężenie tła wskazują, że analiza zawartości

niezmetabolizowanego 1,2-dichloropropanu w moczu jest obiecującym narzędziem biomonitorowania narażenia zawodowego. Park i in. (2020) przedstawili wyniki badań przeprowadzonych w kilku procesach technologicznych przemysłu poligraficznego (12 stanowisk pracy), produkcji części samochodowych oraz przemysłu galwanizacyjnego (łącznie 17 stanowisk pracy), w których 1,2-dichloropropan był wykorzystywany do różnych celów, takich jak mieszanie oraz czyszczenie metodą ultradźwiękową i ręcznie. W badaniu wzięło udział 29 osób narażonych zawodowo oraz 4 osoby z grupy nienarażonej. Poziom narażenie na związek w powietrzu był najwyższy podczas mieszania – średnia geometryczna stężenia wyniosła $33,4 \text{ ppm}$ ($157,0 \text{ mg/m}^3$). Podczas ręcznego mycia średnia geometryczna stężenia wynosiła $16,2 \text{ ppm}$ ($76,1 \text{ mg/m}^3$), natomiast najniższe stężenia odnotowano podczas mycia metodą ultradźwiękową – $2,3 \text{ ppm}$ ($10,8 \text{ mg/m}^3$). Średnia geometryczna dla całej populacji w tym badaniu została wyliczona na poziomie $17,4 \text{ ppm}$ (83 mg/m^3). Podobną tendencję obserwowano w stężeniach 1,2-dichloropropanu oznaczanych w moczu. Najwyższą wartość średniej geometrycznej, wynoszącą $670,0 \text{ µg/l}$, odnotowano u osób pracujących przy mieszaniu, podczas ręcznego mycia – $186,1 \text{ µg/l}$, a najniższe stężenie – $33,1 \text{ µg/l}$ podczas mycia ultradźwiękowego (średnia dla wszystkich pracowników wyniosła $231,5 \text{ g/l}$). Autorzy stwierdzili, że najlepszym odzwierciedleniem poziomu narażenia pracowników na 1,2-dichloropropan w powietrzu jest pomiar niezmetabolizowanej substancji w moczu bez korekcji względem stężenia kreatyniny. Istnieją także wcześniejsze badania wskazujące na dobrą korelację między stężeniem 1,2-dichloropropanu w powietrzu a jego zawartością w moczu u 22 pracowników narażonych na tą substancję w przemyśle tworzyw sztucznych i farb oraz w fabrykach obuwia (Ghittori i in. 1987).

Zestawienie danych dotyczących narażenia na 1,2-dichloropropan w Polsce na przestrzeni lat przedstawiono w tabeli 2. W latach 2017–2022 do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszanki, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym, prowadzonego przez Instytut Medycyny Pracy w Łodzi, zgłaszano narażenie na 1,2-dichloropropan (IMP 2024). Liczba osób narażonych w tym okresie wahała się od 3 do 32 pracowników, z których większość

Tabela 2. Narażenie na 1,2-dichloropropan (DCP) w Polsce w latach 2017–2022 (IMP 2024)
Table 2. Exposure to 1,2-dichloropropane (DCP) in Poland in 2017–2022 (IMP 2024)

Rok	Liczba województw	Liczba zakładów pracy	Liczba narażonych mężczyzn	Liczba narażonych kobiet		Liczba osób narażonych ogółem
				ogółem	do 45 lat	
2017	1	1	20	0	0	20
2019	2	4	0	3	3	3
2020	1	1	2	2	2	4
2021	3	5	16	16	12	32
2022	4	7	3	12	9	15

stanowili mężczyźni. Jedynie w 2019 r. i 2022 r. większość (lub wyłącznie) osób zatrudnionych w narażeniu na 1,2-dichloropropan stanowiły kobiety.

Według danych GIS (GIS 2024) w latach 2022–2023 żadna osoba nie pracowała w narażeniu przekraczającym 0,1 obowiązującej w Polsce wartości dopuszczalnego stężenia, wynoszącej 50 mg/m³ (Rozporządzenie... 2018).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE U LUDZI

Obserwacje kliniczne

Toksyczność ostra

W literaturze odnotowano przypadki ostrych zatruć 1,2-dichloropropanem (DCP) w wyniku katastrof środowiskowych, a także przypadkowego spożycia i celowej inhalacji. W ich wyniku dochodziło do zgonów, głównie na skutek zatrzymania akcji serca, wstrząsu lub niewydolności wątroby. Zgłaszano również przypadki niewydolności nerek, obrzęku płuc, rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego i ciężkiej niedokrwistości hemolitycznej (ATSDR 2021, PubChem 2024).

Efekty ostrego narażenia zostały przedstawione przez Rubina (1988), który opisał skutki katastrofy, do której doszło w maju 1981 r. w USA, kiedy na skutek wypadku cysterny przewożącej 2000 galonów 1,2-dichloropropanu doszło do narażenia kilkuset osób. Wśród narażonych znaleźli się kierowcy ciężarówek, funkcjonariusze patroli drogowych, strażacy oraz wielu pracowników szpitala, którzy zostali wtórnie narażeni w wyniku kontaktu ze skażoną odzieżą ofiar. Pomocy w pobliskim oddziale ratunkowym wymagało 129 osób, a 15 zostało przyjętych do szpitala. Osoby narażone na 1,2-dichloropropan skarżyły się na podrażnienia

górnych dróg oddechowych, takie jak dyskomfort w klatce piersiowej, trudności w oddychaniu i kaszel. Conner i in. (1962) opisali wcześniejszy wypadek, który wydarzył się w USA. Cysterna kolejowa zawierająca 3000 galonów DOW 421 (mieszaniny składającej się z o-dichlorobenzenu, 1,2-dichloropropanu i dichloru etylenu w stosunku 4:2:1) uległa eksplozji. W wyniku wybuchu zginęły 3 osoby, a 4 innych mężczyzn zmarło w ciągu 24 h w szpitalu z powodu obrażeń lub zaburzeń czynności płuc. Łącznie 39 strażaków i policjantów było hospitalizowanych z powodu urazów płuc, oczu, skóry lub ostrych zaburzeń psychicznych. U 6 z nich doszło do poważnych urazów dróg oddechowych (zniszczenia nabłonka górnych lub dolnych dróg oddechowych), a 3 z nich zmarło w późniejszym czasie.

We Włoszech doszło do wielu wypadków związanych ze spożyciem środka czyszczącego o nazwie „Trielina”, zawierającego różne ilości trichloroetanu i 1,2-dichloropropanu (Chiappino, Secchi 1968; Di Nucci i in. 1988; Perbellini i in. 1985). W wyniku zatrucia dochodziło do poważnych uszkodzeń wątroby, ostrej niewydolności nerek, niedokrwistości hemolitycznej oraz rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, a część przypadków kończyła się zgonem. Imberti i in. (1987) opisali przypadki zatrucia u 56 osób, u których pojawiły się objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego, wątroby, nerek i serca. W 6% opisanych przypadków doszło do zgonu.

Larcan i in. (1977) opisali przypadek 46-letniego mężczyzny, który spożył 50 ml substancji oczyszczającej zidentyfikowanej jako zawierająca 1,2-dichloropropan. W ciągu dwóch godzin rozwinęła się u niego głęboka śpiączka z rozszerzeniem źrenic i nadciśnieniem. Po 24 h sztucznej hiperwentylacji i diurezy osmotycznej pozornie nastąpił powrót do zdrowia. Jednak po 36 h od spożycia

rozwinęło się ostre majaczenie z drżeniem, a mężczyzna zmarł z powodu nieodwracalnego wstrząsu z niewydolnością serca, kwasicą mleczanową i cytologią wątrobową.

Do zatrucia dochodziło również w wyniku narażenia inhalacyjnego, czasami przypadkowego, ale często intencjonalnego. Pozzi i in. (1985) opisali przypadek 55-letniej Włoszki cierpiącej na błonoproliferacyjne kłębuszkowe zapalenie nerek i będącej w trakcie domowej hemodializy. Po sześciogodzinnym sprzątanu mieszkania przy użyciu dwóch litrów rozpuszczalnika, zawierającego 1,2-dichloropropan, rozwinęła się u niej ciężka niewydolność wątroby, niedokrwistość hemolityczna oraz lekkie rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe. W trakcie pracy nie zauważyła ona żadnych niepożądanych skutków, a jedynie nieprzyjemny zapach. Jednak w ciągu następnych trzech dni rozwinęły się u niej anoreksja, bóle brzucha i nocne pocenie się, w związku z czym została przyjęta do szpitala. Po zastosowaniu leczenia stan pacjentki poprawił się po tygodniu. W innym opisie przypadku ból brzucha i wymioty zaobserwowano u 73-letniej kobiety, która po wyczyszczeniu części odzieży zasnęła na 2 h w bliskim sąsiedztwie szklanki wypełnionej odplamiaczem zawierającym 1,2-dichloropropan. U pacjentki rozwinęły się ostra niewydolność wątroby oraz niedokrwistość hemolityczna (Lucantoni i in. 1992). Zdarzały się również przypadki celowego wążania rozpuszczalników w celu odurzenia. Pozzi i in. (1985) opisali przypadek 20-letniej Włoszki, u której po wążaniu odplamiacza zawierającego 70 ÷ 98% 1,2-dichloropropanu rozwinęły się niewydolność nerek, ostre uszkodzenie wątroby, niedokrwistość hemolityczna i rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe. Dziewczyna w ciągu jednej nocy powtórzyła inhalację czterokrotnie, zaś objawy pojawiły się następnego ranka. Do podobnych incydentów dochodziło już wcześniej. Wyniki biopsji nerki potwierdziły ostrą martwicę kanalików nerkowych. Trzy tygodnie po przyjęciu do szpitala pacjentka została wypisana do domu z całkowitym przywróceniem czynności nerek i wątroby oraz prawidłowymi wynikami badań krzepnięcia.

Działanie drażniące i uczulające

Przypadki inhalacyjnego narażenia oraz występujące w jego wyniku objawy ze strony górnych dróg oddechowych wskazują na drażniące działanie 1,2-dichloropropanu (Conner i in. 1962; Rubin 1988). W literaturze opisano również przypadki

dermalnego narażenia na tę substancję. Jeden z takich przypadków dotyczył przypadkowego obalania górnej części tułowia i brzucha utrwalaczem farby zawierającym 35 ÷ 40% 1,2-dichloropropanu i toluenu. Mężczyzna nie przerwał pracy i przez 6 h malował na zewnątrz przy użyciu wyżej wymienionego środka. Dopiero po 5 h zdjął ubranie, umył się i zgłosił jedynie przejściowe zaczerwienienie skóry w miejscach wcześniejszego kontaktu z substancją. Jednak po pewnym czasie u mężczyzny rozwinęły się: ostry skąpomocz, niewydolność nerek, ostra martwica wątrobowokomórkowa, rhabdomyoliza oraz ciężkie rozsiane wykrzepianie wewnątrznaczyniowe (Fiaccadori i in. 2003). Autorzy podejrzewali, że zatrucie było spowodowane rozległym i długotrwałym kontaktem substancji ze skórą, a nie narażeniem wziewnym, ponieważ mężczyzna pracował na zewnątrz, w dobrze wentylowanym środowisku. Nie zgłaszał również objawów podrażnienia górnych dróg oddechowych podczas malowania ani bezpośrednio po jego zakończeniu. Czynność nerek i wątroby powróciła do normy w ciągu dwóch tygodni.

Istnieją niejednoznaczne doniesienia dotyczące tego, czy 1,2-dichloropropan może powodować alergiczne choroby skóry po niekontrolowanym narażeniu u osób z wcześniej występującym zapaleniem skóry. W jednym z badań u 10 pracowników narażonych na działanie preparatów przemysłowych zawierających 10 ÷ 40% 1,2-dichloropropanu stwierdzono reakcję alergiczną (Baruffini i in. 1989). Pracownicy ci myli ręce w preparacie zawierającym 1,2-dichloropropan, co prowadziło do wystąpienia reakcji alergiczej, potwierdzonej w teście płatkowym przy stężeniu progowym wynoszącym 2%. Należy jednak zaznaczyć, że wszyscy badani już wcześniej cierpieli na zmiany skórne oraz zapalenie skóry rąk, które szybko ustępowały po zaprzestaniu ekspozycji. W innym doniesieniu opisano przypadek dwóch pracowników z nawracającym zapaleniem skóry, narażonych między innymi na działanie 1,2-dichloropropanu w miejscu pracy (Grzywa, Rudzki 1981). Testy płatkowe dały wynik dodatni po zastosowaniu 1% 1,2-dichloropropanu, a także innych substancji obecnych w środowisku pracy.

Toksyczność przewlekła i podprzewlekła

Do przewlekłych zatruc 1,2-dichloropropanem dochodziło w wyniku narażenia w miejscu pracy. Kubo i in. (2015) opisali przypadek ciężkiego, ostrego zapalenia wątroby, które rozwinęło się

u mężczyzny pracującego w dziale druku offsetowego w Japonii. Pracownik był narażony na działanie różnych rozpuszczalników, w tym związków chloroorganicznych, takich jak: 1,2-dichloropropan (DCP), dichlorometan (DCM) i 1,1,1-trichloroetan (TCE). Przez około rok, bezpośrednio przed wystąpieniem ciężkiego, ostrego zapalenia wątroby, podczas przygotowywania płyt drukarskich stosował TCE o wysokiej czystości do usuwania plam z płyt szklanych. Dziennie zużycie TCE oszacowano na $1 \div 2$ l. Oprócz TCE, pracownik był narażony w ciągu ostatnich 5 miesięcy na działanie czystego 1,2-dichloropropanu (98%), a wcześniej na mieszaninę zawierającą 1,2-dichloropropan ($40 \div 50\%$), DCM ($40 \div 50\%$) oraz węglowodory ropopochodne ($1 \div 10\%$). W czasie pracy nie stosował żadnych środków ochrony indywidualnej. Aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (AlAT) oraz dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy była znacznie zwiększona w chwili przyjęcia do szpitala, a następnie szybko uległa poprawie po wdrożeniu leczenia. Pacjent nie zgłaszał wcześniejszych chorób wątroby ani innych schorzeń mogących prowadzić do ostrego zapalenia wątroby, takich jak wirusowe lub autoimmunologiczne zapalenie wątroby, alkoholowa choroba wątroby, zakażenia wirusowe czy choroby dróg żółciowych. Wynik badania histopatologicznego wycinka wątroby również nie wskazywał na takie rozpoznanie. Obraz histopatologiczny sugerował natomiast zmiany w wątrobie związane z narażeniem na chlorowane rozpuszczalniki organiczne. Czynność wątroby powróciła do normy w ciągu kilku tygodni po zakończeniu narażenia.

Kolejny przypadek zatrucia dotyczył 41-letniego mężczyzny zatrudnionego w fabryce akcesoriów samochodowych w Korei (Kwak i in. 2018). Pracownik zgłosił się do szpitala z zawrotami głowy i bólem głowy, silnymi nudnościami, wymiotami, podwójnym widzeniem oraz ataksją. Rezonans magnetyczny mózgu wykazał obustronne nieprawidłowości we wzgórzu, a po wykluczeniu innych typów encefalopatii autorzy uznali, że pracownik cierpiał na ostrą encefalopatię toksyczną wywołaną narażeniem na 1,2-dichloropropan. Przed wystąpieniem objawów pracownik był narażony w ciągu 7 dni roboczych na działanie 1,2-dichloropropanu, którego używał jako środka do czyszczenia części samochodowych. Mężczyzna już 5 miesięcy wcześniej pracował z tym związkiem oraz dichlorometanem,

stosowanymi w myjkach ultradźwiękowych. Jednak w ciągu ostatnich 7 dni przed przyjęciem do szpitala pracował przy otwartych myjkach, aby skuteczniej usuwać rdzę z części, nie stosując przy tym żadnych środków ochrony indywidualnej. Późniejsze pomiary stężeń w środowisku pracy wykazały, że 8-godzinne stężenie tego związku na stanowisku pracy mężczyzny wynosiło 8,4 ppm (40 mg/m^3), a pomiar wykonany 3 miesiące później wykazał wartości 27 ppm i 42 ppm ($128,6 \text{ mg/m}^3$ i 200 mg/m^3). Krótkotrwałe, 15-miutowe narażenie wynosiło 50 ppm i 77 ppm (238 mg/m^3 i 333 mg/m^3). Mężczyzna wyzdrowiał, a po powrocie do pracy nie był już narażony na działanie detergentów ani rozpuszczalników organicznych, w związku z czym objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN) nie wystąpiły ponownie.

Badania epidemiologiczne

Badania epidemiologiczne ograniczają się do opisów przypadków przypadkowego lub celowego narażenia oraz jednego badania kliniczno-kontrolnego oceniającego potencjalny związek z atopowym zapaleniem skóry, co przedstawiono w rozdziale „Działanie toksyczne na ludzi. Toksyczność ostra” (Baruffini i in. 1989; Imberti i in. 1987; Pozzi i in. 1985). Szersze badania obejmują przypadki zawodowego narażenia na 1,2-dichloropropan u drukarzy w Japonii oraz retrospektywne badania kohortowe oceniające występowanie raka dróg żółciowych u pracowników drukarni (Ahrens i in. 2014; Kubo i in. 2014a; 2014b; Kumagai i in. 2013; 2014; 2016; Vlaanderen i in. 2013). Częstym ograniczeniem wymienionych badań jest brak kontroli nad narażeniem na inne chlorowane rozpuszczalniki, z których wiele wykazuje podobne działanie toksyczne jak 1,2-dichloropropan, a także brak pomiarów narażenia zawodowego. Niemniej jednak badania te wyraźnie wskazują na związek między narażeniem na 1,2-dichloropropan a występowaniem raka dróg żółciowych. Szczegółowe omówienie badań w tym zakresie przedstawiono w rozdziale „Działanie rakotwórcze u ludzi”.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i krótkoterminowa

Dostępne badania dotyczące narażenia, prowadzone na modelach zwierzęcych, wskazują na niską

toksyczność ostrą 1,2-dichloropropanu (DCP), niezależnie od drogi podania. Duża część badań pochodzi z lat 40.–70. XX wieku i nie spełnia współczesnych wytycznych GLP, dlatego zrezygnowano z ich cytowania. Wyniki tych badań przedstawiono w starszych wersjach dokumentacji dotyczących wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego (Greim 1998; Gromadzińska, Wąsowicz 2008). W tabeli 3 zamieszczono doniesienia pochodzące z lat 80. XX wieku, które, choć w większości również nie są zgodne z wymogami GLP, wskazują kierunek prowadzonych badań.

Narażenie inhalacyjne

Przeprowadzono szereg badań oceniających skutki ostrego narażenia wziewnego na 1,2-dichloropropan (tab. 3). Wartości LC_{50} po narażeniu inhalacyjnym trwającym 8 ÷ 10 h określono na poziomie 2300 mg/m³ (około 480 ppm) u myszy, natomiast u szczurów wynosiły one 9500 mg/m³ i 14 300 mg/m³ (~2000 ppm i 3000 ppm), (Greim 1998). Stężenia 1,2-dichloropropanu w zakresie 4800 ÷ 10500 mg/m³ (1000 ÷ 2200 ppm), po jedno- lub wielokrotnym siedmiogodzinnym narażeniu, powodowały działanie toksyczne na wątrobę (zwyródnienie tłuszczowe, martwica, przekrwienie) i nerki (zwyródnienie tłuszczowe) u szczurów, kawii domowych i królików (Fan, Alexeeff 1999). Inne stwierdzone skutki toksyczne obejmowały zmiany w nadnerczach, ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), śledzionie, pęcherzu moczowym i płucach. Ciągłe narażenie na niższe stężenia 1,2-dichloropropanu, wynoszące 950 ÷ 2150 mg/m³ (200 ÷ 450 ppm), przez 7 dni powodowało podobne zmiany w wątrobie i nerkach u szczurów (Sidorenko i in. 1976). Toksyczne działanie 1,2-dichloropropanu na wątrobę, obejmujące m.in. wyraźne zmiany, takie jak rozległa ostra nekroza krwotoczna oraz zmiany regeneracyjne, stwierdzono również u myszy jednorazowo narażonych na jego działanie w stężeniu 2300 mg/m³ (480 ppm) przez 6 h (Dow 1968).

Badania przeprowadzone w późniejszych latach również wskazywały na zmiany w wątrobie jako główne działanie toksyczne 1,2-dichloropropanu. W badaniach Zhang i in. (2015), po narażeniu myszy przez 8 h dziennie przez 7 dni, zaobserwowano jedynie niewielkie zmiany hepatotoksyczne (kropek tłuszczu) przy stężeniu około 14 300 mg/m³ (3000 ppm). W przypadku narażenia myszy na stężenie 1440 mg/m³ (300 ppm) obserwowano niewielkie lub brak zmian w wątrobie, zależnie od rasy

(Toyooka i in. 2017; Wang i in. 2019; Zhang i in. 2015). Przykładowo, wszystkie 8 myszy BALB/cA narażonych przez 14 dni, 6 h dziennie, na 1,2-dichloropropan w stężeniu wynoszącym 1900 mg/m³ (400 ppm) padły (Zhang i in. 2015). W przypadku pozostałych gatunków zwierząt (kawia domowa, chomik, królik) skutki toksyczne występowały przy wyższych stężeniach.

Wyniki badań trwających do 4 tygodni (toksyczność podostra) przedstawiono w tabeli 3. Szczury F344 (5 osobników/płeć/grupa) były narażone przez 2 ÷ 4 tygodnie (5 dni w tygodniu, 6 h dziennie, narażenie całego ciała) na 1,2-dichloropropan w stężeniach: 0 ppm (kontrola); 100 ppm, 300 ppm lub 1000 ppm (480 mg/m³; 1400 mg/m³; 4800 mg/m³), (Nitschke, Johnson 1983). Zwiększenie masy wątroby u obu płci oraz przerost komórek wątrobowych u samic obserwowano po podaniu tylko dużej dawki (300 i 100 ppm), natomiast zwyrodnienie błony śluzowej nosa stwierdzono przy wszystkich dawkach.

Myszy B6C3F1 (5 osobników/płeć/grupa) były narażone przez 2 ÷ 4 tygodnie (5 dni w tygodniu, 6 h dziennie, narażenie całego ciała) na 1,2-dichloropropan w stężeniach: 0 ppm (kontrola); 30 ppm; 100 ppm lub 300 ppm (140 mg/m³; 480 mg/m³; 1400 mg/m³). Zwiększenie masy wątroby, przerost komórek wątrobowych, zwyrodnienie błony śluzowej nosa oraz zmniejszenie masy grasicy i liczby komórek limfatycznych obserwowano po narażeniu na najwyższe stężenie (Nitschke, Johnson 1983).

Narażenie drogą pokarmową

1,2-Dichloropropan wykazuje zróżnicowaną toksyczność po podaniu drogą pokarmową: zgłaszane wartości LD_{50} wynoszą od 487 mg/kg mc. do 2200 mg/kg mc. u szczurów, od 860 mg/kg mc. do 1000 mg/kg mc. u myszy i od 2000 mg/kg mc. do 4000 mg/kg mc. u kawii domowej (ATSDR 2021; Fan, Alexeeff 1999; OECD 2003; WHO 2003). Przytoczone wartości odnoszą się w dużej mierze do danych historycznych zawartych w starszych opracowaniach. W tabeli 3 przedstawiono nowe badania, podobnie jak w przypadku narażenia inhalacyjnego.

Najniższą dawkę powodującą padnięcia wśród szczurów przedstawiono w badaniach przeprowadzonych w Shell Oil Company (Shell 1982). Szczury Wistar (6 osobników każdej płci i dla każdej dawki) były narażone przez zgłębnik na nierozcieńczony 1,2-dichloropropan w dawkach:

145 mg/kg mc., 230 mg/kg mc., 366 mg/kg mc., 582 mg/kg mc., 926 mg/kg mc. lub 1472 mg/kg mc. Po podaniu 582 mg/kg mc. 1,2-dichloropropanu odnotowano padnięcia zwierząt (8/12), natomiast po najwyższej dawce śmiertelność wyniosła 100%. Na podstawie uzyskanych wyników wartość LD_{50} wyznaczono na poziomie 487 mg/kg mc. Jednak w starszych doniesieniach wartości LD_{50} po podaniu dostnym (*per os*) określono na poziomie od 1600 mg/kg mc. do 2000 mg/kg mc., przy czym badania wykonano u szczurów o nieokreślonych rasach (ATSDR 2021). Nowsze prace pozostają niejednoznaczne. Przykładowo, *Imberti i in.* (1990) nie odnotowali żadnych padnięć u szczurów rasy Wistar po jednorazowym narażeniu na dawkę 2000 mg/kg mc, natomiast *Kennedy i Greapel* (1991) określili LD_{50} na poziomie 1900 mg/kg mc., jednak brak jest danych dotyczących rasy, liczby zwierząt oraz podawanej dawki.

W większości badań toksyczności ostrej wskazuje się przede wszystkim na hepatotoksyczne działanie 1,2-dichloropropanu. Przykładowo, samcom szczurów Sprague-Dawley podano 1,2-dichloropropan w oleju przez zgłębnik, raz dziennie przez 1, 5 lub 10 kolejnych dni, w dawkach: 0 (kontrola), 100 mg/kg mc., 250 mg/kg mc., 500 mg/kg mc. lub 1000 mg/kg mc. (*Bruckner i in.* 1989). W przypadku niskich dawek ($100 \div 250$ mg/kg mc.) pojedyncze narażenie na 1,2-dichloropropan powodowało depresję ośrodkowego układu nerwowego oraz zmniejszenie masy ciała. Podanie wyższych dawek ($500 \div 1000$ mg/kg mc.) prowadziło do działania toksycznego na wątrobę. Powtarzane narażenie przez 10 dni na niską dawkę (100 mg/kg mc.) powodowało znaczne zwiększenie stężenia cytochromu P450 w wątrobie oraz powiększenie jąder hepatocytów, a dalsze zwiększanie dawki nasilało te zmiany. Powiększenie jąder hepatocytów obserwowano jednak przy wszystkich poziomach dawek, zarówno po 5, jak i po 10 dniach narażenia. Przy wyższych dawkach podawanych przez 10 dni wystąpiły poważne uszkodzenia wątroby w postaci toksycznego zapalenia wątroby, wakuolizacji okołowrotnej oraz zmian aktywności enzymów wątrobowych; dodatkowo odnotowano niedokrwistość hemolityczną.

W kolejnym eksperymencie szczurom Fischer (10 osobników/płeć/dawka) podawano 1,2-dichloropropan przez zgłębnik w dawkach: 0 mg/kg mc. (kontrola), 300 mg/kg mc. lub 500 mg/kg mc. na

dobę przez 14 kolejnych dni (*Gorzynski, Johnson* 1989). U narażonych samców i samic szczurów już przy niższej dawce (300 mg/kg mc.) obserwowano przejściowe objawy, takie jak łzawienie, mruganie i letarg, a także znaczne zmniejszenie masy ciała. U obu płci stwierdzono zależne od dawki zwiększenie masy wątroby i nerek. Zmiany histopatologiczne (powiększenie jąder hepatocytów, zwyrodnienie i martwica komórek wątroby) stwierdzono u samców i samic po podaniu obu dawek. Nie zaobserwowano zmian mikroskopowych w nerkach.

Szczurom Fischer 344/N i myszom B6C3F1 (5 osobników/płeć/grupa) podawano 1,2-dichloropropan przez zgłębnik w dawkach: 0 (kontrola), 125 mg/kg mc., 250 mg/kg mc., 500 mg/kg mc., 1000 mg/kg mc. lub 2000 mg/kg mc. przez 14 dni (NTP 1986). Wśród szczurów wszystkie zwierzęta z grupy otrzymującej najwyższą dawkę (2000 mg/kg mc.) padły w trakcie badania. W grupie zwierząt otrzymujących dawkę 1000 mg/kg mc. końcowa średnia masa ciała była o $14 \div 15\%$ niższa w porównaniu z grupą kontrolną. U myszy śmiertelność samców otrzymujących 1000 mg/kg mc. lub 2000 mg/kg mc. wynosiła 100%, natomiast w grupie narażonej na 500 mg/kg mc. – 60%. Padnięcia samic występowały na podobnym poziomie; przy najwyższej dawce wyniosły 100%, a przy niższej – 80%. Średnia masa ciała myszy, które przeżyły, nie różniła się w zależności od dawki. W badaniach histopatologicznych zaobserwowano jedynie zaczerwienienie rdzenia nerki. Zmianę tę stwierdzono zarówno u szczurów, jak i u myszy z grup otrzymujących najwyższe dawki.

Wartość LD_{50} po podaniu *per os*, wynosząca 960 mg/kg mc., została wyznaczona u myszy ddY, jednak brak jest bliższych informacji dotyczących przebiegu eksperymentu (*Matsumoto i in.* 1982). U myszy B6C3F1, którym jednorazowo podano dawkę 500 mg/kg mc., nie odnotowano padnięć (*Gi i in.* 2015). W badaniu powtarzanej ekspozycji trwającej 14 dni, obejmującej zakres dawek $125 \div 2\,000$ mg/kg mc./dobę, padnięcia myszy B6C3F1 wystąpiły po podaniu dawek ≥ 500 mg/kg mc./dzień (NTP 1986).

U ciężarnych królików narażanych w okresie od 7. do 19. dnia ciąży 2/7 zwierząt padło po ekspozycji na dawkę 250 mg/kg mc./dobę, choć nie ma pewności, czy zgony były związane z narażeniem (*Berdasco i in.* 1988). Nie zaobserwowano śmiertelności związanej z narażeniem u ciężarnych

królików narażonych na dawki do 150 mg/kg mc./dobę (Kirk i in. 1995). U chomików nie odnotowano zgonów po jednorazowym narażeniu na dawkę 500 mg/kg mc. Jednak po przedłużeniu eksperymentu do 3 dni ekspozycja na tę samą dawkę spowodowała padnięcie 1/5 zwierząt (Gi i in. 2015).

W badaniach prowadzonych na psach, opisanych w starszych opracowaniach, zwrócono uwagę na niekorzystny wpływ 1,2-dichloropropanu na OUN (wyraźny brak koordynacji, utrata równowagi, niestabilny chód), (ATSDR 2021; Fan, Alexeeff 1999; OECD 2003; WHO 2003). Psy narażano jednorazowo, podając z pokarmem dawki 230 ÷ 5800 mg 1,2-dichloropropanu/kg mc. Nie zaobserwowano żadnych padnięć, ale podobnie jak u innych zwierząt odnotowano zmiany w wątrobie (przekrwienie, krwotok, mętny obrzęk, zwyrodnienie tłuszczowe i mięsiste) oraz w nerkach (przekrwienie kory, naciek tłuszczowy, duże przebarwienia).

W 4-tygodniowym doświadczeniu przeprowadzonym na zwierzętach (myszy i chomik), którym podawano 1,2-dichloropropan w dawkach: 0 (kontrola); 125 mg/kg mc. oraz 250 mg/kg mc., zaobserwowano zależny od dawki, istotny wzrost bezwzględnej i względnej masy wątroby (Gi i in. 2015). Badania histopatologiczne wykazały łagodne zmiany tłuszczowe w wątrobie wszystkich narażonych zwierząt, ale nie obserwowano martwicy. Stwierdzono znaczny wzrost stężenia cholesterolu całkowitego, glicerolu i albuminy po podaniu najwyższej dawki (250 mg/kg mc./dobę). W badaniu tym, prowadzonym na chomikach, odnotowano padnięcia (1 zwierzę otrzymujące dawkę 125 mg/kg mc./dobę w 1. tygodniu oraz 3 osobniki otrzymujące dawkę 250 mg/kg mc./dobę w 1., 2. i 3. tygodniu), statystycznie istotne zwiększenie względnej masy wątroby po podaniu najwyższej dawki oraz istotne zwiększenie częstości występowania zmian tłuszczowych w wątrobie w obu narażonych grupach (Gi i in. 2015).

Działanie drażniące i uczulające

Obserwacje z badań podrażnienia skóry i oczu wykazały, że 1,2-dichloropropan jest substancją lekko drażniącą dla skóry i oczu. W tabeli 3 zestawiono wyniki badań narażenia dermalnego u zwierząt. Królikom nanoszono na skórę w postaci okładu 8,3 ÷ 9,2 ml 1,2-dichloropropanu/kg mc., pozostawiając opatrunek na 24 h, po czym zwierzęta obserwowano przez 14 dni (Smyth i in. 1969). W wyniku narażenia doszło do padnięć, jednak

brak jest szczegółowych wyników obserwacji. Autorzy określili jedynie wartość LD_{50} , która wyniosła 8,75 ml/kg (~10100 mg/kg mc.). Szczurom rasy Wistar (6 osobników każdej płci w grupie) podawano 2340 mg/kg mc. 1,2-dichloropropan w postaci nierozcieńczonej, w warunkach okluzyjnych przez 24 h. Nie odnotowano żadnych padnięć w okresie do 14 dni po ekspozycji, dlatego wartość LD_{50} oszacowano na >2340 mg/kg mc. W 24-godzinny testie okluzyjnym Draize'a zaobserwowano istotnie odmienną reakcję między samcami i samicami królików (Shell 1982). Narażenie na dawkę 1,16 g/ml u samców powodowało łagodne podrażnienie skóry, podczas gdy u samic odnotowano ekstremalne podrażnienie skóry (oparzenia chemiczne, martwica powierzchowna). Efekty te były nadal widoczne u obu płci nawet 21 dni po ekspozycji, w tym stwardnienie skóry u samic królików. Przyczyna tej różnicy nie jest znana.

Badanie podrażnienia oczu wykazało wyraźne zaczerwienienie, obrzęk i lekkie zmętnienie 24 h po wkropleniu 0,05 ml 1,2-dichloropropanu do worka spojówkowego jednego królika. Efekty te zostały całkowicie odwrócone po 8 dniach (brak dostępnych wyników pośrednich), co wskazuje, że 1,2-dichloropropan działa drażniąco na oko (OECD 2003). W innym doświadczeniu początkowo obserwowano ból, zaczerwienienie, podrażnienie tęczówki i owrzodzenie rogówki po bezpośrednim wkropleniu do oka królika nierozcieńczonego 1,2-dichloropropanu. Wszystkie efekty były odwracalne w ciągu 14 dni. Ponadto zapalenie spojówek zgłaszano u świnek morskich narażonych na 2200 ppm 1,2-dichloropropanu ($10\ 500\ \text{mg/m}^3$) przez 7 h (ATSDR 2021).

W starszych badaniach przeprowadzonych na kawii domowej wykazano działanie uczulające 1,2-dichloropropanu na skórę (Shell 1982). Jednak wyniki testu lokalnych węzłów chłonnych myszy wskazują na brak właściwości uczulających tej substancji. Badania wykonane zgodnie z wytycznymi OECD 429 (Woolhiser, Anderson 2003) nie wykazały stymulacji proliferacji limfocytów w usznych węzłach chłonnych myszy narażonych na 80% 1,2-dichloropropanu. Uwarunkowania strukturalne 1,2-dichloropropanu nie wskazują na obecność grup reaktywnych, które mogłyby mieć potencjał uczulający. Zatem brak potencjału alergicznego 1,2-dichloropropanu jest zgodny z oczekiwaniami.

Tabela 3. Wyniki badań toksyczności ostrej i krótkoterminowej 1,2-dichloropropanu (DCP) u zwierząt
Table 3. Results of acute and short-term toxicity studies on 1,2-dichloropropane (DCP) in animals

Gatunek, szczep, płć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (mg/m³)/ dawka, mg/kg mc.	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m³)/ NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (mg/m³)/ LOAEL, mg/kg mc.	Inne wartości toksyczne	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne							
Szczur	2000 (9500)	4 h	stężenie odpowiadające w przybliżeniu wartości powodującej padnięcie	–	–	2000 (9500) – padnięcia	Kennedy, Graepel/1991
Szczur Fischer-344, n = 5♂	0; 500; 1500 (0; 2400; 7200)	4 h	znieczulenie; brak efektów hepato- i neurotoksycznych. Powyżej 500 ppm – efekty neurologiczne	500 (2400)	1500 (7200) – neurotoksyczność	–	Nitschke, Johnson 1983
Szczur Fischer-344, n = 3	0; 300; 1000; 3000 (0; 1440; 4800; 14300)	7 dni, 8 h/dobę	stężenie 3000 ppm: niewielkie zmiany hepatotoksyczne (kropelki tłuszczu)	1000 (4800)	3000 (14 300) – hepatotoksyczność	–	Zang i in. 2015
Szczur Fischer-344, n = 6 ÷ 9♀	0; 50; 100; 200 (0; 240; 480; 950)	21 dni, 8 h/dobę	stężenie ≥100 ppm: wydłużony cykl rujowy; stężenie 200 ppm: zmniejszona owulacja	50 (240)	100 (480) – reprotoksyczność	–	Sekiguchi i in. 2002
Mysz B6C3F1, n = 5♂	0; 500; 1500 (0; 2400; 7200)	6 h	padnięcia: 2/5 (500 ppm); 5/5 (1500 ppm); stężenie 500 ppm: martwica krwotoczna, letarg; stężenie 1500 ppm: znieczulenie	–	500 (2400) – hepato- i neurotoksyczność	–	Nitschke, Johnson 1983
Mysz C57BL/6J, ♂	0; 100; 200; 400 (0; 480; 950; 1900)	2 ÷ 3 dni, 6 h/dobę	brak zmian hepatologicznych	400 (1900)	–	–	Toyooka i in. 2017
Mysz B6C3F1, n = 5 ÷ 6♂	0; 300 (0; 1440)	1 ÷ 4 h	brak zmian hepatologicznych, brak wpływu na mc.	300 (1440)	–	–	Wang i in. 2019
Mysz B6C3F1, n = 5 ÷ 6♂	0; 300 (0; 1440)	6 h	wzrost masy wątroby o 9 ÷ 12%; zwiększenie aktywności ALAT i AspAT; przerost wątrobowokomórkowy, martwica i zwyrodnienie ziarniste	–	300 (1440) – wpływ na mc., hepatotoksyczność	–	Wang i in. 2019
Mysz BALB/cA, n = 3	0; 300; 1000; 3000 (0; 1440; 4800; 14 300)	7 dni, 8 h/dobę	stężenie 300 ppm: wakuolizacja hepatocytów; stężenie 1000 ppm: 100% padnięć	300 (1440) – hepatotoksyczność	1000 (4800) – padnięcia	–	Zang i in. 2015
Mysz C57BL/6J, n = 3	0; 300; 1000; 3000 (0; 1440; 4800; 14 300)	7 dni, 8 h/dobę	stężenie 300 ppm: wakuolizacja hepatocytów; stężenie 1000 ppm: 100% padnięć	300 (1440) – hepatotoksyczność	1000 (4800) – padnięcia	–	Zang i in. 2015
Mysz BALB/cA, n = 8	0; 200; 400; 800 (0; 950; 1900; 3800)	14 dni, 6 h/dobę	stężenie 200 ppm: wakuolizacja hepatocytów; stężenie 400 ppm: 100% padnięć	200 (950) – hepatotoksyczność	400 (1900) – padnięcia	–	Zang i in. 2015
Kawia domowa, n = 3	0; 300; 1000; 3000 (0; 1440; 4800; 14 300)	7 dni, 8 h/dobę	stężenie 3000 ppm: 100% padnięć	–	3000 (14300) – padnięcia	–	Zang i in. 2015

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, szczep, płć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (mg/m ³) / dawka, mg/kg mc.	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m ³) / NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (mg/m ³) / LOAEL, mg/kg mc.	Inne wartości toksyczne	Źródło
Chomik (złoty syryjski) n = 3	0; 300; 1000; 3000 (0; 1440; 4800; 14 300)	7 dni, 8 h/dobę	stężenie 1000 ppm: 100% padnięć	–	1000 (4800) – padnięcia	–	Zang i in. 2015
Chomik (złoty syryjski) n = 3	0; 200; 400; 800 (0; 950; 1900; 3800)	14 dni, 6 h/dobę	stężenie 400 ppm: nieznaczne poszerzenie sinusoid wątrobowych; stężenie 800 ppm: 100% padnięć	–	800 (3800) – padnięcia	–	Zang i in. 2015
Szczur Fischer-344, n = 5♂, 5♀	0; 100; 300; 1000 (0; 480; 1440; 4800)	2 ÷ 4 tyg., 5 d/tydz., 6 h/dobę	stężenie 100 ppm: zwyrodnienie błony śluzowej nosa; stężenie 300 i 1000 ppm: zwiększona masa wątroby, przerost wątrobowokomórkowy u ♀; stężenie 1000 ppm: brak zmian histopatologicznych w nadnerzach i jądrach	300 (1440) – hepatotoksyczność	1000 (4800) – hepatotoksyczność	–	Nitschke, Johnson 1983
Mysz B6C3F1, n = 5♂, 5♀	0; 30; 100; 300 (0; 140; 480; 1440)	–	stężenie 300 ppm: zwyrodnienie błony śluzowej nosa; zwiększona masa wątroby, przerost wątrobowokomórkowy, brak zmian histopatologicznych w nadnerzach, zmniejszenie masy grucy, zmniejszenie liczby komórek limfoidalnych, brak zmian histologicznych w jądrach	–	300 (1440) układ oddechowy, hepato- i immunotoksyczność	–	Nitschke, Johnson 1983
Mysz C57Bl/6JLd, n = 6♂	0; 50; 250 (0; 240; 1200)	4 tyg., 7 d/tydz., 8 h/dobę	stężenie 250 ppm: zwiększony ALT i bilirubina, zwiększona masa wątroby, ogniskowa martwica i przerost dróg żółciowych	50 (240) – hepatotoksyczność	250 (1200) – hepatotoksyczność	–	Zhang i in. 2018
Królik New Zealand, n = 5♂	0; 100; 300; 1000 (0; 480; 1440; 4800)	2 ÷ 4 tyg., 5 d/tydz., 6 h/dobę	stężenie 1000 ppm: zwyrodnienie błony śluzowej nosa	–	1000 (4800) – układ oddechowy	–	Nitschke, Johnson 1983
Narażenie drogą pokarmową							
Szczur Sprague-Dawley, n = 6 ÷ 8♂	0; 100; 250; 500; 750; 1000 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	–	dawka 100 mg/kg mc.: nieznaczna depresja OUN; dawka 250 mg/kg mc.: zmniejszony przyrost mc., wyraźna depresja OUN, niedokrwistość hemolityczna; dawka 500 mg/kg mc.: ciężka niedokrwistość, martwica hepatocytów, naciek komórek zapalnych, wczesna proliferacja fibroblastów; dawka 1000 mg/kg mc.: zwiększenie poziomu azotu moczniowego we krwi	100 – wpływ na mc.	250 – neurotoksyczność	–	Bruckner i in. 1989
Szczur Fischer-344, n = 10♂, 10♀	0; 300; 500 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	14 dni	dawka 300 mg/kg mc.: >10% spadek mc. u ♂, zwiększona masa wątroby, zwyrodnienie i nekroza pojedynczych hepatocytów, wydadtne jądra w hepatocytach, przemijające objawy depresji OUN, zmniejszona aktywność ruchowa	–	300 – hepatotoksyczność	–	Gorzinski i Johnson 1989

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, szczerp, płęć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (mg/m ³)/ dawka, mg/kg mc.	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m ³)/ NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (mg/m ³)/ LOAEL, mg/kg mc.	Inne wartości toksyczne	Źródło
Szczur, n = 5♂, 5♀	1000; 1470; 2150; 3160; 4680; 6810; 10 000 (podawanie przez zgłębnik)	jednorazowo	dawka 1000 mg/kg mc.: depresja OUN; dawka ≥1600 mg/kg mc.: padnięcia	–	–	LD ₅₀ = 1600 mg/kg mc.	Exxon 1981a
Szczur Wistar, n = 10 ÷ 12♂	2000 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	jednorazowo	dawka 300 mg/kg mc.: przemijająca hemoliza	2000 – hematologia	–	–	Imbertii in. 1990
Szczur	b.d.	jednorazowo	padnięcia	–	–	LD ₅₀ = 1900 mg/kg mc.	Kennedy, Graepe/1991
Szczur Fischer-344, n = 5♂, 5♀	0; 125; 250; 500; 1000; 2000 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	14 dni	dawka 500: spadek mc.♂ >10%; dawka 1000: spadek mc.♀ >10%; dawka 2000: 100% padnięć	250♂; 500♀ – wpływ na mc.,	–	LD ₁₀₀ = 2000 mg/kg mc.	NTP 1986
Szczur Wistar, n = 6♂, 6♀	145; 230; 366; 582; 926; 1472 (podawanie przez zgłębnik)	jednorazowo	dawka ≥582 mg/kg mc.: 100% padnięć ♂	–	–	LD ₅₀ = 487 mg/kg mc.	Shell Oil Co. 1982
Mysz B6C3F1, n = 5♂	0; 500, (podawanie przez zgłębnik)	jednorazowo	rozlane zmiany tłuszczowe	500 – hepatotoksyczność	–	–	Gii in. 2015
Mysz B6C3F1, n = 5♂	0; 500, (podawanie w oleju przez zgłębnik)	3 dni	rozległa martwica i łagodne zmiany tłuszczowe	500 – hepatotoksyczność	–	–	Gii in. 2015
Mysz ddY, ♂	b.d. (podawanie w oleju przez zgłębnik)	jednorazowo	padnięcia	–	–	LD ₅₀ = 960 mg/kg mc.	Matsumoto i in. 1982
Mysz B6C3F1, n = 5♂, 5♀	0; 125; 250; 500; 1000; 2000 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	14 dni	dawka 500: padnięcia 3/5 ♂; dawka 1000: padnięcia 5/5 ♂ i 4/5 ♀; dawka 2000: 100% padnięć	–	500♂ 1000♀ – padnięcia	–	NTP 1986
Chomik (złoty syryjski) n = 5♂	0; 500 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	jednorazowo	łagodne zmiany w tkance tłuszczowej	–	500 – hepatotoksyczność	–	Gii in. 2015

cd. tab. 3 / Table 3 cont.

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (mg/m ³) / dawka, mg/kg mc.	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m ³) / NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (mg/m ³) / LOAEL, mg/kg mc.	Inne wartości toksyczne	Źródło
Chomik (złoty syryjski) n = 5♂	0: 500 → 250 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	3 dni	dawka 500: 1/5 padnięć w 1. dniu (dawka zmniejszona w 2. dniu), 11% spadek mc.; dawka 333: poważne zmiany tłuszczowe i rozległa martwica	–	–	–	Gii in. 2015
Mysz B6C3F1, n = 5♂	0; 15; 2502 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	4 tyg., 5 dni/tydz.	dawka ≥125: zwiększenie masy wątroby i łagodne zmiany tłuszczowe; dawka 250: zwiększenie stężenia cholesterolu całkowitego i trójglicerydów w surowicy	250 – wpływ na mc., nefrotoksyczność, układ oddechowy	125 – hepatotoksyczność	–	Gii in. 2015
Chomik złoty syryjski, n = 5♂	0; 125; 250 (podawanie w oleju przez zgłębnik)	4 tyg., 5 dni/tydz.	dawka 125: umiarkowane zmiany tłuszczowe; dawka 250: padnięcia 3/5	–	125 – hepatotoksyczność	250 – padnięcia	Gii in. 2015
Narażenie dermalne							
Szczur Wistar, n = 6♂, 6♀	2340	24 h	rumień, brak wpływu na mc.	2340	–	–	Shell Oil Co. 1982
Mysz C57Bl/6J, n = 5	0; 2,73; 5,75; 8,75 ml/kg	7 dni, raz na dobę	zapalenie skóry i angiogeneza skóry	2,73 ml/kg	–	–	Jini in. 2019
Królik, n = 2♂, 2♀	0; 3160	b.d.	rumień i obrzęk, brak wpływu na mc.	3160	–	–	Exxon 1981b
Królik New Zealand, n = 3♂, 3♀	1,16 ml/ml	24 h	podrażnienie skóry, oparzenia chemiczne ♀	–	1160 mg/ml	–	Shell Oil Co. 1982
Królik, n = 4♂	8,3 ÷ 9,2 ml/kg	24 h	padnięcia	–	–	LD ₅₀ = 8,75 ml/kg mc.	Smyth i in. 1969
Kawia domowa, n = 5 ÷ 10♂, 5 ÷ 10♀	0,58 g/ml (indukcja), 0,29 g/ml (provokacja)	b.d.	działanie uczulające na skórę	–	580 mg/ml	–	Shell Oil Co. 1982

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

mc. – masa ciała.

b.d. – brak danych.

NOAEC (ang. *no observed adverse effect concentration*) – najwyższe stężenie, przy którym nie obserwowano szkodliwego działania.

NOAEL (ang. *no observed adverse effect level*) – najwyższy poziom dawki, przy którym nie obserwowano szkodliwego działania.

LOAEC (ang. *lowest observed adverse effect concentration*) – najniższe stężenie wywołujące obserwowane szkodliwe działanie.

LOAEL (ang. *lowest observed adverse effect level*) – najniższy poziom dawki wywołujący obserwowane szkodliwe działanie

OUN – ośrodkowy układ nerwowy.

LD₅₀ – mediana dawki śmiertelnej.

AIAT – aminotransferaza alaninowa.

AspAT – aminotransferaza asparaginianowa.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Toksyczność 1,2-dichloropropanu po wielokrotnym narażeniu inhalacyjnym oraz drogą pokarmową oceniano w licznych modelach zwierzęcych (tab. 4 i 5). W większości badań obserwowano działanie hepatotoksyczne 1,2-dichloropropanu, obejmujące zwiększenie masy wątroby, przerost hepatocytów, zmiany tłuszczowe w wątrobie, ogniskową martwicę oraz przerost dróg żółciowych, co było zgodne z wynikami uzyskanymi w badaniach toksyczności ostrej. Odnotowano również zmiany w obrębie układu oddechowego, obejmujące przerost nabłonka oddechowego, zwyrodnienie lub zanik błony śluzowej nosa oraz zapalenie nabłonka oddechowego w jamie nosowej i krtani. W niektórych badaniach wykazano ponadto zmiany w śledzionie, takie jak zwiększona hematopoeza pozaszpikowa, obecność megakariocytów, odkładanie hemosyderyny oraz atrofia narządu. Obserwowano również zmiany w nadnerczach (zmiany tłuszczowe), w szpiku kostnym (zwiększona erytropoeza) oraz objawy depresji ośrodkowego układu nerwowego.

Najniższą wartość LOAEC, wynoszącą 15 ppm ($70,5 \text{ mg/m}^3$), dla działania toksycznego na układ oddechowy ustalono na podstawie badań przeprowadzonych na szczurach szczepu F344, u których stwierdzono hiperplazję w przedniej jamie nosowej (tab. 4), (Nitsche i in. 1988). W innych badaniach wykazano również zmiany hematologiczne i biochemiczne.

Narażenie inhalacyjne

W przeprowadzonych badaniach zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP) szczury, myszy i króliki były narażane przez 13 tygodni na 1,2-dichloropropan w stężeniach: u szczurów i myszy 15 ppm; 50 ppm i 150 ppm ($70,5 \text{ mg/m}^3$; 240 mg/m^3 ; 715 mg/m^3), a u królików 150 ppm; 500 ppm oraz 1000 ppm (715 mg/m^3 ; 2400 mg/m^3 ; 4800 mg/m^3), (Nitschke i in. 1988). U szczurów obserwowano zmiany w nabłonku nosa i dróg oddechowych już przy stężeniu 15 ppm, które uznano za wartość LOAEC, natomiast od stężenia 50 ppm stwierdzono nieznaczne zmniejszenie masy ciała. Badanie to zostało uznane za kluczowe do wyznaczania wartości NDS 1,2-dichloropropanu. U myszy nie obserwowano działań toksycznych. U królików po narażeniu na najwyższe stężenie (1000 ppm) stwierdzono niewielkie zwyrodnienie nabłonka nosa oraz zmiany parametrów czerwonych krwinek wskazujące na

makrocytarną, normochromiczną niedokrwistość regeneracyjną (obserwowaną odpowiednio u samców i samic od 150 ppm lub 500 ppm).

W eksperymencie trwającym 13 tygodni (5 dni w tygodniu, 6 h dziennie) szczury F344/DuCrj (SPF), (10 osobników każdej płci w grupie) narażano na 1,2-dichloropropan w stężeniach: 0 (kontrola); 125 ppm; 250 ppm; 500 ppm; 1000 ppm lub 2000 ppm (600 mg/m^3 ; 1200 mg/m^3 ; 2400 mg/m^3 ; 4800 mg/m^3 ; 9600 mg/m^3), (Umeda i in. 2010). Jedna samica z grupy narażonej na najwyższe stężenie padła w 12. tygodniu ekspozycji. Istotne statystycznie zmniejszenie masy ciała stwierdzono u wszystkich narażonych samców ($5 \div 27\%$), natomiast u samic ($5 \div 18\%$) efekt ten obserwowano od stężenia 500 ppm. Istotne statystycznie zmiany parametrów krwi występowały wyłącznie przy wyższych stężeniach ($\geq 500 \text{ ppm}$) i zazwyczaj pojawiały się wcześniej u samców niż u samic. Autorzy uznali, że wyniki te wskazują na niedokrwistość hemolityczną, na co wskazywał zwłaszcza wzrost stężenia bilirubiny całkowitej oraz aktywności γ -glutamylotransferazy (GGT) w surowicy – u samców przy stężeniu 2000 ppm oraz u samic od 1000 ppm, odpowiednio o 25% i 56% w porównaniu z grupą kontrolną. Zmiany histopatologiczne obserwowano w jamie nosowej, śledzionie, szpiku kostnym, wątrobie i nadnerczach.

W doświadczeniu trwającym 13 tygodni myszy B6D2F1/Crlj (SPF), (10 osobników każdej płci w grupie) narażano na 1,2-dichloropropan w stężeniach: 0 (kontrola); 50 ppm; 100 ppm; 200 ppm; 300 ppm lub 400 ppm (240 mg/m^3 ; 480 mg/m^3 ; 960 mg/m^3 ; 1400 mg/m^3 ; 1900 mg/m^3), (Matsumoto i in. 2013). Śmiertelność obserwowano u samców (2/10 i 6/10 po narażeniu odpowiednio na stężenia 300 ppm i 400 ppm) oraz u samic (1/10 po narażeniu na stężenie 400 ppm). Istotne statystycznie zmniejszenie masy ciała ($9\% \div 18\%$) stwierdzono wyłącznie u samców narażonych na stężenie 200 ppm i wyższe. U wszystkich zwierząt zaobserwowano istotne zwiększenie masy wątroby (bezwzględnej i względnej; $14\% \div 66\%$) od stężenia 300 ppm, natomiast względna masa śledziony była istotnie zwiększona dopiero po narażeniu na stężenie 400 ppm ($21\% \div 38\%$). Przerost żołądka obserwowano u zwierząt obu płci od stężenia 200 ppm. Zmiany histopatologiczne stwierdzono również w jamie nosowej (metaplasja, atrofia i martwica nabłonka węchowego)

oraz w wątrobie (stłuszczenie i nekroza ośrodkowa od stężenia 300 ppm u samców, a także zmiany wakuoliczne i mineralizacja u zwierząt obu płci po narażeniu na najwyższe stężenie). Ponadto obserwowano zmiany w szpiku kostnym i śledzionie od stężenia 300 ppm, występujące u zwierząt obu płci lub wyłącznie u samców. Zmiany parametrów hematologicznych i biochemicznych występowały u zwierząt obu płci, jednak u samców występowały wcześniej, już po narażeniu na najniższe stężenie.

Kolejne badania oceniające toksyczność przewlekłą przedstawiono w tabeli 5. Dwuletnie doświadczenie przeprowadzone na szczurach F344/DuCrj (SPF) wykazało jedynie niewielkie, zależne od poziomu narażenia zmniejszenie masy ciała u samców, natomiast u samic otrzymujących duże stężenie (500 ppm) obserwowano skłonność do rozwoju niedokrwistości (Umeda i in. 2010). Zwierzęta (50 osobników każdej płci w grupie) były narażane na 1,2-dichloropropan (5 dni w tygodniu, 6 h dziennie) w następujących stężeniach: 0 (kontrola); 80 ppm; 200 ppm lub 500 ppm (380 mg/m³; 950 mg/m³; 2400 mg/m³).

W badaniu rakotwórczości, wykonanym zgodnie z metodyką OECD TG 451, myszom B6D2F1 (50 osobników każdej płci w grupie) podawano 1,2-dichloropropan w stężeniach: 0 (kontrola); 32 ppm; 80 ppm lub 200 ppm (150 mg/m³; 380 mg/m³; 950 mg/m³) przez 2 lata (5 dni w tygodniu, 6 h dziennie), (Matsumoto i in. 2013). W ramach oceny parametrów działania nierakotwórczego stwierdzono zwiększenie masy śledziony i nerek u zwierząt narażonych na najwyższe stężenie (200 ppm). Stężenie hemoglobiny było obniżone u samców po narażeniu na średnie stężenie (80 ppm) oraz u samic po narażeniu na najwyższe stężenie (200 ppm), natomiast średnia objętość krwinek była zwiększona wyłącznie u samic po narażeniu na 200 ppm. Nie stwierdzono wpływu narażenia na pozostałe parametry hematologiczne ani biochemiczne. W badaniu tym stężenie 200 ppm uznano za poziom wywołujący działanie rakotwórcze (CEL, ang. *cancer effect level*). Dalszy opis działania zostanie przedstawiony w rozdziale „Działanie rakotwórcze u zwierząt”.

Narażenie drogą pokarmową

Szczegółowe dane dotyczące przeprowadzonych eksperymentów przedstawiono w tabelach 4 i 5. Samce szczurów Sprague-Dawley (15 osobników

w grupie) otrzymywały 1,2-dichloropropan w oleju kukurydzianym, podawany przez zgłębnik, w dawkach: 0 (kontrola); 100 mg/kg mc./dobę; 250 mg/kg mc./dobę; 500 mg/kg mc./dobę lub 750 mg/kg mc./dobę przez 13 tygodni (5 dni w tygodniu, 6 h dziennie), (Bruckner i in. 1989). Ponad połowa zwierząt, którym podano najwyższą dawkę, padła w ciągu 10 dni, natomiast po podaniu dawki 500 mg/kg mc./dobę padnięcia obserwowano w trakcie 13-tygodniowego okresu narażenia. W grupach otrzymujących dawki 100 mg/kg masy ciała/dobę lub 250 mg/kg masy ciała/dobę nie odnotowano padnięć zwierząt. Autorzy stwierdzili istotne, zależne od dawki zmniejszenie przyrostu masy ciała we wszystkich grupach narażonych. Po podaniu dwóch najwyższych dawek u zwierząt obserwowano wyraźną depresję ośrodkowego układu nerwowego. Badania histopatologiczne przeprowadzone u zwierząt najbardziej narażonych wykazały zmiany w wątrobie (łagodne zapalenie wątroby), śledzionie (hemosyderyza), nadnerczach (wakuolizacja rdzenia i lipidoza korowa), a także w jądrach i najądrzach. Zwiększenie masy śledziony i wątroby obserwowano również po podaniu dawki 250 mg/kg mc./dobę, natomiast zmian tych nie stwierdzono po zastosowaniu najniższej dawki (100 mg/kg mc./dobę). Nawet po zastosowaniu najniższej dawki nadal obserwowano hemosyderyzę oraz przerost śledziony. Objawy niedokrwistości hemolitycznej (obejmujące zwiększenie stężenia bilirubiny, zmniejszenie wartości hematokrytu i stężenia hemoglobiny, hemosyderyzę oraz przerost elementów erytropoetycznych śledziony, a także hemosyderyzę kanalików nerkowych i wątrobowy z udziałem komórek Kupffera) stwierdzono u wszystkich zwierząt, z różnym nasileniem. Zmiany morfologiczne w śledzionie wykazywały zależność od dawki i miały nasilenie od łagodnego do umiarkowanie ciężkiego. Zmiany obserwowane po podaniu dawek 100 mg/kg mc./dobę i 250 mg/kg mc./dobę w dużej mierze ustąpiły w ciągu tygodniowego okresu rekonwalescencji po zakończeniu 13-tygodniowej ekspozycji.

Szczurom Fischer 344/N (10 osobników każdej płci na dawkę) podawano doustnie przez zgłębnik 1,2-dichloropropan w oleju kukurydzianym w dawkach: 0 (kontrola); 60 mg/kg mc./dobę; 125 mg/kg mc./dobę; 250 mg/kg mc./dobę; 500 mg/kg mc./dobę lub 1000 mg/kg mc./dobę przez 13 tygodni (5 dni w tygodniu), (NTP 1986).

Tabela 4. Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej 1,2-dichloropropanu (DCP) u zwierząt
Table 4. Results of subchronic toxicity studies on 1,2-dichloropropane (DCP) in animals

Gatunek, szczep, płęć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (mg/m ³)/dawka, mg/kg mc./dzień	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m ³) / NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (mg/m ³) / LOAEL, mg/kg mc.	Inne wartości toksykologiczne	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne							
Szczur Fischer-344, n = 10 ♂, 10 ♀	0; 15; 50; 150 (0; 70.5; 240; 705)	13 tyg., 5 dni/tydz., 6 h/dobę	stężenie 50 ppm ♂/150 ppm ♀: 10% spadek mc.; stężenie 15 ppm: przerost nabłonka nosa i dróg oddechowych; stężenie ≥15 ppm: zwyrodnienie błony śluzowej nosa; stężenie ≥50 ppm: zapalenie błony podśluzówkowej u ♂ przy 150 ppm; BMCL ₁₀ = 2,38 ppm; brak innych zmian	–	15 ppm (70.5) – układ oddechowy 150 (705) – wpływ na mc. ♂	–	Nitschke i in. 1988
Szczur F344/DuCrj, n = 10 ♂, 10 ♀	0; 125; 250; 500; 1000; 2000 (0; 600; 1200; 2400; 4800; 9500)	13 tyg., 5 dni/tydz., 6 h/dobę	stężenie 500 ppm: niedokrwistość hemolityczna, hemosydera w śledzionie, zwiększona hematopoeza w śledzionie i szpiku kostnym; stężenie 1000 ppm: 10% spadek mc.; stężenie ≥125 ppm: przerost nabłonka oddechowego, zanik nabłonka węchowego, zapalenie nabłonka oddechowego przy ≥1,000 ppm; stężenie 2000 ppm: obrzęk hepatocytów, zwiększona masa wątroby u ♀; stężenie 2000 ppm ♀: zmiany tłuszczowe w nadnerzach	–	500 (2400) – hematotoksyczność	–	Umeda i in. 2010
Mysz (B6D2F1/Crlj), n = 10 ♂, 10 ♀	0; 50; 100; 200; 300; 400 (0; 240; 480; 1440; 1900)	13 tyg., 5 dni/tydz., 6 h/dobę	padnięcia: 2/10 przy 300 ppm oraz 6/10 przy 400 ppm; stężenie 300 ppm: >10% spadek mc. u ♂, metaplasja oddechowa, atrofia, martwica i złuszczenie jamy nosowej, niedokrwistość hemolityczna, zwiększona hematopoeza pozaszpikowa i złośli hemosyderyny w śledzionie oraz przekrwienie szpiku kostnego, zwiększona masa wątroby i obrzęk hepatocytów przy ≥300 ppm; stężenie 400 ppm: przerost żóładka przedniego, zmiany tłuszczowe i wakuolowe oraz nekroza	200 (950)	300 (1440) – padnięcia	–	Matsumoto i in. 2013
Mysz (B6C3F1) n = 10 ♂, 10 ♀	0; 15; 50; 150 (0; 70.5; 240; 705)	13 tyg., 5 dni/tyg., 6 h/dobę	nie obserwowano zmian	150 (705)	–	–	Nitschke i in. 1988
Królik (New Zealand), n = 5 ♂	0; 150; 500; 1000 (0; 705; 2400; 4800)	13 tyg., 5 dni/tydz., 6 h/dobę	stężenie ≥150 ppm: niedokrwistość; stężenie ≥500 ppm: przerost komórek szpiku kostnego; stężenie 1000 ppm: zwyrodnienie nabłonka węchowego jamy nosowej	–	150 (705) – hematotoksyczność	–	Nitschke i in. 1988

cd. tab. 4 / Table 4 cont.

Gatunek, szczepek, płeć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (mg/m ³) / dawka, mg/kg mc./dzień	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m ³) / NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (mg/m ³) / LOAEL, mg/kg mc.	Inne wartości toksykologiczne	Źródło
Narażenie drogą pokarmową							
Szczur Sprague-Dawley, n = 15♂	0; 100; 250; 500; 750, w oleju przez zgłębnik	13 tyg., 5 d./tydz.	dawka 100: niedokrwistość hemolityczna, w tym podwyższony poziom bilirubiny w surowicy oraz hemosideroza i przerost elementów erytropoetycznych szpikowania dawka 250: niedokrwistość i zwiększenie względnej masy wątroby dawka 500: 50% padnięć, ok. 10% spadek mc., wakuolizacja okolowrotna, zwiększona względna masa nerek, wyraźna depresja OUN (brak wpływu na OUN przy niższych dawkach), zwyrodnienie jąder, zmniejszona produkcja plemników dawka 750: stłuszczenie kory nadnerczy, wakuolizacja rdzenia nadnerczy, lipidoza kory nadnerczy	100 – wpływ na mc., hepatotoksyczność		LOAEL _{AD} = 71 mg/kg mc./dobę; LD ₅₀ = 500 (padnięcia) śmiertelność	Bruckner i in. 1989
Szczur Fischer-344, n = 15♂, 15♀	0; 20; 65; 200, w oleju przez zgłębnik	13 tyg., 5 d./tydz.	dawka 200: 10% spadek mc. u ♂; brak zmian w FOB, siłę i aktywności motorycznej, wielkości mózgu lub histologii tkanki nerwowej	250 – reprotoksyczność	200♂ wpływ na mc.		Johanson, Gorzinski 1988
Szczur Fischer-344, n = 10♂, 10♀	0; 60; 125; 250; 500; 1000, w oleju przez zgłębnik	13 tyg., 5 d./tydz.	dawka 500: 50% padnięć ♂, >10% spadek mc. ♂ dawka 1000: 100% padnięć ♂ i ♀, przekrwienie i martwica hepatocytów, zmiany tłuszczowe w wątrobie	250♂ 500♀ wpływ na mc.	500♂ 1000♀ padnięcia		NTP 1986
Mysz B6C3F1, n = 10♂, 10♀	0; 30; 60; 125; 250; 500, w oleju przez zgłębnik	13 tyg., 5 d./tydz.	dawka 500: nie obserwowano zmian	500			NTP 1986
Chomik (złoty syryjski), n = 24♂	0; 62,5; 125, w oleju przez zgłębnik, po 4-krotnym podskórnym podaniu w 1. tyg. 10 mg/kg mc. BOP	15 ÷ 17 tyg., 5 d./tydz.	dawka 62,5: 1 padnięcie dawka 125: zmniejszenie względnej i bezwzględnej mc. pod koniec eksperymentu. Nie stwierdzono wpływu DCP na promocję guzów wątroby, trzustki, nerek ani płucach po indukcji działania kancerogennego przez BOP	125 – hepatotoksyczność			Gii in. 2015

Objaśnienia:

♂ – samce, ♀ – samice, mc. – masa ciała.

NOAEC (ang. *no observed adverse effect concentration*) – najwyższe stężenie, przy którym nie obserwowano szkodliwego działania.

NOAEL (ang. *no observed adverse effect level*) – najwyższy poziom dawki, przy którym nie obserwowano szkodliwego działania.

LOAEC (ang. *lowest observed adverse effect concentration*) – najniższe stężenie wywołujące obserwowane szkodliwe działanie.

LOAEL_{AD} – najniższy obserwowany poziom działania szkodliwego skorygowany na ciągłą ekspozycję.

BMCL₉₅ – dolna granica 95% przedziału ufności dawki wyznaczającej przy założeniu odchylenia standardowego (1 SD) od punktu końcowego

BMDL₉₅ – dolna granica 95% przedziału ufności dawki wyznaczającej (indeks dolny 1 SD oznacza uwzględnienie w obliczeniach 1 odchylenia standardowe od punktu końcowego).

ALT – aminotransferaza alaninowa. OUN – ośrodkowy układ nerwowy. FOB – bateria obserwacji funkcjonalnych. BOP – N-nitrozo-bis(2-oksopropylo)amina.

Tabela 5. Wyniki badań toksyczności przewlekłej 1,2-dichloropropanu (DCP) u zwierząt
Table 5. Results of chronic toxicity studies on 1,2-dichloropropane (DCP) in animals

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Badane stężenie, ppm (-mg/m ³) / dawka, mg/kg mc./dzień	Czas trwania narażenia	Skutki narażenia	NOAEC, ppm (mg/m ³) / NOAEL, mg/kg mc.	LOAEC, ppm (-mg/m ³) / LOAEL, mg/kg mc.	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne						
Szczur F344/DuCrj, n = 50♂, 50♀	0; 80; 200; 500 (0; 380;950; 2400)	104 tyg., 5 d/tydz., 6 h/d	stężenie 500 ppm: 8 ÷ 11% spadek mc.; stężenie ≥80 ppm: zanik nabłonka węchowego, zapalenie i metaplasja płaskonabłonkowa nabłonka oddechowego oraz przerost nabłonka przejściowego, przerost płaskonabłonkowy i przerost gruczołów podśluzówkowych przy ≥200 ppm; stężenie 500 ppm: łagodna niedokrwistość u ♀ oraz brodawczaki nosowe	200 (950) – wpływ na mc.	500 (2400) – rakotwórczość	Umeda i in. 2010
Mysz B6D2F1/Crlj, n = 50♂, 50♀	0; 32; 80; 200 (0; 150; 380;950)	104 tyg., 5 d/tydz., 6 h/d	stężenie ≥80 ppm: zanik nabłonka węchowego, metaplasja nabłonka węchowego i gruczołów podśluzówkowych przy 200 ppm; stężenie 32 ppm ♂: zwiększona masa nerek, zmiany zasadochłonne i mineralizacja kory mózgowej; stężenie 200 ppm: poziom efektu raka - gruczołak lub rak oskrzelików i pęcherzyków płucnych u ♂ i ♀, gruczołaki gruczołu twardego i naczyniak krwionośny / naczyniakomięsak krwionośny śledziony u ♂	32 (150) – układ oddechowy	200 (950) – rakotwórczość	Matsumoto i in. 2013 badanie kluczowe
Narażenie drogą pokarmową						
Szczur Fischer-344, n = 50♂, 50♀	♂: 0; 62; 125 ♀: 0; 125; 250, w oleju przez zgłębnik	103 tyg., 5 d/tydz.	dawka 125: >10% spadek mc. u ♂; dawka 250: u ♀ nowotwory sutka (przerost gruczołu sutkowego), brak nowotworów u ♂; dawka 250: u ♀ zmniejszenie wskaźnika przeżycia o 42%; hemosideroza śledziony, nie oceniano parametrów hematologicznych krwi, jasne ogniska komórkowe, martwica komórek wątroby	125 – wpływ na mc., hepatotoksyczność	250 – rakotwórczość	NTP 1986
Mysz B6C3F1, n = 50♂, 50♀	0; 125; 250, w oleju przez zgłębnik	103 tyg., 5 d/tydz.	dawka 125: nowotwory wątroby przy dawkach ≥125 i 250 odpowiednio u ♀ i ♂; dawka 250: u ♂ hepatocytoomegalia i martwica; u ♀ guzy pęcherzykowe tarczycy		125 – rakotwórczość	NTP 1986

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

mc. – masa ciała.

NOAEC/L (ang. no observed adverse effect concentration / level) – najwyższe stężenie, przy którym nie obserwowano szkodliwego działania.

NOAEL (ang. no observed adverse effect level) – najwyższy poziom dawki, przy którym nie obserwowano szkodliwego działania.

LOAEC/L (ang. lowest observed adverse effect concentration / level) – najniższe stężenie wywołujące obserwowane szkodliwe działanie.

LOAEL (ang. lowest observed adverse effect level) – najniższy poziom dawki wywołujący obserwowane szkodliwe działanie.

Śmiertelność obserwowano po podaniu dawek 500 mg/kg mc./dobę i 1000 mg/kg mc./dobę i wynosiła odpowiednio 5/10 u samców i 10/10 u obu płci. Po narażeniu na najwyższą dawkę obserwowano zmniejszenie masy ciała u samców oraz zmiany w wątrobie. U obu płci obserwowano przekrwienie, natomiast martwicę i zmiany tłuszczowe stwierdzono wyłącznie u samic.

Jedynym zgłoszonym efektem badania przeprowadzonego na myszach B6C3F1 (10 osobników każdej płci na dawkę), trwającego 13 tygodni (5 dni w tygodniu), było nieznaczne obniżenie masy ciała przy zastosowaniu najwyższej dawki (NTP 1986). Zwierzętom podawano doustnie przez zgłębnik 1,2-dichloropropan w oleju kukurydzianym w dawkach: 0 (kontrola); 30 mg/kg mc./dobę; 60 mg/kg mc./dobę; 125 mg/kg mc./dobę; 250 mg/kg mc./dobę lub 500 mg/kg mc./dobę.

W badaniu neurotoksyczności szczury F344 otrzymywały przez zgłębnik 1,2-dichloropropan w dawkach: 0 (kontrola); 20 mg/kg m.c./dobę; 65 mg/kg m.c./dobę lub 200 mg/kg m.c./dobę przez 13 tygodni (5 dni w tygodniu), (Johnson, Gorzinski 1988). Nie stwierdzono zmian w wynikach comiesięcznych testów neurologicznych, obejmujących baterię obserwacji funkcjonalnej (FOB), pomiar siły chwytu kończyn tylnych oraz ocenę aktywności ruchowej. Po 13 tygodniach ekspozycji przeprowadzono dokładne badania histopatologiczne układu nerwowego, wątroby, nerek i śledziony u 4 szczurów z każdej grupy. Pozostałe 11 szczurów w grupie obserwowano przez kolejne 9 tygodni, po czym 5 szczurów z grupy poddano podobnym analizom. U samców szczurów zaobserwowano zmniejszenie masy ciała przy najwyższej dawce, nadal widoczne pod koniec okresu rekonwalescencji.

W 103-tygodniowym badaniu na szczurach F344/N (50 osobników każdej płci w każdej grupie dawki), którym podawano 1,2-dichloropropan (o czystości >99%) w oleju kukurydzianym przez zgłębnik, w dawkach: 0 (kontrola); 62 mg/kg mc./dobę; 125 mg/kg mc./dobę lub 250 mg/kg mc./dobę (wyłącznie samicom), 5 dni w tygodniu, odnotowano zmniejszenie masy ciała zwierząt po podaniu najwyższej dawki oraz 100% przeżywalność samic otrzymujących tę dawkę (tab. 5), (NTP 1986).

W 103-tygodniowym badaniu na myszach B6C3F1 (50 osobników każdej płci na dawkę) podawano 1,2-dichloropropan (o czystości >99%) w oleju kukurydzianym przez zgłębnik w dawkach:

0 (kontrola); 125 mg/kg mc./dobę lub 250 mg/kg mc./dobę, 5 dni w tygodniu (NTP 1986). Zwiększoną śmiertelność obserwowano u samic otrzymujących najwyższą dawkę, jednak prawdopodobnie była ona związana z zakażeniami, które stwierdzono u 60% padłych w trakcie badania. Nienowotworowe zmiany w wątrobie występowały ze zwiększoną częstością u samców przy obu poziomach dawek i obejmowały powiększenie wątroby oraz ogniskową martwicę komórek wątroby.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Badania u ludzi

Przedstawiono szereg badań dotyczących punktów końcowych genotoksyczności, przeprowadzonych na próbkach klinicznych pobranych od pracowników drukarni w Japonii, zawodowo narażonych na 1,2-dichloropropan (DCP) oraz inne rozpuszczalniki chloroorganiczne, m.in. dichlorometan, u których rozpoznano raka dróg żółciowych (CCA). W próbkach tkanek pobranych z guzów dróg żółciowych tych pracowników stwierdzono istotnie zwiększoną częstość występowania mutacji somatycznych w porównaniu z próbkami tkanek pochodzącymi z guzów dróg żółciowych pacjentów z grupy kontrolnej, którzy nie byli narażeni na 1,2-dichloropropan. Zaobserwowano również specyficzny wzorzec mutacji raka dróg żółciowych związany z narażeniem na 1,2-dichloropropan u pracowników zawodowo narażonych na ten związek (Mimaki i in. 2016; 2020). Unikalna sygnatura mutacyjna obejmowała preferencyjne występowanie zmian w obrębie mutacji trinukleotydowych GpCpY na GpTpY (Y – zasada pirymidynowa), które do tej pory zidentyfikowano jedynie w 13 spośród ponad 23 000 zsekwencjonowanych ludzkich nowotworów, w tym 5 gruczolakorakach dróg żółciowych.

Charakterystyczny profil mutacji, wspólny dla wszystkich badanych przypadków zawodowych, wskazuje na narażenie na wspólny, silnie działający mutagen, a tym samym na udział 1,2-dichloropropanu w procesie mutogenezy w genach potencjalnie zaangażowanych w kancerogenezę raka dróg żółciowych. Profil mutageny zaobserwowany

w ludzkich próbkach klinicznych został jedynie częściowo potwierdzony w badaniach *in vitro* wykorzystaniem szczepu *Salmonella Typhimurium* TA100, natomiast nie został potwierdzony w badaniach na zwierzętach. Mutacje powodujące zmianę aminokwasów w genach typu „mut driver” (tj. genach zawierających mutacje sterujące, które zwiększają przewagę selektywną wzrostu komórek nowotworowych) wykryto zarówno w komórkach przedrakowych, jak i w komórkach inwazyjnych. Spośród tych genów ARID1A, ARID2, MLL2 i SETBP1 były zmutowane z większą częstością w zmianach inwazyjnych niż w zmianach przedrakowych (Mimaki i in. 2020). Badania wykazały również, że ekspresja γ -H2AX była istotnie zwiększona w ogniskach nienowotworowych komórek nabłonka dużych przewodów żółciowych, zmianach BilIN (ang. *biliary intraepithelial neoplasia* – śródnabłonkowa neoplazja nabłonka dróg żółciowych), IPNB (ang. *intraductal papillary neoplasm of the bile duct* – wewnątrzprzewodowy nowotwór brodawkowaty dróg żółciowych) oraz w raku inwazyjnym u pracowników drukarni w porównaniu z grupami kontrolnymi obejmującymi pacjentów z CCA współistniejącym z kamicą wątrobową, BilIN oraz konwencjonalnym IPNB. W badaniach Sato i in. (2014) oraz Mimaki i in. (2020) mutacje w genach KRAS i GNAS stwierdzono wyłącznie w przypadkach związanych z narażeniem zawodowym, co sugeruje, że 1,2-dichloropropan może indukować mutacje somatyczne w tych genach.

Badania na zwierzętach (in vivo)

Dostępne dane z badań na zwierzętach wskazują na brak wyraźnego działania mutagennego 1,2-dichloropropanu *in vivo* u narażonych gryzoni. Związek nie powodował istotnego zwiększenia, w porównaniu z grupą kontrolną, częstości mutacji genu *Pig-a* w erytrocytach myszy B6C3F₁ wielokrotnie narażanych inhalacyjnie na stężenie 600 ppm (~3000 mg/m³) przez 6 tygodni (Suzuki i in. 2014). Częstości mutacji genu *gpt* w wątrobie myszy transgenicznych C57BL/6J narażonych na pojedyncze stężenie 1,2-dichloropropanu wynoszące 300 ppm (~1500 mg/m³) była o 32% wyższa niż w grupie kontrolnej, jednak wzrost ten nie był istotny statystycznie. Natomiast w grupie jednocześnie narażonej na 1,2-dichloropropan i dichlorometan (stężenie 800 ppm, ~2800 mg/m³) odnotowano istotny, 2,6-krotny wzrost częstości mutacji w porównaniu z kontrolą (Suzuki i in. 2014).

W kolejnych badaniach mutacji transgenicznych u szczurów nie wykazano wpływu 1,2-dichloropropanu podawanego doustnie (*per os*) na częstość mutacji genu *gpt* ani na występowanie fenotypu *Sp1*⁻ w wątrobie (Hirata i in. 2017). Wcześniejsze badania oceniające dominujące mutacje letalne u szczurów otrzymujących wodę z dodatkiem 1,2-dichloropropanu w dawkach do 162 mg/kg mc./dobę przez 14 tygodni również dały wyniki negatywne (ATSDR 2021). W badaniu recesywnych mutacji letalnych sprzężonych z płcią u *Drosophila melanogaster* narażonych na 1,2-dichloropropan poprzez wstrzyknięcie lub wdychanie przez 2 tygodnie uzyskano wyniki negatywne. Natomiast w teście mutacji somatycznych i rekombinacji (SMART) u *Drosophila melanogaster*, po 48-godzinnym narażeniu inhalacyjnym na stężenia odpowiadające poziomom śmiertelnym (LC₅₀) uzyskano wyniki istotnie dodatnie (ATSDR 2021; Chroust i in. 2007).

W doświadczeniach przeprowadzonych przez NTP, oceniających wymianę chromatyd siostrzanych oraz aberracje chromosomowe w szpiku kostnym myszy otrzymujących pojedyncze wstrzyknięcie dootrzewnowe 1,2-dichloropropanu w dawkach do 450 mg/kg mc., uzyskano wyniki ujemne (ECHA 2023). W retikulocytach lub erytrocytach myszy B6C3F₁ po narażeniu wziewnym na 1,2-dichloropropan nie wykazano aktywności klastogennej/aneugenicznej. Jednakże w wątrobie myszy narażonych na stężenia ≥ 100 ppm 1,2-dichloropropanu (480 mg/m³) stale obserwowano uszkodzenia DNA w postaci pęknięć nici DNA (w tym pęknięć dwuniciowych) oraz indukcję fosforylacji γ H2AX (Suzuki i in. 2014; Toyooka i in. 2017). Obserwowane uszkodzenia prawdopodobnie wynikały z bezpośredniej interakcji z DNA, ponieważ nie odnotowano istotnego zwiększenia poziomu adduktów 8-okso-2'-deoksyguanozyny (8-oxo-dG) w wątrobach myszy i chomików narażonych na 1,2-dichloropropan w dawce 250 mg/kg mc., podawanej przez zgłębnik przez okres do 4 tygodni (Gi i in. 2015).

Badania na zwierzętach (in vitro)

Wyniki wczesnych doświadczeń mutagenności przeprowadzonych na szczepach *Salmonella Typhimurium* TA100 i TA1535, zarówno w obecności, jak i przy braku aktywacji metabolicznej, były pozytywne, jednak efekt obserwowano dopiero

po zastosowaniu wysokich dawkach (De Lorenzo i in. 1977; Principe i in. 1981). W późniejszych badaniach z wykorzystaniem tych samych szczepów uzyskano jedynie słabo dodatnie wyniki w warunkach braku aktywacji metabolicznej (NTP 1986). We wszystkich wymienionych badaniach konsekwentnie uzyskiwano wyniki ujemne dla szczepów TA1537 i TA98, niezależnie od dodatku frakcji S9.

Mutagenność zależną od dawki, niezależną od GSTT1, odnotowano dla *Salmonella* Typhimurium szczepu TA100 oraz ludzkiego szczepu TA100 przy stężeniach w zakresie 600 ÷ 3000 ppm (bez aktywacji metabolicznej, z zastosowaniem systemu zamkniętej płytki), (Akiba i in. 2017; Mimaki i in. 2016). 1,2-Dichloropropan nie indukował procesów naprawy DNA w bakteryjnych systemach testowych (von der Hude i in. 1987; Yasunaga i in. 2004).

W organizmach eukariotycznych (innych niż ssaki) 1,2-dichloropropan wykazywał działanie mutagenne w komórkach *Aspergillus nidulans*, powodując 4-krotny wzrost liczby mutantów opornych na 8-azaguaninę w porównaniu z kontrolą rozpuszczalnikową przy najwyższym zastosowanym stężeniu (400 µl/płytke), (Principe i in. 1981). Natomiast 1,2-dichloropropan nie indukował zdarzeń związanych z segregacją somatyczną, takich jak mitotyczny brak dysfunkcji, mitotyczne skrzyżowanie i haploidyzacja, w tym samym organizmie, gdy był stosowany w stężeniu granicznym 154 mM (Crebelli i in. 1984).

W komórkach ssaków 1,2-dichloropropan nie wykazywał żadnej aktywności mutagennej w locus *Hprt* w komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO), natomiast indukował mutacje w locus kinazy tymidynowej (*tk*) w komórkach chłoniaka myszy L5178Y w obecności egzogennej aktywacji metabolicznej (Myhr i in. 1988; Myhr, Caspary 1991). W komórkach CCA pojedyncza ekspozycja na 1,2-dichloropropan nie wywoływała istotnego zwiększenia częstości mutacji (Toyooka i in. 2017).

Pomimo ograniczonej aktywności mutagennej 1,2-dichloropropan konsekwentnie wykazywał zdolność do uszkodzania DNA (tj. indukcji γ -H2AX i pęknięć nici DNA) oraz chromosomów (wymiany chromatyd siostrzanych i aberracji) w komórkach ssaków, w tym w ludzkich hepatocytach i cholangiocytach. W tym ostatnim przypadku w komórkach narażonych na 1,2-dichloropropan w stężeniach 1 ÷ 10 mM stwierdzono zależną od dawki i czasu indukcję γ -H2AX w wyniku pęknięć

dwuniciowych DNA, prowadzącą do aktywacji szlaku sygnałowego ATM. Odpowiedź na uszkodzenie DNA była w różnym stopniu uwarunkowana zwiększoną aktywnością CYP2E1 i ROS, ponieważ tworzenie γ -H2AX było osłabione zarówno przez swoiste, jak i nieswoiste inhibitory CYP oraz przeciwutleniacz. Uszkodzenie DNA ulegało nasileniu, gdy cholangiocyty hodowano wspólnie z ludzkimi makrofagami, co przypisano sygnalizacji prozapalnej pochodzącej od eksponowanych makrofagów (Zong i in. 2019).

Podsumowując, dane dotyczące genotoksyczności nie są w pełni spójne we wszystkich systemach badawczych i u wszystkich gatunków, jednak 1,2-dichloropropan należy uznać za substancję genotoksyczną o bezprogowym mechanizmie działania rakotwórczego. Wniosek ten opiera się głównie na wynikach badań prowadzonych u ludzi, w których zidentyfikowano unikalną sygnaturę mutacyjną w CCA u zawodowo narażonych pracowników, mimo że nie zidentyfikowano specyficznych zmian w DNA.

Działanie rakotwórcze

1,2-Dichloropropan posiada zharmonizowaną klasyfikację zgodną z CLP jako Carc. 1B – substancja mogąca powodować raka (Rozporządzenie... 2008). Natomiast według IARC związek ten został zakwalifikowany do grupy 1 jako „rakotwórczy dla ludzi”. Ocena ta wynikała z „wystarczających dowodów pochodzących z badań u ludzi i zwierząt doświadczalnych” (IARC 2016).

Działanie rakotwórcze u ludzi

Zestawienie przypadków raka dróg żółciowych (CCA) u ludzi narażonych na działanie 1,2-dichloropropanu przedstawiono w tabeli 6 (ATSDR 2021; ECHA 2023; IARC 2016). Badania nad rakotwórczością 1,2-dichloropropanu zostały zainicjowane w związku z rozpoznaniem 17 przypadków raka dróg żółciowych (zidentyfikowanego histologicznie jako rak dróg żółciowych, CCA) w małym zakładzie druku offsetowego w Osace w Japonii. Następnie, w ramach badań epidemiologicznych i badań higieny pracy, zidentyfikowano siedem dodatkowych przypadków w czterech innych małych drukarniach w Japonii. IARC (2016), na podstawie opisów tych przypadków oraz retrospektywnych badań kohortowych pracowników japońskich firm poligraficznych, dokonała oceny rakotwórczego działania 1,2-dichloropropanu.

W momencie rozpoznania CCA u większości pacjentów stwierdzono zwiększoną aktywność enzymów AST, ALAT, γ -GTP oraz podwyższone stężenie bilirubiny w surowicy. Zwiększona aktywność γ -GTP u niektórych pacjentów pojawiła się już kilka lat przed rozpoznaniem guza (Kubo i in. 2014a). Liczba erytrocytów, stężenie hemoglobiny, wartości hematokrytu, stężenie cholesterolu całkowitego i trójglicerydów oraz stężenie glukozy w osoczu na czczo mieściły się w normie (Kumagai 2014). Opierając się na przypadkach zachorowań z samej Osaki, szacowane względne ryzyko wystąpienia tego rzadkiego i na ogół śmiertelnego nowotworu było niezwykle wysokie. Większość pracowników tych zakładów była narażona na działanie zarówno 1,2-dichloropropanu, jak i dichlorometanu w stężeniach znacznie przekraczających obecne międzynarodowe wartości dopuszczalne. Dodatkowo w środowisku pracy występowały również inne chlorowane rozpuszczalniki (np. 1,1,1-trichloroetan), a także benzyna, nafta i farby drukarskie (IARC 2016).

Grupa robocza IARC oszacowała standaryzowany współczynnik zapadalności (SIR) dla narażenia na 1,2-dichloropropan (SIR = 1053; 95% przedział ufności (CI): 386 ÷ 2291), a także dla łącznego narażenia na 1,2-dichloropropan i DCM (SIR = 1487; 95% CI: 742 ÷ 2660). Na tej podstawie stwierdzono, że „względne ryzyko dla samego 1,2-dichloropropanu było niezwykle wysokie i nie było możliwe określenie, który czynnik był odpowiedzialny za względne ryzyko w grupie narażonej zarówno na 1,2-dichloropropan, jak i dichlorometan”.

W kolejnych latach, od powstania opracowania IARC (2016) ukazały się dodatkowe publikacje dotyczące narażenia japońskich pracowników poligraficznych. ATSDR (2021), na ich podstawie, wyciągnął wniosek, że „skutki dla wątroby są przypuszczalnym skutkiem zdrowotnym dla ludzi”. Biorąc pod uwagę rzadkość występowania CCA w populacji generalnej, ody wiek pracowników w momencie diagnozy, brak innych znanych czynników ryzyka oraz bardzo wysokie ryzyko względne, a także specyficzność i widoczną intensywność ekspozycji, jest bardzo mało prawdopodobne, aby stwierdzenie dużego nadmiaru raka dróg żółciowych wśród pracowników drukarni było wynikiem przypadku. Jest również bardzo mało prawdopodobne, aby ocena ryzyka była spowodowana stronniczością lub błędną interpretacją danych.

W ramach Nordyckiego Badania Raka Zawodowego (NOCCA) w kilku krajach europejskich oceniano również ryzyko wystąpienia CCA (Vlaanderen i in. 2013). W porównaniu z populacją generalną mężczyźni zatrudnieni jako „drukarze lub pokrewni pracownicy” w Finlandii, Islandii, Norwegii i Szwecji wykazywali statystycznie istotnie zwiększone ryzyko zachorowania na wewnątrzwątrobowego CCA (SIR = 2,34; 95% CI: 1,45 ÷ 3,57). Ryzyko u kobiet pracujących w tym zawodzie było statystycznie nieistotnie zwiększone (SIR = 1,95; 95% CI: 0,84 ÷ 3,85), (Vlaanderen i in. 2013). W populacyjnym badaniu kliniczno-kontrolnym przeprowadzonym w dziewięciu krajach europejskich ryzyko pozawątrobowego CCA było znacznie podwyższone wśród zecerów w porównaniu z przedstawicielami innych zawodów (OR = 5,78; 95% CI: 1,43 ÷ 23,29), ale nie wśród ogółu pracowników drukarni (OR = 2,42; 95% CI: 0,81 ÷ 7,24). Narażenie na 1,2-dichloropropan lub inne rozpuszczalniki nie było oceniane w żadnym z tych badań.

Seeherunwong i in. (2022) przeprowadzili badanie przekrojowe obejmujące 200 pacjentów z CCA w szpitalu w północno-wschodniej Tajlandii. Spośród 11 przypadków CCA związanych z pracą sześć osób pracowało jako dekarze, będąc narażonymi na azbest. Pozostałych pięciu pacjentów z CCA było narażonych na 1,2-dichloropropan i dichlorometan, choć wykonywali różne zawody (drukarz, mechanik, pracownik fabryki folii, nauczyciel zawodu i spawacz). Autorzy zauważyli, że średni czas zatrudnienia wynosił 19 lat, a okres utajenia u mężczyzn – 27 lat.

Częstość występowania CCA różni się w zależności od kraju i predyspozycji genetycznych. W Europie częstość występowania waha się od 0,45/100 000 w Szwajcarii do 3,36/100 000 we Włoszech. Wysoki wskaźnik w niektórych krajach azjatyckich wydaje się związany z dużą częstością występowania infekcji motylicą wątrobową. Czynniki ryzyka zachorowania na CCA są choroby cholestatyczne wątroby, infekcje, zaburzenia zapalne, toksyny, warunki metaboliczne, zaburzenia genetyczne oraz narażenie zawodowe na substancje chemiczne, takie jak azbest, chlorek winylu itp. (ECHA 2023).

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Przeprowadzono kilka doświadczeń dotyczących rakotwórczości 1,2-dichloropropanu u myszy

Tabela 6. Zestawienie przypadków raka dróg żółciowych (CCA) u ludzi narażonych na działanie 1,2-dichloropropanu (ATSDR 2021; IARC 2016)
Table 6. Summary of cases of cholangiocarcinoma (CCA) in humans exposed to 1,2-dichloropropane (ATSDR 2021; IARC 2016)

Populacja narażona	Warunki narażenia	Skutki narażenia, liczba przypadków, względne ryzyko	Piśmiennictwo
Osaka, Japonia Retrospektywne badanie kohortowe pracowników drukarni: 51 mężczyzn zatrudnionych jako drukarze i 11 mężczyzn zatrudnionych w sąsiednim pomieszczeniu przygotowawczym; okres zatrudnienia 1991–2006. Czas zatrudnienia: 1 ÷ 17 lat (średnio 10 lat)	szacunkowe narażenie określono na podstawie ilości stosowanych substancji chemicznych w latach 1991–2006, z wykorzystaniem danych eksperymentalnych JNIOH DCP: drukarnia 190 ÷ 310 ppm; pomieszczenie przygotowawcze 70 ÷ 110 ppm DCM: drukarnia 140 ÷ 360 ppm; pomieszczenie przygotowawcze 50 – 130 ppm	CCA stwierdzono u 11/51 drukarzy (22%) oraz u 0/11 pracowników pomieszczenia przygotowawczego; wszystkie 11 przypadków było narażonych na DCP, a 10/11 na DCM SMR (95% CI): 2900 (1100 ÷ 6400)	Kumagai i in. 2013; 2014
Osaka, Japonia Raport dotyczący 17 mężczyzn zatrudnionych w drukarni, u których rozpoznano CCA w latach 1996–2012. Czas zatrudnienia: 6 ÷ 19 lat (średnio 11 lat).	narażenie na DCP, DCM i TCE określono na podstawie historii zatrudnienia; nie oszacowano poziomów narażenia DCP: 1991–2006; DCM: 1991–1996; TCE: 1991–1992	na podstawie danych dotyczących zatrudnienia częstość występowania CCA w latach 1981–2012 wynosiła 17/111 (15%); narażenie stwierdzono w: 17/17 przypadków – DCP; 11/17 – DCM; 8/17 – TCE	Kubo i in. 2014a
Osaka, Japonia Retrospektywne badanie kohortowe obejmujące 86* mężczyzn i 20 kobiet zatrudnionych w latach 1985–2012. Czas zatrudnienia: 1 ÷ 16 lat * wszyscy drukarze byli zatrudnieni w firmie poligraficznej opisaniej przez Kumagai i in. (2013; 2014; 2016) oraz Kubo i in. (2014a)	narażenie na DCP i DCM określono na podstawie historii zatrudnienia; nie oszacowano poziomów narażenia DCP: 1991–2006; DCM: 1991–1996; brak oszacowania narażenia na TCE stosowany w latach 1985–1992	częstość występowania CCA wynosiła 17/106 (16%); SIR (95% CI) dla CCA wśród pracowników narażonych na DCP: grupa badana SIR (95% CI) wszyscy pracownicy: 1319,9 (658,9 ÷ 2361,7) pracownicy płci męskiej 1163,2 (677,6 ÷ 1862,4) pracownicy narażeni tylko na DCP: 1002,8 (368,0 ÷ 2182,8) pracownicy narażeni na DCP + DCM: 1319,9 (658,9 ÷ 2361,7) * te same przypadki początkowo opisane przez Kubo i in. (2014a)	Sobue i in. 2015
Osaka i Tokio, Japonia Retrospektywne badanie kohortowe obejmujące 78 mężczyzn i 17 kobiet zatrudnionych w latach 1985–2006. W badanej grupie było 71 drukarzy, 20 pracowników recepcji i 4 pracowników obsługi biurowej. Mediana (zakres) ekspozycji na DCP: 3,3 roku (0,3 ÷ 15,1 roku)	szacunkowe narażenie określono na podstawie prawdopodobnych ilości stosowanych chemikaliów w latach 1985–2006, z wykorzystaniem danych eksperymentalnych JNIOH DCP: 130 ÷ 210 ppm; 84 ÷ 346 ppm; 51 ÷ 76 ppm (pomieszczenie przygotowawcze); 55 ÷ 130 ppm, zależnie od zakładu i okresu DCM: 65 ÷ 170 ppm oraz 45 ÷ 100 ppm, zależnie od zakładu i okresu. Do 1992 r. w dwóch zakładach w Osace stosowano również TCE; brak danych ilościowych dotyczących narażenia	częstość występowania CCA wynosiła 17/95 (18%); te same przypadki początkowo opisane przez Kubo i in. (2014a); wszystkie przypadki dotyczyły mężczyzn SIR (95% CI) dla CCA wśród pracowników narażonych na DCP: grupa badana n SPRR (95% CI) wszyscy 95 1171 (682 ÷ 1875) mężczyźni 78 1203 (701 ÷ 1927) narażeni tylko na DCP 62 1019 (374 ÷ 2218) narażeni na DCP+ DCM 33 1275 (636 ÷ 2280) testy trendu wartości RR dla skumulowanych poziomów narażenia (skorygowanych o płeć, wiek, rok kalendarzowy i narażenie na DCM) były statystycznie istotne ($p < 0,001$)	Kumagai i in. 2016

cd. tab. 6 / Table 6 cont.

Populacja narażona	Warunki narażenia	Skutki narażenia, liczba przypadków, względne ryzyko	Piśmiennictwo
Wiele miast w Japonii Retrospektywne badanie kohortowe z wykorzystaniem bazy danych japońskiego Towarzystwa Ubezpieczeń Zdrowotnych, obejmujące 201 937 pracowników zatrudnionych w poligrafii i branżach pokrewnych	nie dokonano szacunków narażenia; chemikalia stosowane w „przemysle poligraficznym i branżach pokrewnych” niezgłoszone	częstość występowania CCA (na podstawie roszczeń z tytułu ubezpieczenia zdrowotnego) wyniosła 76/201937 (0,04%) pracowników branży poligraficznej i branż pokrewnych; SPRR (95% CI) dla CCA wśród pracowników branży poligraficznej i branż pokrewnych: grupa badana wszyscy: 1,28 (0,91÷1,79) mężczyźni: 1,31 (0,91÷1,89) mężczyźni w wieku 30–49 lat: 1,78 (0,63÷5,00)	Okamoto i in. (2013)
Osaka, Miyagi, Fukuoka, Hokkaido, Aomori, Saitama, Aichi, Japonia Raport dotyczący 9 przypadków CCA u mężczyzn zatrudnionych jako drukarze, zdiagnozowanych w latach 1988–2011 w 11 drukarniach. Czas zatrudnienia: 3 ÷ 19 lat (średnio 13 lat)	narażenie na DCP; DCM i TCE określono na podstawie historii zatrudnienia; zgłoszono „wysokie” poziomy wszystkich trzech substancji chemicznych, ale nie obliczono żadnych ilościowych szacunków narażenia DCP: narażenie 3 ÷ 16 lat DCM: narażenie 3 ÷ 19 lat TCE (nie podano czasu trwania narażenia)	opisy 9 przypadków CCA w 7 drukarniach (częstość występowania raka nie została oszacowana); na podstawie historii zatrudnienia: 7/9 przypadków narażonych na DCP 9/9 przypadków narażonych na DCM 4/9 przypadków narażonych na TCE	Kubo i in. 2014b
Miyagi, Fukuoka, Hokkaido, Japonia Raport dotyczący 6 przypadków CCA u mężczyzn zatrudnionych jako drukarze, zdiagnozowanych w latach 1998–2013 w 3 drukarniach. Czas zatrudnienia: 10 ÷ 16 lat	Uwaga: nie we wszystkich przypadkach pracownicy byli narażeni na działanie wszystkich trzech rozpuszczalników poziomy narażenia nie były mierzone; oszacowania oparto na prawdopodobnych ilościach stosowanych chemikaliów DCP: 80 ÷ 170 ppm; 62 ÷ 200 ppm; 110–240 ppm, zależnie od zakładu DCM: <1 ppm; 0 ÷ 180 ppm; 0 ÷ 180 ppm TCE: stosowany w zakładach 1 i 3; brak oszacowań DCFE: stosowany w zakładzie 2; brak oszacowań	Uwaga: dwa przypadki bez ekspozycji na DCP były narażone zarówno na DCM, jak i TCE opisy 6 przypadków CCA w 3 drukarniach (częstość występowania raka nie została oszacowana); na podstawie historii zatrudnienia: 6/6 przypadków narażonych na DCP 4/6 przypadków narażonych na DCM 4/6 przypadków narażonych na TCE 2/6 przypadków narażonych na DCFE	Yamada i in. 2014
Osaka, Aichi, Shizuoka, Saitama, Aomori, Japonia Raport dotyczący 7 przypadków CCA u mężczyzn zatrudnionych jako drukarze, zdiagnozowanych w latach 2002–2011 w 8 drukarniach. Czas zatrudnienia: 4 ÷ 19 lat	poziomy narażenia nie były mierzone; oszacowania oparto na prawdopodobnych ilościach stosowanych chemikaliów DCP: 92 ÷ 100 ppm; 16 ÷ 29 ppm; 7 ÷ 17 ppm; 58 ÷ 210 ppm, zależnie od zakładu DCM: 15 ÷ 18 ppm; 25 ÷ 55 ppm; 68 ÷ 94 ppm; 20 ppm; 31 ÷ 270 ppm; 84 ÷ 90 ppm; 440 ppm; 77 ÷ 110 ppm TCE: stosowany w zakładach 5 ÷ 7; brak oszacowań DCFE: stosowany w zakładzie 5; brak oszacowań	opisy 7 przypadków CCA w 8 drukarniach (częstość występowania raka nie została oszacowana); na podstawie historii zatrudnienia: 4/7 przypadków narażonych na DCP 7/7 przypadków narażonych na DCM 3/7 przypadków narażonych na TCE 1/7 przypadków narażonych na DCFE	Yamada i in. 2015a

Populacja narażona	Warunki narażenia	Skutki narażenia, liczba przypadków, względne ryzyko	Piśmiennictwo
Fukuoka, Aichi, Tokio, Kioto, Japonia Raport dotyczący 5 przypadków CCA u mężczyzn zatrudnionych jako drukarze oraz 1 przypadku u mężczyzny zatrudnionego przy tworzeniu powłok. Przypadki zdiagnozowano w latach 1993–2013 w 7 drukarniach i 2 lakierniach. Czas zatrudnienia: 9 ÷ 30 lat	poziomy narażenia nie były mierzone; oszacowania oparto na prawdopodobnych ilościach stosowanych chemikaliów drukarnie: DCP: 74–170; 200; 230; 130–160; 13–65; 59 ppm DCM: 35–140; 300; 350; 240–470; 20–98; 170–370 ppm TCE: stosowany w zakładach 6 i 7; brak oszacowań DCFE: stosowany w zakładach 1 i 6; brak oszacowań lakiernie : DCP: 19 i 5 ppm; DCFE: stosowany w obu zakładach; brak oszacowań	opisy 6 przypadków CCA w 7 drukarniach i 2 lakierniach (częstość występowania raka nie została oszacowana); na podstawie historii zatrudnienia: 6/6 przypadków narażonych na DCP 5/6 przypadków narażonych na DCM 2/6 przypadków narażonych na TCE 3/6 przypadków narażonych na DCFE	Yamada i in. 2015b
Finlandia, Islandia, Norwegia, Szwecja, 1961–2005 Badanie obejmujące 74 949 pracowników zatrudnionych jako drukarze lub pracownicy zawodów pokrewnych	poziomy narażenia nie były mierzone, ocenie poddano drukarzy lub pokrewnych pracowników, łącznie 74 949 zatrudnionych	SIR dostosowane do kraju, wieku i okresu; podobne wyniki uzyskano dla kobiet oparte na mniejszych liczbach; liczba stwierdzonych przypadków wewnątrzprzemysłowego CCA (n) / względne ryzyko (SIR, 95% CI) wśród pracowników branży poligraficznej i branż pokrewnych: grupa badana n /SIR (95% CI) wszyscy (mężczyźni): 21 / 2,34 (1,45 ÷ 3,57) typografowie (mężczyźni): 11 / 2,01 (1,00 ÷ 3,60) drukarze (mężczyźni): 6 / 3,54 (1,30 ÷ 7,70) litografowie (mężczyźni): 2 / 3,91 (0,47 ÷ 14,10)	Vlaanderen i in. 2013
Finlandia, Islandia, Norwegia, Szwecja, 1961–2005 Badanie obejmujące 74 949 pracowników	poziomy narażenia nie były mierzone, ocenie poddano drukarzy lub pokrewnych pracowników łącznie 74 949 zatrudnionych	liczba stwierdzonych przypadków pozawarstwowego CCA (n) oraz SIR (95% CI): grupa badana n /SIR (95% CI) wszyscy (mężczyźni): 53 / 1,13 (0,85 ÷ 1,48) typografowie (mężczyźni): 34 / 1,09 (0,75 ÷ 1,52) drukarze (mężczyźni): 9 / 1,37 (0,63 ÷ 2,59) i litografowie (mężczyźni): 0 / 0,00 (0,00 ÷ 1,83)	Vlaanderen i in. 2013
Kraje europejskie (9) 1995–1997 Badanie kliniczno-kontrolne obejmujące 153 przypadki CCA i 1421 osób w grupie kontrolnej.	poziomy narażenia nie były mierzone	współczynniki OR dostosowane do kraju, roku urodzenia, innych chorób przewodu pokarmowego oraz wyników wstępnego wywiadu; liczba stwierdzonych przypadków CCA (n) oraz OR (95% CI): grupa badana n /SIR (95% CI) pracownicy poligrafii: 5 / 2,42 (0,81 ÷ 7,24) zecerzy: 3 / 5,78 (1,43 ÷ 23,30)	Ahrens i in. 2014

Objaśnienia:
CCA – rak dróg żołądkowych.
DCP – 1,2-dichloropropan.
DCM – dichlorometan.
TCE – 1,1,1-trichloroetan.
DCFE – 1,1-dichloro-1-fluoroetan.
JNIOH – Japoński Narodowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy.
OR – iloraz szans.
RR – ryzyko względne.
SIR – standaryzowany współczynnik zapadalności.
SMR – standaryzowany współczynnik umieralności.
SPRR – standaryzowany współczynnik rozpowszechnienia.
CI – przedział ufności.

i szczurów, po podaniu *per os* (za pomocą zgłębnika) lub inhalacyjnie (tab. 5). 1,2-Dichloropropan zwiększał częstość występowania gruczolaka wątrobowokomórkowego i/lub raka wątrobowokomórkowego u samców i samic myszy po podaniu drogą pokarmową, gruczolaka oskrzelików pęcherzyków płucnych i/lub gruczolaka rakowego u samców i samic myszy narażonych drogą oddechową oraz naczyniakomięsaka śledziony u samców myszy narażonych inhalacyjnie. 1,2-Dichloropropan indukował mięsaka histiocytarnego i gruczolaka gruczołu Hardera u samców myszy narażonych inhalacyjnie. W jednym eksperymencie oceniano potencjalny wpływ 1,2-dichloropropanu na kancerogenność indukowaną przez *N*-nitrozobis(2-oksopropyl)-aminę (BOP) (tab. 4) (Gi i in. 2015).

U myszy narażonych inhalacyjnie w 2-letnim doświadczeniu na 1,2-dichloropropan w stężeniach: 0 (kontrola); 32 ppm; 80 ppm lub 200 ppm (150 mg/m³; 380 mg/m³; 950 mg/m³) częstość występowania gruczolaków i raków oskrzelowo-pęcherzykowych była zwiększona już przy najniższym badanym stężeniu. W wątrobie częstość występowania mięsaków histiocytarnych była zwiększona (istotnie statystycznie) u samców myszy przy 80 ppm, ale nie przy 200 ppm. Przy najwyższym stężeniu liczba naczyniakomięsaków krwionośnych również wzrosła, co miało znaczenie statystyczne u samców myszy. Gruczolaki wykryto w gruczole Hardera, a ich liczba wzrastała wraz ze stężeniem (Matsumoto i in. 2013).

W kolejnym eksperymencie, po narażeniu inhalacyjnym przez 2 lata (6 h dziennie, 5 dni w tygodniu) na stężenia 1,2-dichloropropanu wynoszące: 0 (kontrola); 80 ppm; 200 ppm lub 500 ppm (380 mg/m³; 950 mg/m³; 2400 mg/m³), częstość występowania brodawczaków w jamie nosowej u samców i samic szczurów F344 była istotnie zwiększona przy najwyższym stężeniu. Przerost, metaplazję i stan zapalny obserwowano tylko w górnych drogach oddechowych. Nie stwierdzono uszkodzeń w żadnym z pozostałych narządów. Trzy przypadki rozwiniętego esthesioneuroepithelioma (neuroblastoma w nabłonku węchowym) były nowym odkryciem i nie były obserwowane w historycznych grupach kontrolnych. Dlatego uznano je za związane z narażeniem na 1,2-dichloropropan (Umeda i in. 2010).

W 2-letnim badaniu z udziałem szczurów F344 i myszy B6C3F1, którym podawano 1,2-dichloropropan przez zgłębnik w dawkach 0 ÷ 250 mg/kg

mc./dobę, stwierdzono, że częstość występowania gruczolaków i raków wątrobowokomórkowych była zwiększona u myszy (NTP 1986).

Gi i in. (2015) badali potencjalny wpływ 1,2-dichloropropanu na indukowaną przez *N*-nitrozobis(2-oksopropyl)aminę (BOP) cholangiokarcynogenezę oraz na promowanie zmian nowotworowych w trzustce, płucach lub nerkach u samców chomików (tab. 4). Narażanym grupom wstrzyknięto podskórnie BOP (10 mg/kg mc) czterokrotnie w ciągu tygodnia, a następnie, po 14 dniach, przez zgłębnik w oleju kukurydzianym podawano 1,2-dichloropropan w dawkach: 0 (kontrola), 62,5 mg/kg mc./dobę lub 125 mg/kg mc./dobę przez 15 lub 17 tygodni. Odnotowano 1 przypadek śmiertelny wśród zwierząt narażonych na 62,5 mg DCP/kg mc./dobę + BOP przez 17 tygodni. Na koniec eksperymentu stwierdzono, że względna i bezwzględna masa ciała była istotnie zmniejszona tylko w grupie o najwyższym narażeniu. Nie stwierdzono istotnych zmian histopatologicznych w wątrobie, trzustce, płucach lub nerkach ani istotnego wpływu na ekspresję CYP2E1, GSTT1 i Ki-67. Autorzy badań doszli do wniosku, że 1,2-dichloropropan nie ma wpływu na wywołane przez BOP zmiany przednowotworowe lub nowotworowe w żadnej z badanych tkanek (Gi i in. 2015).

Podsumowując przedstawione badania, można stwierdzić, że 1,2-dichloropropan indukował nowotwory głównie w jamie nosowej szczurów i w płucach myszy po ekspozycji drogą oddechową oraz guzy w wątrobie myszy po podaniu przez zgłębnik. W związku z tym stwierdzono, że substancja ta ma działanie rakotwórcze. Rak dróg żółciowych obserwowany u ludzi zawodowo narażonych na 1,2-dichloropropan nie rozwijał się jednak u gryzoni ani po narażeniu inhalacyjnym, ani po podaniu drogą pokarmową.

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Ludzie

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat wpływu 1,2-dichloropropanu na płodność ani jego wpływu na toksyczność rozwojową u ludzi.

Zwierzęta

W badaniu dwupokoleniowym samcom i samicom szczurów Sprague-Dawley z pokoleń F0 i F1

Tabela 7. Wpływ 1,2-dichloropropanu (DCP) na płodność i rozrodczość u zwierząt
Table 7. Effects of 1,2-dichloropropane (DCP) on fertility and reproductive function in animals

Gatunek, płeć, liczba zwierząt	Dawka, mg/kg mc./dobę	Czas trwania	Skutki narażenia	NOEL, mg/kg mc	LOAEL, mg/kg mc	Piśmiennictwo
Królik New Zealand. ♂, ♀, n = 7	0; 25; 100; 250 w oleju przez zgłębnik	13 dni (7. ÷ 19. dzień ciąży)	dawka 25 mg/kg mc./dobę : niedokrwistość u matek; BMDL ₅₀ = 30 mg/kg mc./dobę; dawka 250 mg/kg mc./dobę: padnięcia 2/7 zwierząt; całkowita resorpcja miotu (2/5)	–	250 – reprotoksyczność	Berdasco i in. 1988
Królik New Zealand. ♂, ♀, n = 18	0; 15; 50; 150 w oleju przez zgłębnik	13 dni (7. ÷ 19. dzień ciąży)	dawka 150 mg/kg mc./dobę: zmniejszony przyrost mc. związany z anoreksją oraz niedokrwistość u matek; BMDL ₅₀ = 30 mg/kg/dobę; brak zmian w liczbie ciałek żółtych, płodów, implantacji lub resorpcji; opóźnione kostnienie czaszki	50 – wpływ na mc., działanie hematologiczne i toksyczność rozwojowa	150 – wpływ na mc., działanie hematologiczne i toksyczność rozwojowa	Kirk i in. 1995
Szczur Sprague- Dawley ♀, n = 10	0; 50; 125; 250; 500 w oleju przez zgłębnik	10 dni (6. ÷ 15. dzień ciąży)	dawka 250 mg/kg mc./dobę: przemijająca depresja OUN; dawka 500 mg/kg mc./dobę: 13% zmniejszenie mc. matek i utrzymująca się depresja OUN; brak zmian w liczbie ciałek żółtych, płodów, implantacji lub resorpcji	125 – neurotoksyczność	500 – neurotoksyczność	Kirk i in. 1989
Szczur Sprague- Dawley n = 30 ♀	0; 10; 30; 125 w oleju przez zgłębnik	10 dni (6. ÷ 15. dzień ciąży)	dawka 125 mg/kg mc./dobę: >10% zmniejszenie przyrostu mc. matek, depresja OUN u matek; brak zmian w liczbie ciałek żółtych, płodów, implantacji lub resorpcji; opóźnione kostnienie czaszki	30 – wpływ na mc.	125 – reprotoksyczność, neurotoksyczność i toksyczność rozwojowa	Kirk i in. 1995
Szczur Sprague- Dawley, ♂, ♀, n = 30/30	♂: 0; 27; 96; 182 ♀: 0; 41; 137; 274 w wodzie do picia	13. ÷ 21. tyg., 2. generacja	dawka 182 mg/kg mc./dobę: zmniejszenie mc. u dorosłych zwierząt pokolenia F0 i F1; ziarnistość cytoplazmy wątrobowokomórkowej u dorosłych ♂ i ♀ pokoleń F0 i F1 szczególnie nasilona przy najwyższych dawkach; dawka 274 mg/kg mc./dobę ♀: niedokrwistość u matek F0, zmniejszona przeżywalność noworodków F1, zmniejszona masa młodych F1 podczas laktacji	96 – wpływ na mc., hepatotoksyczność	274 – toksyczność rozwojowa	Kirk i in. 1990

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

mc. – masa ciała.

OUN – ośrodkowy układ nerwowy.

F0 – rodzicielskie.

F1 – pierwsze pokolenie potomne.

NOAEL (ang. *no observed adverse effect level*) – najwyższy poziom bez obserwowanego działania szkodliwego.

LOAEL (ang. *lowest observed adverse effect level*) – najniższy obserwowany poziom działania szkodliwego.

BMDL₅₀ – dolna granica 95% przedziału ufności dawki wyznaczającej przy założeniu odchylenia standardowego (1 SD) od punktu końcowego.

podawano 1,2-dichloropropan w wodzie pitnej w sposób ciągły, w stężeniach: 0,024%, 0,10% lub 0,24%. Zwierzęta F0 były narażone przez 10 tygodni przed kryciem, w okresie krycia, który nie trwał dłużej niż 3 tygodnie, oraz podczas odchowu odych. Zwierzęta z pokolenia F1 były traktowane w ten sam sposób. Samce z pokolenia F0 były łączone przez 2 tygodnie z nienarażonymi samicami w celu przeprowadzenia dominującego testu letalnego; 1,2-dichloropropanu nie podawano im w wodzie pitnej w 15. i 16. tygodniu badania. Nie zaobserwowano wpływu substancji na parametry rozrodu (płodność i parametry miotu). W badaniu histopatologicznym u zwierząt F0 i F1 nie stwierdzono zmian w badanych narządach (wątroba we wszystkich grupach stężeń oraz dodatkowo narządy rozrodcze, nerki i szpik kostny w grupie o wysokim stężeniu), poza zwiększoną ziarnistością wątrobowokomórkową we wszystkich grupach stężeń. NOAEL dla toksyczności rodzicielskiej indukowanej przez narażenie na 1,2-dichloropropan w wodzie pitnej wynosił około 25 mg/kg mc./dobę, dla toksyczności okołoporodowej – 100 mg/kg mc./dobę, a dla wpływu na parametry rozrodcze – 190 mg/kg mc./dobę (Greim 1998).

W innym eksperymencie samice szczurów F344 były narażone inhalacyjnie na stężenie 1,2-dichloropropanu wynoszące: 0 (kontrola), 50 ppm; 100 ppm lub 200 ppm (240 mg/m³; 480 mg/m³; 960 mg/m³) przez 8 h dziennie przez 20 dni. Cykl rujowy był wydłużony przy niskim i wysokim stężeniu, a spontaniczna owulacja została zahamowana (Sekiguchi i in. 2002).

Samce szczurów Sprague-Dawley były narażone przez zgłębnik na działanie 1,2-dichloropropanu w oleju kukurydzianym w dawkach: 0 (kontrola), 100 mg/kg mc./dobę, 250 mg/kg mc./dobę, 500 mg/kg mc./dobę lub 750 mg/kg mc./dobę przez 10 kolejnych dni lub 13 tygodni (5 dni w tygodniu) (tab. 4). Badania histopatologiczne zwierząt narażonych na dwie najwyższe dawki wykazały zmiany w jądrach (zwyródnienie, zmniejszenie produkcji plemników) i w najądrzach (zwiększona liczba zdegenerowanych spermatogonii) w ciągu 10 dni i 13 tygodni, odpowiednio dla wysokiej i średniej dawki (Bruckner i in. 1989).

W badaniu teratogenności grupom 30 samic szczurów Sprague-Dawley podawano 1,2-dichloropropan przez zgłębnik w dawkach: 0 (kontrola), 10 mg/kg mc./dobę, 30 mg/kg mc./dobę lub

125 mg/kg mc./dobę od 6. do 15. dnia ciąży (tab. 7). W grupie otrzymującej najwyższą dawkę obserwowano toksyczność matczyną w postaci uspokojenia, zmniejszonego spożycia paszy i, w efekcie, zmniejszonego przyrostu masy ciała. Skutkowało to opóźnionym dojrzewaniem szkieletu płodu (opóźnionym kostnieniem czaszki). Nie obserwowano żadnych efektów teratogennych. W tym badaniu wartość NOAEL dla toksyczności matczynej i rozwojowej wynosiła 30 mg/kg mc./dobę. (Greim 1998; Kirk i in. 1995).

W innym badaniu teratogenności ciężarnym albinotycznym królikom New Zealand (18 matek w grupie dawkowania) podawano 1,2-dichloropropan w dawkach: 0 (kontrola), 15 mg/kg mc./dobę, 50 lub 150 mg/kg mc./dobę przez zgłębnik od 7. do 19. dnia ciąży (tab. 7). U matek w grupie otrzymującej najwyższą dawkę obserwowano jadłowstręt, opóźniony przyrost masy ciała i niedokrwistość, które prowadziły do niewielkiego działania toksycznego na płód w postaci opóźnionego kostnienia szkieletu. Nie zaobserwowano działania teratogennego. Wartość NOAEL dla toksyczności matczynej i rozwojowej wynosiła 50 mg/kg mc./dobę (Greim 1998; Kirk i in. 1995).

Podsumowując, w badaniach toksyczności nie zaobserwowano wpływu 1,2-dichloropropanu na funkcje seksualne i płodność w badaniu przeprowadzonym na dwóch pokoleniach szczurów. Wpływ na ode przypisywano mniejszemu poborowi wody i paszy przez matki. W badaniach rozwojowych nie stwierdzono istotnego szkodliwego wpływu na rozrodczość u szczurów i królików. W doświadczeniach tych za przyczynę zmniejszonego kostnienia czaszki stwierdzonego u odych uznano toksyczność matczyną. Obserwowanych zmian w jądrach i najądrzach szczurów narażonych drogą pokarmową na 1,2-dichloropropan nie odnotowano w innych badaniach toksyczności przewlekłej ani rakotwórczości. Istnieją ograniczone dowody wskazujące, że 1,2-dichloropropan zakłóca płodność zwierząt poprzez zmianę produkcji lub jakości nasienia oraz wydłużenie cykli rujowych.

TOKSYKOKINETYKA

Głównymi drogami narażenia na 1,2-dichloropropan w miejscu pracy są drogi oddechowe i skóra. Ogólnoustrojowe skutki toksyczne obserwowane

u ludzi po spożyciu wskazują, że 1,2-dichloropropan może być również wchłaniany z przewodu pokarmowego (ATSDR 2021; IARC 2016).

Wchłanianie, rozmieszczanie

W dostępnej literaturze nie znaleziono badań dotyczących szybkości i miejsca wchłaniania 1,2-dichloropropanu u ludzi. Natomiast badania na zwierzętach wskazują, że 1,2-dichloropropan jest szybko wchłaniany i rozprowadzany w organizmie po narażeniu inhalacyjnym (Take i in. 2014; Timchalk i in. 1991). W kilku badaniach oceniano toksykokinetykę 1,2-dichloropropanu u zwierząt narażonych na tę substancję *per os*, stwierdzając, że jest ona również łatwo wchłaniana z przewodu pokarmowego.

W badaniu inhalacyjnym Take i in. (2014) zmierzono zmiany stężeń 1,2-dichloropropanu w czasie u samców szczurów F344 / DuCr1Crlj w tkankach, krwi, wątrobie, nerkach, płucach i tłuszczu brzuszny. Biologiczny okres półtrwania ($t_{1/2}$) w grupach narażonych na stężenia 80 ppm i 500 ppm (380 mg/m³ i 2400 mg/m³) wynosił odpowiednio 182 i 168 min we krwi, 39 i 61 min w płucach, 57 i 125 min w wątrobie, 59 i 127 minut w nerkach oraz 154 i 186 min w tłuszczu brzuszny, gdzie również wystąpiła akumulacja. W grupie narażonej na niższe stężenie maksymalne stężenie 1,2-dichloropropanu w płucach, wątrobie i nerkach osiągnięto po 1 h i pozostało ono stałe do końca okresu ekspozycji (6 h). W tkance tłuszczowej w jamie brzusznej stężenie 1,2-dichloropropanu wzrastało w sposób zależny od czasu przez cały okres ekspozycji i było wyższe niż w pozostałych tkankach. Autorzy stwierdzili, że wysokie stężenie 1,2-dichloropropanu w tłuszczu w jamie brzusznej wynika z jego wysokiej rozpuszczalności w lipidach. Po ekspozycji na wyższe stężenie stan stacjonarny nie został osiągnięty w żadnej tkance. Autorzy byli w stanie zmierzyć stężenie 1,2-dichloropropanu we krwi do 18 h po zakończeniu ekspozycji w obu grupach, natomiast w pozostałych kompartmentach tylko w grupie o najwyższym stężeniu 1,2-dichloropropanu (Hartwig 2022; Take i in. 2014).

W kolejnym doświadczeniu Take i in. (2017) śledzili podobne zmiany, tym razem narażając szczury przez zgłębnik. We wszystkich narządach lub tkankach stężenie 1,2-dichloropropanu osiągało maksymalną wartość (C_{max}) po 60 min od

ekspozycji, a następnie powoli spadało. W grupie otrzymującej niższą dawkę, wynoszącą 62 mg/kg mc./dobę, 1,2-dichloropropan był nadal wykrywalny w wątrobie, nerkach i płucach po 9 h, a w tkance tłuszczowej w jamie brzusznej – do 24 h po podaniu, podczas gdy w grupie otrzymującej dawkę 125 mg/kg mc. 1,2-dichloropropan był wykrywalny we wszystkich badanych tkankach po 24 h. W każdym punkcie czasowym stężenie 1,2-dichloropropanu w tłuszczu w jamie brzusznej było większe niż w innych narządach lub tkankach, zgodnie z lipofilowym charakterem substancji. Wartości $t_{1/2}$ wynosiły w grupach otrzymujących dawki 62 mg/kg mc. i 125 mg/kg mc. odpowiednio: 193 i 315 min we krwi, 144 i 187 min w wątrobie, 144 i 193 min w nerkach, 114 i 165 min w płucach oraz 257 i 330 min w tkance tłuszczowej w jamie brzusznej. Po 2 dniach we krwi i wszystkich innych badanych tkankach w grupie otrzymującej wysoką dawkę stwierdzono niewielką ilość 1,2-dichloropropanu, co sugeruje, że związek pozostaje w tkankach przez dłuższy czas po podaniu (Hartwig 2022; Take i in. 2017). Dane wskazujące na dłuższe okresy półtrwania przy wyższych dawkach w porównaniu z niższymi dawkami sugerują, że dochodzi do nasycenia poszczególnych kompartmentów.

Weksperymentem wykonanym na szczurach F344 ($n = 4$ /grupe/płeć) podawano *per os* pojedynczą dawkę 1 mg/kg mc. lub 100 mg/kg mc. 1,2-dichloropropanu znakowanego radioizotopem, a następnie 1 mg/kg mc. substancji nieznakowanej radioaktywnie przez 7 dni, po czym w 8. dniu podawano końcową dawkę 1 mg/kg mc. związku znakowanego radioizotopem (Timchalk i in. 1991). W ciągu 24 h od podania średnio 74 ÷ 95% dawki [¹⁴C]-DCP było wydalone z moczem lub wydychanym powietrzem. Znacznik izotopowy był nadal wykrywany w organizmie 48 h po podaniu *per os*. Jego obecność w tkankach szczurów była podobna po narażeniu inhalacyjnym i drogą pokarmową, z wyjątkiem płuc, gdzie po ekspozycji *per os* odnotowano niski poziom znacznika.

Samcom szczurów Wistar (5 osobników/dawkę) podawano drogą pokarmową 55 mg/kg mc. lub 110 mg/kg mc. 1,2-dichloropropanu. Maksymalne stężenie 1,2-dichloropropanu we krwi osiągnęto po 30 min, a biologiczny okres półtrwania ($t_{1/2}$) wynosił odpowiednio 3,1 h i 5,0 h w obu grupach (Di Nucci i in. 1988). Po podaniu związku w dawce 120 mg/kg mc. lub 440 mg/kg mc. maksymalne

stężenie we krwi osiągnęto później, po 1 ÷ 2 h, a biologiczne okresy półtrwania wynosiły odpowiednio 4,3 h i 13,6 h (Hartwig 2022).

Na wchłanianie 1,2-dichloropropanu przez skórę u ludzi wskazuje przypadek mężczyzny, który przypadkowo oblał się mieszaniną zawierającą 30 ÷ 40% tego związku i 33 ÷ 38% toluenu (Fiaccadori i in. 2003). Narażenie trwające około 5 h oraz obserwowana w tym przypadku toksyczność ogólnoustrojowa mogą być przypisane, przynajmniej częściowo, wchłanianiu przez skórę. Stała przepuszczalności ludzkiej skóry wynosząca 0,01 cm/h i współczynnik przepuszczalności wynoszący 0,206 cm/h zostały obliczone przez EPA (2016). Ponadto Fiserova-Bergerova i in. (1990) oszacowali, na podstawie przewidywanej szybkości penetracji skóry wynikającej z właściwości fizycznych 1,2-dichloropropanu, że substancja ta ma znaczny potencjał wchłaniania przez skórę (ATSDR 2021). Brak jest danych dotyczących wchłaniania 1,2-dichloropropanu przez skórę u zwierząt, jednak obserwowane skutki ogólnoustrojowe, w tym padnięcia po podaniu tego związku przez skórę, wskazują na możliwość takiego działania (Smyth i in. 1969).

Metabolizm i wydalanie

1,2-Dichloropropan, podobnie jak wiele chlorowanych alkanów, jest metabolizowany najpierw w wyniku dehalogenacji oksydacyjnej z udziałem CYP2E1, a następnie w wyniku koniugacji z GSH za pośrednictwem GST lub w odwrotnej kolejności, głównie w wątrobie, co umożliwia wydalanie metabolitów z żółcią (Gonzalez, Gelboin 1994; IARC 2016). Proponowany szlak metaboliczny, oparty na badaniach na szczurach, przedstawiono na rycinie 2. Bartels i Timchalk (1990) wykazali, że szlak z udziałem CYP2E1 i GST (S-transferazy glutationowej) jest głównym szlakiem metabolicznym. W kolejnych badaniach pojedynczą dawkę 500 mg/kg mc. 1,2-dichloropropanu w oliwie z oliwek podawano drogą pokarmową myszom 57BL/6J i FVB/NJcJ (liczba nieokreślona) oraz szczurom SD ($n = 9$), po 4 h w żółci zidentyfikowano dziewięć metabolitów, natomiast nie wykryto związku macierzystego (Toyoda i in. 2016).

Samcom szczurów Wistar (5 osobników/dawkę) podawano drogą pokarmową 55 mg/kg mc. lub 110 mg/kg mc. 1,2-dichloropropanu. Związek był wydalany głównie z moczem (>50%) w postaci

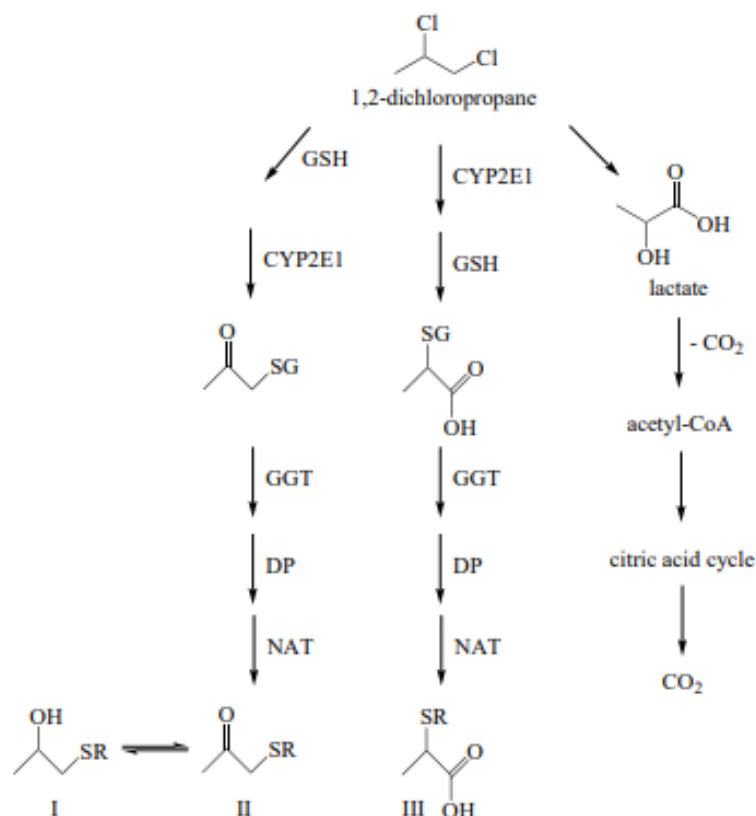
koniugatu z glutationem. Po podaniu 1,2-dichloropropanu znakowanego radioizotopem stwierdzono, że przez płuca substancja była wydalana głównie w postaci niezmienionej (około 20%) lub jako CO₂ (około 20%), a dodatkowe 5 ÷ 8% znacznika izotopowego stwierdzono w kale (Di Nucci i in. 1988; Greim 1998).

W badaniu na szczurach, którym podawano inhalacyjnie (w klatkach typu „head-only”) 1,2-dichloropropan znakowany izotopowo przez 6 h w stężeniach 5 ppm; 50 ppm i 100 ppm (24 mg/kg mc.; 238 mg/kg mc. i 476 mg/kg mc.), znacznik izotopowy był wydalany głównie z moczem (37 ÷ 65%) (Timchalk i in. 1991). Z wydychanym powietrzem wydalone zostało 18 ÷ 40% początkowej dawki. Tkanki, reszty ciała, kał i płyn do płukania klatek zawierały odpowiednio mniej niż 11,0%; 9,7% i 3,8% dawki.

Głównym metabolitem zidentyfikowanym w moczu szczurów Sprague-Dawley i F344, którym podawano drogą pokarmową 100 mg 1,2-dichloropropanu, była N-acetylo-S-(2-hydroksypropylo)-L-cysteina (2-HPMA), stanowiąca odpowiednio 30% i 10,2% dawki u szczurów Sprague-Dawley i F344. U szczurów F344 scharakteryzowano także dwa inne metabolity w moczu: N-acetylo-S-(2-oksopropylo)-L-cysteinę (AOPC, 14,5%) i N-acetylo-S-(1-karboksetylo)-L-cysteinę (ACEC, 1,8%). Metabolity pierwotne są produktami utleniania z udziałem CYP i koniugacji z GSH (szlaki II i III na rycinie 2). N-Acetylo-S-(2-hydroksypropylo)-L-cysteina, końcowy metabolit opisany w szlaku I, powstaje prawdopodobnie w wyniku redukcji N-acetylo-S-(2-oksopropylo)-L-cysteiny ze szlaku II (IARC 2016; Hartwig 2022).

Wyniki badań in vitro

Guengerich i in (1991) badali metabolizm 1,2-dichloropropanu in vitro z wykorzystaniem ludzkiego CYP2E1 i GHS, stwierdzając szybkość konwersji do AOPC na poziomie 1,1 nmol/min/nmol CYP2E1. Szybkość konwersji zmniejszała się po dodaniu do systemu inhibitorów CYP2E1. Metabolizm 1,2-dichloropropanu badano również w systemie reakcji in vitro zawierającym homogenat wątroby myszy typu dzikiego oraz myszy z niedoborem CYP2E1. Szybkość konwersji wynosiła odpowiednio 21,86 i 0,22 nmol/min/mg białka w homogenatach obu szczepów, co sugeruje, że pierwszy etap metabolizmu 1,2-dichloropropanu w wątrobie myszy jest niemal całkowicie katalizowany przez



Rycina 2. Proponowany szlak metaboliczny 1,2-dichloropropanu (DCP) (wg Hartwig 2022)

Objaśnienia: R – *N*-acetylocysteina; I – *N*-acetylo-S-(2-hydroksypropylo)-*L*-cysteina; II – *N*-acetylo-S-(2-oksoypropylo)-*L*-cysteina; III – *N*-acetylo-S-(1-karboksyetylo)-*L*-cysteina; CYP2E1 – cytochrom P450 2E1; DP – dipeptydaza; GGT – γ-glutamylotransferaza; GSH – zredukowany glutation; NAT – *N*-acetylotransferaza

Figure 2. Proposed metabolic pathway of 1,2-dichloropropane (DCP) (according to Hartwig 2022)

Abbreviations: R – *N*-acetylcysteine; I – *N*-acetyl-S-(2-hydroxypropyl)-*L*-cysteine; II – *N*-acetyl-S-(2-oxopropyl)-*L*-cysteine; III – *N*-acetyl-S-(1-carboxyethyl)-*L*-cysteine; CYP2E1 – cytochrome P450 2E1; DP – dipeptidase; GGT – γ-glutamyltransferase; GSH – reduced glutathione; NAT – *N*-acetyltransferase.

CYP2E1. Wyniki te korelowały z wolniejszą eliminacją związku z krwi myszy z niedoborem CYP2E1 po pojedynczym dożylnym podaniu 300 mg/kg mc. 1,2-dichloropropanu, chociaż różnica w porównaniu z myszami typu dzikiego nie była statystycznie istotna (Hartwig 2022).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Mimo że dokładny mechanizm działania 1,2-dichloropropanu nie jest obecnie w pełni poznany, a dane dotyczące genotoksyczności nie są jednolite we wszystkich systemach badawczych i gatunkach, należy uznać 1,2-dichloropropan za genotoksyczny, bezprogowy czynnik rakotwórczy. Wniosek ten opiera się w szczególności na danych z badań przeprowadzonych u ludzi, w przypadku których

zidentyfikowano mutacje sygnaturowe u narażonych pracowników, mimo że nie zidentyfikowano konkretnych zmian w DNA. Ponadto istnieją dowody na dodatkowe efekty wzmacniające uszkodzenia DNA. Chociaż 1,2-dichloropropan nie jest silnym mutagenem, w pewnych warunkach może powodować uszkodzenie DNA i chromosomów (tab. 7). Badanie zmian patologicznych u 16 drukarzy z CCA, związanych z ekspozycją na 1,2-dichloropropan i/lub dichlorometan, wykazało progresję od przewlekłego uszkodzenia dróg żółciowych z uszkodzeniem DNA w dużych drogach żółciowych, poprzez zmiany prekursorowe (śródna-błonkowa neoplazja dróg żółciowych [BiIN] i/lub wewnątrzprzewodowy brodawkowy nowotwór dróg żółciowych [IPNB]), do inwazyjnego raka (Kinoshita i in. 2016). W szczególności analiza immunohistochemiczna chirurgicznie wyciętych próbek

guzów CCA związanych z ekspozycją na DCP i/lub DCM wykazała zwiększoną liczbę pęknięć podwójnej nici DNA w zmianach prekursorowych (BiIIN i/lub IPNB) w porównaniu z przypadkami CCA związanymi z innymi przyczynami (np. kamicą wątrobową) (Sato i in. 2014). Sato i in. (2014) zasugerowali, że bezpośrednie uszkodzenie DNA jest spowodowane przez reaktywne metabolity sprzężone z glutationem, co przyczynia się do patogenezы CCA u ludzi zawodowo narażonych na 1,2-dichloropropan (i/lub dichlorometan), ponieważ badania dróg żółciowych, węzłów żółciowych i tkanki pęcherzyka żółciowego u ludzi wskazują na ekspresję GSTT1-1 oraz niską lub brak ekspresji CYP2E1. Ostatnie badania sugerują wzajemną komunikację między cholangiocyty a makrofagami po ekspozycji na DCP. Reakcje zapalne poprzez sygnalizację TNF- α , IL-1 β i IL-6, a także nadekspresja AID i produkcji ROS mogą prowadzić do nasilenia uszkodzeń DNA oraz proliferacji cholangiocytów, ale także makrofagów. Nagromadzenie tych ostatnich w miejscu urazu po ekspozycji na 1,2-dichloropropan może modulować reakcje zapalne, potencjalnie tworząc środowisko immunologiczne sprzyjające karcynogenezie dróg żółciowych (ECHA 2023).

Podobne wzorce ekspresji zaobserwowano również u szczurów i myszy (Sato i in. 2014), a wydalanie z żółcią metabolitów 1,2-dichloropropanu sprzężonych z glutationem obserwowano u gryzoni po podaniu drogą pokarmową (Toyoda i in. 2016). Dodatkowe badania na transgenicznym szczepie myszy wskazują, że metabolity są wydalone do żółci za pośrednictwem transportera błonowego ABCB2 (Toyoda i in. 2016).

Wyniki badań wskazują, że GSH bierze udział w metabolizmie, natomiast transferaza GSTT1 odgrywa jedynie podrzędną rolę w powstawaniu potencjalnie rakotwórczych metabolitów 1,2-dichloropropanu. Ponieważ GSTT1 wykryto w komórkach nabłonka dróg żółciowych gryzoni w dwóch doświadczeniach (Sato i in. 2014; Zhang i in. 2015) oraz w tkance ludzkiej w badaniach Sato i in. (2014) oraz Sherratt i in. (2002), a GSTT1 nie wydaje się być znacząco zaangażowany w metabolizm 1,2-dichloropropanu, nie jest możliwe wyjaśnienie braku guzów dróg żółciowych u gryzoni różnicami w poziomie ekspresji lub aktywności GSTT1.

Ze względu na potencjalną rolę wyczerpania glutationu w toksycznym działaniu 1,2-dichloropropanu osoby z genetycznym niedoborem dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PDH)

mogą być bardziej podatne na jego działanie toksyczne, szczególnie na wystąpienie niedokrwistości hemolitycznej.

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

1,2-Dichloropropan często był dostępny w postaci mieszanin z innymi chloroorganicznymi rozpuszczalnikami. W rozdziale „Działanie toksyczne na ludzi” opisano wiele przypadków zatrucia u ludzi stosujących rozpuszczalnik „Trielina”, zawierający różne ilości trichloroetanu i 1,2-dichloropropanu (Chiappino, Secchi 1968; Di Nucci i in. 1988; Perbellini i in. 1985). W handlu dostępna była również techniczna mieszanina dichloropropenów i dichloropropanu (w skrócie MIX D/D, nr CAS 8003-19-8) (IPCS 1993). MIX D/D zazwyczaj zawierał nie mniej niż 50% 1,3-dichloropropenu (stosunek izomerów cis- i trans- wynosił około 1:1), a pozostałymi składnikami były 1,2-dichloropropan i związki pokrewne oraz epichlorohydryna (~1%) jako stabilizator. Preparat był szeroko stosowany jako nematocyd glebowy przed sadzeniem. Od 2003 r. Unia Europejska, a także wielu krajów na świecie, zakazały stosowania 1,2-dichloropropanu jako pestycydu, stąd obecnie nie występuje już narażenie na takie mieszaniny.

Badania ostrej toksyczności MIX D/D prowadzone na zwierzętach wskazywały na umiarkowaną do wysokiej toksyczność. Wartość LD₅₀ wahała się od 132 mg/kg mc. do 2100 mg/kg mc. (w zależności od gatunku zwierzęcia), zaś LC₅₀ po narażeniu inhalacyjnym u szczurów wyniosła 4540 mg/m³. Ostra ekspozycja powodowała objawy związane z depresją ośrodkowego układu nerwowego, MIX D/D działał również silnie drażniąco na oczy i skórę, natomiast wykazywał umiarkowane działanie uczulające. U ludzi zgłoszono jeden przypadek ostrego, śmiertelnego zatrucia po przypadkowym spożyciu MIX D/D oraz kilka przypadków kontaktowego zapalenia i uczulenia skóry. Wydaje się jednak, że substancją odpowiedzialną za wyżej wymienione skutki był przede wszystkim 1,3-dichloropropen (IPCS 1993).

Na podstawie badań epidemiologicznych przeprowadzonych wśród japońskich drukarzy, u których doszło do rozwoju raka dróg żółciowych (CCA), można podejrzewać, że między 1,2-dichloropropanem a innymi chlorowanymi rozpuszczalnikami (np. dichlorometanem) może dojść do interakcji (Kubo i in. 2014a; 2014b; Kumagai i in.

2013; 2014; 2016; *Sobue i in.* 2015; *Yamada i in.* 2014; 2015a; 2015b). Dostępne dane są jednak niewystarczające do określenia, czy takie oddziaływanie występuje i/lub jaki ma charakter. U zwierząt łączną toksyczność 1,2-dichloropropanu oceniano w połączeniu z wieloma różnymi związkami, jednak w wielu przypadkach brakuje odpowiedniego projektu badania i/lub raportowania, aby niezależnie ocenić uzyskane wyniki. *Pozzani i in.* (1959) ustalili, że 1,2-dichloropropan wykazuje addytywne działanie toksyczne, gdy jest podawany drogą pokarmową lub wziewną szczurom w połączeniu z 1,1,2-trichloroetanem oraz gdy jest podawany w połączeniu zarówno z 1,2-dichloroetanem, jak i tetrachloroetylenem (oceniono LD50). *Drew i in.* (1978) stwierdzili, że wdychanie 1,2-dichloropropanu w połączeniu z trichloropropanem przez szczury nie powodowało efektu toksycznego większego niż addytywny w odniesieniu do zmian enzymatycznych w surowicy i wątrobie (podwyższone aktywności aminotransferaz ALAT, AspAT i karbamylu ornityny). *Sidorenko i in.* (1976; 1979) ustalili, że wdychanie 1,2-dichloropropanu wykazuje działanie addytywne u szczurów i myszy, gdy jest podawany w połączeniu z 1,2,3-trichloropropanem i tetrachloroetylenem, w odniesieniu do toksycznego wpływu na płuca, wątrobę i układ nerwowy. W kilku doświadczeniach oceniano potencjalne niepożądane skutki narażenia drogą wziewną, pokarmową lub dermalną na mieszaniny dichloropropanów i dichloropropenów (np. fumigant glebowy D-D), jednak badania te nie miały na celu oceny potencjalnych interakcji między składnikami chemicznymi (*Linnett i in.* 1988; *Parker i in.* 1982; *Shell Oil Co.* 1982; 1984).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Informacje na temat skutków narażenia ludzi na działanie 1,2-dichloropropanu (DCP) zamieszczono w rozdziale „Działanie toksyczne na ludzi”, w którym opisano toksyczność ostrą i podostrą, a także działanie drażniące i uczulające.

Informacje dotyczące zależności skutków toksycznych od poziomu narażenia w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach zamieszczono w rozdziale „Działanie toksyczne na zwierzęta”. Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabelach 3, 4 i 5.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Na skutek działań Komisji Europejskiej i jej Komitetu Doradczego ds. Bezpieczeństwa i Zdrowia w Miejscu Pracy (ACSH) Komitet ds. Oceny Ryzyka (RAC, ang. *Committee for Risk Assessment*) opracował dokumentację dotyczącą ustalenia wartości dopuszczalnych narażenia w miejscu pracy dla 1,2-dichloropropanu (ECHA 2023). Wynika to z dążenia do ustalenia wartości dopuszczalnych dla bezprogowych czynników rakotwórczych, do których należy 1,2-dichloropropanu. W 2025 r. przewidziane są zmiany w dyrektywie CMRD (dyrektywa w sprawie czynników rakotwórczych (C), mutagenów (M) i substancji reprotoksycznych (R)), związane z określeniem minimalnych wymagań dotyczących ochrony pracowników przed ryzykiem dla ich zdrowia i bezpieczeństwa, które wynika lub może wynikać z narażenia na czynniki rakotwórcze, mutageny lub substancje reprotoksyczne, między innymi dla 1,2-dichloropropanu (Dyrektywa 2022). Raport ECHA stał się podstawą do weryfikacji wartości NDS dla 1,2-dichloropropanu obowiązującej w Polsce.

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (2018) w Polsce obowiązuje wartość NDS dla 1,2-dichloropropanu wynosząca 50 mg/m³. Wartość ta została oparta na wynikach badań toksyczności podprzewlekłej u zwierząt narażanych drogą inhalacyjną, w których za skutek krytyczny przyjęto statystycznie znamienne zmniejszenie masy ciała, a w następstwie dalszego działania substancji – zmiany degeneracyjne nabłonka węchowego i stany zapalne krtani (*Gromadzińska, Wąsowicz* 2008). Normatywy higieniczne w środowisku pracy obowiązują także w wielu innych krajach i wynoszą od 4,6 mg/m³ (w Japonii) do 350 mg/m³ (w Austrii, Chinach, Danii, Francji, Szwajcarii i USA). W niewielu państwach obowiązują dodatkowo krótkoterminowe wartości normatywów, ale i w tym przypadku widoczne są duże rozbieżności (92 ÷ 1750 mg/m³) (tab. 8) (GESTIS ILV 2024).

Tabela 8. Normatywy higieniczne w wybranych państwach dla 1,2-dichloropropanu (DCP) (GESTIS ILV 2024)
Table 8. Occupational exposure limits for 1,2-dichloropropane in selected countries (DCP) (GESTIS-ILV 2024)

Państwo	Wartość NDS		Wartość NDSCh	
	ppm	mg/mł	ppm	mg/mł
Australia	75	347	110*	508*
Austria ^{a)}	75	350	375**	1750**
Belgia	10	47		
Chińska Republika Ludowa		350		500
Dania	75	350	150	700
Finlandia	10	46	20*	92*
Francja	75	350		
Hiszpania	10	47		
Irlandia	10	46		
Japonia (JSOH)	1	4,6		
Japonia (MHLW)	1			
Kanada - Ontario	10			
Kanada - Québec	10	46		
Korea Południowa	75		110*	
Norway	40	185		
Nowa Zelandia	5	23		
Polska		50		
Rumunia	22	100	44*	200*
Singapur	75	347	110	508
Szwajcaria	75	350		
USA – OSHA	75	350		
Węgry		50		100*

Objaśnienia:
^{a)} – wartość TRK, przyjęta w oparciu o możliwości techniczne.
* – średnia wartość z 15 min.
** – średnia wartość z 30 min.

Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

Działanie rakotwórcze 1,2-dichloropropanu zostało wykazane na podstawie badań przeprowadzonych w grupie pracowników zatrudnionych w japońskich drukarniach, w których stosowano 1,2-dichloropropan (*Kubo i in. 2014a; 2014b; Kumagai i in. 2013; 2014; 2016; Sobue i in. 2015; Yamada i in. 2014; 2015a; 2015b*). W grupie pracujących tam osób zgłaszano zwiększoną częstość występowania nowotworów dróg żółciowych. Nie są jednak dostępne wiarygodne dane dotyczące narażenia ludzi, a jedynie retrospektywnie oszacowano stężenia, na jakie pracownicy mogli być narażeni. Na podstawie istniejących danych nie jest zatem możliwe określenie zależności między narażeniem a ryzykiem zachorowania na raka dróg żółciowych u ludzi. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy należy założyć genotoksyczny, bezprogowy sposób działania substancji.

Badania rakotwórczości prowadzone na zwierzętach nie potwierdziły występowania nowotworów, które pojawiły się u ludzi. Jednak kilka badań wskazywało na działanie nowotworowe 1,2dichloropropanu także u zwierząt. W związku z powyższym szacowanie ryzyka wykonane przez RAC (ECHA 2023) oparto na 2-letnich badaniach inhalacyjnych prowadzonych na myszach, w których wykazano działanie rakotwórcze (powstawanie gruczolaków/raków oskrzelowo-pęcherzykowych) przy niskich dawkach (*Matsumoto i in. 2013*).

Szacowanie ryzyka gruczolaków/raków oskrzelowo-pęcherzykowych przez Komitet ds. Oceny Ryzyka (RAC) w 2023 r.

RAC w 2023 r. oszacował ryzyko wystąpienia gruczolaków/raków oskrzelowo-pęcherzykowych na podstawie badania *Matsumoto i in. (2013)*. Odnotowano częstość występowania raka u zwierząt w grupie narażonej na stężenie 1,2-dichloropropanu

wynoszące 32 ppm (152,4 mg/m³) na poziomie 18/50, w porównaniu z 9/50 w grupie kontrolnej. Jednak zależność dawka–odpowiedź nie nadawała się do modelowania dawki wzorcowej (BDM). Dlatego do identyfikacji punktu wyjścia dla gruczolaka/raka oskrzelowo-pęcherzykowego przy LOAEC = 32 ppm zastosowano T25, obliczone jako:

$$T25 = C \cdot \frac{REF}{GC - GK} \cdot \frac{1 - GK}{1} =$$

$$32 \text{ ppm} \cdot \frac{0,25}{18/50 - 9/50} \cdot \frac{1 - 9/50}{1} =$$

$$36,5 \text{ ppm (171,5 mg/m}^3\text{)}$$

gdzie:

- T25 – przewlekła dawka, która spowoduje powstanie guzów u 25% zwierząt w określonym miejscu tkanki, po korekcie o spontaniczne występowanie, w standardowym czasie życia tego gatunku,
- C – LOAEC dla gruczolaków/raków oskrzelowo-pęcherzykowych = 32 ppm,
- REF – referencyjna częstość występowania = 0,25,
- GC – częstość występowania nowotworów w grupie narażonej na 32 ppm = 18/50,
- GK – częstość występowania nowotworów w grupie kontrolnej (GK) = 9/50.

Wartość T25 dostosowano tak, aby odpowiadała warunkom narażenia pracowników (40 lat, 48 tyg./rok, 8 h/dzień oraz poprawka na objętość inhalacyjną dla pracowników wykonujących lekką aktywność fizyczną). Skalowanie allometryczne nie jest wymagane w przypadku ekspozycji inhalacyjnej.

$$T25(\text{pracownik}) =$$

$$171,5 \text{ mg/m}^3 \cdot \frac{75}{40 \text{ lat}} \cdot \frac{52}{48 \text{ tyg.}} \cdot \frac{6 \text{ h}}{8 \text{ h}} \cdot \frac{6,7 \text{ m}^3}{10 \text{ m}^3} =$$

$$175 \text{ mg/m}^3$$

Dodatkowe ryzyko zachorowania na raka w ciągu całego życia obliczono zgodnie z podejściem linearnym (ekstrapolacja od wysokiej do niskiej dawki).

Stężenie 1,2-dichloropropanu odpowiadające ryzyku $1 \cdot 10^{-5}$ wynosi:

$$\frac{175 \text{ mg/m}^3}{2500} = 0,007 \text{ mg/m}^3 (0,0015 \text{ ppm})$$

Niepewność

Narażenie pracowników na 1,2-dichloropropan jest związane z rzadkim typem raka dróg żółciowych (CCA). Ponieważ brak jest informacji na temat poziomów narażenia, dane te nie mogą być wykorzystane do ustalenia NDS ani do wyprowadzenia zależności narażenie–ryzyko (ERR, ang. *exposure-risk relationship*). Guzy dróg żółciowych nie były zgłaszane w przewlekłych badaniach inhalacyjnych na zwierzętach ani w badaniach z zastosowaniem drogi pokarmowej.

RAC uważa, że może istnieć znaczny poziom niepewności co do ryzyka zachorowania na raka u ludzi w ramach ERR, które obliczono na podstawie wyników dotyczących gruczolaka/raka płuc u szczurów, pochodzących z jednego badania. W szczególności ryzyko zachorowania na raka u ludzi może być niedoszacowane, ponieważ narządy docelowe są różne, a CCA nie znajduje odzwierciedlenia w doświadczeniach na zwierzętach.

Kolejna niepewność dotyczy jednoczesnego narażenia na dichlorometan i inne rozpuszczalniki w wielu, choć nie we wszystkich, przypadkach CCA. Niemniej jednak niektóre ze zgłoszonych przypadków były związane wyłącznie z ekspozycją na 1,2-dichloropropan.

Zależność pomiędzy narażeniem na 1,2-dichloropropan a ryzykiem wystąpienia dodatkowych przypadków CCA, przy uwzględnieniu wyżej wymienionych niepewności i założeniu narażenia przez 8 h dziennie, 5 dni w tygodniu przez 40 lat życia zawodowego, przedstawiono w tabeli 9.

1,2-Dichloropropan jest uważany za bezprogowy czynnik rakotwórczy. W związku z tym nie można określić dopuszczalnej wartości narażenia zawodowego ze względu na stan zdrowia. Zamiast tego ustalono zależność ekspozycja–ryzyko, jak opisano powyżej i przedstawiono w tabeli 9.

Aby dodatkowe ryzyko wystąpienia nowotworu dróg żółciowych mieściło się zakresie ryzyka akceptowalnego, tj. w przedziale $4 \cdot 10^{-4} \div 10^{-3}$, przy uwzględnieniu wyżej wspomnianych wątpliwości dotyczących rodzaju nowotworu, mechanizmu jego powstawania itp., wartość dopuszczalna powinna mieścić się w zakresie $0,28 \div 2,8 \text{ mg/m}^3$.

Stanowisko Komisji Europejskiej

Dyrekcja Generalna Komisji Europejskiej ds. Zatrudnienia, Spraw Społecznych i Włączenia Społecznego zleciła konsorcjum składającemu się z analityków ryzyka i polityki (RPA), Viegand

Tabela 9. Zależność między narażeniem na 1,2-dichloropropan (DCP) a ryzykiem wystąpienia nowotworu (gruczolaka oskrzelowo-pęcherzykowego/ raka) (ECHA 2023)

Table 9. Relationship between 1,2-dichloropropane (DCP) exposure and the risk of developing cancer (bronchioloalveolar adenoma/carcinoma) (ECHA 2023)

Nadmierne ryzyko zachorowania na raka w ciągu całego życia (przypadki na 100 000 narażonych)	Stężenie DCP w powietrzu	
	mg/m ³	ppm
1	0,007	0,0015
4	0,028	0,0059
40	0,28	0,059
400	2,8	0,59
4000	28	5,9

Tabela 10. Ocena skutków ustanowienia dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego

Table 10. Assessment of the effects of establishing occupational exposure limits

Wariant strategiczny	Wartość, mg/m ³
1 – najniższa krajowa (~mediana krajowa); jest to najniższa wartość dopuszczalna OEL obserwowana wśród państw członkowskich. Mediana wartości dopuszczalnej OEL zaobserwowana wśród państw członkowskich jest podobnej wielkości i wynosi 50 mg/m ³	46
2 – poziom średniozaawnsowany	28
3 – poziom nadmiernego ryzyka, wynoszącego 4:1 000	2,8
4 – poziom nadmiernego ryzyka, wynoszącego 4:10 000	0,28
5 – poziom nadmiernego ryzyka, wynoszącego 4:100 000	0,028

Maagøe, FoBiG Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe oraz NOVA, ocenę skutków ustanowienia dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego (OEL) dla 1,2-dichloropropanu (tab. 10). Celem badania było wsparcie ewentualnej zmiany dyrektywy 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed narażeniem na działanie czynników rakotwórczych, mutagenów lub substancji reprotoksycznych podczas pracy (dyrektywa w sprawie czynników rakotwórczych, mutagenów lub substancji reprotoksycznych, CMRD).

Wyliczenie wartości NDS

Przyjmując inne podejście do wyliczenia wartości NDS, uwzględniające nienowotworowe skutki działania 1,2dichloropropanu, można je oprzeć na 13-tygodniowym doświadczeniu na szczurach narażanych inhalacyjnie 6 h/dzień, 5 dni/tydzień (Nitschke i in. 1988). W badaniu tym obserwowano przerost nabłonka nosa i dróg oddechowych przy stężeniu 15 ppm (70,5 mg/m³) 1,2dichloropropanu. Wyliczona na tej podstawie wartość NDS będzie wynosiła:

$$\text{NDS} = \frac{\text{LOAEC}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{70,5 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2} = 4,41 \text{ mg/m}^3 \approx 4,4 \text{ mg/m}^3$$

Do wyznaczenia wartości NDS przyjęto następujące współczynniki niepewności:

- A = 2 współczynnik związany z wrażliwością osobniczą człowieka,
- B = 1 współczynnik związany z różnicami międzygatunkowymi (badanie na szczurach, droga inhalacyjna),
- C = 2 przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych (okres 13 tyg.),
- D = 2 do wyliczenia wartości NDS przyjęto wartość LOAEC zamiast NOAEC,
- E = 2 współczynnik modyfikacyjny (substancje rakotwórcza, Carc. 1B).

Wyliczona wartość NDS odpowiadałaby nadmiernemu ryzyku zachorowania na raka wynoszącemu około 630 przypadków na 100 000 narażonych pracowników (zgodnie z tab. 9). Taki nadmiar przypadków wystąpienia nowotworów nie mieści się w zakresie ryzyka akceptowalnego. Jednak ze względu na niepewności wskazane przez RAC, a ponadto inny metabolizm i często współlistniejące zakażenia pasożytnicze wśród osób pochodzenia azjatyckiego, wydaje się, że w populacji europejskiej ryzyko wystąpienia nowotworów zostało przeszacowane. Proponuje się zatem przyjąć wartość NDS dla 1,2-dichloropropanu na poziomie 4,4 mg/m³.

Ze względu na potencjalnie znaczący wkład w ogólne narażenie poprzez wchłanianie przez skórę należy oznakować substancję symbolem „skóra”. Ze względu na klasyfikację substancji jako potencjalnie rakotwórczej dla człowieka, potwierdzoną w badaniach przeprowadzonych u ludzi (Kubo i in. 2014a; 2014b; Kumagai i in. 2013; 2014; 2016; Sobue i in. 2015; Yamada i in. 2014; 2015a; 2015b), wskazujących na zwiększoną częstość występowania raka dróg żółciowych, należy oznakować substancję jako Carc. 1B.

Pomimo wskazań, że w przypadku ostrych zatruc 1,2-dichloropropan może działać umiarkowanie drażniąco, proponowana wartość NDS jest na tyle niska, aby zapobiec również potencjalnemu narażeniu chwilowemu. Dlatego też nie proponuje się ustalenia dla tej substancji najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh).

Wyliczenie wartości DSB

Jak opisano w rozdziale „Metabolizm, wydalanie”, głównym metabolitem 1,2-dichloropropanu zidentyfikowanym w moczu szczurów jest *N*-acetylo-*S*-(2-hydroksypropylo)-*L*-cysteina (2-HPMA). Jednak 2-HPMA nie jest specyficznym markerem ekspozycji na 1,2-dichloropropan, ponieważ jest również

metabolitem kilku innych związków, takich jak 1,2-epoksypopropan (tlenek propylenu), propylen i inne fluorowcopochodne propanu.

W pracach Kawai i in. (2015) oraz Park i in. (2020) wykazano, że u pracowników narażonych na 1,2-dichloropropan oznaczanie niezmienionej formy tej substancji w moczu bardzo dobrze odzwierciedla poziomy narażenia w powietrzu. Jednak najniższa średnia geometryczna stężenia w powietrzu, na jakie byli narażeni pracownicy, wyniosła 2,3 ppm (11 mg/m³), a odpowiadająca jej średnia geometryczna stężenia w moczu – 33,1 µg/l (Park i in. 2020). Wartości stężeń w powietrzu przekraczają zatem wartość proponowanego NDS (4,4 mg/m³). Nie ma danych ilościowych wskazujących, jakie stężenie niezmienionej formy w moczu odpowiadałoby takiemu stężeniu 1,2-dichloropropanu w powietrzu.

W związku z przytoczonymi danymi nie proponuje się ustalenia dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB).

PIŚMIENNICTWO

Ahrens W., Merletti F., Mirabelli D. (2014). Biliary tract cancer in male printers and typesetters in the European rare cancer case-control study. *Occup. Environ. Med.* 71(8), 591–592. DOI: 10.1136/oemed-2014-102322.

Akiba N., Shiizaki K., Matsushima Y. i in. (2017). Influence of GSH S-transferase on the mutagenicity induced by dichloromethane and 1,2-dichloropropane. *Mutagenesis*. 32(4), 455–462. DOI: 10.1093/mutage/gex014.

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2021). Toxicological profile for 1,2-dichloropropane. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Bartels M.J., Timchalk C. (1990). 1,2-Dichloropropane: investigation of the mechanism of mercapturic acid formation in the rat. *Xenobiotica* 20(10), 1035–1042. DOI: 10.3109/00498259009046824. PMID: 2082593.

Baruffini A., Cirila A.M., Pisati G. i in. (1989). Allergic contact dermatitis from 1,2-dichloropropane. *Contact Dermatitis* 20(5), 379–380. DOI: 10.1111/j.1600-0536.1989.tb03178.x. PMID: 2527719.

Berdasco N.M., Johnson K.A., Hanley T.R. (1988). Propylene dichloride: oral teratology probe study in New Zealand white rabbits with cover letter dated 100188. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 8D. OTS0516583. 86-890000004. (cyt. za ATSDR 2021).

Bruckner J.V., MacKenzie W.F., Ramanathan R. i in. (1989). Oral toxicity of 1,2-dichloropropane: acute, short-term, and long-term studies in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 12(4), 713–730. DOI: 10.1016/0272-0590(89)90003-1. PMID: 2744274.

Chiappino G., Secchi G.C. (1968). Descrizione di un caso di intossicazione acuta da ingestione accidentale di 1,2-dichloropropano venduto come trielina. *Med. Lav.* 59(5), 334–341. Italian. PMID: 5680815.

Chroust K., Pavlová M., Prokop Z. i in. (2007). Quantitative structure-activity relationships for toxicity and genotoxicity of halogenated aliphatic compounds: wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*. 67(1):152–159. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.09.020. Epub 2006 Nov 17. PMID: 17113125.

Conner E.H., Dubois A.B., Comroe J.H. Jr. (1962). Acute chemical injury of the airway and lungs. Experience with six cases. *Anesthesiology* 23:538–547. DOI: 10.1097/0000542-196207000-00013. PMID: 13880889.

- Crebelli R. i in. (1984). Induction of somatic segregation by halogenated aliphatic hydrocarbons in *Aspergillus nidulans*. *Mutat. Res.* 138(1), 33–38. DOI: 10.1016/0165-1218(84)90082-X. PMID: 6387478.
- De Lorenzo F. i in. (1977). Mutagenicity of pesticides containing 1,3-dichloropropene. *Cancer Res.* 37(6):1915–1917. PMID: 322862.
- Di Nucci A. i in. (1988). 1,2-Dichloropropane-induced liver toxicity: clinical data and preliminary studies in rats. *Arch. Toxicol.* 12:370–374.
- Dow Chemical Co. (1968). Hepatotoxic potency of propylene dichloride vapors relative to their narcotic and lethal potencies in mice. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 8D. OTS06134. 878210624. (cyt. za ATSDR 2021).
- Drew R.T., Patel J.M., Lin F.N. (1978). Changes in serum enzymes in rats after inhalation of organic solvents singly and in combination. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45(3), 809–819. DOI: 10.1016/0041-008X(78)90172-2.
- Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2022/431 z dnia 9 marca 2022 r. zmieniająca dyrektywę 2004/37/WE w sprawie ochrony pracowników przed zagrożeniem dotyczącym narażenia na działanie czynników rakotwórczych lub mutagenów podczas pracy. PE/89/2021/REV/2. Dz. Urz. L 88 z 16.3.2022, s. 1–14.
- ECHA (2023). Annex 1 for evaluation of limit values for 1,2-dichloropropane at the workplace. Prepared by the European Chemicals Agency 16 March 2023. <https://echa.europa.eu/documents/10162/932155c2-b8a3-f111-7f0a-71d14c17b590#:~:text=%EE%80%80Annex%201.%20for%20evaluation> [dostęp: 17.06.2025].
- ECHA (2024). European Chemicals Agency. 1,2-dichloropropane: Substance Infocard/Registration dossier/ Brief Profile. <https://echa.europa.eu/pl/substance-information/-/substanceinfo/100.001.048> [dostęp: 17.06.2025].
- EPA (2016). Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for 1,2-Dichloropropane (CASRN 78-87-5). U.S. Environmental Protection Agency, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development. <https://assessments.epa.gov/risk/document/&deid=340015> [dostęp: 30.06.2025].
- Exxon (1981a). Acute oral toxicity study in rats. Exxon Chemical Americas. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 8D. OTS0206271. 878211458 (cyt. za: ATSDR 2021).
- Exxon (1981b). Acute dermal toxicity study in rabbits with cover letter. Exxon Chemical Americas. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 8D. OTS0206271. 878211458. (cyt. za: ATSDR 2021).
- Fan A.M., Alexeeff G.V. (1999). Public Health Goal for 1,2-Dichloropropane in Drinking Water. Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency.
- Fiaccadori E. i in. (2003). Acute renal and hepatic failure due to accidental percutaneous absorption of 1,2-dichloropropane contained in a commercial paint fixative. *Nephrol. Dial. Transplant.* 18(1), 219–220. DOI: 10.1093/ndt/18.1.219. PMID: 12480995.
- Fiserova-Bergerova V., Pierce J.T., Droz P.O. (1990). Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am. J. Ind. Med.* 17(5), 617–635. DOI: 10.1002/ajim.4700170507. PMID: 2337085.
- GESTIS (2024). Substance Database. <https://gestis-database.dguv.de/data?name=013500> [dostęp: 27.05.2025].
- GESTIS ILV (2024). <https://ilv.ifa.dguv.de/limitvalues/19758> [dostęp: 27.05.2025].
- Ghittori S. i in. (1987). The urinary concentration of solvents as a biological indicator of exposure: proposal for the biological equivalent exposure limit for nine solvents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48(9), 786–790. DOI: 10.1080/15298668791385570.
- Gi M., Fujioka M., Yamano S. i in. (2015). Determination of hepatotoxicity and its underlying metabolic basis of 1,2-dichloropropane in male Syrian hamsters and B6C3F1 mice. *Toxicol. Sci.* 145(1), 196–208. DOI: 10.1093/toxsci/kfv045. Epub 2015 Feb 20. PMID: 25711234; PMCID: PMC4833043.
- GIS (2024). Zestawienie zbiorcze danych dotyczących ekspozycji pracowników na wybrane substancje chemiczne w latach 2022–2023. Główny Inspektorat Sanitarny (dane niepublikowane).
- Gonzalez F.J., Gelboin H.V. (1994). Role of human cytochromes P450 in the metabolic activation of chemical carcinogens and toxins. *Drug Metab. Rev.* 26(1–2), 165–183. DOI: 10.3109/03602539409029789.
- Gorzinski S.J., Johnson K.A. (1989). Neurotoxicologic examination of Fischer 344 rats exposed to 1,2-dichloropropane (DCP) via gavage for 2 weeks. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 8D. OTS0517725. 86-890000125 (cyt. za ATSDR 2021).
- Greim H. (red.) (1998). 1,2-Dichloropropane. MAK Value Documentation, 1993. [W:] Occupational Toxicants. Volume 9. Weinheim: Wiley-VCH. 21–39. DOI: 10.1002/3527600418.mb7887e0009.
- Gromadzińska J., Wąsowicz W. (2008). 1,2-Dichloropropan. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *PiMOŚ.* 2(56), 49–71.
- Grzywa Z., Rudzki E. (1981). Dermatitis from dichloropropane. *Contact Dermatitis.* 7(3), 151–152.
- Guengerich F.P., Kim D.-H., Iwasaki M. (1991). Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem. Res. Toxicol.* 4(2), 168–179. DOI: 10.1021/tx00020a008.
- Hartwig A., MAK Commission (2022). 1,2-Dichloropropane. MAK Value Documentation, supplement – Translation of the German version from 2021. MAK Collect. *Occup. Health Saf.* 7(4), Doc073. DOI: 10.34865/mb7887e7_4ad.

Hirata T. i in. (2017). Lack of in vivo mutagenicity of 1,2-dichloropropane and dichloromethane in the livers of gpt delta rats administered singly or in combination. *J. Appl. Toxicol.* 37, 683–691.

IARC (2016). Some Chemicals Used as Solvents and in Polymer Manufacture: Perfluorooctanoic Acid, Tetrafluoroethylene, Dichloromethane, 1,2-Dichloropropane, and 1,3-Propane Sulfone. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer. Vol. 110, 141–175.

Imberti R., Calabrese S.R., Emilio G. i in. (1987). Intossicazione acuta da solventi: idrocarburi alifatici clorurati [Acute poisoning with solvents: chlorinated aliphatic hydrocarbons]. *Minerva Anestesiol.* 53(6), 399–403. Italian. PMID: 3444546.

Imberti R., Mapelli A., Colombo P. i in. (1990). 1,2-Dichloropropane (DCP) toxicity is correlated with DCP-induced glutathione (GSH) depletion and is modulated by factors affecting intracellular GSH. *Arch. Toxicol.* 64(6), 459–465. DOI: 10.1007/BF01977627. PMID: 1980407.

IMP (2024). Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszaniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym. Instytut Medycyny Pracy w Łodzi (dane niepublikowane).

IPCS (1993). 1,3-Dichloropropene, 1,2-Dichloropropane and Mixtures. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 146. WHO, Geneva.

Jin M., Hong Y., Lee H. i in. (2019). 1,2-Dichloropropane (1,2-DCP)-induced angiogenesis in dermatitis. *Toxicol. Res.* 35(4), 361–369. DOI: 10.5487/tr.2019.35.4.361.

Johnson K.A., Gorzinski S.J. (1988). Letter from Dow Chemical Company to US EPA regarding submission of final study reports for 1,2-dichloropropane with attachments. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 4. OTS0527733. 40-8867156. (cyt. za ATSDR 2021).

Kawai T., Mitsuyoshi K., Ikeda M. (2015). Promising biological monitoring for occupational 1,2-dichloropropane exposure by urinalysis for unmetabolized solvent. *J. Occup. Health.* 57(2), 197–199. DOI: 10.1539/joh.14-0234-OA. Epub 2015 Jan 20. PMID: 25735626.

Kennedy G.L. Jr, Graepel G.J. (1991). Acute toxicity in the rat following either oral or inhalation exposure. *Toxicol. Lett.* 56(3), 317–326. DOI: 10.1016/0378-4274(91)90160-8. PMID: 2035177.

Kinoshita M., Kubo S., Nakanuma Y. i in. (2016). Pathological spectrum of bile duct lesions from chronic bile duct injury to invasive cholangiocarcinoma corresponding to bile duct imaging findings of occupational cholangiocarcinoma. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 23, 92–101. DOI: 10.1002/jhbp.305.

Kirk H.D., Berdasco N.M., Breslin W.J. i in. (1995). Developmental toxicity of 1,2-dichloropropane (PDC) in rats and rabbits following oral gavage. *Fundam. Appl. Toxicol.* 28(1), 18–26. DOI: 10.1006/faat.1995.1141. PMID: 8566479.

Kirk H.D., Hanley T.R., Bond D.M. i in. (1990). Propylene dichloride: Two-generation reproduction study in Sprague-Dawley rats (final) with cover letter. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 4. OTS0527738. 40-9067215 (cyt. za ATSDR 2021).

Kirk H.D., Hanley T.R.J., Johnson K.A. i in. (1989). Propylene dichloride: Oral teratology study in Sprague Dawley rats with cover letter. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 4. OTS0527712. 40-8967191 (cyt. za ATSDR 2021).

Kubo S. i in. (2014a). Characteristics of printing company workers newly diagnosed with occupational cholangiocarcinoma. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 21(11), 809–817. DOI: 10.1002/jhbp.137. Epub 2014 Aug 3. PMID: 25088751.

Kubo S. i in. (2014b). Case series of 17 patients with cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 21(7), 479–488. DOI: 10.1002/jhbp.86. Epub 2014 Jan 13. PMID: 24420816.

Kubo S., Matsuzaki K., Seki T. i in. (2015). Severe acute hepatitis in a printing company worker: a case study. *J. Occup. Health.* 57(1), 87–90. DOI: 10.1539/joh.14-0122-CS. Epub 2014 Nov 19. PMID: 25410269.

Kumagai S. (2014). Two offset printing workers with cholangiocarcinoma. *J. Occup. Health.* 56(2), 164–168. DOI: 10.1539/joh.13-0262-CS. Epub 2014 Feb 19. PMID: 24553624.

Kumagai S., Kurumatani N., Arimoto A., Ichihara G. (2013). Cholangiocarcinoma among offset colour proof-printing workers exposed to 1,2-dichloropropane and/or dichloromethane. *Occup. Environ. Med.* 70(7), 508–510. DOI: 10.1136/oemed-2012-101246. Epub 2013 Mar 14. PMID: 23493378.

Kumagai S. i in. (2016). Relationship between cumulative exposure to 1,2-dichloropropane and incidence risk of cholangiocarcinoma among offset printing workers. *Occup. Environ. Med.* 73(8), 545–552. DOI: 10.1136/oemed-2015-103427. Epub 2016 Jul 1. PMID: 27371662.

Kwak K.M. i in. (2018). Acute toxic encephalopathy induced by occupational exposure to 1,2-dichloropropane. *Ind. Health.* 56(6), 561–565. DOI: 10.2486/indhealth.2018-0118. Epub 2018 Jul 3. PMID: 29973469; PMCID: PMC6258745.

Larcan A., Lambert H., Laprevote M.C. (1977). Acute poisoning induced by dichloropropane. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)*. 41(Suppl. 2), 330. PMID: 302583.

Linnett S.L. i in. (1988). Effects of subchronic inhalation of D-D (1,3-dichloropropene/1,2-dichloropropane) on reproduction in male and female rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 10(2), 214–223. DOI: 10.1016/0272-0590(88)90305-3. PMID: 3356308.

Lucantoni C., Grottoli S., Gaetti R. (1992). 1,2-Dichloropropane is a renal and liver toxicant. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 117:133. DOI: 10.1016/0041-008X(92)90228-K.

Matsumoto M., Umeda Y., Take M. i in. (2013). Subchronic toxicity and carcinogenicity studies of 1,2-dichloropropane.

ne inhalation to mice. *Inhal. Toxicol.* 25(8), 435–443. DOI: 10.3109/08958378.2013.800618. Epub 2013 Jul 1. PMID: 23808637.

Matsumoto T., Okura Y., Okawa Y. i in. (1982). Acute toxicity testing of some chlorinated lower hydrocarbons: dichloromethane, 1,2-dichloropropane and 1,3-dichloropropane. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health* (Eisei Kagaku). 28:e31.

Mimaki S., Totsuka, Y., Suzuki, Y. i in. (2016). Hypermutation and unique mutational signatures of occupational cholangiocarcinoma in printing workers exposed to haloalkanes. *Carcinogenesis*. 37(8):817–826. DOI: 10.1093/carcin/bgw066. Epub 2016 Jun 7. PMID: 27267998; PMCID: PMC4967217.

Mimaki S., Totsuka, Y., Suzuki, Y. i in. (2020). Multifocal origin of occupational cholangiocarcinoma revealed by comparison of multilesion mutational profiles. *Carcinogenesis*. 41(3):368–376. DOI: 10.1093/carcin/bgw120. PMID: 31228243.

Myhr B.C., Caspary W.J. (1991). Chemical mutagenesis at the thymidine kinase locus in L5178Y mouse lymphoma cells: results for 31 coded compounds in the National Toxicology Program. *Environ. Mol. Mutagen.* 18(1), 51–83. DOI: 10.1002/em.2850180109. PMID: 1864269.

Nitschke K.D., Johnson K.A., Wackerle D.L. i in. (1988). Final report on propylene dichloride 13-week inhalation toxicity study with rats, mice and rabbits with cover letter dated 032888. Dow Chemical Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section FYI. OTS0000399-1. FYI-OTS-0488-0399. (cyt. za: ATSDR 2021).

Nitschke K.D., Johnson K.A. (1983). Propylene dichloride: One day and two week inhalation toxicity in rats, mice, and rabbits. Midland, MI: Dow Chemical Company. (cyt. za: ATSDR 2021).

NTP (1986). Toxicology and carcinogenesis studies of 1,2-dichloropropane (propylene dichloride) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program. TR-263. https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr263.pdf.

OECD (2003). 1,2-Dichloropropane. SIDS Initial Assessment Report from SIAM 17. Arona, Italy, 11–15 November 2003.

Okamoto E., Kikuchi K., Endo G. (2013). Prevalence of bile duct cancer among printing industry workers in comparison with other industries. *J. Occup. Health*. 55(6), 511–515. DOI: 10.1539/joh.13-0067-BR. Epub 2013 Sep 10. PMID: 24025857.

Park C.S. Kim H.-S., Ahn Y.-S. i in. ((2020). Validation of urinary 1,2-dichloropropane concentration as a biological exposure index for workers exposed to 1,2-dichloropropane. *Ann. Occup. Environ. Med.* 32:e24. DOI: 10.35371/aoem.2020.32.e24. PMID: 32802340; PMCID: PMC7406666.

Parker C.M., Coate W.B., Voelker R.W. (1982). Subchronic inhalation toxicity of 1,3-dichloropropene/1,2-dichloropropane (D-D) in mice and rats. *J. Toxicol. Environ. Health*. 9(5–6), 899–910. DOI: 10.1080/15287398209530212.

Perbellini L., Zedde A., Schiavon R. i in. (1985). Sindrome da coagulazione intravasale disseminata (DIC) da 1,2-dicloropro-

pano (trielina commerciale). Descrizione di 2 casi [Disseminated intravascular coagulation (DIC) caused by 1,2-dichloropropane (commercial trielin). Description of 2 cases]. *Med. Lav.* 76(5), 412–417. Italian. PMID: 4088123.

Pozzani U.C., Weil C.S., Carpenter C.P. (1959). The toxicological basis of threshold limit values: 5. The experimental inhalation of vapor mixtures by rats, with notes upon the relationship between single dose inhalation and single dose oral data. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 20, 364–369. DOI: 10.1080/00028895909343733. PMID: 14434607.

Pozzi C., Marai P., Ponti R. i in. (1985). Toxicity in man due to stain removers containing 1,2-dichloropropane. *Br. J. Ind. Med.* 42(11), 770–772. DOI: 10.1136/oem.42.11.770. PMID: 4063220; PMCID: PMC1007575.

Principe P., Dogliotti E., Bignami M. i in. (1981). Mutagenicity of chemicals of industrial and agricultural relevance in *Salmonella*, *Streptomyces* and *Aspergillus*. *J. Sci. Food Agric.* 32(8), 826–832. DOI: 10.1002/jsfa.2740320812.

PubChem (2024). 1,2-Dichloropropane. Compound Summary. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6564>.

Rosberg M., Lendle W., Pfeleiderer G. i in. (2006). Chlorinated Hydrocarbons. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. *Dz.Urz. L* 353 z 31.12.2008, s. 1–1389, ze zm.

Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. *Dz.U* 2018, poz. 1286, z późn. zm.

Rubin D.F. (1988) Occupational health implications of a toxic spill of propylene dichloride. *West. J. Med.* 148(1), 78–9. PMID: 18750370; PMCID: PMC1026024.

Sato Y., Kubo S., Takemura S. i in. (2014). Different carcinogenic process in cholangiocarcinoma cases epidemically developing among workers of a printing company in Japan. *Int J Clin Exp Pathol.* 7(8), 4745–54. PMID: 25197345; PMCID: PMC4152035.

Seeherunwong A., Chaiear N., Khuntikeo N. i in. (2022). The Proportion of Occupationally Related Cholangiocarcinoma: A Tertiary Hospital Study in Northeastern Thailand. *Cancers* (Basel). 14(10), 2386. DOI: 10.3390/cancers14102386. PMID: 35625989; PMCID: PMC9139931.

Sekiguchi S., Suda M., Zhai Y.L. i in. (2002). Effects of 1-bromopropane, 2-bromopropane, and 1,2-dichloropropane on the estrous cycle and ovulation in F344 rats. *Toxicol Lett.* 126(1), 41–9. DOI: 10.1016/S0378-4274(01)00429-5. PMID: 11738269.

Shell Oil Co. (1982). Toxicology of fine chemicals. The acute oral and percutaneous toxicity, skin and eye irritancy and skin sensitizing potential of 1,2-dichloropropane (light-ends). Shell

- Oil Company. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCATS, Section 8D. OTS0205965. 878212009. (cyt. za: ATSDR 2021).
- Shell Oil Co. (1984). 1,2-Dichloropropane: An assessment of ready biodegradability with cover letter dated 103086. Shell Oil Company. Submitted to U.S. EPA under TSCA Section 8D. OTS0513371. 86870000025. (cyt. za: ATSDR 2021).
- Sherratt P.J., Williams S., Foster J. i in. (2002). Direct comparison of the nature of mouse and human GST T1-1 and the implications on dichloromethane carcinogenicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 179(2), 89–97. DOI: 10.1006/taap.2002.9348.
- Sidorenko G.I., Tsulaya V.R., Bonashevskaya T.I. i in. (1979). Study of the combined action of a group of chlorine derivatives of hydrocarbons entering the organism by inhalation. *Environ Health Perspect.* 30, 13–18. DOI: 10.1289/ehp.793013.
- Sidorenko G.I., Tsulaya V.R., Korenevskaya E.I. i in. (1976). Methodological approaches to the study of the combined effect of atmospheric pollutants as illustrated by chlorinated hydrocarbons. *Environ Health Perspect.* 13, 111–116. DOI: 10.1289/ehp.7613111.
- Smyth H.F. Jr., Carpenter C.P., Weil C.S. i in. (1969). Range-finding toxicity data: List VII. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 30(5), 470–6. DOI: 10.1080/00028896909343157. PMID: 5823428.
- Sobue T., Utada M., Makiuchi T. i in. (2015). Risk of bile duct cancer among printing workers exposed to 1,2-dichloropropane and/or dichloromethane. *J. Occup. Health.* 57, 230–6. DOI: 10.1539/joh.14-0116-OA.
- Suzuki T., Yanagiba Y., Suda M. i in. (2014). Assessment of the Genotoxicity of 1,2-Dichloropropane and Dichloromethane after Individual and Co-exposure by Inhalation in Mice. *J. Occup. Health.* 56, 205–214. DOI: 10.1539/joh.13-0236-OA.
- Take M., Matsumoto M., Takeuchi T. i in. (2014). Inhalation exposure to 1,2-dichloropropane: Distribution of blood and tissue concentrations of 1,2-dichloropropane in rats during and after exposure. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 49(12), 1341–8. doi: 10.1080/10934529.2014.928193. PMID: 25072765.
- Take M., Takeuchi T., Hirai S. i in. (2017). Distribution of 1,2-dichloropropane in blood and other tissues of rats after oral administration. *J. Toxicol. Sci.* 42, 121–128. DOI: 10.2131/jts.42.121.
- Timchalk C., Dryzga M.D., Smith F.A. i in. (1991). Disposition and metabolism of [14C]1,2-dichloropropane following oral and inhalation exposure in Fischer 344 rats. *Toxicol.* 68(3), 291–306. DOI: 10.1016/0300-483X(91)90076-D. PMID: 1897000.
- Toyoda Y., Takada T., Suzuki H. (2016). Halogenated hydrocarbon solvent-related cholangiocarcinoma risk: biliary excretion of glutathione conjugates of 1,2-dichloropropane evidenced by untargeted metabolomics analysis. *Sci. Rep.* 6, 24586. DOI: 10.1038/srep24586.
- Toyooka T., Yanagiba Y., Suda M. i in. (2017). 1,2-Dichloropropane generates phosphorylated histone H2AX via cytochrome P450 2E1-mediated metabolism. *Toxicol. Lett.* 272, 60–67. DOI: 10.1016/j.toxlet.2017.03.009. Epub 2017 Mar 12. PMID: 28300663.
- Umeda Y., Matsumoto M., Aiso S. i in. (2010). Inhalation carcinogenicity and toxicity of 1,2-dichloropropane in rats. *Inhal. Toxicol.* 22(13), 1116–26. DOI: 10.3109/08958378.2010.526973. PMID: 21070183.
- Vitali M., Ensabella F., Stella D. i in. (2006). Exposure to organic solvents among handicraft car painters: A pilot study in Italy. *Ind. Health.* 44(2), 310–7. DOI: 10.2486/indhealth.44.310. PMID: 16716010.
- Vlaanderen J., Straif K., Martinsen J.I. i in. (2013). Cholangiocarcinoma among workers in the printing industry: using the NOCCA database to elucidate the generalisability of a cluster report from Japan. *Occup. Environ. Med.* 70(12), 828–30. DOI: 10.1136/oemed-2013-101500. Epub 2013 Aug 28. PMID: 24142991.
- von der Hude W., Scheutwinkel M., Gramlich U. i in. (1987). Genotoxicity of three-carbon compounds evaluated in the SCE test in vitro. *Environ. Mutagen.* 9(4), 401–10. DOI: 10.1002/em.2860090406. PMID: 3582297.
- Wang H., Chen J., Suda M. i in. (2019). Acute inhalation co-exposure to 1,2-dichloropropane and dichloromethane cause liver damage by inhibiting mitochondrial respiration and defense ability in mice. *J. Appl. Toxicol.* 39(2), 260–270. DOI: 10.1002/jat.3715. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30240022.
- Woolhiser M., Anderson P. (2003). 1,2-dichloropropane (propylene dichloride): Local lymph node assay in BALB/C mice. Unpublished report for The Dow Chemical Company, Midland, MI. (cyt. za: OECD 2003).
- Yamada K., Kumagai S., Endo G. (2015a). Chemical exposure levels in printing workers with cholangiocarcinoma (second report). *J. Occup. Health.* 57(3), 245–52. DOI: 10.1539/joh.14-0239-OA. Epub 2015 Feb 14. PMID: 25739405.
- Yamada K., Kumagai S., Kubo S. i in. (2015b). Chemical exposure levels in printing and coating workers with cholangiocarcinoma (third report). *J. Occup. Health.* 57(6), 565–71. DOI: 10.1539/joh.15-0170-OA. Epub 2015 Oct 7. PMID: 26447094; PMCID: PMC6706177.
- Yamada K., Kumagai S., Nagoya T. (2014). Chemical exposure levels in printing workers with cholangiocarcinoma. *J. Occup. Health* 56(5), 332–8. DOI: 10.1539/joh.14-0073-OA. Epub 2014 Jul 25. PMID: 25069896.
- Yasunaga K., Kiyonari A., Oikawa T. i in. (2004). Evaluation of the Salmonella umu test with 83 NTP chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.* 44(4), 329–45. DOI: 10.1002/em.20053. PMID: 15476194.
- Zhang L., Zong C., Ichihara S. i in. (2015). A trial to find appropriate animal models of dichloropropane-induced cholan-

giocarcinoma based on the hepatic distribution of glutathione S-transferases. *J. Occup. Health.* 57(6), 548–54. DOI: 10.1539/joh.15-0085-OA. Epub 2015 Sep 29. PMID: 26423826; PMCID: PMC6706214.

Zhang X., Zong C., Zhang L. i in. (2018). Exposure of mice to 1,2-dichloropropane induces CYP450 dependent proliferation and apoptosis of cholangiocytes. *Toxicol. Sci.* 162(2), 559–569. DOI: 10.1093/toxsci/kfx272.

Zong C., Kimura Y., Kinoshita K. i in. (2019). Exposure to 1,2-Dichloropropane Upregulates the Expression of Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) in Human Cholangiocytes Co-Cultured with Macrophages. *Toxicol. Sci.* 168(1), 137–148. DOI: 10.1093/toxsci/kfy280. PMID: 30452740.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA 1,2-DICHLOROPROPAN

dr n. med. Marcin Rybacki
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze szczególnym zwróceniem uwagi na wątrobę, skórę, śluzówki dróg oddechowych.

Badania pomocnicze: AST, ALT, GGTP, bilirubina całkowita we krwi, morfologia.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze szczególnym zwróceniem uwagi na wątrobę, skórę, śluzówki dróg oddechowych.

Badania pomocnicze: AST, ALT, GGTP, bilirubina całkowita we krwi, morfologia.

Częstotliwość badań okresowych: co 2 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

Narządy (układy) krytyczne

Narządem (układem) krytycznym podczas pracy w narażeniu na 1,2-dichloropropan jest wątroba.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na 1,2-dichloropropan są choroby przebiegające ze znacznym upośledzeniem funkcji wątroby.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy. O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

W narażeniu na 1,2-dichloropropan nie wolno zatrudniać pracowników odciążanych, kobiet w ciąży i karmiących piersią, ponieważ jest substancją mogącą powodować raka (Carc. 1B).



D-limonen

Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1,2}

D-limonene

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

MAGDALENA PONICKA

<https://orcid.org/0009-0006-2651-1986>

e-mail: magdalena.ponicka@imp.lodz.pl

prof. dr hab. JOANNA JUREWICZ

<https://orcid.org/0000-0001-9645-0134>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera w Łodzi

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

NDS	60 mg/m ³
NDSch	120 mg/m ³
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono
I	substancja drażniąca
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 24-26.09.2025 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 18.06.2026 r.

Streszczenie

D-limonen jest związkem organicznym należącym do grupy monoterpenu. Jest cieczą o charakterystycznym cytrusowym zapachu, bardzo słabo rozpuszczalną w wodzie, natomiast dobrze rozpuszczalną w tłuszczach oraz rozpuszczalnikach organicznych. D-limonen otrzymuje się ze skórek owoców cytrusowych metodą destylacji z parą wodną lub ekstrakcji z użyciem rozpuszczalników organicznych. Stanowi surowiec szeroko wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym, spożywczym, poligraficznym oraz elektronicznym. Ze względu na zdolność rozpuszczania tłuszczów jest składnikiem profesjonalnych preparatów do czyszczenia rąk, stosowanych m.in. w warsztatach samochodowych. W warunkach narażenia zawodowego kontakt z D-limonenem może następować drogą inhalacyjną oraz przez skórę. D-limonen został zaklasyfikowany jako substancja działająca drażniąco i uczulająco na skórę oraz stwarzająca zagrożenie związane z aspiracją. Wyniki badań wskazują na stosunkowo niską toksyczność ostrą D-limonenu. Przewlekłe podawanie D-limonenu drogą pokarmową powodowało u szczurów obu płci powiększenie wątroby, natomiast u samców rozwój nefropatii związanej z odkładaniem α₂-globuliny. U psów rasy Beagle również stwierdzono zmiany w nerkach, jednak nie miały one charakteru nefropatii α₂-globulinowej. U pracowników narażonych zawodowo na D-limonen opisywano przypadki podrażnienia skóry oraz alergicznego kontaktowego zapalenia skóry. Dostępne dane nie wskazują na działanie rakotwórcze,

¹ Wartość NDS D-limonenu została w dniu 18.06.2026 r. przyjęta na 114. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynniki Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 130) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr III PN.04 pt.: „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

mutagenne ani reprotoksyczne D-limonenu u ludzi. Zmiany nowotworowe związane z mechanizmem zależnym od $\alpha 2\mu$ -globuliny obserwowano wyłącznie u samców szczurów i nie są one uznawane za istotne z punktu widzenia oceny ryzyka dla ludzi. Za skutek krytyczny działania D-limonenu uznano podrażnienie sensoryczne górnych dróg oddechowych. Uwzględniono również działanie hepatotoksyczne i nefrotoksyczne obserwowane w badaniach na zwierzętach. Na podstawie wyników przeprowadzonych obliczeń oraz analizy obowiązujących wartości normatywów higienicznych w innych krajach zaproponowano przyjęcie wartości NDS na poziomie 60 mg/m^3 oraz wartości NDSC_h wynoszącej 120 mg/m^3 . Ze względu na możliwość wchłaniania D-limonenu przez skórę zaproponowano oznaczenie substancji notacją „skóra” oraz adnotacją „I”, wskazującą na jej działanie drażniące. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia związane ze zdrowiem oraz bezpieczeństwem i higieną pracy, będące przedmiotem badań w obszarze nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: D-limonen, narażenie zawodowe, najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS), środowisko pracy, podrażnienie sensoryczne, alergia kontaktowa.

Abstract

D-limonene is an organic compound belonging to the monoterpene group. It is a liquid with a characteristic citrus odor, sparingly soluble in water but easily soluble in fats and organic solvents. D-limonene is obtained from citrus peels by steam distillation or solvent extraction. It is widely used in the cosmetic, food, printing and electronics industries. Owing to its excellent fat-dissolving properties, it is a component of professional hand-cleaning products used, among others, in automotive workshops. Occupational exposure to D-limonene may occur by inhalation and through dermal contact. D-limonene is classified as a skin irritant, skin sensitizer and aspiration hazard. Research findings indicate that D-limonene has relatively low acute toxicity. Repeated oral administration in rats resulted in liver enlargement in both sexes and $\alpha 2\mu$ -globulin-associated nephropathy in males. Renal changes were also observed in Beagle dogs; however, these were not characteristic of $\alpha 2\mu$ -globulin nephropathy. Cases of skin irritation and allergic contact dermatitis have been reported in workers occupationally exposed to D-limonene. The available evidence does not indicate carcinogenic, mutagenic or reproductive toxicity in humans. Neoplastic lesions associated with the $\alpha 2\mu$ -globulin mechanism have been observed only in male rats and are not considered relevant to human health risk assessment. Sensory irritation of the upper respiratory tract was identified as the critical effect of D-limonene exposure. Hepatotoxic and nephrotoxic effects observed in animal studies were also taken into consideration. Based on the calculations performed and an analysis of the occupational exposure limits established in other countries, an occupational exposure limit (OEL) of 60 mg/m^3 and a short-term exposure limit (STEL) of 120 mg/m^3 were proposed. Owing to the potential for dermal absorption, assignment of the "skin" notation and the "I" notation (irritant substance) was also recommended. The scope of the article covers issues related to health and occupational safety and hygiene, which are the subject of research in the fields of health sciences and environmental engineering.

Keywords: D-limonene, occupational exposure, occupational exposure limit (OEL), working environment, sensory irritation, allergic contact dermatitis.

Adres do korespondencji/Contact details: Magdalena Ponicka, Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, 91-348 Łódź, ul. Świętej Teresy od Dzieciątka Jezus 8, e-mail: magdalena.ponicka@imp.lodz.pl

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

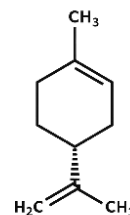
Ogólna charakterystyka substancji

D-limonen jest związkiem organicznym należącym do grupy monoterenów.

Ogólna charakterystyka D-limonenu:

- nazwa chemiczna (R)-*p*-menta-1,8-dien
- wzór sumaryczny $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$

– wzór strukturalny



- masa cząsteczkowa 136,23 g/mol
- numer CAS 5989-27-5
- numer WE 227-813-5
- numer indeksowy 601-096-00-2

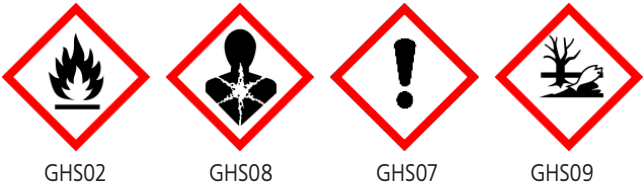
– synonimy:	D-limonene; (+)-Limonene; (R)-(+)-Limonene; (R)-(+)-para-mentha- -1,8-diene; (+)-Dipentene; (R)-4-isopropenyl- -1-methyl-1-cyclohexene	– nazwa wg IUPAC (4R)-1-methyl-4- -(prop-1-en-2-yl)cyclohex- -1-ene (ECHA 2023).
nazwy handlowe:	D-limonen; D-limonene; Orange Terpenes; Aceite de limoneno de naranja; Citrus Terpenes; CLEARON M105; Piccolyte C115; YS RESIN PX1150	Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającym i uchylającym dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008, ze zm.), D-limonen posiada zharmonizowaną klasyfikację zgodnie z tabelą 3 załącznika VI do tego rozporządzenia. Zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie D-limonenu, zgodnie z tabelą 3 załącznika VI do rozporządzenia (WE) nr 1272/2008, przedstawiono w tabeli 1 oraz na rycinie 1.

Tabela 1. Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie D-limonenu zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008
Table 1. Harmonised classification and labelling of D-limonene according to Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council

Nazwa chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
	klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogramy, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
(R)- <i>p</i> -menta-1,8-dien; D-limonen	Flam. Liq. 3 Skin Irrit. 2 Skin Sens. 1B Asp. Tox. 1 Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 3	H226 H315 H317 H304 H400 H412	GHS02 GHS07 GHS08 GHS09 Dgr	H226 H315 H317 H304 H410

Objaśnienia:

Flam Liq. 3	Substancja ciekła łatwopalna, kategoria zagrożenia 3.
H226	Łatwopalna ciecz i pary.
Skin Irrit. 2	Działanie drażniące na skórę, kategoria zagrożenia 2.
H315	Działa drażniąco na skórę.
Skin Sens. 1B	Działanie uczulające na skórę, kategoria zagrożenia 1B.
H317	Może powodować reakcję alergiczną skóry.
Asp. Tox. 1	Zagrożenie spowodowane aspiracją, kategoria zagrożenia 1.
H304	Połknięcie i dostanie się przez drogi oddechowe może grozić śmiercią.
Aquatic Acute 1	Stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria zagrożenia 1.
H400	Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.
Aquatic Chronic 3	Stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria zagrożenia 3.
H412	Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
Dgr	hasło ostrzegawcze „niebezpieczeństwo”.



Rycina 1. Piktogramy określone w załączniku do rozporządzenia WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem (Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008)
Figure 1. Pictograms specified in the Annex to Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) consist of a black symbol on a white background with a red border (Regulation No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council)

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne D-limonenu (ECHA 2023; PubChem 2025):

– wygląd	ciecz
– kolor	bezbarwna do jasnożółtej
– zapach	cytrusowy
– temperatura wrzenia	176°C (101 325 Pa)
– temperatura topnienia	-74°C (101 325 Pa)
– temperatura zapłonu	51°C (101 325 Pa)
– temperatura samozapłonu	245°C (101 325 Pa)
– gęstość (w temp. 20°C)	0,844 g/cm ³
– prężność par (w temp. 25°C)	2 hPa
– współczynnik podziału oktanol/woda (log Kow) (w temp. 25°C)	4,38
– rozpuszczalność w wodzie (w temp. 25°C)	5,59 mg/L
– lepkość dynamiczna (w temp. 25°C)	0,846 mPa · s
– współczynnik załamania światła (w temp. 25°C)	1,472
– współczynniki przeliczeniowe:	1 ppm ≈ 5,653 mg/m ³ ; 1 mg/m ³ ≈ 0,177 ppm (20°C, 101,3 kPa) (SCOEL 2017).

Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

Otrzymywanie

D-limonen występuje w ponad 300 gatunkach roślin na całym świecie. Jest, obok α -pinenu, jednym z najbardziej rozpowszechnionych terpenów występujących w przyrodzie. Stanowi główny składnik olejków eterycznych otrzymywanych ze skórek owoców cytrusowych, przede wszystkim pomarańczy, ale także grejpfrutów, cytryn i mandarynek. Ponadto D-limonen występuje m.in w olejku pozyskiwanych z kminku i selera (Ravichandran i in. 2018; Trytek i in. 2003).

Na skalę przemysłową D-limonen otrzymywany jest głównie ze skórek pomarańczy, stanowiących produkt odpadowy przemysłu przetwórstwa owocowego. Zawartość D-limonenu w olejku pomarańczowym jest bardzo wysoka i wynosi około 95 ÷ 97%. Do głównych metod pozyskiwania

D-limonenu ze skórek cytrusów należą: destylacja z parą wodną, ekstrakcja rozpuszczalnikami oraz tłoczenie na zimno (Gawarecka i in. 2015; Ravichandran 2018).

D-limonen został po raz pierwszy pozyskany na skalę przemysłową na Florydzie w sezonie cytrusowym 1941–1942, z kondensatu pary wodnej powstającego podczas produkcji melasy cytrusowej (Ravichandran i in. 2018).

Znane są również inne, mniej konwencjonalne metody otrzymywania D-limonenu, takie jak piroliza zużytych opon samochodowych. D-limonen powstaje w wyniku termicznego rozkładu poliizoprenu w temperaturze ok. 440 ÷ 510°C oraz przy obniżonym ciśnieniu ok. 20 kPa (Gawarecka i in. 2015; Malko, Wróblewska 2016; Pakdel i in. 2001).

D-limonen może być również otrzymywany metodami biotechnologicznymi. Głównymi mikroorganizmami, wykazującymi zdolność do biosyntezy limonenu są *Escherichia coli* oraz *Saccharomyces cerevisiae* (Alonso-Gutierrez i in. 2013; Jongedijk i in. 2016; Ravichandran i in. 2018). Mikrobiologiczna produkcja D-limonenu jest możliwa z wykorzystaniem szerokiej gamy surowców stosowanych do wytwarzania biomasy, nie tylko odpadów pochodzących z przemysłu cytrusowego (Jongedijk i in. 2016). Dostępność odnawialnych surowców oraz postęp w dziedzinie inżynierii genetycznej sprawiają, że mikrobiologiczne metody produkcji D-limonenu stanowią potencjalną alternatywę dla obecnie stosowanych technologii. Metody te pozostają jednak nadal na etapie badań laboratoryjnych (Sun i in. 2020).

Do największych producentów D-limonenu należą m.in. Stany Zjednoczone (głównie Floryda i Kalifornia), Brazylia, Indie, Japonia, Australia, Hiszpania, Holandia, Wielka Brytania (Juyal 2024; WHO 1998). Według raportu WHO z 1998 r. światowa roczna produkcja D-limonenu i olejku pomarańczowego (oleju esencjonalnego zawierającego ok. 95% D-limonenu) w 1991 roku wynosiła ok. 45 tys. ton (Florida Chemical Co. 1991; WHO 1998).

Zastosowanie

D-limonen, ze względu na przyjemny cytrusowy zapach, jest szeroko wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym i perfumeryjnym oraz jako substancja aromatyzująca w żywności i napojach (Danish Ministry... 2013). D-limonen został uznany za substancję bezpieczną (GRAS, ang. *Generally*

Recognized As Safe) przez Amerykańskie Stowarzyszenie Producentów Aromatów i Ekstraktów (FEMA, ang. *Flavor and Extract Manufacturers Association*), (Adams i in. 2011) oraz dopuszczony do stosowania przez Agencję Żywności i Leków Stanów Zjednoczonych (FDA 2011).

W przemyśle kosmetycznym D-limonen jest składnikiem m.in. perfum, mydeł, dezodorantów i innych środków higieny osobistej (Kim i in. 2013; Danish Ministry... 2013; Ravichandran i in. 2018). Badania produktów zapachowych przeprowadzone w Niderlandach wykazały obecność D-limonenu w 71% spośród 300 testowanych kosmetyków (de Groot, Frosch 1997; Kim i in. 2013). Z kolei badania produktów kosmetycznych przeprowadzone we Francji wykazały, że spośród 280 rodzajów perfum i 150 dezodorantów D-limonen występował odpowiednio w 95% perfum i 69% dezodorantów (Dornic i in. 2018).

D-limonen jest również obecny w produktach stosowanych w gospodarstwie domowym, takich jak detergenty do prania, odświeżacze powietrza, płyny do mycia naczyń oraz preparaty do czyszczenia różnych powierzchni, np. podłóg (Ravichandran i in. 2018). Według raportu WHO, na podstawie danych zgromadzonych przez Szwedzki Inspektorat Chemiczny, w Szwecji w 1994 r. zastosowano od 69 do 80 ton D-limonenu w 48 produktach, w tym w 15 produktach przeznaczonych dla konsumentów (WHO 1998).

D-limonen jest doskonałym rozpuszczalnikiem i stanowi alternatywę dla węglowodorów chlorowanych, węglowodorów chlorofluorowych (CFC, ang. *chlorofluorocarbons*) oraz innych rozpuszczalników organicznych. W stężeniach od 30% do 100% może być stosowany do odtłuszczania metali przed malowaniem, a także jako środek odtłuszczający i czyszczący w przemyśle drukarskim i elektronicznym oraz jako rozpuszczalnik w farbách. (Danish Ministry... 2013; IARC 1993; Karlberg, Lindell 1993; Malko, Wróblewska 2016; Ravichandran i in. 2018).

Pod koniec lat 90. XX wieku rozpoczęto stosowanie D-limonenu do usuwania wycieków ropy naftowej na lądzie w celu rozpuszczenia bardziej opornych frakcji ropy oraz zwiększenia ich dostępności do degradacji bakteryjnej (bioremediacji). Związek ten wykorzystywano również jako środek odtłuszczający do czyszczenia kadłubów łodzi. Podczas awarii platformy wiertniczej Deepwater Horizon w Zatoce Meksykańskiej w 2010 r., w wyniku której doszło do rozległego wycieku ropy

naftowej, D-limonen stosowano jako środek wspomagający procesy bioremediacji (Pagliaro i in. 2023).

D-limonen jest ponadto wykorzystywany w produkcji żywic, jako środek zwilżający i dyspergujący, a także pomocniczo jako biocyd w zwalczaniu kontroli owadów (Danish Ministry... 2013; IARC 1993; IARC 1999; Karlberg, Lindell 1993; NTP 1990).

W zastosowaniach medycznych D-limonen był stosowany do rozpuszczania zalegających po zabiegach chirurgicznych kamieni żółciowych zawierających cholesterol, ze względu na zdolność do rozpuszczania cholesterolu (IARC 1993; Kim i in. 2013; Malko, Wróblewska 2016).

D-limonen oraz jego metabolit – alkohol perylowy – znajdują się obecnie w fazie badań klinicznych dotyczących możliwości zastosowania w leczeniu raka piersi i innych nowotworów. Rozważane są również badania nad potencjalnym wykorzystaniem tych związków w chemoprewencji (Gould 1995; O'Shaughnessy 1996; Vigushin in. 1998; Malko, Wróblewska 2016).

Narażenie zawodowe

Według danych Europejskiej Agencji Chemikaliów (ECHA) D-limonen jest zarejestrowany w ilości 1 000 ÷ 10 000 ton rocznie. W Europie zarejestrowano 62 dostawców D-limonenu, w tym dwa podmioty z Polski: 3M Wrocław Sp. z o.o. oraz FSZ POLLENA AROMA Sp. z o.o. (ECHA 2023).

Zgodnie z danymi WHO (1998), w Stanach Zjednoczonych w 1983 r. liczba zakładów przemysłowych zajmujących się produkcją D-limonenu wynosiła 87, a szacowana liczba pracowników narażonych na działanie tego związku wynosiła 140 000.

Ponieważ D-limonen nie miał dotychczas ustalonej wartości normatywu higienicznego w Polsce, brak jest danych Głównego Inspektoratu Sanitarnego (GIS) dotyczących liczby pracowników narażonych na działanie tej substancji. Według danych GIS jedna ze stacji sanitarno-epidemiologicznych w ramach działalności laboratoryjnej przeprowadziła w latach 2023–2024 pomiary stężeń D-limonenu. Pomiary przeprowadzono w zakładach pracy należących do PKD 27.2 – produkcja baterii i akumulatorów oraz PKD 85.3 – szkoły ponadpodstawowe i placówki kształcenia policealnego. Analizy przeprowadzono techniką GC/MS (chromatografia gazowa). Ze względu na brak ustalonego normatywu higienicznego nie było możliwe określenie, czy zmierzone stężenia substancji były dopuszczalne w środowisku pracy (GIS 2025).

Narażenie zawodowe na D-limonen występuje przede wszystkim podczas jego produkcji, a także w trakcie przepakowywania lub formulacji mieszanin zawierających tę substancję. Inne potencjalne źródła narażenia obejmują transport i magazynowanie substancji chemicznej oraz utylizację skażonych pojemników. Narażenie może również wystąpić podczas użytkowania wyrobów zawierających D-limonen, takich jak kosmetyki i detergenty (ECHA 2023; NICNAS 2002).

Na działanie D-limonenu mogą być narażeni pracownicy:

- przemysłu kosmetycznego oraz chemicznego, w którym D-limonen jest stosowany jako składnik kompozycji zapachowych, m.in. w kosmetykach, detergentach i środkach czystości,
- salonów kosmetycznych i gabinetów pielęgnacyjnych, w których stosowane są preparaty zawierające D-limonen jako składnik zapachowy,
- przemysłu spożywczego, w którym D-limonen jest wykorzystywany jako substancja aromatyzująca,
- przemysłu poligraficznego i farbiarskiego, w którym D-limonen jest stosowany jako rozpuszczalnik,
- przemysłu elektronicznego, w którym D-limonen jest składnikiem profesjonalnych środków czyszczących,
- firm świadczących usługi sprzątania, stosujących środki czyszczące zawierające D-limonen,
- warsztatów samochodowych oraz zakładów produkcyjnych, w których stosowane są profesjonalne preparaty do mycia rąk zawierające D-limonen,
- laboratoriów i instytutów badawczych, w których D-limonen jest wykorzystywany do celów badawczych i analitycznych,
- rolnicy oraz pracownicy sezonowi zatrudnieni przy zbiorach owoców cytrusowych (ECHA 2023; Kim i in. 2013; NICNAS 2002; Pesonen i in. 2014; Topham, Wakelin 2003).

Głównymi drogami narażenia na D-limonen są narażenie skórne oraz inhalacyjne. Narażenie drogą doustną na D-limonen w środowisku pracy jest mało prawdopodobne i może wystąpić głównie w wyniku nieprzestrzegania podstawowych

zasad higieny na stanowisku pracy (NICNAS 2002). Kontakt skóry z D-limonenem występuje najczęściej podczas różnego rodzaju operacji manualnych związanych z produkcją tego związku i wyrobów go zawierających, a także podczas bezpośredniego stosowania na skórę wyrobów gotowych zawierających tę substancję (NICNAS 2002). Szczególnie narażeni na działanie D-limonenu są m.in. mechanicy samochodowi, malarze, pracownicy utrzymania ruchu oraz monterzy pojazdów, którzy wykonują tzw. prace brudne i stosują do mycia rąk profesjonalne preparaty, najczęściej w postaci past lub emulsji, zawierające D-limonen jako składnik rozpuszczający tłuszcze (Pesonen i in. 2014; Topham, Wakelin 2003). Narażenie drogą inhalacyjną może wystąpić podczas stosowania D-limonenu lub produktów zawierających tę substancję w zamkniętych lub ograniczonych przestrzeniach, w warunkach słabej wentylacji, podczas procesów obejmujących mieszanie na gorąco lub szybkie mieszanie mechaniczne, a także w przypadku rozpylania preparatów zawierających D-limonen na powierzchnie (NICNAS 2002).

Narażenie populacji ogólnej

Ekspozycja populacji ogólnej na D-limonen związana jest głównie ze stosowaniem kosmetyków oraz środków czyszczących, w których związek ten pełni rolę substancji zapachowej. D-limonen może być również spożywany przez ogół społeczeństwa, ponieważ jest stosowany jako substancja aromatyzująca w niektórych produktach spożywczych, takich jak napoje, słodycze i inne wyroby spożywcze. Narażenie na D-limonen może wystąpić także podczas stosowania niektórych preparatów biobójczych (Kim i in. 2013).

Badania stężeń D-limonenu w powietrzu atmosferycznym na obszarach miejskich, przeprowadzone w latach 1973–1990 w Europie, Stanach Zjednoczonych i Rosji, wskazały obecność tego związku na poziomie od 0,1 ppb do 2 ppb ($0,6 \div 11,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$), (Kim i in. 2013; Wallace i in. 1991).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE U LUDZI

Działanie ostre i krótkoterminowe

D-limonen wykazuje niską toksyczność po podaniu doustnym. Skutki działania D-limonenu po podaniu drogą doustną opisali japońscy naukowcy

w kontekście medycznego zastosowania tego związku do rozpuszczania kamieni żółciowych. Badaniu poddano 5 mężczyzn, którzy połknęli kapsułkę zawierającą 20 g D-limonenu. U wszystkich uczestników badania wystąpiła biegunka. Badania czynnościowe wątroby, nerek i trzustki oraz analiza moczu wykazały jedynie przejściowy, łagodnie nasilony białkomocz (Igimi i in. 1976).

W badaniu opisanym przez Crowella i in. (1994) 7 osób spożyło jednorazowo D-limonen dodany do kremu budyniowego w dawce 100 mg/kg mc. Po tygodniowym okresie obserwacji nie stwierdzono u badanych żadnych objawów toksycznego działania związku (Crowell i in. 1994).

Skutki jednorazowego narażenia inhalacyjnego na wysokie stężenia D-limonenu u ludzi opisali Falk-Filipsson i in. (1993). W badaniu 8 zdrowych ochotników poddano 2-godzinnej ekspozycji na D-limonen w stężeniach: 10 mg/m³; 225 mg/m³ oraz 450 mg/m³. Jako stężenie kontrolne przyjęto 10 mg/m³ – poziom, przy którym uczestnicy byli w stanie wyczuć zapach rozpuszczalnika. Po narażeniu na najwyższe stężenie D-limonenu (450 mg/m³) stwierdzono statystycznie istotne zmniejszenie pojemności życiowej płuc w porównaniu z wartością uzyskaną po ekspozycji na stężenie 10 mg/m³ ($p < 0,01$). Zmniejszenie pojemności życiowej płuc wynosiło około 20%. Po ekspozycji na stężenie 225 mg/m³ nie stwierdzono zmian parametrów czynnościowych płuc. U żadnego z uczestników badania nie zaobserwowano objawów podrażnienia ani objawów ze strony ośrodkowego układu nerwowego (Falk-Filipsson i in. 1993; MAK 2006; NICNAS 2002).

W publikacji Larsena i in. (2000) porównywano podrażnienie sensoryczne wywołane przez D-limonen u ludzi i myszy. W przeprowadzonym badaniu z zastosowaniem komory inhalacyjnej u ludzi nie stwierdzono podrażnienia zmysłowego przy stężeniu 81 ppm D-limonenu (458 mg/m³). Oceniono, że podrażnienie zmysłowe u ludzi może wystąpić podczas wdychania powietrza znad czystego D-limonenu, którego nasycone stężenie par wynosi ok. 2000 ppm (11306 mg/m³).

D-limonen wykazuje działanie drażniące na skórę i oczy. Działanie D-limonenu na skórę opisano w publikacji York i in. (1995). Badacze oceniali cztery systemy testów płatkowych z udziałem ochotników. D-limonen o jakości perfumeryjnej wywoływał silne reakcje skórne we wszystkich typach

testów już po 10 ÷ 15 min ekspozycji. Podrażnienie skóry oceniano przed aplikacją plastra oraz bezpośrednio po jego usunięciu, a także po 1 h, 24 h, 48 h i 72 h. Bezpośrednio po usunięciu plastra obserwowano subiektywne objawy podrażnienia skóry, takie jak pieczenie, szczypanie i świąd, a także reakcje pokrzywkowe. Podrażnienie skóry utrzymywało się przez 24 h, a u wielu ochotników również po 48 h i 72 h (Kim i in. 2013; NICNAS 2002).

Dwugodzinny kontakt skóry z D-limonenem o stężeniu 98% wywołał u badanej osoby ból, świąd, uczucie pieczenia oraz utrzymującą się przez dłuższy czas purpurową wysypkę (Falk i in. 1991).

Działanie drażniące D-limonenu na oczy oceniano w 2-minutowym badaniu z udziałem 12 ochotników. Badanie wykazało, że próg wywołujący podrażnienie oczu dla D-limonenu wynosił ok. 1700 ÷ 3400 mg/m³ (300 ÷ 600 ppm), (Mølhav i in. 2000).

Działanie przewlekłe (narażenie zawodowe)

W literaturze opisano przypadki występowania podrażnienia skóry oraz alergii kontaktowej związanych z zawodowym narażeniem na D-limonen.

Naukowcy z Fińskiego Instytutu Zdrowia Zawodowego przeprowadzili w latach 2008–2013 badania dermatologiczne w grupie 511 pacjentów narażonych na działanie D-limonenu (Pesonen i in. 2014). U badanej grupy pacjentów przeprowadzono testy płatkowe, które stanowią podstawową metodę diagnostyki alergii kontaktowej. Testy przeprowadzono zgodnie z rekomendacjami ICDRG (ang. *International Contact Dermatitis Research Group*; Międzynarodowa Grupa Badawcza ds. Kontaktowego Zapalenia Skóry), z zastosowaniem metody Finn Chamber. Do badań wykorzystano własnoręcznie przygotowany preparat utlenionego D-limonenu. Preparat otrzymano poprzez ekspozycję 50 ml D-limonenu na działanie powietrza w temperaturze pokojowej przez 10 tygodni. W tym czasie preparat mieszano cztery razy dziennie, każdorazowo przez 1 h. Co tydzień przygotowywano kolejne porcje preparatu przeznaczonego do testów. Analizy wykazały, że przygotowane preparaty zawierały ok. 25 ÷ 35% czystego D-limonenu oraz silnie uczulające produkty jego utleniania, takie jak tlenki limonenu, karweole, karwony i wodoronadtlenki limonenu. Preparat наносzono w odpowiednich rozcieńczeniach (5%, 3%, 1% i 0,3%) na podłoże parafinowe (wazelinę). Po jednorazowej aplikacji testów płatkowych wyniki

oceniano dwu- lub trzykrotnie (w dniu 2., 3. i 4. lub w dniu 2., 3. i 6., albo w 2. i 5. dniu), w zależności od dnia tygodnia, w którym aplikowano testy płatkowe.

Dodatni wynik testu płatkowego, wskazujący na wystąpienie alergicznej reakcji skórnej na utleniony D-limonen, uzyskano u 21 spośród 511 badanych osób, co stanowiło około 4% analizowanej grupy. U 9 osób wystąpiły bardzo silne reakcje alergiczne, u 6 osób – silne reakcje alergiczne, natomiast u pozostałych 6 osób – słabe reakcje alergiczne.

U 14 pacjentów spośród grupy 21 osób uczulonych na D-limonen zdiagnozowano zawodowe kontaktowe zapalenie skóry wywołane przez ten związek. Naukowcy z Fińskiego Instytutu Zdrowia Zawodowego szczegółowo przeanalizowali grupę 14 pacjentów w celu identyfikacji źródeł zawodowego narażenia na D-limonen, który jest powszechnie stosowany jako substancja zapachowa oraz rozpuszczalnik w produktach czyszczących i kosmetykach (Pesonen i in. 2014).

W tabeli 2 przedstawiono wyniki testów płatkowych przeprowadzonych u pacjentów ze stwierdzonym zawodowym kontaktowym zapaleniem skóry wywołanym D-limonenem. Porównano reakcje pacjentów na preparaty utlenionego D-limonenu oraz na nieutleniony D-limonen. Wymieniono również preparaty zawierające D-limonen, na które byli narażeni pracownicy uczestniczący w badaniu, oraz wskazano produkty zawierające D-limonen stosowane w gospodarstwach domowych.

U wszystkich 5 spośród 14 pacjentów, którym zaaplikowano na skórę utleniony D-limonen o stężeniu 5%, wystąpiła reakcja alergiczna (u 4 osób była ona bardzo silna). Ze względu na silne działanie drażniące utlenionego D-limonenu o stężeniu 5% w latach 2012–2013 zrezygnowano ze stosowania tak wysokiego stężenia i aplikowano pacjentom utleniony D-limonen w stężeniu 3% lub niższym.

U 12 spośród 14 pacjentów, którym podano utleniony D-limonen o stężeniu 3%, wystąpiła bardzo silna lub silna reakcja alergiczna. Po aplikacji utlenionego D-limonenu w najniższym zastosowanym stężeniu (0,3%) bardzo silną reakcję allergiczną stwierdzono jedynie u 1 pacjenta z 9 badanych pacjentów (nr 13), natomiast u 1 pacjenta (nr 14) odnotowano silną reakcję allergiczną.

Dla porównania, spośród 8 pacjentów testowanych na działanie D-limonenu w postaci nieutlenionej, tylko u 1 pacjenta wystąpiła silna reakcja

alergiczna (nr 14). Był to pracownik zatrudniony jako technik serwisu.

Badania wykazały, że czysty (nieutleniony) D-limonen jest znacznie słabszym sensybilizatorem w porównaniu z jego utlenioną formą. Spośród 8 pacjentów z pozytywną reakcją na utleniony D-limonen, tylko 1 pacjent wykazał dodatnią reakcję na nieutleniony D-limonen.

Wyniki badań płatkowych wykazały, że alergia na D-limonen najczęściej była związana z narażeniem na detergenty do czyszczenia maszyn, środki do mycia rąk, płyny do mycia naczyń oraz produkty kosmetyczne stosowane w pracy.

Wielu pracowników, u których stwierdzono alergię lub podrażnienie skóry, stosowało ten sam profesjonalny preparat do mycia rąk – Loctite™ 7850 w postaci ściertnej emulsji zawierający D-limonen w stężeniu minimum 2,5% (Pesonen i in. 2014; Topham, Wakelin 2003).

Topharm i Wakelin (2003) opisali przypadek 30-letniego malarza i dekoratora wnętrz, u którego stwierdzono kontaktowe zapalenie skóry wywołane przez D-limonen obecny w stosowanych przez niego środkach do czyszczenia rąk. Mężczyzna od 4 lat cierpiał na egzemę rąk, która nasilała się podczas pracy. W wywiadzie stwierdzono również atopową egzemę w przeszłości, jednak wcześniejsze testy płatkowe z europejską serią standardową były ujemne.

Testy płatkowe powtórzono z zastosowaniem rozszerzonej brytyjskiej serii standardowej, 2% preparatu D-limonenu w wazelinie (Trolab¹, Hermal, Reinbeck, Niemcy) oraz serii dotyczącej tworzyw sztucznych i klejów (Chemotechnique Diagnostics, Malmö, Szwecja). Odczyty w dniach D3 i D4 wykazały silną reakcję dodatnią (++) na D-limonen. Stwierdzono również słabszą reakcję allergiczną (+) na alkohol lanolinowy (30% w wazelinie). Dalszy wywiad wykazał, że mężczyzna stosował w pracy bezwodne ręczniki do czyszczenia rąk Scrubs-in-a-bucket® oraz Swarfega orange®, zawierające D-limonen w stężeniach odpowiednio 7% i 1%. Zaprzeszanie stosowania wymienionych produktów doprowadziło do poprawy stanu zdrowia, jednak nie do całkowitego ustąpienia egzem rąk.

Autorzy ww. publikacji opisali również badanie przeprowadzone przez Oddział Dermatologii Szpitala św. Marii w Londynie na grupie 2273 pacjentów. W badaniach zastosowano testy płatkowe, w których pacjentom aplikowano

Tabela 2. Wyniki testów płatkowych u 14 pacjentów z zawodowym alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry wywołanym D-limonenem (Pesonen i in. 2014)**Table 2.** Results of patch tests in 14 patients with occupational allergic contact dermatitis caused by D-limonene (Pesonen et al. 2014)

Numer pacjenta, zawód (rok badania)	Reakcja na utleniony D-limonen w wazelinie				Reakcja na nieutleniony D-limonen 10% w wazelinie	Produkty zawierające D-limonen (narażenie zawodowe)
	5%	3%	1%	0,3%		
1 Drukacz (2008)	+++	+++	NT	NT	NT	detergent do czyszczenia maszyn (zawierający 3 ÷ 7% D-limonenu)
2 Drukacz (2008)	++	++	NT	NT	NT	detergenty do czyszczenia maszyn (zawierające D-limonen w stężeniach: 0,08, 0,26, 0,47, 0,60%); preparaty do mycia rąk (Loctite™ 7850 zawierający 2,5 ÷ 7,5% D-limonenu, preparat zawierający 0,24% D-limonenu)
3 Sprzątacze (2010)	+++	+++	NT	NT	p	preparaty do czyszczenia oraz kremy do rąk
4 Konservator maszyn budowlanych (2010)	+++	+++	NT	NT	NT	preparat do mycia rąk (Loctite™ 7850 zawierający 2,5 ÷ 7,5% D-limonenu); olej do obróbki metali zawierający 0,005% D-limonenu; detergenty do czyszczenia maszyn zawierające 0,00023% lub 0,1% D-limonenu
5 Monter pojazdów (2010)	+++	+++	NT	NT	–	preparat do mycia rąk (Loctite™ 7850 zawierający 2,5 ÷ 7,5% D-limonenu); preparat do mycia rąk zawierający 5 ÷ 10% D-limonenu; preparat do mycia rąk zawierający <2,5% D-limonenu
6 Masażysta (2012)	NT	+++	++	+	–	płyn do podłóg, spray do czyszczenia powierzchni, płyn do czyszczenia powierzchni, płyn do mycia naczyń
7 Kucharz (2012)	NT	+++	++	+?	NT	płyn do mycia naczyń, płyn do czyszczenia powierzchni, płyn do rąk
8 Piekarz, kucharz (2012)	NT	++	++	–	–	płyn do czyszczenia powierzchni, płyn do mycia naczyń
9 Kucharz (2012)	NT	+?	+?	–	NT	płyn do mycia naczyń
10 Kosmetyczka (2012)	NT	+	–	–	–	różne kremy, płyny do oczyszczania skóry i inne produkty kosmetyczne stosowane w salonach piękności
11 Pracownik budowlany (2012)	NT	++	+	–	–	preparat do mycia rąk
12 Mechanik (2013)	NT	+++	++	+	–	preparat do mycia rąk (Loctite™ 7850 zawierający 2,5 ÷ 7,5% D-limonenu); inny preparat do mycia rąk
13 Fryzjerka (2013)	NT	+++	+++	+++	–	produkty do mycia i stylizacji włosów, farby do włosów, kremy do rąk
14 Technik serwisu (2013)	NT	+++	+++	++	++	preparat do mycia rąk (Loctite™ 7850 zawierający 2,5 ÷ 7,5% D-limonenu); detergent do czyszczenia maszyn zawierający 0,006% D-limonenu

Objaśnienia:

- NT – nie testowano,
+++ – bardzo silna reakcja alergiczna,
++ – silna reakcja alergiczna,
+ – słaba reakcja alergiczna,
+? – wynik niejednoznaczny,
– – brak reakcji alergicznej.

utleniony D-limonen o stężeniu 3%. Preparat ten nie jest dostępny komercyjnie, a według aktualnej wiedzy wywołuje silniejsze reakcje alergiczne w porównaniu z nieutlenionym D-limonenem. Dodatni wynik testu płatkowego, świadczący o uczuleniu na utleniony D-limonen, stwierdzono u 2,8% badanych pacjentów. Większość pacjentów z alergią kontaktową na D-limonen stanowiły osoby wykonujące zawody takie jak pracownicy administracyjni, pielęgniarki i osoby prowadzące gospodarstwo domowe. W przypadku pielęgniarek ekspozycja mogła mieć charakter zawodowy i wynikać z częstego mycia rąk. U pozostałych osób przypuszczano, że narażenie nastąpiło w warunkach domowych, np. w wyniku kontaktu z olejem ze skórek owoców cytrusowych lub substancjami zapachowymi obecnymi w produktach codziennego użytku (*Topharm, Wakelin* 2003).

W raporcie NIOSH (*Klefer i in.* 1993) opisano przypadki wystąpienia dolegliwości związanych ze stosowaniem w miejscu pracy preparatów czyszczących na bazie D-limonenu: Citrikleen HD (zawierający 20 ÷ 30% D-limonenu) oraz 3M Natural Cleaner (zawierający 70 ÷ 80% D-limonenu).

Spośród 14 badanych pracowników 2 zgłosiło wystąpienie dolegliwości sugerujących alergiczne kontaktowe zapalenie skóry (objawy podobne do wysypki po kontakcie z trującym bluszczem) po ekspozycji na Citrikleen HD. Żaden z nich nie zgłosił się jednak po pomoc medyczną ani nie wykazywał objawów wysypki w momencie przeprowadzania wywiadu. U 1 pracownika rozwinęło się zapalenie skóry po umyciu zbiornika preparatem Citrikleen HD bez użycia rękawic ochronnych. Drugi pracownik doświadczył nawracających epizodów, dopóki nie odsunięto go od prac związanych z narażeniem na Citrikleen HD. Zauważono, że drażniący charakter preparatu Citrikleen HD (wysokie pH 11,2) również mógł przyczynić się do zgłaszanych objawów. Połowa z 14 badanych pracowników zgłosiła wzrost suchości skóry od czasu rozpoczęcia stosowania preparatów zawierających D-limonen, jednak nikt nie zgłosił tego jako objawu związanego z pracą. W warsztacie, w którym znajdował się otwarty zbiornik z Citrikleen HD, 4 z 12 pracowników zgłosiło nasilenie podrażnienia nosa lub gardła od czasu instalacji zbiornika. Kilku pracowników zauważyło nasilenie objawów podczas przebywania w pobliżu zbiornika (*Klefer i in.* 1993).

W ramach National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICAS 2002) w 2001 r. przeprowadzono ankietę z udziałem formulatorów oraz użytkowników końcowych produktów zawierających D-limonen. Celem badania było określenie poziomu narażenia zawodowego i środowiskowego na D-limonen w Australii.

W ankiecie uczestniczyło ok. 80 firm wybranych z list klientów dostarczonych przez producentów i importerów D-limonenu. Z formulatorami oraz użytkownikami końcowymi skontaktowano się telefonicznie. Informacje zebrane podczas ankiety obejmowały m.in. dane dotyczące produktów, opisów procesów technologicznych, wykorzystywanych środków ochrony indywidualnej oraz wdrożonych środków ograniczających narażenie. Dane dotyczące zakresu zastosowań końcowych oraz potencjalnego narażenia były jednak ograniczone ze względu na stosunkowo niewielką liczbę respondentów reprezentujących użytkowników końcowych.

W ankiecie NICNAS odnotowano szereg skutków zdrowotnych zgłoszonych przez formulatorów i użytkowników D-limonenu. W tabeli 3 przedstawiono zgłoszone skutki zdrowotne związane z kontaktem z D-limonenem w wyniku narażenia zawodowego w różnych sektorach przemysłu, w zależności od stężenia D-limonenu w stosowanych produktach (NICNAS 2002).

Opisane w niniejszym rozdziale przypadki narażenia zawodowego na D-limonen pokazują, że związek w wysokich stężeniach (powyżej 5%) może działać drażniąco na skórę, oczy oraz drogi oddechowe. Działanie uczulające wykazują głównie produkty utleniania D-limonenu, takie jak wodoronadtlenki limonenu. Nieutleniony D-limonen jest słabszym alergenem kontaktowym niż jego utleniona forma. Zawodowa alergologia kontaktowa na D-limonen jest najczęściej związana z częstym kontaktem z tym związkiem obecnym w detergentach do czyszczenia maszyn oraz profesjonalnych środkach do mycia rąk. Nasilenie reakcji alergicznych w warunkach zawodowych może być dodatkowo związane z codziennym stosowaniem kosmetyków zawierających D-limonen oraz środków czyszczących używanych w gospodarstwie domowym.

Badania epidemiologiczne

W literaturze, poza opisami przypadków, badaniami ochotników oraz retrospektywnymi analizami

Tabela. 3. Skutki zdrowotne narażenia zawodowego na D-limonen w różnych sektorach przemysłu (NICNAS 2002)
Table 3. Health effects of occupational exposure to D-limonene in different industrial sectors (NICNAS 2002)

Stężenie D-limonenu w produkcie	Sektor przemysłu lub zastosowanie	Zgłoszony skutek
100%	laboratorium histologiczne	ból głowy po użyciu, nawet przy pracy pod wyciągiem, u 1 pracownika wystąpiło podrażnienie oczu lub alergiczne zapalenie spojówek
100%	przemysłowe czyszczenie pojemników	jednorazowy przypadek lekkiego podrażnienia skóry podczas stosowania bez środków ochrony osobistej
100%	czyszczenie elementów samolotów	zapalenie skóry u pracownika z nadwrażliwością na wiele substancji chemicznych
100%	gemmologia	silny zapach wyczuwalny szczególnie podczas pracy pod mikroskopem, związany z nagrzewaniem się lampy
100%	usuwanie wosku z powierzchni w kosmetologii	wysuszenie skóry dłoni w przypadku niestosowania rękawic ochronnych
30%	usuwanie graffiti	zmęczenie wywołane silnym zapachem, wysuszenie skóry przy braku rękawic ochronnych
20%	odtłuszczanie tkanin	silny zapach podczas otwierania zbiornika powodował u niektórych osób zawroty głowy
12%	czyszczenie kabin prysznicowych, blatów, podłóg i innych intensywnie użytkowanych powierzchni (produkt po rozcieńczeniu)	rozpylanie preparatu powodowało świszczący oddech, kaszel, trudności w oddychaniu
5%	czyszczenie ogólnego zastosowania (odpływy, szamba itp.)	wysuszenie skóry

objawów występujących u pracowników, prowadzonymi na podstawie kwestionariuszy (opisanymi w poprzednim rozdziale), brak jest innych dostępnych badań epidemiologicznych dotyczących narażenia ludzi na D-limonen oraz skutków zdrowotnych wynikających z tego narażenia.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i krótkoterminowa

Opisane w literaturze badania przeprowadzone na zwierzętach wskazują na stosunkowo niską toksyczność ostrą D-limonenu po podaniu doustnym, dootrzewnowym, dożylnym, podskórnym, dermalnym oraz inhalacyjnym. Wartość LD₅₀ po podaniu doustnym wynosi średnio 5g/kg (5000 mg/kg) u szczurów oraz 6 g/kg (6000 mg/kg) u myszy. Wartość LD₅₀ po aplikacji dermalnej u królików wynosi powyżej 5 g/kg (5000 mg/kg), (MAK 1990).

W tabeli 4 przedstawiono dane dotyczące jednorazowych dawek śmiertelnych (LD₅₀) oraz maksymalnych dawek nieletalnych (DL₀) dla D-limonenu po narażeniu różnych gatunków zwierząt (myszy, szczurów i królików).

Narażenie drogą pokarmową

Dane dotyczące skutków krótkotrwałego podawania D-limonenu różnym gatunkom zwierząt drogą

pokarmową (*per os* lub przez zgłębnik żołądkowy) przedstawiono w tabeli 5.

Badania wykazały, że zarówno u myszy, jaki i u szczurów po jednorazowym podaniu D-limonenu *per os* w dawce 3 ml/kg (co odpowiada ok. 2500 mg/kg) zaobserwowano objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego (OUN), m.in. zmniejszenie aktywności ruchowej (tab. 5), (Tsui i in 1974).

U samców szczurów rasy Wistar po jednorazowym podaniu D-limonenu w dawkach 800 mg/kg i 1200 mg/kg obserwowano zmiany w wątrobie. Przy dawce 800 mg/kg stwierdzono niewielkie obniżenie poziomu glikogenu w wątrobie, natomiast po podaniu dawki 1200 mg/kg zaobserwowano niewielki wzrost poziomu cytochromu P-450 oraz kwasu δ-aminolewulinowego w wątrobie. Po podaniu D-limonenu przez zgłębnik żołądkowy w dawkach 250 mg/kg i większych stwierdzono zależny od dawki wzrost sekrecji żółci.

Podobny efekt zaobserwowano u psów, którym jednorazowo podano D-limonen przez zgłębnik żołądkowy. Przy dawce 250 mg/kg stwierdzono ok. 70% wzrost sekrecji żółci (tab. 5), (Kodama 1976, Kanerva 1987).

U samców szczurów rasy F344/N, którym podawano D-limonen przez zgłębnik żołądkowy przez 5 dni w dawkach: 75 mg/kg, 150 mg/kg i 300 mg/kg, obserwowano zmiany w nerkach. Już przy dawce

Tabela 4. Wartości LD₅₀ oraz LD₀ dla D-limonenu
Table 4. LD₅₀ and LD₀ values for D-limonene

Gatunek (szczep), płeć	Droga podania	Wartość LD ₅₀ , g/kg mc.	Wartość LD ₀ , g/kg mc.	Piśmiennictwo
Mysz (Swiss), ♂	<i>p.o.</i>		3,50	<i>Le Bourhis, Soenen 1973</i>
Mysz (ddN), ♂	<i>p.o.</i>	5,6 (4,8 ÷ 6,5)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Mysz (ddN), ♀	<i>p.o.</i>	6,6 (5,5 ÷ 7,9)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (Wistar JCL), ♂	<i>p.o.</i>	4,4 (3,4 ÷ 5,9)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (Wistar JCL), ♀	<i>p.o.</i>	5,2 (3,9 ÷ 7,0)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Mysz (Swiss), ♂	<i>i.p.</i>		0,62	<i>Le Bourhis, Soenen 1973</i>
Mysz (ddN), ♂♀	<i>i.p.</i>	1,3 (1,2 ÷ 1,5)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (Wistar JCL), ♂	<i>i.p.</i>	3,6 (2,7 ÷ 4,9)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (Wistar JCL), ♀	<i>i.p.</i>	4,5 (3,4 ÷ 6,6)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (nie określony), ♂	<i>i.v.</i>	0,125 (0,093 ÷ 0,168)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (nie określony), ♀	<i>i.v.</i>	0,110 (0,104 ÷ 0,117)		<i>Tsuii in. 1975</i>
Mysz (ddN), ♂♀	<i>s.c.</i>	>41,5		<i>Tsuii in. 1975</i>
Szczur (Wistar JCL), ♂♀	<i>s.c.</i>	20,2		<i>Tsuii in. 1975</i>
Królik (nieokreślony)	dermalnie	>5		<i>Moreno 1972; Opdyke 1975</i>

Objaśnienia:
LD₅₀ – dawka śmiertelna dla 50% populacji.
LD₀ – maksymalna dawka nieletalna.
♂ – samce.
♀ – samice.
p.o. – doustnie.
i.p. – dootrzewnowo.
i.v. – dożylnie.
s.c. – podskórnio.
dermalnie – na skórę.

75 mg/kg u części zwierząt stwierdzono uszkodzenie kanalików nerkowych lub miąższu nerek oraz tworzenie się kropeł hialinowych w nerkach (tab. 5), (*Kanerva 1987*).

U myszy szczepu B6C3F1, którym podawano D-limonen przez zgłąbник żołądkowy 5 dni w tygodniu przez 16 dni, przy dawkach 1650 mg/kg i wyższych stwierdzono padnięcia zwierząt. Przy dawce 6000 mg/kg wszystkie samce padły w ciągu 1 dnia, a wszystkie samice w ciągu 2 dni.

U szczurów rasy F344/N w tym samym eksperymencie po podaniu dawki 1650 mg/kg zaobserwowano 10% redukcję masy ciała. Dawka 3300 mg/kg spowodowała padnięcie 5/5 samców i 3/5 samic w ciągu 2 dni. Po podaniu dawki 6000 mg/kg wszystkie samce i samice padły w ciągu 1 dnia (tab. 5), (*NTP 1990*).

Narażenie inhalacyjne

W badaniu opisanym przez *Larsena i in. (2000)* oceniono wpływ D-limonenu na reakcje oddechowe u samców myszy BALB/c. Zwierzęta (56 osobników) eksponowano na opary D-limonenu. D-limonen firmy Merc o czystości >96% odparowywano, mieszano z powietrzem i kierowano do komory ekspozycyjnej o objętości 2,3 l. Przepływ powietrza

w komorze utrzymywano na poziomie 17 ÷ 25 l/min. Nominalne stężenie D-limonenu obliczano na podstawie szybkości dostarczania odparowanego związku oraz przepływu powietrza w komorze.

Zwierzęta eksponowano na stężenia D-limonenu w zakresie 197 ÷ 1599 ppm (1095 mg/m³ ÷ 8890 mg/m³). Badanie obejmowało 15-minutowy okres kontrolny, 30-minutowy okres ekspozycji oraz 15-minutowy okres rekonwalescencji. Analiza danych i ocenę efektów przeprowadzono z uwzględnieniem różnych przedziałów czasowych w trakcie 30-minutowej ekspozycji: 0 ÷ 10 min, 11 ÷ 20 min, 21 ÷ 30 min. Dodatkowo oceniano cały okres ekspozycji (0 ÷ 30 min) jako wartość średnią.

W badaniu parametry oddechowe, takie jak częstość oddechów (*f*), czas opóźnienia między zakończeniem wdechu a rozpoczęciem wydechu (*TB*), czas pauzy – okres od zakończenia wydechu do rozpoczęcia kolejnego wdechu (*Tp*), szybkość przepływu wydechowego (*VD*) oraz objętość oddechowa (*VT*), wyrażono jako procent wartości bazowej (100%). Trend zmian analizowano za pomocą dwukierunkowej analizy wariancji i analizy regresji.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że głównym skutkiem działania D-limonenu na

Tabela 5. Toksyczność krótkoterminowa D-limonenu u zwierząt po podaniu doustnym
Table 5. Short-term toxicity of D-limonene in animals after oral administration

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Warunki narażenia (droga podania, rodzaj roztworu, dawka, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy ddN, n.s., szczury Wistar JCL, n.s.	<i>per os</i> ; D-limonen, n.s., 3 ml/kg mc., jednorazowo	depresja ośrodkowego układu nerwowego (OUN), zmniejszenie spontanicznej aktywności ruchowej, hipertermia	Tsui i in. 1974
Szczury Wistar, 4 ÷ 6, ♂	<i>per os</i> ; D-limonen w roztworze gumy tragakantowej; 200, 400, 600, 800, 1200 mg/kg mc., jednorazowo	200, 400 i 600 mg/kg mc. – nie obserwowano efektów 800 mg/kg mc. – niewielka redukcja glikogenu w wątrobie 1200 mg/kg mc. – niewielki wzrost cytochromu P-450 i kwasu – aminolewulinowego w wątrobie	Ariyoshi i in. 1975
Szczury Wistar, 5 ♂/grupę	przez zgłębnik żołądkowy; D-limonen w roztworze gumy arabskiej; 0, 8,5, 25, 85, 250, 426, 850 mg/kg mc., jednorazowo	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 8,5 i 25 mg/kg mc. – nie obserwowano efektów 85, 250, 426, 850 mg/kg mc. – wzrost sekrecji żółci zależny od dawki	Kodama 1976
Psy mieszańce, 2 ♂/grupę	przez zgłębnik żołądkowy; D-limonen w roztworze gumy arabskiej; 0, 250 mg/kg mc., jednorazowo	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 250 mg/kg mc. – 70% wzrost sekrecji żółci	Kodama 1976
Szczury Wistar, n.s., ♂	<i>per os</i> ; D-limonen w roztworze gumy tragakantanowej; 400 mg/kg mc., przez 2 ÷ 3 dni	nie obserwowano efektów	Ariyoshi i in. 1975
Szczury F344/N, 5 ♂/ grupę	przez zgłębnik żołądkowy; D-limonen w oleju kukurydzianym; 0, 75, 150, 300 mg/kg mc., 5 dni	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 75 i 150 i 300 mg/kg mc. – tworzenie kropeł hialinowych w nerkach oraz przewlekłe uszkodzenie nerek	Kanerva 1987
Myszy B6C3F1, 5 ♂ + 5 ♀/ grupę	przez zgłębnik żołądkowy; D-limonen >99% w oleju kukurydzianym; 0, 413, 825, 1650, 3300 i 6000 mg/kg mc., 5 dni/tydz. przez 16 dni	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 413 i 825 mg/kg mc. – nie obserwowano efektów 1650 mg/kg mc. – padnięcie 1/5 ♂ i 1/5 ♀ po 3 dniach 3300 mg/kg mc. – padnięcie 4/5 ♂ i 5/5 ♀ po 3 dniach 6000 mg/kg mc. – padnięcie 5/5 ♂ po 1 dniu i 5/5 ♀ po 2 dniach	NTP 1990
Szczury F344/N, 5 ♂ + 5 ♀/ grupę	przez zgłębnik żołądkowy; D-limonen w oleju kukurydzianym; 0, 413, 825, 1650, 3300, 6000 mg/kg mc.; 5 dni/tydz. przez 16 dni	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 413 i 825 mg/kg mc. – nie obserwowano efektów 1650 mg/kg mc. – 10% redukcja masy ciała u ♂ 3000 mg/kg mc. – 8% redukcja masy ciała u ♀ oraz padnięcie 5/5 ♂ i 3/5 ♀ po 2 dniach 6000 mg/kg mc. – padnięcie wszystkich osobników w ciągu 1 dnia	NTP 1990

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.
n.s. – nie specyfikowano płci.

układ oddechowy było podrażnienie sensoryczne górnych dróg oddechowych. Podrażnienie czuciowe jest wywoływane przez stymulację zakończeń nerwu trójdzielnego w górnych drogach oddechowych i u myszy objawia się odruchowym zmniejszeniem częstości oddechów (*f*) oraz wydłużeniem czasu przerwy (*TB*). Ekspozycja na D-limonen powodowała zależny od stężenia spadek częstości oddechów (*f*) oraz wzrost czasu przerwy (*TB*). Efekt ten pojawiał się w ciągu pierwszych 10 min ekspozycji i utrzymywał się na stałym poziomie w dalszym przebiegu badania. Wartość RD_{50} (stężenie powodujące zmniejszenie częstości oddechów o 50%) wyniosło 1076 ppm (6082 mg/m³). Badany związek nie wykazywał działania drażniącego na

płuca. Nie stwierdzono wpływu na czas pauzy (*Tp*), co wskazuje na brak bezpośredniej stymulacji nerwów błędnych oraz brak objawów obrzęku płuc. Nie obserwowano również szybkiej, płytkiej reakcji oddechowej typowej dla tego typu stymulacji.

Wpływ D-limonenu na objętość oddechową (*VT*) nie jest jednoznaczny. Ani najniższe, ani dwa najwyższe stężenia nie wywołały istotnego wpływu na *VT*. Statystycznie istotny spadek zaobserwowano jednak przy stężeniach 793 ppm i 1255 ppm (4483 mg/m³ i 7094,5 mg/m³), co może wskazywać na zależność o kształcie litery U. Badany związek nie powodował spadku objętości oddechowej (*VT*) poniżej stężenia 629 ppm (3556 mg/m³). Nie stwierdzono istotnego wpływu na ośrodkowy

układ nerwowy w badanym zakresie stężeń ani efektów znieczulenia ogólnego przy stężeniach poniżej 1599 ppm (9039 mg/m³). Ekspozycja na D-limonen powodowała łagodny efekt bronchokonstrykcyjny przy stężeniach powyżej 1000 ppm (5653 mg/m³). Poziom bez obserwowalnych efektów (NOEL) dla podrażnienia sensorycznego u myszy oszacowano na 100 ppm (565 mg/m³), (Larsen i in 2000).

Autorzy badania sugerują, że myszy BALB/c i ludzie wykazują podobną wrażliwość na D-limonen. U ludzi próg podrażnienia sensorycznego wynosił powyżej 80 ppm (>452 mg/m³). Myszy wykazywały jednak większą wrażliwość niż szczury. U szczurów progowe stężenie D-limonenu wywołujące odpowiedź elektrofizjologiczną w nerwach trójdzielnych wynosiło ok. 500 ppm (2826,5 mg/m³). Przy założeniu, że szczury wykazują 10-krotnie mniejszą wrażliwość niż ludzie (na podstawie efektów wywołanych przez nikotynę na nerw trójdzielny), można przewidywać, że próg podrażnienia sensorycznego wywołanego przez D-limonen u ludzi wynosi ok. 50 ppm (283 mg/m³). U salamandry tygrysej próg pobudzenia nerwu trójdzielnego, tj. najniższe stężenie wywołujące odpowiedź zakończeń nerwu odpowiedzialnego za odczuwanie podrażnienia, wynosił ok. 430 ppm (2431 mg/m³), co było wartością zbliżoną do uzyskanej u szczurów (Larsen i in. 2000).

Toksyczność dermalna

Działanie toksyczne D-limonenu na skórę zbadano w eksperymencie przeprowadzonym na kotach rasy domowej (5 grup po 5 samców i 5 samic w każdej). Kocie ogolono sierść na powierzchni 10 x 10 cm, a następnie zwilżono skórę wodnym roztworem preparatu zawierającego D-limonen. Do badań zastosowano preparat owadobójczy zawierający 78,2% D-limonenu. Preparat rozcieńczono zgodnie z zaleceniami producenta do stężenia ok. 9 ÷ 11 g/l wody. Przygotowano również roztwory o stężeniach 4 ÷ 16-krotnie większych od zalecanego.

U 1 z 8 kotów narażonych na działanie D-limonenu w stężeniu zalecanym przez producenta zaobserwowano nadmierne ślinienie, a u 2 osobników drżenie mięśni. U pozostałych zwierząt nie stwierdzono objawów niepożądanych. Nasilenie objawów obserwowano w grupach, w których zastosowano większe stężenia D-limonenu.

Przy stężeniu 15-krotnie przekraczającym zalecaną dawkę objawy kliniczne obejmowały nadmierne ślinienie trwające 15 ÷ 30 min, umiarkowaną do ciężkiej ataksję (niezborność ruchową) utrzymującą

się przez 1 ÷ 5 h, drżenie mięśni przypominające dreszcze trwające 1 ÷ 4 h oraz hipotermię rozpoczynającą się krótko po podaniu i utrzymującą się przez 5 h. U samców dodatkowo obserwowano otarcia naskórka w okolicy moszny i krocza. Nie odnotowano padnięć ani trwałych skutków po zastosowaniu żadnej z badanych dawek (Hooser 1986; MAK 1990; MAK 2006).

W opracowaniu ekspertów niemieckich MAK (2006) zwrócono uwagę, że w opisanym badaniu nie można było wykluczyć narażenia zwierząt drogą pokarmową wskutek zlizywania preparatu z sierści, co mogło wpływać na obserwowane efekty.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Narażenie drogą pokarmową

Dane dotyczące skutków podawania D-limonenu różnym gatunkom zwierząt drogą pokarmową (*per os* lub przez zgłąbnik żołądkowy) przedstawiono w tabeli 6.

Powyższe badania przeprowadzone u różnych gatunków zwierząt (tab. 6) wykazały, że D-limonen podawany drogą pokarmową powodował powiększenie wątroby u szczurów obu płci, proporcjonalnie do dawki i czasu narażenia. Badanie aktywności enzymów wątrobowych ALT, AST i ALP w surowicy u samców szczurów narażonych na D-limonen w dawce 75 mg/kg mc., opisane przez Ramos i in. (2018), nie wskazało na występowanie uszkodzenia wątroby. Zdaniem autorów dopiero trzykrotne przekroczenie wartości obserwowanych w grupie kontrolnej mogłoby świadczyć o istotnym działaniu hepatotoksycznym.

Zmiany w nerkach obserwowano wyłącznie u samców szczurów. Stwierdzono, że zwiększone tworzenie się kropli hialinowych, związane z akumulacją białka α2μ-globuliny, jest charakterystyczne dla samców tego gatunku. Wyniki te wskazują, że nefrotoksyczne działanie D-limonenu jest specyficzne dla samców szczurów i może nie mieć bezpośredniego przełożenia na ocenę ryzyka u ludzi.

Inne obserwowane u szczurów objawy obejmowały utratę masy ciała (zarówno u samców, jak i u samic) oraz szorstkość sierści, letarg i nadmierne łzawienie u samców po podaniu dawek przekraczających 1200 mg/kg mc. Dla samic szczurów przyjęto wartość NOAEL = 300 mg/kg mc, natomiast dla samców NOAEL = 5 mg/kg mc. ze względu na występowanie specyficznych zmian w nerkach.

Tabela 6. Toksyczność podprzewlekła i przewlekła D-limonenu u zwierząt po podaniu doustnym oraz przez zgłębnik żołądkowy
Table 6. Subchronic and chronic toxicity of D-limonene in animals after oral and gastric tube administration

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Warunki narażenia (droga podania, dawka, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Podanie <i>per os</i>			
Szczury Sprague Dawley-JCL, 10 ♂ + 10 ♀/grupę, 9 ♂ + 9 ♀/ grupę przy dawce 2770 mg/kg mc.	przez zgłębnik żołądkowy, D-limonen, n.s., w 1% roztworze Tween 80, 0, 227, 554, 1385, 2770 mg/kg mc., codziennie przez 4 tyg.	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 227, 554 i 1385 mg/kg mc. - u samców zaobserwowano ziarniste złogi w nerkach 2770 mg/kg mc. - u samców zaobserwowano zmniejszenie masy ciała oraz ziarniste złogi w nerkach - u samic nie stwierdzono żadnych zmian związanych z podawaniem związku	Tsui i in. 1975
Szczury F344, 10 ♂ + 10 ♀/grupę	przez zgłębnik żołądkowy, D-limonen, ♂ 75, 300 mg/kg mc. ♀ 150, 600 mg/kg mc. codziennie przez 7, 28 i 90 dni (5 dni/tydz.)	- powiększenie wątroby zarówno u samic i samców proporcjonalne do dawki i czasu podawania D-limonenu - u samców szczurów stwierdzono zmiany w nerkach już po 7 dniach podawania limonenu (tworzenie się kropeł hialinowych, wzrost białka 2u-globuliny)	Elcombe i in. 2002
Szczury F344, 10 ♂/grupę	przez zgłębnik żołądkowy (sondę), D-limonen w oleju kukurydzianym, 0, 2, 5, 10, 30, 75 mg/kg mc. 5 dni/tydz. przez 13 tyg.	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 5 mg/kg mc. - nie obserwowano efektów (NOAEL – 5 mg/kg mc. dla samców szczurów – zmiany w nerkach) 10 mg/kg mc. - w badaniach histologicznych tkanki nerkowej stwierdzono zmiany charakteryzujące się kroplami hialinowymi, wałeczkami ziarnistymi na połączeniu korowo-rdzeniowym oraz licznymi zmianami korowymi, klasyfikowanymi łącznie jako przewlekła nefroza 30, 75 mg/kg - zależny od dawki wzrost masy nerek i wątroby (NOAEL – 30 mg/kg mc. dla samców szczurów – powiększenie wątroby)	Webb i in. 1989
Szczury F344N, 10 ♂ + 10 ♀/grupę	przez zgłębnik żołądkowy, D-limonen >99% w oleju kukurydzianym, 0, 150, 300, 600, 1200 i 2400 mg/kg mc., 5 dni/tydz. przez 13 tyg.	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 150 i 300 mg/kg mc. - nie obserwowano efektów u samic (NOAEL – 300 mg/kg mc. dla samic) 600 mg/kg mc. - u samców stwierdzono 6% redukcję masy ciała 1200 mg/kg mc. - u samców zaobserwowano 12% redukcję masy ciała, szorstką sierść, letarg oraz nadmierne łzawienie 2400 mg/kg mc. - u samców zaobserwowano 23% redukcję masy ciała, szorstką sierść, letarg oraz nadmierne łzawienie - u jednej z samic stwierdzono 11% redukcję masy ciała 150, 300, 600, 1200 i 2400 mg/kg mc. - we wszystkich grupach samców stwierdzono zależną od dawki nefropatię: degenerację nabłonka kanalików krętych, ziarniste odlewy w świetle kanalików, szczególnie w zewnętrznej części rdzenia nerki oraz tworzenie się kropeł hialinowych w nerkach	NTP 1990

cd. tab. 6/table 6 cont.

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Warunki narażenia (droga podania, dawka, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Myszy B6CF1, 10 ♂ + 10 ♀/grupę	przez zgłębnik żołądkowy, <i>D-limonen</i> >99% w oleju kukurydzianym, 0, 125, 250, 500, 1000, 2000 mg/kg mc., 5 dni/tydz. przez 13 tyg.	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna 125 i 250 mg/kg mc. - nie obserwowano efektów (NOAEL – 250 mg/kg mc.) 500 mg/kg mc. - padnięcie 1/10 samic w 5 tygodniu eksperymentu 1000 mg/kg mc. - zaobserwowano szorstkość sierści i zmniejszoną aktywność u wszystkich osobników 2000 mg/kg mc. - zaobserwowano szorstkość sierści i zmniejszoną aktywność u wszystkich osobników, - u samców stwierdzono 11% redukcję masy ciała, a u samic 2% - padnięcie 1/10 samców oraz 2/10 samic w 4 tygodniu eksperymentu - stwierdzono gruczolaka pęcherzykowego u 1 samicy	NTP 1990,
Psy Japońskie Beagle, 3 ♂ + 3 ♀/grupę	przez zgłębnik żołądkowy, <i>D-limonen</i> , n.s., 0, 0,4, 1,2, 3,6 ml/kg mc. (około 340, 1010, 3040 mg/kg mc.) codziennie przez 6 miesięcy	0 ml/kg mc. – grupa kontrolna 0,4 ml/kg mc. (340 mg/kg mc.): - u wszystkich psów wystąpiły nudności i wymioty 1,2 ml/kg mc. (1010 mg/kg mc.): - u wszystkich osobników stwierdzono obecność białka w kanalikach nerkowych - u psów () zaobserwowano zmniejszenie masy ciała 3,6 ml/kg (3040 mg/kg mc.): - u wszystkich osobników stwierdzono obniżenie poziomu cholesterolu i cukru we krwi - u psów (♂) zaobserwowano zmniejszenie masy ciała	Tsui i in. 1975b
Psy Japońskie Beagle, 5 ♂ + 5 ♀/grupę	przez zgłębnik żołądkowy (sondę), <i>D-limonen</i> , n.s., 0, 100, 1000 mg/kg mc. codziennie przez 6 miesięcy	0 ml/kg mc. – grupa kontrolna 100, 1000 mg/kg mc. - analizy regresji liniowej wskazały na zależną od dawki, tendencję do wzrostu masy nerek - nie stwierdzono zmian histopatologicznych w nerkach, które mogłyby być związane z narażeniem - nie stwierdzono akumulacji kropli szklistych ani żadnych innych objawów nefropatii (NOAEL – 100 mg/kg mc.) powyżej stężenia 100 mg/kg mc. u psów występowały nudności i wymioty	Webb i in. 1990

Objaśnienia:

♂– samce.

♀– samice

n.s. – nie określono (ang. *not specified*).

NOAEL – najwyższy poziom dawki, przy którym nie zaobserwowano szkodliwych efektów (ang. *No Observed Adverse Effect*).

U myszy obu płci po podaniu D-limonenu w stężeniu 1000 mg/kg mc. obserwowano szorstkość sierści oraz zmniejszoną aktywność. Przy dawkach przekraczających 2000 mg/kg mc. stwierdzono utratę masy ciała, a także padnięcie 1/10 samców i 2/10 samic w czwartym tygodniu eksperymentu. Wartość NOAEL dla myszy ustalono na poziomie 250 mg/kg mc.

U psów rasy japoński beagle obu płci po podaniu badanego związku w dawkach przekraczających 1010 mg/kg mc. stwierdzono obecność złogów białkowych w nerkach, jednak nie obserwowano kropelek hialinowych ani odczynów typowych dla $\alpha_2\mu$ -globulinowej nefropatii, co potwierdza, że psy nie są podatne na ten swoisty mechanizm toksyczny działania. Po podaniu dawek przekraczających 3040 mg/kg mc. u wszystkich osobników zaobserwowano zmniejszenie masy ciała oraz obniżenie stężenia cholesterolu i cukru we krwi. Wartość NOAEL dla psów ustalono na poziomie 100 mg/kg mc.

W innym badaniu, samcom szczurów NCI-Black-Reiter (NBR), które nie syntetyzują $\alpha_2\mu$ -globuliny, podawano 1650 mg D-limonenu/kg mc. dziennie przez 4 dni. Nie stwierdzono u nich $\alpha_2\mu$ -globuliny metodą immunohistochemiczną ani zmian w nerkach. W przeciwieństwie do tego, u samców szczurów F344, którym podawano lindan (kontrolna grupa pozytywna), wystąpiła typowa nefropatia $\alpha_2\mu$ -globulinowa (Dietrich, Swanberg 1991a).

Narażenie dermalne

D-limonen наносzono na ogoloną skórę brzucha szczurów trzy razy dziennie i pozostawiano do wyschnięcia na powietrzu. Po ok. 10 aplikacjach (czas, stężenie i ilość nie zostały określone) związek wywołał wypryskowe zapalenie skóry, które początkowo pojawiało się w fałdach skórnych, a następnie stopniowo obejmowało całą traktowaną powierzchnię. W wyniku dalszego stosowania D-limonenu w podskórnej warstwie skóry rozwijały się strupy, a także obserwowano wyraźne rozszerzenie naczyń krwionośnych. Po 8 dniach po zakończeniu eksperymentu zmiany zapalne całkowicie ustąpiły (Riedel 1940).

Narażenie dotchawicze

Podawanie D-limonenu w postaci aerozolu bezpośrednio do tchawicy szczurów i chomików spowodowało uszkodzenie nabłonka oskrzeli oraz istotne zmiany w płucach. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 7.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących działania mutagennego i genotoksycznego D-limonenu u ludzi.

W badaniach przeprowadzonych w warunkach in vitro na różnych szczepach bakterii oraz liniach komórkowych ssaków nie wykazano działania mutagennego D-limonenu. Związek nie wywoływał mutacji genowych w teście Amesa przeprowadzonym na szczepach bakterii *Salmonella* Typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538), zarówno w obecności, jak i w nieobecności frakcji S9, która symuluje metabolizm wątrobowy.

W komórkach CHO (komórkach wyizolowanych z jajnika chomika chińskiego) D-limonen nie powodował aberracji chromosomowych ani wymiany chromatyd siostrzanych, zarówno w obecności frakcji S9, jak i bez dodatku frakcji S9.

D-limonen nie indukował również oporności na trifluorotymidynę w badaniach przeprowadzonych na mysich komórkach chłoniaka L5178Y, zarówno z dodatkiem, jak i bez dodatku frakcji S9 (Florin 1980; NTP 1990; Watabe i in 1980; Watabe i in 1981).

Działania mutagennego i genotoksycznego D-limonenu nie wykazano również w badaniach przeprowadzonych w warunkach in vivo.

Mutagenność D-limonenu oceniano u myszy in vivo w teście plamkowym (*mammalian spot test*), który umożliwia wykrywanie mutacji w komórkach somatycznych zarodka. Podanie myszom C57BL/6J Han dootrzewnowo D-limonenu w dawce 215 mg/kg mc. w 9. ÷ 11. dniu ciąży dało negatywne wyniki w zakresie działania mutagennego (Fahrig 1982; Styles, Penman 1985).

W innym teście plamkowym oceniano wpływ mutagenu *N*-etylo-*N*-nitrozomocznika (ENU) w połączeniu z D-limonenem u samic myszy C57BL/6JHan. Zwierzętom podano 30 mg ENU wraz z 172 mg D-limonenu we wstrzyknięciu dootrzewnowym w 9. dniu ciąży, a następnie w 10. i 11. dniu podawano wyłącznie D-limonen w dawce 215 mg. Wyniki wykazały, że D-limonen wyraźnie zmniejszał skuteczność działania ENU, nawet o ok. 50% (Fahrig 1982; Fahrig 1985).

Powyższe badania wskazują, że D-limonen nie tylko nie wykazywał działania mutagennego, ale

Tabela 7. Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej po dotchawiczym podaniu D-limonenu
Table 7. Results of subchronic toxicity studies of D-limonene following intratracheal administration

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Warunki narażenia (droga, dawka, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury, n.s.	dotchawczo: D-limonen, n.s. (aerazol), 1 raz w tygodniu, przez 6 tyg., 0,2 ml (168,8 mg)	0,2 ml: po 3 tyg. uszkodzenie nabłonka oskrzeli i oskrzelików z krwotokiem pęcherzykowym; po 6 tyg. powiększone, blade płuca; większość zwierząt padła	Leroy 1984
Chomiki, n.s.	dotchawczo: D-limonen, n.s. (aerazol), 1 raz w tygodniu, przez 6 tyg., 0,2 ml (168,8 mg)	0,2 ml: uszkodzenie nabłonka oskrzeli i oskrzelików z krwotokiem pęcherzykowym; po 6 tyg. powiększone, blade, zwakalizowane płuca	Leroy 1984

Objaśnienie: n.s. – nie określono (ang. *not specified*).

również zmniejszał działanie mutagenne innej substancji – *N*-etylo-*N*-nitrozomocznika.

W innym badaniu *in vivo* 4 szczury i 4 myszy otrzymały doustnie, przez zgłębnik, 2000 mg/kg mc. Po 3 h, 8 h i 24 h przeprowadzono test kometowy na komórkach pochodzących z następujących narządów: żołądka, jelit, wątroby, nerek, pęcherza moczowego, płuc, mózgu i szpiku kostnego. W komórkach żadnego z badanych narządów D-limonen nie powodował uszkodzeń DNA, co potwierdza brak jego działania genotoksycznego (Sekihashi i in. 2002).

Działanie D-limonenu oceniano również w teście indukcji mutacji lacI. Samce szczurów rasy BigBlue™ przez 10 kolejnych dni otrzymywały D-limonen w diecie (w paszy) w dawce 10 000 ppm (360 ÷ 680 mg/kg mc.). Związek nie zwiększał częstości mutacji w wątrobie ani w nerkach szczurów. Wyniki te stanowią dodatkowe potwierdzenie niegenotoksycznego mechanizmu działania D-limonenu (MAK 2006; Turner i in. 2001).

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących działania rakotwórczego D-limonenu u ludzi.

Działanie rakotwórcze u zwierząt

Działanie rakotwórcze D-limonenu badano u różnych gatunków myszy oraz u szczurów rasy F344 pod kątem możliwości wystąpienia nowotworów płuc, wątroby, nerek i skóry.

Wyniki badań dotyczących działania rakotwórczego D-limonenu u zwierząt przedstawiono w tabeli 8.

Przedstawione powyżej wyniki badań rakotwórczości u zwierząt (tab. 8) wskazały, że D-limonen powodował zmiany nowotworowe (gruczolaki i gruczolakoraki) w nerkach wyłącznie u samców szczurów, a ich występowanie zależało od zastosowanej dawki. U samic szczurów takich zmian nie obserwowano.

Powstawanie guzów nerek u samców szczurów wiąże się z obecnością specyficznego białka $\alpha 2\mu$ -globuliny ($\alpha 2\mu$ G), syntetyzowanego w wątrobie i wtórnie wchłanianego w kanalikach nerkowych. U samców stężenie tego białka w moczu jest znacznie wyższe niż u samic (Hard, Whysner 1994; Whysner, Williams 1996).

U myszy nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian nowotworowych związanych z działaniem D-limonenu, niezależnie od drogi podania. Po podaniu związku przez zgłębnik żołądkowy obserwowano natomiast nienowotworowe zmiany w wątrobie w postaci obecności wielojądrzastych hepatocytów.

W badaniu przesiewowym opartym na przyspieszonej indukcji guzów płuca u szczepu myszy A/He, wysoce podatnego na rozwój tego nowotworu, nie stwierdzono przypadków powstawania nowotworów płuca wywołanych przez D-limonen. Odsetek osobników, u których wystąpiły zmiany w płucach po podaniu D-limonenu, był mniejszy lub równy wartości obserwowanym w grupie kontrolnej, zarówno u samców, jak i samic. Zmian nowotworowych nie obserwowano również po aplikacji D-limonenu na skórę myszy.

W literaturze opisano szereg przypadków działania D-limonenu jako promotora lub supresora nowotworów. Przeprowadzone badania wykazały, że związek zmniejszał częstość występowania nowotworów płuca u samic 25 myszy, którym przez

Tabela 8. Działanie rakotwórcze D-limonenu u zwierząt w zależności od drogi podania
Table 8. Carcinogenicity of D-limonene in animals depending on the route of administration

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Warunki narażenia (droga, dawka, czas)	Obserwowane nowotwory	Piśmiennictwo
Szczury F344, 50 ♂ + 50 ♀/grupę	zgłębnik żołądkowy: D-limonen (>99%) w oleju kukurydzianym; ♂ 0, 75, 150 mg/kg mc.; ♀ 0, 300, 600 mg/kg mc.; codziennie, 5 dni/tydz., 103 tyg.	zmiany w kanalikach nerkowych: ♂ 0 mg/kg mc. – grupa kontrolna – nie obserwowano zmian; ♂ 75 mg/kg mc. – hiperplazja 4/50, gruczolaki 4/50, gruczolakoraki 4/50; ♂ 150 mg/kg mc. – hiperplazja 7/50, gruczolaki 8/50, gruczolakoraki 3/50; ♀ 0 mg/kg mc. – grupa kontrolna – nie stwierdzono zmian; ♀ 300 mg/kg mc. i 600 mg/kg mc. nie obserwowano zmian	NTP 1990
Myszy A/He, 15 ♂ + 15 ♀/grupę; kontrola 80 ♂ + 80 ♀	dootrzewnowo: D-limonen (85 ÷ 99%) w trikaprylinie; 200, 1000 mg/kg mc., 3 razy/tydz. przez 8 tyg.; kontrola: trikaprylina 0,1ml; 3 razy/tydz. przez 8 tyg.; zakończenie eksperymentu 24 tyg. od pierwszej iniekcji	gruczolaki płuca: ♂ 0 mg/kg mc. – grupa kontrolna – 22/77 (28%); 200 mg/kg mc. – 1/15 (7%); 1000 mg/kg mc. – 3/15 (20%); ♀ 0 mg/kg mc. – grupa kontrolna – 15/77 (20%); 200 mg/kg mc. – 2/15 (13%), 1000 mg/kg mc. – 2/13 (20%)	IARC 1993; Stoner i in 1973
Myszy (B6C3F1), 50 ♂ + 50 ♀/grupę	zgłębnik żołądkowy: D-limonen (>99%) w oleju kukurydzianym; ♂ 0, 250, 500 mg/kg mc.; ♀ 0, 500, 1000 mg/kg mc.; codziennie, 5 dni/tydz., 103 tyg.	wielojądrzaste hepatocyty: ♂ 0 mg/kg mc. – grupa kontrolna; 250 mg/kg mc. – 4/46; 500 mg/kg mc. – 32/50; ♀ – nie obserwowano zmian nowotworowych	NTP 1990
Myszy ICR/Ha Swiss, 50 ♀/grupę; kontrola 100 ♀	na огоłąną skórę: 10 mg D-limonenu w 0,1 ml acetonu, 3 razy/tydz. przez 440 dni	nie stwierdzono przypadków raka ani w grupie kontrolnej, ani w grupie myszy narażanych na D-limonen	Van Duuren, Goldschmidt 1976

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

17 tygodni podawano paszę zawierającą 0,63% D-limonenu. Mysiom wstrzyknięto dootrzewnowo 10 mmol 4-(metylnitrozamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanonu (NNK) w 0,1 ml roztworu soli, co indukowało powstawanie nowotworów płuca. D-limonen znacząco zmniejszył liczbę guzów płucnych wywołanych przez NNK. Odsetek nowotworów płuca u myszy, którym podano NNK wynosił 8,1%, natomiast u myszy otrzymujących jednocześnie D-limonen w paszy – 2,4%. Sam D-limonen nie wykazał istotnego wpływu na częstość występowania nowotworów płuca (El-Bayoumy i in. 1996; MAK 2006).

W innym badaniu przeprowadzonym na samicach szczurów rasy Wistar Furth zwierzęta karmiono przez 2 tygodnie dietą zawierającą 5% D-limonenu. Po tym okresie zwierzętom podano pojedynczą dożylną dawkę 50 mg/kg mc. MNU (nitrozometylomocznika) – substancji indukującej

powstawanie nowotworów gruczołu sutkowego. Grupa kontrolna samic szczurów kontynuowała dietę z dodatkiem D-limonenu przez kolejny tydzień, po czym zwierzęta powróciły do diety bazowej. Druga grupa samic, po otrzymaniu pojedynczej dawki MNU, była żywiona dietą zawierającą D-limonen do zakończenia eksperymentu, tj. do 23. tygodnia.

Podanie D-limonenu w grupie kontrolnej przez 2 tygodnie przed oraz 1 tydzień po podaniu MNU nie wpłynęło na częstość występowania ani liczbę guzów gruczołu sutkowego. U szczurów otrzymujących D-limonen do końca eksperymentu liczba guzów sutka była o połowę mniejsza niż u zwierząt z grupy kontrolnej (IARC 1993; Maltzman i in. 1989).

Eksperti z MAK (1989) opisali również przypadki działania D-limonenu jako promotora powstawania nowotworów, m.in. przedłożadka

u myszy Stock Albino po jednoczesnym podaniu do-
żołądkowym ftalanu dibutyłu (DBP) i D-limonenu
(50 µl DBP, 0,05 ml D-limonenu). Po 8 tygodniach
od podania DBP wraz z D-limonenem stwierdzono
8 przypadków nowotworów przedłożadka w gru-
pie 23 osobników. W grupie kontrolnej (17 osob-
ników), której podano wyłącznie DBP, stwierdzono
2 przypadki nowotworów przedłożadka (Field i in.
1965).

Eksperci są zdania, że D-limonen może w okre-
ślonych warunkach działać zarówno jako promotor,
jak i supresor nowotworów (MAK 1990).

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem
(IARC) zaklasyfikowała D-limonen do grupy 3,
co oznacza, że substancja ta nie jest klasyfikowana
jako rakotwórcza dla ludzi. Klasyfikacja ta została
oparta na dostępnych danych z badań ekspery-
mentalnych na zwierzętach oraz na analizie mechani-
zmów działania substancji (IARC 1999).

Działanie na rozrodczość

Działanie na rozrodczość u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono da-
nych dotyczących wpływu D-limonenu na rozrod-
czość u ludzi.

Działanie na rozrodczość u zwierząt

Działanie D-limonenu na rozrodczość u różnych
gatunków zwierząt przedstawiono w tabeli 9.

Powyższe badania (tab. 9) wykazały, że
D-limonen nie wykazuje szkodliwego działania na
rozrodczość. W przypadku myszy i szczurów war-
tość NOAEL ustalona na poziomie 591 mg/kg mc.
dla toksyczności matczynej i rozwojowej. U króli-
ków wartość NOAEL dla toksyczności matczynej
wynosiła 250 mg/kg mc., natomiast dla toksyczno-
ści rozwojowej – 1000 mg/kg mc.

Po podaniu bardzo dużych dawek D-limonenu
(>1000 mg/kg mc.) stwierdzono przypadki padnięć
samic królików, natomiast po dawkach przekracza-
jących 2000 mg/kg mc. – samic myszy i szczurów.
U płodów obserwowano opóźnienia kostnienia
kończyn, jednak występowały one wyłącznie po
podaniu matkom najwyższych dawek D-limonenu.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

D-limonen może wchłaniać się do organizmu czło-
wieka drogą oddechową, przez skórę oraz drogą
pokarmową.

D-limonen jest szybko wchłaniany przez płu-
ca ze względu na jego wysoką rozpuszczalność we
krwi. U ludzi poddanych ekspozycji na D-limonen
w stężeniach: 10 mg/m³; 225 mg/m³ i 450 mg/m³
przez 2 h, przy lekkiej aktywności fizycznej, średnie
względne wchłanianie płucne wynosiło 63% przy
najniższym stężeniu oraz 68% przy dwóch wyż-
szych stężeniach. Po 2 h ekspozycji na D-limonen
w stężeniu 10 mg/m³ zmierzone stężenie związku
we krwi wynosiło ok. 1,2 µmol/l (Falk-Filipsson i in
1993).

Wchłanianie D-limonenu przez skórę oceniano
w eksperymencie, w którym rękę osoby badanej
zanurzono w 98% D-limonenie przez 2h. Po zakoń-
czeniu ekspozycji dermalnej stężenie D-limonenu
we krwi wynosiło 0,2 µmol/l, czyli było 6-krotnie
mniejsze niż po ekspozycji inhalacyjnej. Ze wzglę-
du na silnie drażniące działanie D-limonenu na
skórę człowieka badanie przeprowadzono tylko
jednokrotnie (Falk i in 1991).

Cal i in. (2001) ocenili przenikanie D-limonenu
przez skórę w warunkach in vitro. Matryce poliure-
tanowe o średnicy 1,6 cm zanurzano w D-limonenie
(≥97%, firmy Fluka) przez 24 h. Badania prowadzi-
no w przepływowych celach dyfuzyjnych wykona-
nych z teflonu, o powierzchni dyfuzyjnej 0,65 cm²,
utrzymywanych w termostatowanym bloku w tem-
peraturze 37°C.

W badaniach przenikalności wykorzystano ludz-
ką skórę z klatki piersiowej, przechowywaną w sta-
nie zamrożonym w temperaturze -20°C. Warstwy
skóry (naskórek i skóra właściwa) izolowano tech-
niką separacji cieplnej, zanurzając całą skórę w wo-
dzie o temperaturze 60°C przez 45 s, a następnie
ostrożnie usuwając naskórek. Analizę prowadzono
za pomocą chromatografu gazowego wyposażonego
w detektor płomieniowo-jonizacyjny.

Stwierdzono, że skóra właściwa nie stanowi ba-
riery dla przenikania D-limonenu. Kinetyka prze-
nikania związku przez skórę właściwą była bardzo
podobna do kinetyki jego uwalniania bezpośred-
nio do płynu akceptorowego. Współczynnik prze-
puszczalności (*K_p*) dla D-limonenu przez skórę

Tabela 9. Działanie D-limonenu na rozrodczość u zwierząt
Table 9. Reproductive toxicity of D-limonene in animals

Gatunek, szczep, płeć, liczba zwierząt	Warunki narażenia (droga, dawka, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wistar, 20 ciężarnych ♀/grupę	zgtębnik żołądkowy: D-limonen; 0, 591, 2869 mg/kg mc.; codziennie od 9. do 15. dnia ciąży; 15 matek/grupę uśmiercono przed porodem; 5 matek/grupę odchowalo potomstwo obserwowane do 7. tyg. życia	0 mg/kg mc – grupa kontrolna; 591 mg/kg mc – nie obserwowano efektów; NOAEL = 591 mg/kg mc. dla toksyczności matczynej i rozwojowej; 2869 mg/kg mc. – zmniejszenie masy ciała i zwiększona śmiertelność matek; u płodów opóźnienie kostnienia kości śródstopia i paliczków, bez innych wad rozwojowych; u potomstwa nieznacznie zmniejszony przyrost masy ciała oraz zmniejszona względna masa grasicy, śledziony, jajników	Tsui i in. 1975a
Myszy ICR, 20 ciężarnych ♀/grupę	zgtębnik żołądkowy: D-limonen; 0, 591, 2363 mg/kg mc.; codziennie od 7. do 12. dnia ciąży; 15 matek/grupę uśmiercono przed porodem; 5 matek/grupę odchowalo potomstwo obserwowane do 7. tyg. życia	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna; 591 mg/kg mc. – nie obserwowano efektów; NOAEL = 591 mg/kg mc. dla toksyczności matczynej i rozwojowej; 2869 mg/kg mc. – zmniejszenie masy ciała matek; u płodów zwiększona częstość występowania dodatkowych i zrośniętych elementów żeber oraz opóźnienie kostnienia kończyn; u potomstwa nieznacznie zmniejszona względna masa narządów, bez innych nieprawidłowości	Kodama i in. 1977a
Króliki Japanese White, 10 ciężarnych ♀/grupę lub 18 ciężarnych ♀/grupę (najwyższa dawka)	drogą pokarmową: D-limonen w paszy; 0, 250, 500, 1000 mg/kg mc.; codziennie od 8. do 18. dnia ciąży	0 mg/kg mc. – grupa kontrolna; 250 mg/kg mc. – brak efektów; NOAEL = 250 mg/kg mc. dla toksyczności matczynej; 500 mg/kg mc. – zmniejszenie masy ciała matek i spożycia paszy, bez wpływu na parametry ciąży i potomstwo; 1000 mg/kg mc. – padnięcie 8/18 matek; u części płodów opóźnienie kostnienia kończyn, bez wpływu na masę ciała i masę narządów; NOAEL = 1000 mg/kg mc. dla toksyczności rozwojowej	Kodama i in. 1977b

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.
NOAEL – najwyższy poziom dawki, przy którym nie zaobserwowano szkodliwych efektów (ang. *No Observed Adverse Effect*).

właściwą wynosił 1,44 x 10⁻³ cm/h, a skumulowana ilość związku po 8 h wynosiła 1,23 mg/cm².

Naskórek stanowił barierę dla przenikania D-limonenu. Szybkość przenikania związku była wolniejsza w obecności naskórka. Współczynnik przenikalności D-limonenu przez naskórek wynosił 0,55 x 10⁻³ cm/h. Skumulowana ilość związku przenikającego przez naskórek po 8 h wynosiła 0,41 mg/cm², co stanowiło ok. 7,65% całkowitej dawki.

Duże ilości D-limonenu (ok. 1,5 mg/cm²) stwierdzono w warstwie rogowej naskórka, co wskazuje na wysokie powinowactwo związku do tej warstwy. Obliczony współczynnik log P dla D-limonenu wynosił 4,58 (±0,24), co potwierdza jego lipofilowy charakter.

Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że D-limonen przenika przez skórę, wykazując szczególnie wysokie powinowactwo

do warstwy rogowej naskórka, w której kumuluje się w znacznych ilościach (ok. 1,5 mg/cm²). Jednakże naskórek stanowi barierę dla przenikania D-limonenu, spowalniając ten proces w porównaniu z bezpośrednim uwalnianiem lub przenikaniem przez samą skórę właściwą.

Wchłanianie D-limonenu przez skórę badano również u myszy. Eksperyment przeprowadzony na tych zwierzętach wykazał znacznie szybsze wchłanianie dermalne D-limonenu w porównaniu obserwowanym u ludzi. Maksymalne stężenie związku we krwi u myszy po aplikacji dermalnej osiągnięto już po 10 minutach. Różnice te przypisuje się większej ilości krwi w stosunku do powierzchni skóry u myszy oraz większej gęstości mieszków włosowych w skórze myszy w porównaniu ze skórą ludzką (Schäfer, Schäfer 1982).

D-limonen po podaniu drogą pokarmową szybko wchłania się zarówno u ludzi, jak i u zwierząt.

U ludzi $52 \div 83\%$ przyjętej dawki D-limonenu jest wydalane z moczem w ciągu 48 h. Biodostępność D-limonenu po podaniu doustnym wynosi ok. 43% (Chen i in. 1998; Crowell i in. 1992; Igimi i in. 1974; Kim i in. 2013; Vigushin i in. 1998).

Dystrybucja

D-limonen jest szybko dystrybuowany do różnych tkanek organizmu i łatwo metabolizowany. Wysoka rozpuszczalność D-limonenu w tłuszczach wskazuje na jego szybkie rozmieszczenie do tkanki tłuszczowej po wchłonięciu.

Klirens D-limonenu z krwi u mężczyzn narażonych na działanie związku w stężeniu 450 mg/m³ przez 2 h wynosił 1,1 L/kg/h (Falk Filipsson i in. 1993; MAK 2006; WHO 1998).

U szczurów Wistar obserwowano rozmieszczenie D-limonenu w organizmie po podaniu drogą pokarmową związku znakowanego izotopem promieniotwórczym węgla ¹⁴C. Początkowo wysoką radioaktywność stwierdzano w wątrobie, nerkach i krwi, natomiast po 48 h jej ślady były znikome (Igimi i in. 1974 za: Kim i in. 2013). U szczurów Wistar-Furth D-limonen i jego metabolity pojawiały się w organizmie w ciągu 20 min od podania drogą pokarmową (Crowell i in. 1992; Kim i in. 2013).

U samców szczurów F344 stężenie D-limonenu było ok. trzykrotnie większe niż u samic, a ok. 40% związku było odwracalnie związane z α₂μ-globuliną – specyficznym białkiem wykrywanym wyłącznie u samców szczurów (Kim i in. 2013; Leman-McKeeman, Caudill 1992; MAK 2006).

Metabolizm

D-limonen jest metabolizowany zarówno u ludzi, jak i u zwierząt. Głównymi metabolitami D-limonenu u szczurów są kwas perilowy oraz kwas dihydroperilowy. U ludzi D-limonen jest metabolizowany głównie do kwasu perilowego, kwasu dihydroperilowego oraz limonen-1,2 diolu.

Metabolity D-limonenu u ludzi zidentyfikowano w badaniu opisanym przez Crowell i in. (1994), w którym 7 osób spożyło 100 mg/kg D-limonenu dodanego do kremu budyniowego. Uczestnikom eksperymentu pobrano krew przed rozpoczęciem badania oraz po 4 h i 24 h w celu analizy metabolitów D-limonenu. Analiza metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS)

wykazała obecność co najmniej pięciu związków po 4 h, których nie obserwowano na początku badania.

Dwa główne piki zidentyfikowano jako metabolity D-limonenu występujące u szczurów: kwas dihydroperilowy oraz kwas perilowy. Dwa mniejsze piki odpowiadały estrom metylowym tych kwasów. Trzeci główny pik zidentyfikowano jako limonen-1,2-diol. Sam D-limonen występował w mniejszym stężeniu (Crowell i in. 1994).

U szczurów i myszy stwierdzono różnice w metabolizmie D-limonenu. Wykazano, że jeden z metabolitów pośrednich D-limonenu, D-limonen-1,2-oksyd, wiąże się z białkiem α₂μ-globuliną w nerkach samców szczurów. Powstały kompleks jest wolniej rozkładany w lizosomach, co prowadzi do akumulacji α₂μ-globuliny oraz powstawania charakterystycznych zmian nefropatycznych u samców szczurów.

D-limonen oraz D-limonen-1,2-diol również wiążą się z α₂μ-globuliną u samców szczurów. U samic szczurów oraz u samców i samic myszy nie stwierdzono wiązania D-limonenu ani jego metabolitów z białkami moczu. U myszy białko podobne do α₂μ-globuliny nie jest zwrotnie wchłaniane w nerkach, co wyjaśnia brak występowania analogicznej nefropatii (Lehman i in. 1992; MAK 2006; Rodriguez i in. 1991).

Wydalanie

U ludzi i szczurów biologiczny okres półtrwania D-limonenu mieści się w zakresie 12 ÷ 24 h, a wydalanie związku zachodzi głównie z moczem (Crowell i in. 1992; Igimi i in. 1974; Kim i in. 2013; Kodama i in. 1976).

U ludzi po inhalacyjnej ekspozycji na D-limonen jedynie niewielka część (1%) wchłoniętej dawki była wydychana w postaci niezmienionej, natomiast bardzo mała ilość (0,003%) była wydalana z moczem.

U samców szczurów po wielokrotnym podawaniu D-limonenu drogą pokarmową przez zgłębnik żołądkowy obserwowano zależny od dawki wzrost wydalania α₂μ-globuliny z moczem (Saito i in. 1991).

Podsumowując, D-limonen jest dobrze wchłaniany drogą inhalacyjną, słabiej przez skórę, a po podaniu doustnym ulega znacznemu metabolizmowi. Związek wykazuje tendencję do rozmieszczania się w tkankach bogatych w lipidy. U samców szczurów specyficzny metabolizm oraz wiązanie z α₂μ-globuliną w nerkach prowadzą do unikalnych

efektów toksykologicznych, które nie są obserwowane u innych gatunków ani u samic szczurów. Wydalanie zachodzi głównie z moczem w postaci metabolitów.

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Najistotniejszym efektem działania D-limonenu jest jego działanie drażniące na skórę i błony śluzowe. Wynika ono z faktu, że D-limonen bardzo dobrze rozpuszcza się w tłuszczach, przez co przenika do warstwy lipidowej błon komórkowych oraz warstwy ochronnej śluzu. D-limonen w obecności tlenu i światła łatwo ulega utlenieniu do hydroperoksydów, karwonu i innych pochodnych. Produkty utlenienia D-limonenu wykazują silniejsze działanie drażniące niż czysty, nieutleniony D-limonen oraz mogą wywoływać reakcje alergiczne.

Produkty utlenienia D-limonenu mogą zwiększać stres oksydacyjny i nasilać aktywację receptorów czuciowych (TRP, ang. *Transient Receptor Potential*), m.in. TRPA1 i TRPV1, zlokalizowanych na zakończeniach nerwu trójdzielnego. Aktywacja receptorów TRP powoduje uczucie pieczenia, łzawienie, kichanie oraz ból, czyli typowe objawy podrażnienia (Kaimoto i in. 2016; Rohr i in. 2002).

Badania wskazują, że istotnym efektem działania D-limonenu jest również jego potencjalne działanie toksyczne na wątrobę. Biotransformacja D-limonenu zachodzi głównie z udziałem układu cytochromu P450. Proces ten prowadzi do powstawania szeregu hydroksylowanych i epoksydowych metabolitów. Powstałe metabolity są związkami o wysokiej reaktywności chemicznej, które mogą generować reaktywne formy tlenu. Te z kolei mogą uszkadzać mitochondria, prowadząc do upośledzenia β -oksydacji kwasów tłuszczowych, a w konsekwencji do akumulacji lipidów w wątrobie (Ramos i in 2018).

Innym efektem wywołanym przez D-limonen, istotnym jednak wyłącznie u samców szczurów, jest jego toksyczne działanie na nerki. Mechanizm powstawania guzów nerek u samców szczurów wiąże się z obecnością białka $\alpha 2\mu$ -globuliny ($\alpha 2\mu$ -G), syntetyzowanego w wątrobie i zwrotnie wchłanianego w kanalikach nerkowych. U samców stężenie tego białka w moczu jest znacznie wyższe niż u samic.

$\alpha 2\mu$ -G jest wolno degradowana w lizosomach, apozwiązaniu z niektórymi związkami chemicznymi, np. D-limonenem, tworzy trudno rozkładalne kompleksy. Kompleksy te gromadzą się w kanalikach

nerkowych, powodując nefropatię charakteryzującą się powstawaniem kropli hialinowych, martwicą komórek i zwiększoną regeneracją nabłonka. Przewlekła proliferacja komórek prowadzi do rozwoju gruczolaków i gruczolakoraków nerek w sposób zależny od dawki. Ponieważ u ludzi nie stwierdzono istotnej produkcji $\alpha 2\mu$ -G, uznaje się, że mechanizm ten nie ma znaczenia dla zdrowia człowieka (Hard, Whysner 1994; Whysner, Williams 1996).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Jednoczesne narażenie na D-limonen oraz inne substancje o działaniu drażniącym, np. detergenty, rozpuszczalniki organiczne czy inne substancje zapachowe, może nasilać działanie drażniące D-limonenu. Przypadki alergii kontaktowej wywołanej działaniem D-limonenu i innych czynników opisano w rozdziale: „Działanie toksyczne na ludzi – toksyczność przewlekła”.

ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI EKSPOZYCJI

W tabeli 10 przedstawiono wartości NOAEL (ang. *No Observed Adverse Effect Level*), czyli poziomy dawek, przy których nie obserwowano działania szkodliwego, wyznaczone w badaniach na różnych gatunkach zwierząt po narażaniu drogą pokarmową, oraz wartości NOEL i RD_{50} określone w badaniach inhalacyjnych u myszy.

Przedstawione w tabeli 10 wyniki wskazują, że toksyczność D-limonenu zależy od wielkości i czasu narażenia, drogi podania, a także od gatunku i płci zwierząt. Po wielokrotnym narażeniu drogą pokarmową dominującymi efektami były zmiany w nerkach i wątrobie. Największą wrażliwość wykazywały samce szczurów, u których nefrotoksyczność obserwowano przy dawkach większych niż 5 mg/kg mc., a wartość NOAEL ustalono na poziomie 5 mg/kg mc. U innych gatunków zwierząt oraz u samic szczurów efekty toksyczne obserwowano dopiero po zastosowaniu znacznie większych dawek. W badaniach inhalacyjnych poziom bez obserwowanych efektów (NOEL) dla podrażnienia sensorycznego u myszy oszacowano na 100 ppm (565 mg/m^3), a wartość RD_{50} odpowiadającą za zmniejszenie częstości oddechów o 50% wyznaczono na poziomie 1076 ppm (6082 mg/m^3).

Tabela 10. Zależność efektów toksycznych od wielkości narażenia
Table 10. Relationship between exposure level and toxic effects

Gatunek, szczerp, płeć i liczba zwierząt, droga podania, warunki narażenia, czas	Wartość NOAEC/NOAEL	Efekt	Piśmiennictwo
Narażenie drogą pokarmową			
Szczury F344; 10 ♂ / grupę; D-limonen w oleju kukurydzianym; przez zgłębnik żołądkowy; 0, 2, 5, 10, 30, 75 mg/kg mc.; 5 dni/tydz. przez 13 tyg.	NOAEL – 5 mg/kg mc. ♂ NOAEL – 30 mg/kg mc. ♂	działanie toksyczne na nerki u ♂ szczurów działanie toksyczne na wątrobę u ♂ szczurów	Webb i in. 1989
Szczury F344; 10 ♀ / grupę; D-limonen w oleju kukurydzianym; przez zgłębnik żołądkowy; 0, 150, 300, 600, 1200 i 2400 mg/kg mc.; 5 dni/tydz. przez 13 tyg.	NOAEL – 300 mg/kg mc. ♀	działanie toksyczne na wątrobę i nerki u ♀ szczurów	NTP 1990
Myszy B6CF1; 10 ♂ + 10 ♀ / grupę; D-limonen w oleju kukurydzianym; przez zgłębnik żołądkowy; 0, 125, 250, 500, 1000, 2000 mg/kg mc.; 5 dni/tydz. przez 13 tyg.	NOAEL – 250 mg/kg mc.	działanie toksyczne na wątrobę	NTP 1990
Psy Japońskie Beagle; 5 ♂ + 5 ♀ / grupę; D-limonen przez zgłębnik żołądkowy; 0, 100, 1000 mg/kg mc., codziennie przez 6 miesięcy	NOAEL – 100 mg/kg mc.	działanie toksyczne na nerki u psów	Webb i in. 1990
Szczury Wistar; 20 ciężarnych ♀ / grupę; D-limonen; przez zgłębnik żołądkowy; 0, 591, 2869 mg/kg mc.; codziennie od 9.do 15. dnia ciąży	NOAEL – 591 mg/kg mc.	toksyczność maciczna i rozwojowa	Tsui i in. 1975a
Myszy ICR; 20 ciężarnych ♀ / grupę; D-limonen; przez zgłębnik żołądkowy; 0, 591, 2363 mg/kg mc.; codziennie od 7. do 12. dnia ciąży	NOAEL – 591 mg/kg mc.	toksyczność maciczna i rozwojowa	Kodama i in. 1977a
Króliki Japanese White; 10 lub 18 ciężarnych ♀ / grupę; D-limonen z paszą; 0, 250, 500, 1000 mg/kg mc.; codziennie od 8. do 18. dnia ciąży	NOAEL – 250 mg/kg mc.	toksyczność maciczna i rozwojowa	Kodama i in. 1977b
Narażenie inhalacyjne			
Myszy BALB/c; 56 ♂; komora inhalacyjna (10 ÷ 30 min); 197 ÷ 1599 ppm (1095 ÷ 8890 mg/m³)	NOEL – 100 ppm (565 mg/m³)	podrażnienie sensoryczne (wywołane przez substancję chemiczną) stymuluje receptory czuciowe (np. nerwy trójdzielne / zakończenia nerwowe w nosie, jamie nosowo-gardłowej, oczach), bez natychmiastowego uszkodzenia tkanek, ale wywołując subiektywne doznania, takie jak: pieczenie, szczypanie, łzawienie, kichanie, ból, uczucie duszności czy zmiany w zachowaniu oddechowym. U myszy podrażnienie sensoryczne objawia się jako spadek częstości oddechów oraz wzrost czasu pomiędzy zakończeniem wdechu a rozpoczęciem wydechu	Larsen i in 2000

cd. tab. 10/Table 10 cont.

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt, droga podania, warunki narażenia, czas	Wartość NOAEC/NOAEL	Efekt	Piśmiennictwo
Myszy BALB/c; 56 ♂; komora inhalacyjna (10 ÷ 30 min) 197 ÷ 1599 ppm (1095 mg/m³ ÷ 8890 mg/m³)	RD ₅₀ – 1076 ppm (6082 mg/m³)	zmniejszenie częstości oddechów o 50%	Larsen i in 2000

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.
NOAEL – najwyższy poziom dawki, przy którym nie zaobserwowano szkodliwych efektów (ang. *No Observed Adverse Effect*).
NOEL – najwyższy poziom stężenia, przy którym nie obserwowano żadnych efektów (ang. *No Observed Effect Level*).
RD₅₀ – stężenie powodujące zmniejszenie częstości oddechów o 50%.

**NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS)
W POWIETRZU NA STANOWISKACH
PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE
W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)**

Istniejące wartości NDS i DSB

W Polsce dotychczas nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla D-limonenu w powietrzu środowiska pracy.

Wartości normatywów higienicznych D-limonenu obowiązujące w innych krajach przedstawiono w tabeli 11.

Dopuszczalne poziomy narażenia zawodowe w innych krajach europejskich wahają się od 28 mg/m³ (Niemcy) do ok. 170 mg/m³ (AIHA, OARs and WEELs oraz Hiszpania). W Niemczech w 2005 r. wartość dopuszczalna dla D-limonenu została ustalona na poziomie 110 mg/m³, a w 2012 r. eksperci MAK zdecydowali o obniżeniu wartości do 28 mg/m³.

Podstawą wyznaczenia wartości OEL na poziomie 28 mg/m³ było działanie toksyczne D-limonenu na wątrobę samców szczurów. Eksperci uznali, że efektem krytycznym dla D-limonenu jest zwiększenie względnej masy wątroby u samców szczurów. W badaniu opisanym przez Webb i in. (1989) szczury były narażane na D-limonen podawany w oleju kukurydzianym przez zgłębnik żołądkowy 5 dni w tygodniu przez 13 tygodni. Na podstawie wyników tego badania wartość NOAEL (ang. *No Observed Adverse Effect Level*) ustalono na poziomie 30 mg D-limonenu/kg mc./dzień. Eksperci uznali, że indukcja enzymów, która prowadzi do zwiększenia masy wątroby, prawdopodobnie osiąga maksimum w ciągu 90 dni (tj. w okresie 13 tygodni). Uwzględniając różnice międzygatunkowe oraz odpowiednie współczynniki, ostatecznie przyjęto wartość 28 mg/m³ (5 ppm).

Eksperci z AIHA (ang. *American Industrial Hygiene Association*) i OARS (ang. *The Occupational Alliance for Risk Science*) przyjęli wartość dopuszczalnego poziomu narażenia zawodowego dla D-limonenu na poziomie 30 ppm (ok. 170 mg/m³). Wartość 30 ppm zaproponowali autorzy publikacji Larsen i in. (2000), w której według autorów szacunkowe wartości progowe (OEL), które mogłyby zapobiegać wystąpieniu podrażnienia czuciowego, wynoszą ok. 30 ppm dla D-limonenu (ok. 170 mg/m³).

Podstawy proponowanej wartości NDS

Na podstawie badań opisanych we wcześniejszych rozdziałach uznano, że skutkiem krytycznym działania D-limonenu u ludzi i zwierząt jest podrażnienie sensoryczne górnych dróg oddechowych. Biorąc pod uwagę narażenie inhalacyjne na D-limonen w środowisku pracy, efekt ten wydaje się najbardziej istotny. Ponieważ, obok działania drażniącego D-limonenu na drogi oddechowe, istotne jest również jego działanie układowe na wątrobę i nerki, zdecydowano o wyznaczeniu wartości NDS trzema sposobami i obliczeniu wartości średniej.

1. W badaniu inhalacyjnym przeprowadzonym przez Larsena i in. (2000) wyznaczona wartość RD₅₀ (stężenie zmniejszające częstość oddechów o 50%) dla myszy BALB/cA w pierwszych 10 minutach ekspozycji wyniosła 1076 ppm (6083 mg/m³). Zaproponowano wartość NDS dla D-limonenu, uwzględniając 0,01 tej wartości.

$$NDS = 1076 \text{ ppm} \cdot 0,01 = 10,76 \text{ ppm} = \text{ok. } 60,8 \text{ mg/m}^3$$

2. Uwzględniając działanie toksyczne D-limonenu na wątrobę, wyznaczono wartość NDS na podstawie badań przeprowadzonych na myszach B6CF1 (NTP 1990). Myszy otrzymywały D-limonen o stężeniu >99% w oleju kukurydzianym przez zgłębnik żołądkowy, 5 dni w tygodniu przez 13 tygodni. Wartość NOAEL w tym badaniu ustalono na poziomie 250 mg/kg mc.

Tabela 11. Normatywy higieniczne D-limonenu w wybranych państwach (AIHA 1993; OARs and WEELs 2025; GESTIS 2025; MAK 2012; List of MAK and BAT Values 2025)

Table 11. Occupational exposure limits for D-limonene in selected countries (AIHA 1993; OARs and WEELs 2025; GESTIS 2025; MAK 2012; List of MAK and BAT Values 2025)

Państwo	Wartość NDS, mg/m ³ (ppm)	Wartość NDSch, mg/m ³ (ppm)
Finlandia	140 (25)	280 (50) 15-minutowa średnia wartość
Niemcy (AGS)	28 (5) Skóra	110 (20) 15-minutowa średnia wartość
Niemcy (DFG)	28 (5) Skóra	112 (20) 15-minutowa średnia wartość
Norwegia	140 (25)	–
Hiszpania	168 (30) Skóra	–
Szwajcaria	40 (7)	80 (14)
AIHA, OARs and WEELs	170 (30)	–

Dawkę (D_w) = 250 mg/kg mc. dla myszy przeliczono na ekwiwalentne dzienne stężenie dla człowieka (C), pobrane w ciągu 8 h, w następujący sposób:

$$C = \frac{D_w \cdot W_h}{V_h} = \frac{250 \cdot 70}{10} = 1750 \text{ mg/m}^3$$

gdzie:

W_h – masa człowieka (70 kg),
 V_h – objętość powietrza wdychanego przez człowieka w ciągu 8 h (10 m³).

Wartość NDS wyliczono w następujący sposób:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \frac{\text{NOAEC}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{1750 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 3 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2} = \\ &= \frac{1750 \text{ mg/m}^3}{24} = 2,9 \text{ mg/m}^3 \end{aligned}$$

gdzie:

$A = 2$ – współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi,
 $B = 3$ – różnice międzygatunkowe i droga podania (myszy narażane dożołądkowo przez zgłębnik),
 $C = 2$ – przejście z narażenia krótkoterminowego do przewlekłego (badanie 13-tygodniowe),
 $D = 1$ – zastosowano wartość NOAEL,
 $E = 2$ – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych).

3. Do wyznaczenia wartości NDS uwzględniono również potencjalne działanie toksyczne D-limonenu na nerki u psów rasy Japońskie Beagle. W eksperymencie 6-miesięcznym psom codziennie podawano D-limonen przez sondę dożołądkową. Wartość NOAEL w tym badaniu ustalono na poziomie 100 mg/kg mc. (Webb i in. 1990; MAK 2006).

Dawkę (D_w) = 100 mg/kg mc. dla psów przeliczono na ekwiwalentne dzienne stężenie dla człowieka (C), pobrane w ciągu 8 h w następujący sposób:

$$C = \frac{D_w \cdot W_h}{V_h} = \frac{100 \cdot 70}{10} = 700 \text{ mg/m}^3$$

gdzie:

W_h – masa człowieka (70 kg).
 V_h – objętość powietrza wdychanego przez człowieka w ciągu 8h (10 m³).

Wartość NDS wyliczono w następujący sposób:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \frac{\text{NOAEC}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{700 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 3 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2} = \\ &= \frac{700 \text{ mg/m}^3}{12} = 58,3 \text{ mg/m}^3 \end{aligned}$$

gdzie:

$A = 2$ – współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi,
 $B = 3$ – różnice międzygatunkowe i droga podania (psy narażane przez sondę dożołądkowo),

- C = 1 – przejście z narażenia krótkoterminowego do przewlekłego (badanie 6-miesięczne),
 D = 1 – zastosowano wartość NOAEL,
 E = 2 – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych).

Uwzględniając wartości NDS dla D-limonenu obliczone trzema metodami, wyznaczono średnią wartość wynoszącą 64 mg/m³ (11,3 ppm). Na podstawie uzyskanych wyników oraz z uwzględnieniem normatywów higienicznych obowiązujących w innych krajach zaproponowano wartość NDS równą 60 mg/m³ (10,6 ppm).

Ze względu na działanie drażniące D-limonenu zaproponowano wartość NDSch równą 120 mg/m³

(21,2 ppm) oraz adnotację: „I” – substancja o działaniu drażniącym. Z uwagi na możliwość wchłaniania D-limonenu przez skórę zaproponowano również oznaczenie substancji notacją „skóra”. Nie ma podstaw do ustalenia wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla D-limonenu.

PIŚMIENNICTWO

AIHA (1993). The American Industrial Hygiene Association. OEL Table. <https://www.aiha.org/get-involved/aiha-guideline-foundation/oel/oel-table> [dostęp: sierpień 2027]

Alonso-Gutierrez J., Chan R., Batth T. S. i in. (2013). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for limonene and perillyl alcohol production. *Metab. Eng.* 19, 33–41. DOI: 10.1016/j.ymben.2013.05.004.

Ariyoshi T., Arakaki M., Ideguchi K. i in. (1975). Studies on the metabolism of D-limonene (*p*-Mentha-1,8-diene). III. Effects of D-limonene on the lipids and drug-metabolizing enzymes in rat livers. *Xenobiotica* 5(1), 33–8. DOI: 10.3109/00498257509056091.

Cal K., Janicki S., Sznitowska M. (2001). In vitro studies on penetration of terpenes from matrix-type transdermal systems through human skin. *Int. J. Pharm.* 224, 81–88.

Chen H., Chan K. K., Budd T. (1998). Pharmacokinetics of D-limonene in the rat by GC-MS assay. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17, 631–640.

Crowell P.L., Lin S., Vedejs E. i in. (1992). Identification of metabolites of the antitumor agent D-limonene capable of inhibiting protein isoprenylation and cell growth. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 31, 205–212. DOI: 10.1007/BF00685549.

Crowell P.L., Elson C.E., Bailey H.H. i in. (1994). Human metabolism of the experimental cancer therapeutic agent D-limonene. *Cancer Chemother Pharmacol* 35, 31–37.

Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency (2013). Evaluation of Health Hazards by Exposure to D-Limonene and Proposal of a Health-Based Quality Criterion for Ambient Air. Environmental Project No. 1496.

Dietrich D.R., Swenberg J.A. (1991 a). NCI-Black-Reiter (NBR) male rats fail to develop renal disease following exposure to agents that induce a-2u-Globulin nephropathy. *Fundam. Appl. Toxicol.* 16, 719–762. DOI: 10.1016/0272-0590(91)90161-v.

Dornic N., Roudot A.C., Batardière A. i in. (2018). Aggregate exposure to common fragrance compounds: Comparison of the contribution of essential oils and cosmetics using probabilistic methods and the example of limonene. *Food Chem. Toxicol.* 116 (Pt. B), 77–85. DOI: 10.1016/j.fct.2018.04.017.

ECHA, European Chemicals Agency (2023). Registration Dossiers: (*R*)-*p*-mentha-1,8-diene. <https://echa.europa.eu/pl/substance-information/-/substanceinfo/100.025.284> [dostęp: sierpień 2026].

El-Bayoumy K., Upadhyaya P., Desai D.H. i in. (1996). Effects of 1,4-phenylenebis(methylene)selenocyanate, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol, and D-limonene individually and in combination on the tumorigenicity of the tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in A/J mouse lung. *Anticancer Res.* 16, 2709–2712. PMID: 8917375.

Elcombe C.R., Odum J., Foster J.R. i in. (2002). Prediction of rodent nongenotoxic carcinogenesis: Evaluation of biochemical and tissue changes in rodents following exposure to nine nongenotoxic NTP carcinogens. *Environ. Health Perspect.* 110, 363–375.

EPA (1994) U.S. Environmental Protection Agency. Limonene. EPA-738-F-94-030, 1–5. <https://archive.epa.gov/pesticides/registration/web/pdf/3083.pdf> [dostęp: sierpień 2026].

Falk A., Fischer T., Hagberg M. (1991). Purpuric rash caused by dermal exposure to D-limonene. *Contact Dermatitis* 25, 198–199.

- Falk-Filipsson A., Löf A., Hagberg M., i in. (1993). D-limonene exposure to humans by inhalation: uptake, distribution, elimination, and effects on the pulmonary function. *J. Toxicol. Environ. Health* 38, 77–88.
- Fahrig R. (1982). *Prog. Clin. Biol. Res.* 109, 339 (cyt. za MAK 1990).
- Fahrig R. (1985). *BGA Schriften* 6, 58 (cyt. za MAK 1990).
- FDA (2011). U.S. Food and Drug Administration, Synthetic flavoring substances and adjuvants. 21 CFR §182.60. <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-182/subpart-A/section-182.60> [dostęp: sierpień 2026].
- Florida Chemical Co. (1991). Marketing data sheet: D-limonene. Lake Alfred, FL. (cyt. za WHO 1998).
- Florin I., Rutberg L., Curvall M. i in. (1980). Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology* 15, 219–232. DOI:10.1016/0300-483X(80)90055-4.
- Gawarecka A., Wróblewska A., Pelech R. (2015). Epoksydacja limonenu na wybranych katalizatorach tytanowo-silikatowych. *Technical Issues* 2, 9–15.
- GIS (2025). Dane Głównego Inspektoratu Sanitarnego dotyczące narażenia pracowników na wybrane substancje chemiczne (dane udostępnione przez CIOP-PIB).
- GESTIS (2025). International Limit Values (dguv.de).
- Gould M.N. (1995). Prevention and therapy of mammary cancer by monoterpenes. *J. Cell. Biochem.* 22 (Suppl.), 139–144 (cyt. za IARC 1999).
- Juyal V. (2024) Global D-limonene Market Size, Share, and Trends Analysis Report: Industry Overview and Forecast to 2032. Chemical and Materials Nov 2024. Global 350. Pages No of Tables: 220 No of Figures: 60 Author. <https://www.data-bridgemarketresearch.com/reports/global-D-limonene-market>.
- Hard G.C., Whysner J. (1994). Risk assessment of D-limonene: An example of male rat-specific renal tumorigens. *Crit. Rev. Toxicol.* 24(3), 231–254. DOI: 10.3109/10408449409021607.
- Hooser S.B., Beasley V.R., Everitt J.I. (1986). Effects of an insecticidal dip containing D-limonene in the cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189, 90–908.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1993). Some naturally occurring substances food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 56. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1999). D-limonene. *IARC Monogr. Eval. Carcinogen. Risk Hum.* 73, 307. <https://www.inchem.org/documents/iarc/vol73/73-11.html> [dostęp: sierpień 2026].
- Igimi H., Hisatsugu T., Nishimura M. (1976). The use of D-limonene preparation as a dissolving agent of gallstones. *Clinical Trial. Am. J. Dig. Dis.* 21(11), 926–39. DOI: 10.1007/BF01071903.
- Igimi H., Nishimura M., Kodama R., i in. (1974). Studies on the metabolism of D-limonene (*p*-mentha-1,8-diene): I. The absorption, distribution and excretion of D-limonene in rats. *Xenobiotica* 4, 77–84.
- IPCS, International Programme on Chemical Safety (1994). Assessing health risks of chemicals: Derivation of Guidance Values for Healthbased Exposure Limits. Geneva: World Health Organization.
- IPCS, International Programme on Chemical Safety (2005). D-limonene. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0918.htm> [dostęp: sierpień 2026].
- Jongedijk E., Cankar K., Buchhaupt M. i in. (2016). Biotechnological production of limonene in microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100(7), 2927–38. DOI: 10.1007/s00253-016-7337-7.
- Kaimoto T., Hatakeyama Y., Takahashi K. i in. (2016). Involvement of transient receptor potential A1 channel in algescic and analgesic actions of the organic compound limonene. *Eur. J. Pain (EJP)*. DOI: 10.1002/ejp.840.
- Kanerva R.L., Ridder G.M., Lefever F.R., i in. (1987). Comparison of shortterm renal effects due to oral administration of decalin or D-limonene in young adult male Fischer-344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 25, 345–353. DOI: 10.1016/0278-6915(87)90167-0.
- Karlberg A.T., Lindell B. (1993). Limonen. *Arbete och Hälsa* 1993:14. Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. Arbetsarskyddsverket 1–38.
- Kim Y.W., Kim M.J., Chung B.Y. i in. (2013). Safety evaluation and risk assessment of D-limonene. *J. Toxicol.*
- Klefer M., Bresler F., Sallabury S. (1993). NIOSH health hazard evaluation for D-limonene. Occupational and Environmental Health Directorate, Industrial Hygiene. Air Force Materiel Command Brooks Air Force Base, Texas.
- Kodama R., Inoue H., Noda K. i in. (1976). Effect of D-limonene and related compounds on bile flow and biliary lipid composition in rats and dogs. *Life Sci.* 19(10), 1559–1567. DOI: 10.1016/0024-3205(76)90102-8.
- Kodama R., Okubo A., Araki E. i in. (1977a). Studies on D-limonene as a gallstone solubilizer (VII): Effects on development of mouse fetuses and offspring. *Oyo Yakuri* 13, 863–873.
- Kodama R., Okubo A., Sato, K. i in. (1977b). Studies on D-limonene as a gallstone solubilizer (IX): Effects on development of rabbit fetuses and offspring. *Oyo Yakuri* 13, 885–898.
- Larsen S.T., Hougaard K.S., Hammer M. i in. (2000). Effects of R-(+)- and S-(-)-limonene on the respiratory tract in mice. *Hum. Exp. Toxicol.* 19, 457–466.
- Lehman-McKeeman, L.D., Caudill D. (1992). Biochemical basis for mouse resistance to hyaline droplet nephropathy: Lack

of relevance of the alpha $\alpha_2\mu$ -globulin protein superfamily in this male rat-specific syndrome. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 112, 214–221.

Le Bourhis B., Soenen A. M. (1973). *Food Cosmet. Toxicol.* 11, 1 (cyt. za MAK 1990).

Leroy E.P. (1984). *Fed. Proc.* 43(4), Abstract 3473. (cyt. za MAK 1990).

MAK (1990). MAK value documentations – limonene. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Ständige Senatskommission zur Prüfung Gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. DOI: 10.1002/3527600418.mb13886ismd0001.

MAK (2006). MAK-Begründungen – D-limonen. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Ständige Senatskommission zur Prüfung Gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. DOI: 10.1002/3527600418.mb13886ismd0040.

MAK (2012). MAK-Begründungen – D-limonen – limonene. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Ständige Senatskommission zur Prüfung Gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. DOI: 10.1002/3527600418.mb13886ismd0052.

Malko M.W., Wróblewska A. (2016). Znaczenie R-(+)-limonenu, jako surowca do syntezy w chemii organicznej i dla przemysłu organicznego. *CHEMIK* 70(4), 193–202.

Maltzman T.H., Hurt L.M., Elson C.E. i in. (1989). The prevention of nitrosomethylurea-induced mammary tumors by D-limonene and orange oil. *Carcinogenesis* 10(4), 781–783. DOI: 10.1093/carcin/10.4.781.

Møllhave L., Kjærgaard S.K., Hempel-Jørgensen A. i in. (2000). The eye irritation and odor potencies of four terpenes which are major constituents of the emissions of VOCs from Nordic soft woods. *Indoor Air.* 10, 315–318. DOI: 10.1034/j.1600-0668.2000.010004315.x.

Moreno O.M. (1972). (cyt. za MAK 1990).

NICNAS, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (2002). Priority existing chemical assessment report No 22. <https://www.industrialchemicals.gov.au/sites/default/files/PEC22-Limonene.pdf> [dostęp: sierpień 2026].

NTP, National Toxicology Program (1990). Toxicology and carcinogenesis studies of D-limonene in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NTP Technical Report 347. NIH Publication No. 88–2802. Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services.

OARS-WEEL (2025). The Occupational Alliance for Risk Science. Table of chemicals. <https://tera.org/oars-weel/> [dostęp: sierpień 2027]

Opdyke D.L.J. (1975). *Food Cosmet. Toxicol.* 13, 825 (cyt. za MAK 1990).

O'Shaughnessy J.A. (1996). Chemoprevention of breast cancer. *J. Am. Med. Assoc.* 275, 1349–1353 (cyt. za IARC 1993).

Pagliaro M., Fabiano-Tixier A.S., Ciriminna R. (2023). Limonene as a natural product extraction solvent. *Green Chem.* 25, 6108–6119. DOI: 10.1039/D3GC02068A.

Pakdel H., Pantea D.M., Roy C. (2001). Production of D-limonene by vacuum pyrolysis. *Anal. Appl. Pyrolysis* 57, 91–107.

Pesonen M., Suomela S., Kuuliala O. i in. (2014). Occupational contact dermatitis caused by D-limonene. *Contact Dermatitis* 71(5). DOI: 10.1111/cod.12287.

PubChem (2025). 4S-1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4S_-1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene [dostęp: sierpień 2026].

Ramos C.A., de Cássia R. Alves M.F., Benedito R.B. i in. (2015). Histopathological and biochemical assessment of D-limonene-induced liver injury in rats. *Toxicol. Rep.* 2, 482–488. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.01.001> [dostęp: sierpień 2026].

Ravichandran C., Badgujar P.C., Gundev P. i in. (2018). *Food Chem. Toxicol.* 120, 668–680. DOI: 10.1016/j.fct.2018.07.052.

Riedel H. (1940). *Klin. Wschr.* 19, 1034. (cyt. za MAK 1990).

Rohr A.C., Wilkins C.K., Clausen P.A. i in. (2002). Upper airway and pulmonary effects of oxidation products of (+)-alpha-pinene, D-limonene, and isoprene in BALB/c mice. *Inhal. Toxicol.* 14(7), 663–84. DOI: 10.1080/08958370290084575.

Rodriguez P.A., Takigiku R., Lehman-McKeeman L.D. i in. (1991). Design of a gas chromatograph with parallel radioactivity and mass spectrometric detection. Application to the identification of the major metabolite of D-limonene associated with $\alpha_2\mu$ -globulin. *J. Chromatogr.* 563, 271–282.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (rozporządzenie CLP). *Dz. Urz. UE* L353 z 31.12.2008, s. 1–1355.

Saito K., Uwagawa S., Kaneko H. i in. (1991). Behavior of alpha $\alpha_2\mu$ -globulin accumulating in kidneys of male rats treated with D-limonene: Kidney-type alpha $\alpha_2\mu$ -globulin in the urine as a marker of D-limonene nephropathy. *Toxicology* 70(2), 173–83. DOI: 10.1016/0300-483x(91)90044-2.

Schäfer R., Schäfer W. (1982). Die perkutane resorption verschiedener terpene – menthol, campher, limonen, isobornylacetat, a-pinen – aus badezusätzen. *Arzneim.-Forsch.* 32, 56–58.

SCOEL, Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (2017). Methodology for derivation of occupational exposure limits of chemical agents. The General Decision-Making Framework of the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits.

Sekizhashi K., Yamamoto A., Matsumura Y. i in. (2002). Comparative investigation of multiple organs of mice and rats in the comet assay. *Mutat. Res.* 517, 53–74.

- Stoner G.D., Shimkin M.B., Kniazeff A.J. i in. (1973). Test for carcinogenicity of food additives and chemotherapeutic agents by the pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Res.* 33(12), 3069–85.
- Sun C., Theodoropoulos C., Scrutton N.S. (2020). Techno-economic assessment of microbial limonene production. *Biore-sour. Technol.* 300. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122666.
- Styles J.A., Penman M.G. (1985). Evaluation of its performance in identifying chemical mutagens and carcinogens. *Mutat. Res. Rev. Genet. Toxicol.* 154(3), 183–204. DOI: 10.1016/0165-1110(85)90017-X.
- Topham E.J., Wakelin S.H. (2003). D-limonene contact dermatitis from hand cleansers. *Contact Dermatitis* 49, 108–109.
- Trytek M., Kowalski P., Fiedurek J. (2003). Występowanie, rola biologiczna oraz biotransformacja limonenu. *Biotechnologia* 2 (61) 206–217.
- Tsuji M., Fujisaki Y., Arikawa Y. i in. (1975). Studies on D-limonene, as gallstone solubilizer. II. Acute and subacute toxicities (Jpn.). *Oyo Yakuri* 9, 387–401 (cyt. za MAK 1990, NTP 1990).
- Tsuji M., Fujisaki Y., Okubo A. i in. (1975a). Studies on D-limonene, as gallstone solubilizer (V): Effects on development of rat fetuses and offspring. *Oyo Yakuri* 9, 179–186 (cyt. za: Kim i in. 2013).
- Tsuji M., Fujisaki Y., Arikawa Y. i in. (1975b). Studies on D-limonene, as gallstone solubilizer. IV Chronic toxicity in dogs (Jpn.). *Oyo Yakuri* 9, 775–808 (cyt. za: Kim i in. 2013).
- Tsuji M., Fujisaka Y., Yamachika K. i in. (1974). *Oyo Yakuri* 8, 1439 (cyt. za: MAK 1990).
- Turner S.D., Tinwell H., Piegorsch W. i in. (2001). The male rat carcinogens limonene and sodium saccharin are not mutagenic to male Big Blue™ rats. *Mutagenesis* 16, 329–332.
- Wallace L., Nelson, W., Ziegenfuss R. i in. (1991). The Los Angeles TEAM study: Personal exposures, indoor-outdoor air concentrations, and breath concentrations of 25 volatile organic compounds. *J. Expos. Anal. Environ. Epidemiol.* 1, 57–192.
- Van Duuren B.L., Goldschmidt B.M. (1976). Cocarcinogenic and tumor-promoting agents in tobacco carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.* 56(6), 1237–1242. DOI: 10.1093/jnci/56.6.1237.
- Watabe T., Hiratsuka A., Isobe M. i in. (1980). Metabolism of D-limonene by hepatic microsomes to non-mutagenic epoxides toward *Salmonella* Typhimurium. *Biochem. Pharmacol.* 29, 1068. DOI: 10.1016/0006-2952(80)90172-0.
- Watabe T., Hiratsuka A., Ozawa N. i in. (1981). A comparative study on the metabolism of D-limonene and 4-vinylcyclohex-1-ene by hepatic microsomes. *Xenobiotica* 11(5), 333–44. DOI: 10.3109/00498258109045312.
- Webb D.R., Ridder G.M., Alden C.L. (1989). Acute and sub-chronic nephrotoxicity of D-limonene in Fischer 344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 27, 639–649.
- Webb D., Kanerva R., Hysell D. i in. (1990). Assessment of the subchronic oral toxicity of D-limonene in dogs. *Food. Chem. Toxicol.* 28, 669–675.
- Whysner J., Williams G. M. (1996). D-limonene mechanistic data and risk assessment: Absolute species-specific cytotoxicity, enhanced cell proliferation, and tumor promotion. *Pharmacol. Ther.* 71, (1–2), 127–136. DOI: 10.1016/0163-7258(96)00065-4.
- WHO, World Health Organization (1998). D-limonene. Concise International Chemical Assessment Document 5. Geneva.
- Vigushin D.M., Poon G.K., Boddy A. i in. (1998). Phase I and pharmacokinetic study of D-limonene in patients with advanced cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 42, 111–117. DOI: 10.1007/s002800050793.
- York M., Basketter D., Cuthbert J. i in. (1995). Skin irritation testing in man for hazard assessment – Evaluation of four patch systems. *Hum. Exp. Toxicol.* 14, 729–734. DOI: 10.1177/096032719501400906.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA D-LIMONEN

dr n. med. Marcin Rybacki
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze szczególnym zwróceniem uwagi na skórę.
Badania pomocnicze: nie wskazano dodatkowych badań pomocniczych.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze szczególnym zwróceniem uwagi na skórę.
Badania pomocnicze: nie wskazano dodatkowych badań pomocniczych.
Częstotliwość badań okresowych: co 4 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

Narządy (układy) krytyczne

Narządem (układem) krytycznym podczas pracy w narażeniu na *D*-limonen jest skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazania do zatrudnienia ustala lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne, z uwzględnieniem stanu zdrowia osoby badanej oraz warunków narażenia na *D*-limonen.



Kwas tereftalowy – frakcja wdychalna

Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1,2}

Terephthalic acid – inhalable fraction

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

MAŁGORZATA KUPCZEWSKA-DOBECKA

<https://orcid.org/0000-0001-9633-9428>

e-mail: malgorzata.dobacka@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera w Łodzi

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

NDS	5 mg/m ³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25-27.09.2025 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 25.03.2026 r.

Streszczenie

Kwas tereftalowy (TPA) jest organicznym związkiem chemicznym występującym w postaci białych kryształów lub proszku. Nie ma zharmonizowanej klasyfikacji według CLP. W Polsce produkowany jest od 2011 r. i stosowany głównie do wytwarzania: włókien poliestrowych, barwników oraz politereftalanu etylenu (PET). W dostępnej literaturze nie opisano przypadków ostrego zatrucia TPA u ludzi. Krótkotrwałe narażenie na kwas może powodować mechaniczne podrażnienie oczu i dróg oddechowych. Badania pracowników narażonych zawodowo na substancję koncentrowały się głównie na ocenie wpływu TPA na układy oddechowy i moczowy. Nie stwierdzono zwiększonego ryzyka kamicy nerkowej ani nowotworów pęcherza moczowego. Obserwowano natomiast spadek stężenia albuminy w surowicy oraz wzrost poziomu β_2 -mikroglobuliny w moczu. W większości badań nie wykazano istotnych zaburzeń funkcji płuc, poza pojedynczymi doniesieniami o niewielkim pogorszeniu parametrów oddechowych. U zwierząt skutki działania TPA zależały od dawki i drogi narażenia. Po podaniu doustnym wysokich dawek obserwowano zmniejszenie masy ciała, tworzenie kamieni w pęcherzu moczowym oraz zwiększoną częstotliwość występowania nowotworów pęcherza. Narażenie inhalacyjne na aerozol TPA w stężeniach do 10 mg/m³ nie powodowało istotnych zmian toksycznych. Nie wykazano działania mutagennego ani genotoksycznego TPA.

¹ Wartość NDS kwasu tereftalowego została w dniu 25.03.2026 r. przyjęta na 113. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 129) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr III.PN.04 pt.: „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Za skutek krytyczny po narażeniu inhalacyjnym uznano działanie na drogi oddechowe. Na podstawie wartości NOAEC 10 mg/m³ zaproponowano wartość NDS dla frakcji wdychalnej na poziomie 5 mg/m³, bez ustalania NDSch i bez oznakowania „skóra”.

Słowa kluczowe: kwas tereftalowy, najwyższe dopuszczalne stężenie, narażenie zawodowe, kamica dróg moczowych, nowotwory pęcherza moczowego, działanie na drogi oddechowe.

Abstract

Terephthalic acid (TPA) is an organic compound occurring as white crystals or powder. It has no harmonized classification under the CLP Regulation. Since 2011, it has been produced in Poland and is mainly used in the production of polyester fibers, dyes, and polyethylene terephthalate (PET). No cases of acute TPA poisoning in humans have been described in the available literature. Short-term exposure may cause mechanical irritation of the eyes and respiratory tract. Studies of workers occupationally exposed to TPA have focused mainly on its effects on the respiratory and urinary systems. No increased risk of kidney stones or bladder cancer was found. However, decreased serum albumin levels and increased urinary β 2-microglobulin levels were observed. Most studies did not demonstrate significant impairment of lung function, except for isolated reports of slight deterioration in respiratory parameters. In animals, the effects of TPA depended on the dose and route of exposure. Oral administration of high doses resulted in reduced body weight, formation of bladder stones, and an increased incidence of bladder tumors. Inhalation exposure to TPA aerosol at concentrations up to 10 mg/m³ did not produce significant toxic effects. No mutagenic or genotoxic effects of TPA were demonstrated. The critical effect following inhalation exposure was considered to be respiratory tract irritation. Based on the NOAEC value of 10 mg/m³, an occupational exposure limit (OEL) of 5 mg/m³ for the inhalable fraction was proposed, without establishing a short-term exposure limit (STEL) and without a “skin” notation.

Keywords: terephthalic acid, maximum admissible concentration, occupational exposure, urinary tract calculi, bladder cancer, effect on the respiratory tract.

Adres do korespondencji/Contact details: Małgorzata Kupczewska-Dobeka, Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, 91-348 Łódź, ul. Świętej Teresy od Dzieciątka Jezus 8, e-mail: małgorzata.dobeka@imp.lodz.pl

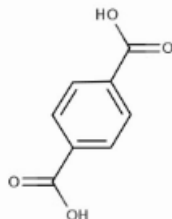
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Kwas tereftalowy (TPA) to organiczny związek chemiczny z grupy dikarboksylowych kwasów aromatycznych. Występuje w postaci białych igieł, kryształów lub proszku o lekko kwasowym zapachu (ECHA 2026; EPA 2020; Luttrell 2016; PubChem 2024). Zbudowany jest z pierścienia benzenu z grupami karboksylowymi na węglach 1 i 4.

Ogólna charakterystyka TPA (ECHA 2026):

- nazwa chemiczna kwas tereftalowy
- wzór sumaryczny $C_8H_6O_4$ | $C_6H_4(COOH)_2$
- wzór strukturalny



- masa cząsteczkowa 166,13
- numer w rejestrze CAS 100-21-0
- numer w rejestrze WE 202-830-0
- nazwa w rejestrze CAS terephthalic acid
- nazwa wg IUPAC: benzene-1,4-dicarboxylic acid (ECHA 2026); kwas 1,4-dibenzeno-karboksylowy
- synonimy: kwas benzeno-1,4-dikarboksylowy; kwas *p*-ftalowy
- nazwy handlowe: 1,4-benzenedicarboxylic acid (9CI); 1,4-dicarboxybenzene; terephthalic acid; benzene 1,4-dicarboxylic acid; *p*-benzenedicarboxylic acid; *p*-carboxybenzoic

acid; *p*-dicarboxybenzene;
p-phthalic acid;
p-benzene dicarbolic acid;
AE-2030; AE2130;
AE-2150; AE-2230;
GC-0700; GC-0730;
TPA; TA; TA33.

na stronie ECHA (ECHA 2026) przez większość (1046) rejestrujących nie został sklasyfikowany do żadnej klasy zagrożeń. Kolejnych 220 rejestrujących zaklasyfikowało tę substancję pod kątem stwarzanych zagrożeń, a najczęściej stosowaną przez nich klasyfikację umieszczono w tabeli 1. Piktogram stosowany na oznakowaniu przedstawiono na rycinie 1.

Kwas tereftalowy nie ma zharmonizowanej klasyfikacji zgodnie z tabelą 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 z dnia 31.12.2008 r. (Dz. Urz. WE L 353 z 31.12.2008), zwanego rozporządzeniem CLP. Według danych zamieszczonych

Tabela 1. Klasyfikacja i oznakowanie kwasu tereftalowego przez rejestrujących zgodnie z danymi ECHA (ECHA 2026)
Table 1. Classification and labelling of terephthalic acid by registrants according to ECHA data (ECHA 2026)

Nazwa chemiczna	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie			Specyficzne stężenia graniczne, współczynniki „M” oraz ATE ^{a)}	Uwagi
			klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	dodatkowe kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
Kwas tereftalowy	204-650-8	100-21-0	Skin Irrit. 2 Eye Irrit. 2 STOT SE 3	H315 H319 H335 (Respira-tory tract)	GHS07 Wng	–	–	–	–

Objaśnienia:
Hasło ostrzegawcze: Wng – *warning* – ostrzeżenie.
Skin Irrit. 2 – działanie drażniące na skórę, kategoria 2.
Eye Irrit. 2 – poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy, kategoria 2.
STOT SE 3 – działanie toksyczne na narządy docelowe – narażenie jednorazowe, kategoria 3.
H315 – powoduje podrażnienie skóry.
H319 – powoduje poważne podrażnienie oka.
H335 – może powodować podrażnienia dróg oddechowych.



GHS07

Rycina 1. Piktogram wskazujący rodzaj zagrożenia (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008)
Figure 1. Hazard pictogram (Regulation of the European Parliament and of the Council No. 1272/2008)

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne kwasu tereftalowego (ECHA 2026):

- stan skupienia (w temp. 20°C) – stały
- temperatura topnienia – sublimuje w temp. 402 ÷ 404°C pod ciśnieniem atmosferycznym; topnienie następuje w temp. 427°C
- temperatura wrzenia – 341°C (w dokumentacji rejestracyjnej ECHA nie określono temperatury wrzenia)
- temperatura zapłonu (metoda Micro-Cleveland, otwarty tygiel) – 271°C
- temperatura samozapłonu – nie określono
- gęstość (w temp. 25°C) – 1,522 g/cm³ (gęstość właściwa)
- prężność par – 0,00158 Pa ($9,2 \cdot 10^{-6}$ mm Hg); model QSAR MPBPVP v.1.43 US EPA
- pH – 3,88 (nasycony roztwór wodny)
- kwasowość (pKa – stała dysocjacji) – pKa1 = 3,51 (w temp. 25°C) i pKa2 = 4,82 (w temp. 16°C)
- rozpuszczalność w wodzie (w temp. 25°C) – $9,03 \cdot 10^{-5}$ mg/l (praktycznie nierozpuszczalny)
- współczynnik podziału oktanol–woda (log Pow) – 1,76 (wartość oszacowana); 2,0 (wartość eksperymentalna)
- rozmiar cząstek – cząstki o średnicy poniżej 4 µm stanowią 0,66% objętości próbki, poniżej 10 µm – 1,16%, a poniżej 100 µm – 38,86%. Pozostałe 61,14% próbki stanowią cząstki o średnicy powyżej 100 µm
- granica wybuchowości – 0,05 g/l
- dolna granica palności – 40 g/m³.

Kwas tereftalowy jest słabo rozpuszczalny w wodzie i alkoholu. Rozpuszcza się natomiast w zasadach i dimetyloformamidzie. Jest praktycznie całkowicie nierozpuszczalny w chloroformie, kwasie octowym i eterze.

Wartości stałych dysocjacji pKa₁ = 3,51 (25°C) oraz pKa₂ = 4,82 (16°C) wskazują, że substancja ma charakter kwasu dwuprotonowego i ulega dwuetapowej dysocjacji. Pierwszy etap oddawania protonu zachodzi łatwiej niż drugi, o czym świadczy niższa wartość pKa₁. Stopień dysocjacji związku, a tym samym udział poszczególnych form jonowych, zależy od pH środowiska (Bang i in. 2011).

Pod względem właściwości chemicznych TPA jest podobny do jednozasadowych związków karboksylowych. Pod wpływem ogrzewania lub

pod wpływem substancji odwadniających łatwo tworzy sole, estry o złożonej budowie cząsteczkowej, bezwodniki, amidy, zarówno 1, jak i w 2 grupach karboksylowych. Wchodzi w reakcję estryfikacji, w wyniku której powstają mono- i diestry. Po podgrzaniu tej krystalicznej substancji do temperatury co najmniej 200°C obserwuje się dekarboksylację z utworzeniem związków zawierających mniejszą liczbę grup karboksylowych, jednak reakcje podstawienia elektrofilowego w zdezaktywowanym pierścieniu zaczynają przebiegać z dużymi trudnościami. Podgrzewanie TPA do momentu rozkładu powoduje uwalnianie drażniących par i aerozoli oraz palnego dymu (ACGIH 2001; ECHA 2026; EPA 2020; SIDS 2001).

Współczynniki przeliczeniowe w temperaturze 20°C i pod ciśnieniem 101,3 kPa: nie dotyczy

Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

Otrzymywanie

Od lat 60. XX wieku TPA jest produkowany w procesie katalitycznego utleniania bromowanego *p*-ksylenu, a następnie jest oczyszczany w procesie uwodornienia. W procesie produkcyjnym dokonano przez dekady kilku ulepszeń i to zarówno w odniesieniu do utleniania, jak i oczyszczania. Po 2000 r. został opracowany koleiny proces produkcyjny pod nazwą „X Technology”, który obejmuje innowacyjne metody recyklingu wody i lepsze techniki separacji ciał stałych i cieczy. W Polsce proces produkcji TPA wygląda w ten sposób, iż najpierw w wyniku katalitycznego utleniania *p*-ksylenu tlenem zawartym w sprężonym powietrzu otrzymuje się surowy TPA (CTA, ang. *Crude Terephthalic Acid*), a w kolejnym etapie, poprzez katalityczne uwodornienie zanieczyszczeń zawartych w CTA, otrzymuje się już oczyszczony TPA o wysokich parametrach jakościowych. Taki oczyszczony kwas powstaje od 2011 r. w zakładach we Włocławku (należących do PKN Orlen) w instalacji o mocach przerobowych 690 tys. t rocznie. Koncern dysponuje skojarzonym kompleksem wytwórczym w Płocku, w którym oprócz TPA produkowany jest także *p*-ksylen, czyli wysokiej czystości produkt otrzymywany w wyniku selektywnej adsorpcji z mieszaniny węglodorów, składającej się głównie z izomerów związków aromatycznych zawierających 8 atomów węgla (C8). Według kryterium zainstalowanych mocy

wytwórczych do PKN Orlen należy 16% europejskiego rynku (Wójcicki 2019).

Kwas tereftalowy został zarejestrowany w ECHA dla tonażu od $\geq 1\,000\,000$ do $<10\,000\,000$. Polska jest jednym z 5 europejskich państw, w których produkowany jest oczyszczony TPA. W Polsce kwas ten rejestrują w ECHA 2 firmy – Polski Koncern Naftowy ORLEN oraz STEPAN POLSKA Brzeg Dolny Poland (ECHA 2026). Liderem w branży jest wywodząca się z Tajlandii firma Indorama. Ma ona aktywa zlokalizowane w Holandii, Hiszpanii i Portugalii. Łącznie mogą one w ciągu roku wyprodukować 1,77 mln t TPA, co oznacza, że w rękach Indoramy jest 42% udziałów w rynku w Europie. Wiceliderem jest spółka BP, a jej zakład zlokalizowany w Belgii może pochwalić się wydajnością 1,4 mln t rocznie, co daje BP 33% udziałów w rynku. Kwas tereftalowy produkowany jest także w Rosji przez tamtejszą firmę Polief, która wchodzi w skład państwowego giganta, którym jest Sibur. Polief jest aktualnie w trakcie inwestycji podnoszącej produkcję z 270 do 320 tys. t rocznie. Całkowite europejskie moce wytwórcze dla TPA szacowane są na ok. 4,2 mln t rocznie (Wójcicki 2019).

Minimalnie większa produkcja ma miejsce w Ameryce Północnej, gdzie nominalne zdolności wytwórcze wynoszą ok. 4,95 mln t rocznie. Największym tamtejszym oferentem TPA jest przedsiębiorstwo Alpek, które dysponuje instalacjami o mocy na poziomie 2,25 mln t rocznie, z czego większy jego zakład znajduje się w Meksyku (1,61 mln t), a mniejszy w USA – 640 tys. t. Alpek wyprzedza spółkę BP (1,4 mln t) i Indoramę (1,05 mln t). Niewielkim producentem TPA w Ameryce Północnej jest też koncern Eastman, który może wyprodukować rocznie 250 tys. t TPA. Najpoważniejszą zmianą na rynku północnoamerykańskim jest objęcie przez Alpek udziałów w spółce Corpus Christi Polymers, której wcześniejszym właścicielem było przedsiębiorstwo M&G USA Corp. Umiejscowiony w Teksasie zakład wytwórczy będzie mógł niebawem produkować rocznie 1,3 mln t TPA i 1,5 mln t PET (politereftalan etenu) (Wójcicki 2019).

Znacznie bardziej urozmaicony jest natomiast rynek azjatycki, a zwłaszcza chiński, na którym działa największa liczba producentów. Największe w Azji firmy to Yisheng z produkcją 13,2 mln t rocznie, Heng Li – 6,9 mln t rocznie, BP – 6,7 mln t rocznie, RIL – 4,9 mln t rocznie, Xianglu – 4,5 mln

t rocznie, Indorama – 3,7 mln t rocznie, Yuandong – 3,2 mln t rocznie, Hailum – 3 mln t rocznie, FCFC – 2,9 mln t rocznie i Hanbang – 2,8 mln t rocznie (Wójcicki 2019).

Zastosowanie

Kwas tereftalowy stosuje się głównie do (ECHA 2026; EPA 2020):

- produkcji włókien poliestrowych (m.in. elany) oraz barwników;
- produkcji politereftalanu etenu (PTFE) (polimeru żaroodpornego otrzymywanego w wyniku reakcji polikondensacji TPA z glikolem etylenowym). Z tego polimeru produkuje się m.in. plastikowe elementy i włókna poliestrowe z grupy terylenów, lepiej znane pod wspólną nazwą „lavan”, a także różne pojemniki opakowaniowe dla przemysłu spożywczego, butelki, komponenty do odbiorników i inne urządzenia;
- poprawy trwałości i wytrzymałości farb i powłok;
- produkcji środków do pielęgnacji i czyszczenia samochodów;
- produkcji niektórych leków i suplementów w przemyśle farmaceutycznym;
- produkcji pasz dla drobiu i antybiotyków;
- wytwarzania dymu lub mgły w celu maskowania, kamuflażu, sygnalizacji do celów wojskowych.

Narażenie zawodowe

Brak jest danych o narażeniu na stężenie TPA w powietrzu w środowisku pracy w polskich przedsiębiorstwach, ponieważ dotychczas nie ustalono wartości NDS dla tej substancji. W jednym z amerykańskich zakładów produkcyjnych stężenia TPA w powietrzu w strefie oddychania pracowników wynosiły średnio $1,18\text{ mg/m}^3$ (zakres: $0,006 \div 13,59\text{ mg/m}^3$). Zakładając, że pracownicy stosują środki ochrony dróg oddechowych, oszacowano dawkę pobraną TPA na mniej niż 30 mg/dzień/pracownika (SIDS 2001).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE U LUDZI

Obserwacje kliniczne

Działanie ostre i krótkoterminowe

W dostępnej literaturze nie opisano skutków ostrego zatrucia kwasem tereftalowym (TPA) u ludzi. Jedyna dostępna informacja wskazuje, że aplikacja 10 ml oleistej pasty zawierającej 80% TPA na skórę dłoni na 24 h nie wywołała u ludzi żadnych objawów ogólnoustrojowych, podrażnień ani zaczerwienienia w miejscu podania (SIDS 2001).

W kartach charakterystyki substancji dostawcy wskazują, że TPA może powodować podrażnienie mechaniczne oczu i dróg oddechowych w wyniku narażenia krótkotrwałego (ICSC 2017).

Działanie przewlekłe (narażenie zawodowe)

Na podstawie obserwacji przeprowadzonych na zwierzętach stwierdzono, że wchłanianie dużych ilości TPA u ludzi może prowadzić do wysokich stężeń w moczu, a nawet do jego krystalizacji, jeśli zostanie przekroczony iloczyn rozpuszczalności tereftalanu wapnia w moczu, który wynosi $8 \div 16 \text{ mmol/l}$ (MAK 2015). Z tego powodu badania na ludziach koncentrują się głównie na ocenie wpływu TPA na funkcjonowanie narządów, w tym na identyfikacji potencjalnych czynników ryzyka rozwoju kamicy nerkowej i nowotworów pęcherza moczowego. Równolegle prowadzi się również badania nad wpływem pyłów TPA na drogi oddechowe. Zakładając, że średnia objętość wydalanego przez człowieka moczu wynosi 1,5 l dziennie (V), ilość TPA, która musiałaby zostać wchłonięta, aby osiągnąć minimalne stężenie nasycenia kwasu tereftalowego w moczu, wynosi 2400 mg/dzień (Dw) (Heck, Tyl 1985; SIDS 2001). Minimalne stężenie nasycenia (Cn) oznacza takie stężenie substancji w roztworze, przy którym roztwór jest już nasycony, czyli dalsza ilość substancji nie rozpuści się całkowicie i może zacząć się wytrącać w postaci kryształów lub osadu.

$$Cn = Dw/V = 2400 \text{ mg}/1/1,5 \text{ l} = 1600 \text{ mg/l} = 1,6 \text{ g/l} = 0,0096 \text{ mol/l}$$

gdzie:

- Cn – stężenie nasycenia,
- Dw – ilość kwasu tereftalowego, która musiałaby zostać wchłonięta, aby osiągnąć minimalne stężenie nasycenia w moczu,

V – średnia objętość wydalanego przez człowieka moczu.

Obliczone stężenie nasycenia mieści się w zakresie podanego iloczynu rozpuszczalności TPA, tj. $8 \div 16 \text{ mmol/l}$.

Dai i in. (2005b) ocenili wpływ TPA na drogi oddechowe oraz na funkcjonowanie narządów, w tym potencjalne czynniki ryzyka kamicy moczowej. Modelowanie zależności narażenie–skutek przeprowadzono w kohorcie 141 pracowników narażonych na pył TPA (47% mężczyzn), którzy pracowali średnio przez 6,2 lat w chińskich fabrykach włókien. Grupę kontrolną stanowiło 77 pracowników (48% mężczyzn), którzy nigdy nie mieli kontaktu z TPA i zostali wytypowani z innych oddziałów tej samej fabryki. Ponieważ wszyscy pracownicy mieszkali w tym samym regionie, pracowali w tej samej fabryce i byli poddawani podobnym kryteriom rekrutacji oraz programom zdrowia zawodowego, osiągnięto efektywne dopasowanie między kontrolą a narażonymi pracownikami pod względem wykształcenia i statusu społeczno-ekonomicznego. Zarówno populacja narażona, jak i kontrolna były dobrze dopasowane pod względem wieku, płci, wzrostu, wagi oraz nawyków palenia papierosów. W pierwszym zakładzie (I) ($n = 64$) średnie geometryczne stężenie pyłu TPA wynosiło $8,03 \text{ mg/m}^3$ (zakres stężeń $0,15 \div 138,32 \text{ mg/m}^3$; rozmiar cząstek $<2 \mu\text{m}$ – 81%, $2 \div 5 \mu\text{m}$ – 10% i $>5 \mu\text{m}$ – 9%). W drugim zakładzie (II) ($n = 16$) średnie geometryczne stężenie pyłu TPA wynosiło $2,19 \text{ mg/m}^3$ (zakres stężeń $0,3 \div 14,21 \text{ mg/m}^3$; rozmiar cząstek $<2 \mu\text{m}$ – 81%, $2 \div 5 \mu\text{m}$ – 10% i $>5 \mu\text{m}$ – 9%). Obliczono narażenie skumulowane pracowników i podzielono ich na 3 kategorie narażenia skumulowanego: grupa „nie wykryto” (nie podano granicy wykrywalności), grupa narażona na ok. 50 mg/m^3 TPA i narażona na ok. 80 mg/m^3 TPA (odpowiednio grupy niskiego, średniego i wysokiego narażenia). Od wszystkich pracowników pobrano próbki moczu i krwi przed i po zmianie roboczej w celu monitorowania parametrów funkcji wątroby, nerek i płuc oraz podzielono ich na podobne kategorie narażenia utworzone na podstawie stężeń TPA w moczu: grupa „nie wykryto”, $\sim 1 \text{ mmol/mol}$ kreatyniny i $\sim 5 \text{ mmol/mol}$ kreatyniny (odpowiednio grupy niskiego, średniego i wysokiego narażenia). W surowicy krwi oceniono parametry hematologiczne i biochemiczne,

zbadano funkcje płuc i zmierzono zmiany jonowe zarówno w surowicy, jak i w moczu. Stwierdzono zwiększone wydalanie TPA z moczem (do 5 mmol TPA/mol kreatyniny po zmianie roboczej), zwiększoną aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH), nieznacznie zwiększoną aktywność enzymu konwertującego angiotensynę (SACE, ang. *Serum Angiotensin-Converting Enzyme*) w surowicy (17- i 15-procentowy wzrost odpowiednio w grupach o średnim oraz wysokim narażeniu) w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono różnic pomiędzy pracownikami nienarażonymi i pracownikami narażonymi w zakresie żadnego z parametrów krwi. Statystycznie istotne zwiększenie aktywności AST w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną ($17,9 \pm 12,45$ U/l vs. $14,16 \pm 5,37$ U/l 27%) i LDH ($309,78 \pm 63,45$ U/l vs. $280,25 \pm 73,38$ U/l; 11%) wystąpiło w grupie o średniej skumulowanej ekspozycji, ale istotne zmiany nie były obserwowane w grupie narażonych na wysoką dawkę. Przy wysokiej ekspozycji zaobserwowano również niewielki (o ok. 3%) istotny spadek stężenia albuminy w surowicy ($47,39 \pm 2,74$ U/l vs. $48,81 \pm ,78$ U/l). Wartości tych zmiennych nie przekraczały wartości referencyjnych. Wskaźniki uszkodzenia nerek oznaczane w moczu, takie jak: gamma-glutamylotransferaza (GGT), fosfataza alkaliczna (ALP), α_1 -mikroglobulina (α_1 -MG) nie różniły się istotnie. Wyjątek stanowiły stężenia β_2 -mikroglobuliny (β_2 -MG) w moczu, które były wyższe w grupach narażonych w porównaniu z grupą kontrolną, jednak nie przekraczały wartości referencyjnych. W grupie o stężeniu TPA w moczu wynoszącym 5 $\mu\text{mol/mol}$ kreatyniny mediana β_2 -MG wynosiła 93,17 $\mu\text{g/mol}$ kreatyniny (zakres: 13,42 ÷ 131,77), podczas gdy w grupie kontrolnej 54,24 $\mu\text{g/mol}$ kreatyniny (zakres: 1,19 ÷ 140,43). Stwierdzono istotnie podwyższone ($p < 0,05$) stężenia jonów Na^+ i Ca^{2+} w moczu, ale nie spowodowało to obniżenia ich stężeń w surowicy. Stężenia Ca^{2+} w moczu były istotnie podwyższone po obu badanych stężeniach skumulowanych TPA w powietrzu (50 mg/m^3 i 80 mg/m^3) i wynosiły odpowiednio dla stężenia średniego i wysokiego: $0,33 \pm 0,14$ mol/mol kreatyniny i $0,30 \pm 0,11$ mol/mol kreatyniny vs. $0,19 \pm 0,10$ mol/mol kreatyniny. Stężenia Ca^{2+} w moczu były także istotnie podwyższone po obu badanych stężeniach TPA w moczu (1 mmol/mol kreatyniny i 5 mmol/mol kreatyniny) i wynosiły odpowiednio: $0,34 \pm 0,19$ mol/mol kreatyniny

$0,35 \pm 0,15$ mol/mol kreatyniny. W omawianym badaniu zmierzono parametry określające fizjologiczne funkcje płuc, takie jak: natężona pojemność życiowa (FVC, ang. *forced vital capacity*), natężona objętość wydechowa pierwszosekundowa (FEV_1 , ang. *forced expiratory volume in 1 second*), szczytowy przepływ wydechowy (PEF, ang. *peak expiratory flow*), maksymalny przepływ wydechowy (MEF, ang. *maximal expiratory flow*) i enzym konwertujący angiotensynę (SACE). Wyniki testów czynnościowych płuc były podobne u narażonych i nienarażonych pracowników (tab. 2). Oprócz niewielkiego wzrostu SACE, nie zaobserwowano istotnych zmian wartości innych parametrów. Badanie radiologiczne nie wykazało zmian związanych z narażeniem, nie stwierdzono żadnych objawów dysfunkcji narządów (Dai i in. 2005b).

Funkcje płuc zbadano u 140 pracowników narażonych na TPA w fabryce włókien oraz materiałów włókienniczych na terenie Chin kontynentalnych (miasto Yizheng w prowincji Jiangsu) oraz u 70 osób z grupy kontrolnej mieszkających w tej samej okolicy, którzy nie byli narażeni na TPA. U pracowników narażonych zawodowo stwierdzono znaczący spadek analizowanych wskaźników oceniających funkcje płuc (w porównaniu z grupą kontrolną, $p < 0,05$) (Li i in. 1999):

- MVV (ang. *maximal voluntary ventilation*) – maksymalna wentylacja dowolna (maksymalna objętość powietrza, jaką można wdychać i wydychać w ciągu określonego czasu (zwykle 1 min) przy maksymalnym wysiłku;
- PEFR (ang. *peak expiratory flow rate*) – szczytowy przepływ wydechowy (najwyższa szybkość przepływu powietrza osiągana podczas gwałtownego, maksymalnego wydechu po pełnym wdechu) oraz PEFR/H – skorygowany o wzrost badanej osoby;
- V75 – przepływ wydechowy przy 75-procentowej wymuszonej pojemności życiowej oraz przepływ wydechowy skorygowany o wzrost.

Analiza regresji wielokrotnej wykazała, że obniżenie tych parametrów było związane ze zwiększonym stężeniem TPA. Wyniki analizy metodą tablic życia (ang. *life table method*) sugerowały, że istnieje związek między poziomem narażenia na pył TPA a obniżonymi wskaźnikami spirometrycznymi. Zgodnie z przedstawionymi wynikami, zaproponowano dopuszczalny limit narażenia zawodowego na pył TPA wynoszący 4,30 mg/m^3 (Li i in. 1999).

Tabela 2. Wyniki badania funkcji płuc wśród pracowników narażonych na kwas tereftalowy (TPA) (średnia±odchylenie standardowe) (Dai i in. 2005b)

Table 2. Results of pulmonary function testing among workers exposed to terephthalic acid (TPA) (mean±standard deviation) (Dai et al. 2005b)

Parametr	TPA w moczu, mmol/mol kreatyniny				Stężenie skumulowane pyłu całkowitego TPA, mg/m ³		
	kontrola (n = 70)	niewykrywalny (n = 50)	1 (n = 44)	5 (n = 20)	niewykrywalny	50 (n = 50)	80 (n = 30)
VC, %	98,4±43,1	97,7±34,8	105,7±27,8	103,3±29,7	104,0±27,3	99,0±34,6	104,0±31,6
FVC, %	102,9±2,93	99,6±19,3	102,9±21,7	102,5±16,5	103,9±20,3	101,3±18,4	98,1±20,7
FEV ₁ , %	94,5±21,7	92,8±21,6	91,4±23,6	96,7±22,1	96,4±22,5	93,4±20,4	92,0±22,1
FEV ₁ /FVC, %	98,2±20,1	98,6±18,4	92,7±23,6	96,7±22,1	95,6±16,9	98,7±20,3	99,6±15,5
PEF, %	93,7±24,4	87,3±23,3	87,9±26,4	83,3±14,9	92,4±22,5	87,8±20,9	85,0±24,3
MEF ₇₅ , %	108,5±29,5	100,6±26,6	102,1±30,6	95,5±15,5	105,2±26,5	101,5±24,4	98,9±27,0
MEF ₅₀ , %	143,5±42,4	138,4±37,9	135,5±46,3	134,9±30,8	141,4±37,7	141,1±35,6	136,6±343,8
MEF ₂₅ , %	193,6±64,1	200,0±64,8	191,2±82,6	221,4±77,0	200,5±70,7	206,2±72,9	209,4±84,4
MEF ₅₀ /MEF ₂₅	1,57±0,42	1,59±0,42	1,69±0,44	1,56±0,42	1,68±0,47	1,62±0,40	1,64±0,35
SACE (U/l)	29,57±9,50	34,40±12,43*	33,94±10,39*	36,59±9,16*	33,10±10,12	34,49±12,36*	33,98±9,57*

Objaśnienia:

* – zmiana istotna statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną, $p < 0,05$.

VC – pojemność życiowa płuc (ang. *Vital Capacity*), wyrażona jako % wartości należnej.

FVC – natężona pojemność życiowa (ang. *Forced Vital Capacity*), % wartości należnej.

FEV₁ – objętość wydechu pierwszosekundowa (ang. *Forced Expiratory Volume in 1 second*), % wartości należnej.

FEV₁/FVC – wskaźnik Tiffeneau, stosunek FEV₁ do FVC wyrażony w %.

PEF – szczytowy przepływ wydechowy (ang. *Peak Expiratory Flow*), % wartości należnej.

MEF₇₅ – maksymalny przepływ wydechowy przy 75% FVC (MEF at 75% of FVC), % wartości należnej.

MEF₅₀ – maksymalny przepływ wydechowy przy 50% FVC, % wartości należnej.

MEF₂₅ – maksymalny przepływ wydechowy przy 25% FVC, % wartości należnej.

MEF₅₀/MEF₂₅ – stosunek przepływów wydechowych MEF₅₀ do MEF₂₅.

SACE – aktywność konwertazy angiotensyny w surowicy (ang. *Serum Angiotensin-Converting Enzyme*), w jednostkach U/l.

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych epidemiologicznych związanych z zawodowym narażeniem na TPA.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i krótkoterminowa

Mediany dawek (LD₅₀) i stężeń (LC₅₀) śmiertelnych wskazują, że kwas tereftalowy (TPA) wykazuje niewielką toksyczność ostrą (tab. 3).

Główne objawy ostrego zatrucia TPA po podaniu dożołądkowym (*per os*), dootrzewnowym lub dożylnym to: drgawki kloniczne, hipertermia i zwiększona pobudliwość (Hoshi i in. 1968; SIDS 2001). Po podaniu dootrzewnowym subletalnych dawek TPA (tj. ok. 2680 mg/kg mc.) myszom objawy pojawiły się po okresie utajenia wynoszącym 24 h.

U psów podanie dożylnie TPA w dawce 100 mg/kg mc. zwiększyło częstotliwość oddechów, po dawce 250 mg/kg mc. zwiększyło opór płucny, po 500 mg/kg mc. zmniejszyło zdolność płuc do rozprężania się i elastyczności w odpowiedzi na zmiany

ich objętości, a po 600 mg/kg mc. zmniejszyło ciśnienie krwi w aorcie (Luttrell 2016).

Podawanie 0,5% TPA z paszą przez 7 dni oraz jednorazowe dootrzewnowe podawanie TPA w zakresie dawek 25 ÷ 1000 mg/kg mc. myszom nie spowodowało zmian w ogólnej funkcji nerek mierzonej jako wydalanie czerwieni fenolowej przez nerki. Nie stwierdzono retencji sulfobromoftaleiny w wątrobie, zmian aktywności aminotransferaz, poziomów cukru, białka, czy wolnego azotu aminokwasowego w osoczu krwi myszy (Hoshi i in. 1968).

Nie odnotowano śmierci szczurów w badaniu inhalacyjnym w wyniku wdychania TPA w stężeniu >2,02 mg/l (>2020 mg/m³) (Amoco Co 1987a). Objawy działania toksycznego obejmowały biegunkę, zaczerwienienie wokół nosa i przebarwienia sierści. U 1 samca zaobserwowano ciemne płuca, a u 1 samca i 1 samicy stwierdzono powiększone węzły chłonne żuchwowe.

Toksyczność po podaniu dożołądkowym (*per os*)

Kilkukrotne podanie dożołądkowe TPA szczurom w wysokich dawkach (co najmniej 1000 mg/kg mc./dzień) prowadziło głównie do uszkodzeń nerek i dróg moczowych. Jest to związane z wytrącaniem się kryształów TPA w moczu zaraz po

Tabela 3. Mediany dawek i stężeń śmiertelnych kwasu tereftalowego (TPA) dla zwierząt laboratoryjnych
Table 3. Median lethal doses and concentrations of terephthalic acid (TPA) for laboratory animals

Gatunek	Droga podania	LD ₅₀ /LC ₅₀	Piśmiennictwo
Szczur	<i>per os</i>	15 380 mg/kg mc.	PKN Orlen – Karta charakterystyki, 2023
Szczur	<i>per os</i>	>1 900–18 800 mg/kg mc.	SIDS 2001
Mysz	<i>per os</i>	1 470 mg/kg mc. >5 000 mg/kg mc.	BG Chemie 1990
Szczur	<i>per os</i>	1 960 mg/kg mc.	Amoco Co 1975
Mysz	<i>per os</i>	5 000 mg/kg mc.	Hoshi i in. 1968
Szczur	inhalacyjna, 4 h	1000 mg/m ³	PKN Orlen – Karta charakterystyki, 2023; SIDS 2001
Szczur	inhalacyjna, 2 h	>2,02 mg/l	Amoco Co 1987a; SIDS 2001
Szczur	skórna	2 000 mg/kg mc.	PKN Orlen – Karta charakterystyki, 2023
Szczur, ♀	dootrzewnowa	1 210 mg/kg mc.	BG Chemie 1990
Szczur, ♂	dootrzewnowa	2 250 mg/kg mc.	BG Chemie 1990
Mysz	dootrzewnowa	1 900 mg/kg mc.	Grigas i in. 1971
Mysz	dootrzewnowa	3 700 mg/kg mc.	SIDS 2001
Mysz	dootrzewnowa	4 500 mg/kg mc.	SIDS 2001
Mysz	dootrzewnowa	1 430 mg/kg mc.	Hoshi i in. 1968
Mysz	dożylna	770 mg/kg mc.	BG Chemie 1990
Pies	dożylna	767 mg/kg mc.	BG Chemie 1990
Pies	dożylna	770 mg/kg mc.	ACGIH 2001; Luttrell 2016

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.

przekroczeniu granicy rozpuszczalności, co prowadzi do mechanicznego uszkodzenia dróg moczowych i pęcherza moczowego (*Khamidulina i in.* 2020) (tab. 4).

Młode szczury rasy Fischer 344 otrzymywały w paszy TPA w stężeniach: 0 (kontrola); 0,5%, 1,5%, 3%, 4% lub 5% (średnie dzienne dawki dla szczurów narażonych na 3%, 4% lub 5% TPA w paszy wynosiły odpowiednio 3740 mg/kg mc./dzień, 4860 mg/kg mc./dzień lub 5710 mg/kg mc./dzień dla samców oraz 3760 mg/kg mc./dzień, 4770 mg/kg mc./dzień i 5520 mg/kg mc./dzień dla samic) przez okres 2 tygodni, począwszy od 28. dnia po urodzeniu, w celu zbadania procesu powstawania kamieni w pęcherzu moczowym. Masę ciała poszczególnych zwierząt, spożycie pokarmu i wody monitorowano co 2 dzień przez cały czas trwania badania. Mocz zebrany tuż przed uśmierceniem zwierząt analizowano pod kątem pH oraz zawartości substancji tworzących kamienie (np. wapnia, fosforanów) i TPA. Cały układ moczowy, w tym cewkę moczową, pęcherz moczowy, moczowody i nerki, poddano analizie wizualnej pod kątem obecności kamieni. Przeanalizowano skład kamieni z pęcherzy moczowych, pobrano tkanki dróg moczowych od 10 kontrolnych samców szczurów i 10 samców szczurów, którym podawano w paszy TPA w stężeniu 4% do badania histologicznego. Autorzy

badania przeprowadzili analizę statystyczną. Po 2 najwyższych dawkach TPA obserwowano istotne zmniejszenie masy ciała zwierząt. Kwas tereftalowy w dawce wynoszącej 3750 mg/kg mc./dzień i większej powodował, że mocz u zwierząt miał zwiększoną gęstość oraz większą zawartość kwasu (pH moczu wynosiło 5,7 vs. 6,3 w grupie kontrolnej). U badanych szczurów stwierdzono zwiększone wydalenie wapnia i fosforanów z moczem oraz powstawanie kamieni (wielkości 1 ÷ 3 mm) w pęcherzu moczowym, hiperplazję nabłonka pęcherza moczowego i krwiomocz, przy czym u samców zmiany były bardziej zaznaczone niż u samic. Występowanie kamieni w pęcherzu zwiększało się w sposób zależny od dawki. W 2 najwyższych grupach dawkowania występowanie kamieni było znacząco większe i wynosiło odpowiednio 57% i 93% u samców oraz 20% i 73% u samic. Nie zaobserwowano kamieni w pęcherzu moczowym u zwierząt kontrolnych, a tylko sporadycznie znaleziono kamienie w pęcherzu moczowym w grupach zwierząt, które otrzymały mniejszą dawkę. Obserwowano zależny od dawki wzrost masy kamieni, przy czym wartości te były większe u samców niż u samic podanych działaniu tej samej dawki. Kamienie składały się głównie z TPA, ale zawierały także znaczne ilości wapnia i fosforanów. Zauważalne makroskopowe zmiany w drogach moczowych występowały

Tabela 4. Wyniki badań toksyczności krótkoterminowej kwasu tereftalowego (TPA) u zwierząt po podaniu związku drogą pokarmową
Table 4. Results of short-term toxicity studies on terephthalic acid (TPA) in animals following oral administration of the compound

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury	1000 mg/kg mc./dzień, kilkukrotne podanie dożołądkowe	uszkodzenia nerek i dróg moczowych związane z wytrącaniem się kryształów TPA w moczu	<i>Khamidulina i in.</i> 2020
Szczury Fischer, ♂♀, 344	0 (kontrola), 1,5, 3, 4, 5% w paszy; ♂: 1250, 3740, 4860, 5710 mg/kg mc./dzień ♀: 1250, 3760, 4770, 5520 mg/kg mc./dzień; 2 tygodnie	występowanie kamieni w pęcherzu moczowym zwiększające się w sposób zależny od dawki ♂: 4860 i 5710 mg/kg mc./dzień (4 i 5% w paszy) ♀: 4770 i 5520 mg/kg mc./dzień (5 i 5% w paszy) istotne zmniejszenie masy ciała zwierząt mocz o zwiększonej gęstości (pH 5,7 vs. pH 6,3 w grupie kontrolnej), zwiększone wydalanie wapnia i fosforanów z moczem istotny wzrost częstości występowania kamieni w pęcherzu moczowym (wielkości 1–3 mm), odpowiednio u 57 i 93% ♂ oraz 20 i 73% ♀ hiperplazje nabłonka pęcherza moczowego i krwiomocz (u samców zmiany były bardziej zaznaczone niż u samic) ♀: NOAEL – 3760 mg/kg mc./dzień LOAEL – 4770 mg/kg mc./dzień ♂: NOAEL – 1250 mg/kg mc./dzień LOAEL – 3740 mg/kg mc./dzień	<i>Chin i in.</i> 1981; <i>Heck</i> 1981
Szczury, F344/CrlBr, albinosy	4% w paszy; 4900 mg/kg mc./dzień; 14 kolejnych dni	statystycznie istotne obniżenie średniej masy ciała (o 20% pod koniec badania) istotne wzrosty stężenia wapnia (o ok. 160%) i magnezu (o ok. 150%) w moczu oraz wapnia (o ok. 6%) i magnezu (o ok. 27%) w surowicy istotne statystycznie zwiększenie częstości występowania kamieni (głównie w świetle pęcherza moczowego) u 50% narażonych zwierząt LOAEL – 4900 mg/kg/dzień	<i>Wolkowsky-Tyl, Chin</i> 1983

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.

głównie u zwierząt, u których obserwowano tworzenie się kamieni. Obserwowane zmiany obejmowały nieregularne pogrubienie ściany pęcherza u wszystkich szczurów oraz często występujący krwiomocz u osobników, które otrzymały wysoką dawkę. Autorzy podkreślają, że wzrastające zakwaszenie moczu prowadzi do zmniejszonej resorpcji wapnia w kanalikach nerkowych. Histologiczne zmiany w pęcherzu moczowym obserwowano tylko u zwierząt z kamieniami. Oceniono, że po średnich dawkach TPA wynoszących 2 ÷ 3 g/kg/dzień częstość występowania kamieni w pęcherzu moczowym i moczowodach wynosiła u samców oraz samic szczurów odpowiednio 90% i 75%. Hiperkalcemia została również zaobserwowana we wszystkich badanych grupach eksponowanych, a wzrosty były istotne statystycznie ($p < 0,01$) w porównaniu z kontrolą w grupach dawkowania 3% i 4% TPA w paszy. Dalsza analiza podzbioru testowanych szczurów przeprowadzona przez *Hecka*

(1981) wykazała istotne wzrosty stężenia jonów amonowych w moczu we wszystkich grupach narażonych oraz ogólnie istotne obniżenia poziomów sodu, potasu i siarczanów w grupach dawkowania 3% i 4% TPA. W doświadczeniu zaproponowano wartości NOAEL 3760 mg/kg mc./dzień dla samic i 1250 mg/kg mc./dzień dla samców oraz LOAEL wynoszący 4770 mg/kg mc./dzień dla samic i 3740 mg/kg mc./dzień dla samców (zostały wyznaczone na podstawie zwiększonego występowania kamieni w pęcherzu moczowym oraz związanych z nimi zmian makroskopowych i histopatologicznych u samic szczura). Istotne zmiany w pH moczu i poziomach elektrolitów zaobserwowano także przy mniejszych dawkach (ACGIH 2001; *Chin i in.* 1981; *Heck* 1981) (tab. 4).

Chin i in. (1981) przedstawili także reprezentatywne obrazy niektórych histologicznych zmian w tkankach dróg moczowych u kontrolnych osobników oraz zwierząt karmionych przez

2 tygodnie paszą zawierającą 4% TPA. Autorzy opisali tkanki pęcherza moczowego, moczowodów i nerek u szczurów kontrolnych jako normalne, z wyjątkiem kilku małych ognisk mineralizacji w kanalikach kory zewnętrznej nerki. U 6 z 10 zwierząt narażonych na TPA stwierdzono kamienie w badaniu makroskopowym oraz zmiany histologiczne. W pęcherzu moczowym zanotowano częste występowanie rozlanego, obejmującego szeroki obszar narządu, bez wyraźnie odgraniczonych ognisk, rozrostowego nabłonka przejściowego o różnym stopniu nasilenia, owrzodzenie rozrośniętego nabłonka i infiltrację neutrofilową blaszki właściwej. Nie opisano zmian w moczowodach (z wyjątkiem 1 zwierzęcia, u którego stwierdzono rozszerzony moczowód ze zmienionym nabłonkiem). Według autorów badania u większości zwierząt w grupie otrzymującej w paszy 4% TPA występowało więcej ognisk mineralizacji w nerkach niż u zwierząt kontrolnych.

Młode szczury F344/CrlBr albinosy (28 dni, 10 samców/grupę) były przez 14 kolejnych dni karmione paszą zawierającą TPA w stężeniu 0 (kontrola) lub 4% (4900 mg/kg mc./dzień). Masa ciała oraz spożycie pokarmu i wody były rejestrowane co drugi dzień. Układ moczowy badano makroskopowo pod kątem obecności złożeń. Kamienie z cewki moczowej, pęcherza moczowego, moczowodów i nerek były liczone, suszone, ważone. U zwierząt zaobserwowano biegunkę i krystaliczne osadzenia w miejscu ujścia urogenitalnego i brodawce. U narażonych szczurów przez całe badanie zaobserwowano statystycznie istotne obniżenie (w porównaniu z kontrolą) średniej masy ciała (w zakresie od 8% do 17%). Obniżenie masy ciała po zakończeniu doświadczenia wynosiło 20%. Całkowite spożycie pokarmu u narażonych zwierząt było istotnie zmniejszone (o 15%), a spożycie wody było istotnie zwiększone. W porównaniu z kontrolnymi szczurami mocz narażonych szczurów miał zwiększoną gęstość. Stwierdzono również istotne zwiększenie stężenia wapnia i magnezu zarówno w moczu, jak i w surowicy. W moczu stężenie wapnia wzrosło o około 160%, a magnezu o około 150%, w surowicy natomiast odpowiednio o 6% i 27%. Poziomy hematokrytu były porównywalne do poziomu u zwierząt kontrolnych. Kamienie znajdowano głównie w świetle pęcherza moczowego (u 5/10 narażonych zwierząt, co było istotne statystycznie). Nie zaobserwowano kamieni u zwierząt z grupy kontrolnej.

Jedyną testowaną dawką TPA, która wynosiła w tym doświadczeniu 4900 mg/kg mc./dzień, przyjęto za LOAEL (ze względu na istotne zwiększenie występowania kamieni w pęcherzu i zmniejszenie masy ciała). Obliczono również, że całkowite stężenie TPA w ludzkim moczu wymagane do wywołania złożeń zawierających Ca-TPA wynosiłoby około 8 mmol/l (Wolkowsky-Tyl, Chin 1983) (tab. 4).

Po 2-krotnym podaniu przez sondę do żołądka TPA w wysokiej dawce (2000 mg/kg mc.) w odstępie 21 h zbadano (za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego) tworzenie się kryształów w moczu i ich wpływ na nabłonek pęcherza moczowego u szczurów. Próbkę nabłonka pęcherza moczowego obserwowano 3 h, 6 h i 9 h po 2. podaniu. Kwas tereftalowy indukował szybkie tworzenie się kryształów w moczu. Mikrokrystały zostały wykryte na powierzchni pęcherza 6 h i 9 h po 2. podaniu TPA (Kyoya, Terada 2018).

Toksyczność inhalacyjna

Po ekspozycji szczurów rasy Sprague-Dawley na TPA w stężeniach 8,9 mg/m³, 274,5 mg/m³ lub 618,1 mg/m³ (nie podano czasu narażenia) zmierzono zawartość fosfolipidów w surfaktancie w płynie płucno-pęcherzykowym. Wykazano statystycznie istotne obniżenie poziomów fosfatydylocholiny, fosfatydyloglicerolu i fosfatydyloinozytolu w grupie średniego i wysokiego stężenia. Oceniono, że TPA uszkadza komórki typu II produkujące surfaktant w nabłonku płucnym. Zmiany w surfaktancie mogą prowadzić do zmiany elastyczności płuc, wymiany gazowej i funkcji oddechowych (Shi i in. 2000) (tab. 5).

U szczurów rasy Sprague-Dawley obu płci ($n = 10$) narażonych na TPA w stężeniu 2020 mg/m³ (cząstki aerozolu nieznanego wielkości) przez 2 h dziennie, 5 dni w tygodniu przez 2 tygodnie, zaobserwowano biegunkę, zaczerwienienie wokół nosa oraz wilgotną lub zabarwioną sierść w okolicach brzucha i pachwin. Podczas autopsji u 1 samca i 1 samicy stwierdzono powiększone węzły chłonne podżuchwowe, a u 1 samca obserwowano ciemne obszary w płucach (Amoco Co 1987a) (tab. 5).

Szczury samce rasy Wistar ($n = 10$) narażano przez 4 tygodnie, przez 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu na aerozol TPA w stężeniu 25 mg/m³ (średnica cząstek aerozolu wynosiła 2,3 μ m). Stwierdzono zmniejszoną dynamikę przyrostu masy ciała

Tabela 5. Wyniki badań toksyczności krótkoterminowej kwasu tereftalowego (TPA) dla zwierząt narażanych drogą inhalacyjną
Table 5. Results of short-term toxicity studies on terephthalic acid (TPA) in animals exposed via inhalation

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley	8,9, 274,5, 618,1 mg/m ³ (brak danych dotyczących czasu narażenia)	274,5 i 618,1 mg/m ³ statystycznie istotne obniżenie stężenia fosfatydylocholiny, fosfatydyloglicerolu i fosfatydyloinozytolu uszkodzenie komórek typu II produkujących surfaktant w nabłonku płucnym ($p < 0,001$)	Shii in. 2000
Szczury Sprague-Dawley	0 (kontrola), 0,52, 1,19, 3,31 mg/m ³ , 6 h/dzień, 5 dni/tydz., 4 tyg. (98,7% cząstek miało średnicę $\leq 10 \mu\text{m}$)	minimalne miejscowe zmiany degeneracyjne w tchawicach u obu płci, których częstość wzrastała wraz ze wzrostem stężenia (zmniejszenie liczby komórek rzęskowych, pewne nieuporządkowanie komórek w tkance nabłonkowej oraz miejscowa lekka hiperplazja nabłonka tchawicy)	Amoco Co 1987b
Szczury Sprague-Dawley	0 (kontrola), 1, 3, 10 mg/m ³ , wyłącznie przez nos, 28 dni	obniżenie zawartości hematokrytu (HCT) we krwi u samców w najwyższym stężeniu brak innych zmian związanych z narażeniem	Plastics Europe (2008) cyt. w MAK-Commission (2015)
Szczury	10 mg/m ³ 25 kolejnych dni	nie obserwowano niekorzystnych skutków u zwierząt podczas ekspozycji i po jej zakończeniu oraz w badaniu sekcyjnym NOAEL – 10 mg/m ³	Amoco Co 1989b
Szczury	21,5 mg/m ³ , 6 h/dzień, 5 dni/tydz., 4 tyg.	brak objawów toksyczności i widocznych zmian patologicznych	Amoco Co 1973
Szczury Wistar, ♂♀	25 mg /m ³ , 6 h/dzień, 5 dni/tydz., 4 tyg.	zmniejszona dynamika przyrostu masy ciała	Standard Oil Company 1973
Szczury	30, 100, 1000 mg/m ³ , 4 h	brak nieodwracalnych efektów szkodliwych związanych z narażeniem	ICI 1987
Szczury Fisher 344	100, 200, 400 mg/m ³ , 30 min/dzień	odwracalny, zależny od stężenia nieżyt nosa NOAEC – 400 mg/m ³	Thomson 1988
Szczury Fisher 344	150–1900 mg/m ³ – 30 min/dzień, 128–1965 mg/m ³ – 30 min/dzień, 5 dni	>900 mg/m ³ łagodne do umiarkowanych: łzawienie, nieżyt nosa, duszności i senność (objawy odwracalne w ciągu 1 h po zaprzestaniu ekspozycji) zmiany histopatologiczne: martwica i stany zapalne jamy nosowej, zarówno w przypadku ostrej, jak i wielokrotnej ekspozycji na stężenia	Muse 1997
Szczury	225 mg /m ³ , 6 h/dzień, 5 dni/tydz., 4 tyg.	brak istotnych toksykologicznie zmian związanych z narażeniem	BG Chemie 1990
Szczury Sprague-Dawley	2020 mg/m ³ (cząstki aerozolu nieznaney wielkości), 2 h/dzień, 5 dni/tydz., 2 tyg.	biegunka, zaczerwienienie wokół nosa oraz wilgotna lub zabarwiona sierść w okolicach brzucha i pachwin powiększone węzły chłonne podżuchwowe, ciemne obszary w płucach u pojedynczych zwierząt	Amoco Co 1987a

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

podczas badania: u 5 zwierząt masa ciała praktycznie nie zmieniała się w czasie ekspozycji, podczas gdy pozostałe 5 zwierząt przybrało na wadze do 28 g. Stężenie TPA we krwi i moczu było wyższe niż wynikałoby to z inhalacji. Podejrzewa się więc, że doszło do dodatkowego doustnego spożycia TPA poprzez oblizywanie sierści. Podczas badania patomorfologicznego nie stwierdzono żadnych zmian u narażonych zwierząt (Standard Oil Company 1973). W badaniu nie było grupy kontrolnej (tab. 5).

Szczury rasy Sprague-Dawley (samce i samice) były przez 4 tygodnie narażone na aerozol TPA w stężeniach: 0 (kontrola), 0,52 mg/m³, 1,19 mg/m³ lub 3,31 mg/m³ przez 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu, przy czym 98,7% cząstek miało średnicę $\leq 10 \mu\text{m}$ (tab. 5). W grupie o najwyższym stężeniu i grupie kontrolnej każda z płci składała się z 16 zwierząt, a w 2 pozostałych grupach było po 10 zwierząt każdej płci. Obserwowano objawy, takie jak zwiększone ślinienie u 3 zwierząt (z czego jedno pochodziło z grupy kontrolnej), zaczerwienienie wokół oczu u 1 do 2 zwierząt w każdej grupie oraz zaczerwienienie nosa u 5 do 14 zwierząt w każdej grupie niezależnie od stężenia (w grupach kontrolnych 9/32). Masy ciała, przyrosty masy ciała i masy narządów nie różniły się istotnie od tych w grupie kontrolnej. Badania krwi, obserwacje zwierząt, parametry funkcji płuc były podczas odpoczynku i wysiłku takie same, jak u zwierząt kontrolnych. Badanie histopatologiczne wykazało degenerację nabłonka tchawicy u 19 z 20 zwierząt w grupie o najwyższym stężeniu, u 13 z 20 w grupie o średnim stężeniu i u 6 z 20 w grupie o najniższym stężeniu oraz u 1 z 20 zwierząt w grupie kontrolnej. Liczba miejsc z tymi zmianami rosła wraz ze wzrostem stężenia, przy czym nasilenie zmian nie ulegało zmianie (w każdym przypadku nasilenie oceniono jako 1 w umownej skali 4-punktowej). W jamie nosowej nie zaobserwowano skutków narażenia. U eksponowanych samic szczurów we wszystkich grupach odnotowano nasilone krwawienia w węzłach chłonnych dróg oddechowych. U eksponowanych samców we wszystkich grupach obserwowano natomiast nasilone zmiany w postaci hiperplazji komórek plazmatycznych w węzłach chłonnych podżuchwowych (Amoco Co 1987b). Parametry hematologiczne, biochemiczne, fizjologia oddechowa nie wykazały oznak toksyczności ogólnej u zwierząt. W badaniach histopatologicznych stwierdzono minimalne miejscowe zmiany

zwyródnieniowe w tchawicach u zwierząt obu płci. Ich częstość zwiększała się wraz ze wzrostem stężenia. Dokładniejszy opis zmian w nabłonku oddechowym tchawicy wskazuje na zmniejszenie liczby komórek rzęskowych, pewne nieuporządkowanie komórek w tkance nabłonkowej oraz miejscową niewielką hiperplazję nabłonka. Stopień nasilenia tych zmian nie zmieniał się pomimo wzrostu częstości ich występowania. Stopień minimalny oznacza, że wystąpiło bardzo lekkie odstępstwo od normy, zauważalne tylko przez doświadczonych patologów w dziedzinie układu oddechowego. Niemniej jednak oceniono, że istniejąca zmiana jest związana z działaniem TPA i wykazuje progresję zależną od stężenia. W kontekście niezmiennych parametrów ogólnych (zwłaszcza krwi i parametrów oceniających funkcję płuc) zmiany w 2 niższych stężeniach uznano za nieistotne.

Raport *Plastics Europe* (2008), cytowany w *MAK-Commission* (2015), podaje, że nie zaobserwowano żadnych objawów działania toksycznego TPA, m.in. wpływu na masę ciała, spożycie pokarmu lub wody, stan oczu, aktywność lokomotoryczną, siłę chwytu czy odruch obrócenia ciała do prawidłowej pozycji (gdy zostało ono wywrócone lub przechylone). Nie stwierdzono również zmian temperatury ciała, w parametrach krwi, wskaźnikach biochemicznych w surowicy, wynikach analizy moczu, masie narządów ani makroskopowych lub histologicznych zmian patologicznych (w tym w płucach, krtani, tchawicy i tkankach nosa). Badania te przeprowadzono na samcach i samicach szczurów Sprague-Dawley (10 zwierząt na grupę, na płęć), narażonych (wyłącznie przez nos) przez 28 dni na aerozol TPA o średniej średnicy cząstek wynoszącej odpowiednio 3,25 μm , 2,87 μm lub 2,94 μm w stężeniach: 0 (kontrola), 1 mg/m³, 3 mg/m³ i 10 mg/m³. Dodatkową grupę 5 samców i 5 samic otrzymujących najwyższe stężenie TPA obserwowano przez 14 dni po zakończeniu ekspozycji, a następnie poddane badaniom. Stwierdzono brak objawów działania TPA. Masa ciała, spożycie pokarmu i wody nie różniły się istotnie od kontroli. Nie zaobserwowano wpływu na aktywność ruchową, temperaturę ciała, odruchy oraz parametry hematologiczne zarówno u zwierząt badanych bezpośrednio po zakończeniu ekspozycji, jak i u tych obserwowanych po okresie rekonwalescencji. Badania biochemiczne wykazały jedynie niewielką różnicę – obniżenie poziomu hematokrytu

(HCT) we krwi samców, ale nie samic, narażonych na najwyższe stężenie. Analiza moczu i badania patologiczne nie wykazały żadnych zmian związanych z ekspozycją na substancję (Plastics Europe 2008). W związku z tym wynik dotyczący zmian w tchawicy, opisany w badaniu Amoco Co z 1987 r. jako minimalne miejscowe zmiany degeneracyjne po ekspozycji na TPA w stężeniu $3,31 \text{ mg/m}^3$, nie został potwierdzony w nowszym badaniu PlasticsEurope, w którym zwierzęta narażano na stężenia maks. 10 mg/m^3 (tab. 5).

U szczurów narażonych na rozproszone dymy pirotechniczne z granatów M-83 na bazie TPA skonstruowanych w armii amerykańskiej do użytku szkoleniowego (w celu zastąpienia bardziej toksycznego dymu zawierającego heksachloroetan – HC) zidentyfikowano objawy łagodne do umiarkowanych: łzawienie, katar, duszności i senność. Były one odwracalne w ciągu 1 h po zaprzestaniu ekspozycji. Szczury Fisher 344 poddano ostrej i powtarzanej ekspozycji na dym – poziomy narażenia ostrego wahały się w granicach $150 \div 1900 \text{ mg/m}^3$ przez 30 min, a stężenia wielokrotnego $128 \div 1965 \text{ mg/m}^3$ przez 30 min dziennie przez 5 dni. Nie obserwowano zgonów, nawet przy najwyższych stężeniach dymu. Zmiany histopatologiczne ograniczały się do związanej z ekspozycją martwicy i stanami zapalnymi jamy nosowej, zarówno w przypadku ostrej, jak i wielokrotnej ekspozycji na stężenia powyżej 900 mg/m^3 (Muse 1997) (tab. 5).

W innym doświadczeniu samce szczurów Fischer 344 były narażone poprzez inhalację (wyłącznie przez nos) na TPA w stężeniach 100 mg/m^3 , 200 mg/m^3 lub 400 mg/m^3 przez 30 minut. Po 24 h oraz po 14 dniach po ekspozycji nie zaobserwowano niekorzystnych zmian funkcji płuc, parametrach oznaczanych w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) ani w histopatologii. Inhalacja TPA skutkowała odwracalnym, zależnym od dawki nieżytem nosa. Działanie TPA na błony śluzowe oceniono jako łagodnie drażniące. Stężenie 400 mg/m^3 było oszacowanym poziomem NOAEC (Thomson i in. 1988) (tab. 5).

Kwas tereftalowy nie wywołał żadnych nieodwracalnych efektów szkodliwych u szczurów w badaniach ostrej i krótkoterminowej toksyczności inhalacyjnej (tab. 5). Główne raporty z badań nie są dostępne, a ich podsumowanie wskazuje, że:

- samce szczurów (10/grupa; szczep nieokreślony) były narażane wyłącznie przez nos na docelowe stężenia TPA wynoszące: 30 mg/m^3 ,

100 mg/m^3 i 1000 mg/m^3 przez 4 h (ICI 1987);

- samce szczurów (liczba i szczep nieokreślone) były narażone na aerozol TPA w stężeniu do $21,5 \text{ mg/m}^3$ przez 6 h/dzień, 5 dni w tygodniu, przez 4 tygodnie – nie odnotowano zgonów, a także nie zaobserwowano objawów toksyczności ani widocznych zmian patologicznych. Histopatologia nie została przeprowadzona (Amoco Co 1973);
- szczury samce rasy Sprague-Dawley ($n = 10$) narażono na aerozol TPA w stężeniu 10 mg/m^3 przez 25 kolejnych dni, a następnie obserwowano przez 28 dni po zakończeniu ekspozycji. Analizę krwi i moczu przeprowadzono przed rozpoczęciem ekspozycji oraz w dniach ekspozycji: 1., 5., 10., 15., 22. i 25. oraz w dniach: 7., 14., 21. i 28. po zakończeniu ekspozycji. Nie wystąpiły żadne niekorzystne efekty u zwierząt podczas oraz po zakończeniu ekspozycji, a także w badaniu sekcyjnym (Amoco Co 1989). Ustalono wartość NOAEC na poziomie 10 mg/m^3 , przy czym nie przeprowadzono badań histopatologicznych;
- w 4-tygodniowym badaniu inhalacyjnym na szczurach, które były narażone przez 6 h/dzień, 5 dni w tygodniu na aerozol TPA w stężeniu 225 mg/m^3 , nie zaobserwowano istotnych toksykologicznie zmian (BG Chemie 1990).

Toksyczność dermalna

Po 4-godzinnej aplikacji (opatrunek okluzyjny) 500 mg TPA na ogoloną skórę grzbietu albinotycznych królików (New Zealand, $n = 6$) nie stwierdzono padnięć zwierząt. Podobnie było po aplikacji TPA w dawce 2000 mg/kg mc. przez 24 h w okresie 14-dniowej obserwacji (Amoco Co 1990b; Amoco Co 1990c).

Nie odnotowano zgonów królików nowozelandzkich ($n = 5/\text{płeć/grupę}$) po jednorazowym narażeniu dermalnym (opatrunek okluzyjny) TPA w dawce 2000 mg/kg mc. Zaobserwowano zaczerwienienie w miejscu aplikacji u 2/5 samców i 4/5 samic. Średnie masy ciała wzrosły w trakcie eksperymentu. W pośmiernych badaniach makroskopowych nie zaobserwowano żadnych zmian (SIDS 2001).

Aplikacja $0,2 \text{ ml}$ znakowanego roztworu wodnego TPA jednorazowo lub wielokrotnie na

nieuszkodzoną, ogoloną skórę szczurów spowodowała znikomą absorpcję i wydalanie znakowanej izotopowo substancji. Nie stwierdzono podrażnienia skóry w miejscu aplikacji (Moffit i in. 1975).

Działanie drażniące na skórę i oczy

Nie zaobserwowano drażniącego działania TPA podczas 48 h semiokluzyjnej aplikacji TPA w zawiesinie wodnej (80 mg kwasu *p*-ftalowego w 0,2 ml wody) na skórę szczurów 5 razy w ciągu 10 dni (BG Chemie 1990).

Podczas okluzyjnej aplikacji 500 mg TPA na zwierzę na wydepilowanej skórze grzbietu 3 samców i 3 samic królików nowozelandzkich przez 4 h, skóra była lekko zaczerwieniona tuż po usunięciu substancji (wynik 0,2/8,0). Zaczerwienienie zniknęło do końca obserwacji po 72 h (Amoco Co 1990 b).

Po aplikacji 2000 mg/kg mc. TPA na wydepilowaną skórę grzbietową królików i pozostawieniu pod opatrunkiem okluzyjnym przez 24 h, bezpośrednio po usunięciu substancji u 6 królików pojawiło się lekkie zaczerwienienie skóry, odwracalne pod koniec okresu obserwacji (Amoco Co 1990 c).

Podanie 100 mg nierozcieńczonego TPA do worka spojówkowego u królików ($n = 6$) spowodowało jedynie łagodne, przemijające podrażnienie oczu, obejmujące spojówkę i tęczówkę. Nasilenie zmian było niewielkie i wynosiło 9,0/110 po 1 h oraz 4,5/110 po 24 h obserwacji. Po 48 h nie stwierdzono już żadnych objawów podrażnienia. Wyniki te wskazują na brak trwałego działania drażniącego substancji w warunkach badania (Standard Oil Company 1975). Uzyskane rezultaty zostały potwierdzone w niezależnym badaniu przeprowadzonym na 3 królikach, w którym maksymalny odnotowany wynik wyniósł 10/110, co również wskazywało na niewielkie i odwracalne zmiany (Amoco Corporation 1990a).

Nie zaobserwowano działania drażniącego TPA na oko królika podczas aplikacji 50 mg substancji do worka spojówkowego przez 5 min lub 24 h, w okresie 11-dniowej obserwacji (Moffit 1975, SIDS 2001).

Stwierdzono, że TPA nie ma działania uczulającego. Ocenę ryzyka alergii wywołanej TPA przeprowadzano metodami ekspresowej sensybilizacji u świnek morskich, myszy i szczurów, przez aplikację skórną, śródskórną i dotchawiczą (szczury). Wcześniej przeprowadzono badania działania drażniącego roztworów roboczych TPA, w celu dobrania odpowiedniego stężenia testowego. Jako stężenie

testowe wybrano maksymalne stężenie TPA (15%), które nie wywoływało reakcji drażniącej (rumień, obrzęk) na skórze świnek morskich po 24 h. Reakcję skóry oceniano wizualnie. Przeprowadzono prowokacyjny test kroplowy, który nie wykazał widocznych patologicznych zmian skórnych (zaczerwienienie, obrzęk itp.) (Khamidulina i in. 2020).

Toksyczność podprzewlekła

Podanie drogą dożołądkową

Młode szczury rasy Wistar (25 samców/samic) przez tydzień otrzymywały karmę zawierającą 0 (kontrola) lub 5% TPA, a następnie przez 12 tygodni – 0 (kontrola) lub 3% TPA (co odpowiada 0 i 2500 mg/kg mc./dzień dla szczura o masie 400 g i spożyciu paszy wynoszącym 20 g/dzień). Zaobserwowano głównie obecność kamieni w pęcherzu moczowym i hiperplazję nabłonka pęcherza moczowego, która nie wykazywała cech nowotworowych. Istniała korelacja między częstością występowania hiperplazji a występowaniem kamieni w pęcherzu moczowym. U 3/19 samic stwierdzono kamienie w pęcherzu moczowym, u 1/19 kamienie w nerkach, u 4/19 rozrost nabłonka pęcherza moczowego, a u samców 11/18 przypadków kamieni w pęcherzu, 13/18 przypadków hiperplazji nabłonka pęcherza. Parametry (takie jak względna masa narządów, masa narządów/masa mózgu oraz parametry krwi i biochemiczne) były w normie, a badanie histopatologiczne nie wykazało zmian związanych z narażeniem na TPA (Amoco Chemicals Co 1972) (tab. 6).

Szczurom rasy Sprague-Dawley (średnia masa samców 420 g, samic 305 g) oraz Wistar (średnia masa samców 400 g, samic 620 g) ($n = 20$ samce i samice) podawano przez 90 dni w paszy TPA w stężeniach: 0 (kontrola), 0,03%, 0,125%, 0,5%, 2% lub 5% (co odpowiada dawkom około: 0 (kontrola), 15 mg/kg mc./dzień, 63 mg/kg mc./dzień, 250 mg/kg mc./dzień, 1000 mg/kg mc./dzień lub 2500 mg/kg mc./dzień dla szczura o masie 400 g i spożyciu paszy wynoszącym 20 g/dzień). Okazało się, że samce szczurów rasy Wistar były bardziej podatne na rozwój kamieni w pęcherzu moczowym, które obserwowano u 1/10 samców szczurów Wistar po dawce 15 mg/kg mc. i 4/10 po dawce 2500 mg/kg mc. oraz u 1/10 samic szczurów Wistar. U szczurów samców Sprague-Dawley nie stwierdzono

Tabela 6. Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej kwasu tereftalowego (TPA) u zwierząt po podaniu związku w paszy
Table 6. Results of subchronic toxicity studies on terephthalic acid (TPA) in animals following administration of the compound in feed

Gatunek, szczep, płeć	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, ♂♀	0 (kontrola), 15, 63, 250, 1000, 2500 mg/kg mc./dzień; w paszy, 90 dni	2500 mg/kg mc./dzień ♂ brak kamieni w pęcherzu moczowym ♀ kamienie w pęcherzu moczowym u 1/10 hiperplazje w nabłonku pęcherza moczowego: ♂1/10 i ♀4/10	CIIT 1982
Szczury Wistar, ♂♀	0 (kontrola), 15, 63, 250, 1000, 2500 mg/kg mc./dzień; w paszy, 90 dni	2500 mg/kg mc./dzień rozwój kamieni w pęcherzu moczowym: ♂4/10, ♀1/10 hiperplazje w nabłonku pęcherza moczowego: ♂3/9 i ♀5/10 15 mg/kg mc./dzień rozwój kamieni w pęcherzu moczowym: ♂1/10	CIIT 1982
Szczury Wistar, ♂♀	0 (kontrola), 0,03, 0,125, 0,5, 2, 5% w paszy; ♂: 0 (kontrola), 15,3, 79,09, 266, 1020, 2650 mg/kg mc./dzień, ♀: 0 (kontrola), 19,3, 114,5, 313, 1280, 3100 mg/kg mc./dzień, 90 dni	♂ 2650 mg/kg mc./dzień; ♀ 3100 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) objawy w ciągu pierwszych 4 tygodni: biegunka, utrata masy ciała, wydzielina urogenitalna znaczące spadki całkowitego średniego przyrostu masy ciała związane z dawką rozciągnięcie i powiększenie pęcherza moczowego, kamienie w pęcherzu moczowym, rozciągnięcie jelita ślepego i jelita grubego rozwój kamieni w pęcherzu moczowym: ♂1/5 w 30. dniu oraz ♂3/10 w 90 dniu, ♀1/10 w 90 dniu zmiany histologiczne: częste przewlekłe stany zapalne w podśluzówce pęcherza moczowego oraz korze, rdzeniu i miedniczce nerkowej ♀: LOAEL – 3100 mg/kg mc./dzień (występowanie kamieni w pęcherzu moczowym) NOAEL – nie ustalono	Ball i in. 2012
Szczury CD, ♂♀	0 (kontrola), 0,03, 0,125, 0,5, 2, 5% w paszy; ♂: 0 (kontrola), 14,6, 76,15, 247, 976, 2590 mg/kg mc./dzień; ♀: 0 (kontrola), 17,6, 86,57, 286, 1260, 2840 mg/kg mc./dzień; 90 dni	♂ 2590 mg/kg mc./dzień; ♀ 2840 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) objawy w ciągu pierwszych 4 tygodni: biegunka, utrata masy ciała, wydzielina urogenitalna znaczące spadki całkowitego średniego przyrostu masy ciała związane z dawką rozciągnięcie i powiększenie pęcherza moczowego, kamienie w pęcherzu moczowym oraz rozciągnięcie jelita ślepego i jelita grubego (kamienie w pęcherzu moczowym zaobserwowano u ♀1/10 w 90. dniu) zmiany histologiczne: częste przewlekłe zapalenie w podśluzówce pęcherza moczowego oraz korze, rdzeniu i miedniczce nerkowej NOAEL – 1260 mg/kg mc./dzień; ♀: LOAEL – 2840 mg/kg mc./dzień (dla spadku masy ciała >10%)	Ball i in. 2012

cd. tab. 6/table 6 cont.

Gatunek, szczep, płeć	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, ♂♀	0 (kontrola), 0,04, 0,2, 1, 5% w paszy; ♂: 0 (kontrola), 36, 179, 906, 4550 mg/kg mc./dzień; ♀: 0 (kontrola), 40, 197, 997, 4970 mg/kg mc./dzień; 90 dni	♂: 36, 179, 906, 4550 mg/kg mc./dzień ♀: 40, 197, 997, 4970 mg/kg mc./dzień brak zmian masy ciała lub przyrostu masy ciała ♂ 4550 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) istotne zmniejszenie pH moczu (6,53 vs. 5,66) istotne zmiany w elektrolitach w moczu pojawienie się białego osadu w moczu występowanie kamieni w pęcherzu moczowym istotne statystycznie (21/52) wystąpienia prostych (9/52) i nietypowych (5/52) hiperplazji pęcherza, ale nieistotne statystycznie ♀ 4970 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) istotne zmniejszenie pH moczu (6,56 vs. 6,08) istotne zmiany w elektrolitach w moczu pojawienie się białego osadu w moczu ♂ 906 mg/kg mc./dzień (1% w paszy) pojawienie się białego osadu w moczu ♀ 997 mg/kg mc./dzień (1% w paszy) istotne zmniejszenie pH moczu (6,56 vs. 5,77) pojawienie się białego osadu w moczu ♂ 179 mg/kg mc./dzień (0,2% w paszy) pojawienie się białego osadu w moczu ♀ 197 mg/kg mc./dzień (0,2% w paszy) pojawienie się białego osadu w moczu ♂ 36 mg/kg mc./dzień (0,04% w paszy) pojawienie się białego osadu w moczu ♀ 40 mg/kg mc./dzień (0,04% w paszy) istotne zmniejszenie pH moczu (6,56 vs. 6,2) NOAEL: 906 mg/kg mc./dzień LOAEL: 4550 mg/kg mc./dzień	Dai i in. 2005c; Dai i in. 2006a
Szczury Sprague-Dawley, ♂♀	0 (kontrola), 50, 500, 5000 mg/kg mc./dzień, w paszy, 90 dni	50 mg/kg mc./dzień pojedyncze hiperplazje u 10/17 500 mg/kg mc./dzień kamienie w pęcherzu moczowym u 2/18, nietypowe hiperplazje u 10/17, pojedyncze hiperplazje u 5/18 5000 mg/kg mc./dzień kamienie w pęcherzu moczowym u 10/17, guzy komórek przejściowych pęcherza u 4/17, nietypowe hiperplazje u 5/17 i pojedyncze hiperplazje u 7/17	Qi i in. 2002
Szczury Albino, ♂♀	0 (kontrola), 1, 3,2, 10% w paszy; ♂: 0 (kontrola), 859, 2754 i 10500 mg/kg mc./dzień; ♀: 0 (kontrola), 992, 3170 i 11200 mg/kg mc./dzień; 90 dni	♂ 10500 mg/kg mc./dzień; ♀ 11200 mg/kg mc./dzień (10% w paszy) śmierć 4/6 zwierząt z powodu zwapnień TPA w drogach moczowych. hematuria u 5/6 ♂ występowanie krwi w moczu uzasadnione bezpośrednimi uszkodzeniami dróg moczowych, spowodowanymi tworzeniem się kamieni (głównie z fosforanu wapnia) inne objawy: wysychanie i pękanie skóry oraz łagodna do ciężkiej biegunka (częstość nie została podana); obniżenie przyrostu masy ciała po 30, 60 i 90 dniach narażenia u ♂ (spadek masy ciała o 45–51%) oraz u ♀ (spadek masy ciała o 33–36%). Badanie sekcyjne: kamienie i związane z nimi uszkodzenia dróg moczowych u 2/12 szczurów w grupie otrzymującej dawkę 2 754 mg/kg mc./dzień oraz u 11/11 szczurów w grupie otrzymującej dawkę 10 500 mg/kg mc./dzień. NOAEL: 2 754 mg/kg mc./dzień (choć u 2/12 zwierząt w tej dawce obserwowano łagodne uszkodzenie nerek)	Dupont Chem Co, 1955

cd. tab. 6/table 6 cont.

Gatunek, szczep, płeć	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wistar, ♂♀	2500 mg/kg mc./dzień, 1 tydzień, następnie 4160 mg/kg mc./dzień; w paszy, 12 tygodni	obecność kamieni w pęcherzu moczowym i hiperplazja nabłonka pęcherza moczowego, bez cech nowotworowych korelacja między częstością występowania hiperplazji a częstością występowania kamieni w pęcherzu moczowym (♀: 3/19 – kamienie w pęcherzu moczowym, 1/19 – kamienie nerkowe, 4/19 – rozrost nabłonka pęcherza moczowego; ♂: 11/18 – kamienie w pęcherzu moczowym, 13/18 – hiperplazja nabłonka pęcherza moczowego) względna masa narządów, masa narządów/masa mózgu oraz parametry hematologiczne i biochemiczne krwi w normie brak zmian w badaniach histopatologicznych	Amoco Chemicals Co, 1972
Szczury Albino, ♂♀	♀: 0 (kontrola), 46, 146, 460, 1456, 4600 mg/kg mc./dzień, ♂: 0 (kontrola), 38, 122, 393, 1220, 3837 mg/kg mc./dzień, w paszy, 15 tygodni	♀ 4600 mg/kg mc./dzień, ♂ 3837 mg/kg mc./dzień nieвелиki spadek przyrostu masy ciała oraz występowanie hematurii, kamieni w pęcherzu moczowym i uszkodzeń nabłonka pęcherza moczowego (głównie u ♂) uszkodzenia nabłonka pęcherza moczowego: ♂3/3 po 30 dniach, ♂2/3 po 60 dniach, ♂2/3 po 90 dniach, ♂9/17 po 105 dniach ♂: NOAEL – 1220 mg/kg mc./dzień ♀: NOAEL – 1456 mg/kg mc./dzień	Amoco Chemicals Co 1970
Szczury Wistar, ♂♀	1, 5% w paszy; 829, 4280 mg/kg mc./dzień 22 tygodnie	829 i 4280 mg/kg mc./dzień istotne zmniejszenie średnich końcowych mas ciała (o 8 % i 12% w stosunku do kontroli) istotne zwiększenie absolutnych i względnych mas pęcherza moczowego (o 60 i 82%) istotne zmniejszenie pH moczu, zmniejszenie stężenia sodu, potasu i chlorków (zależne od dawki) oraz zwiększenie stężenia wapnia i fosforu zwiększenie ilości osadu w moczu w sposób związany z dawką Obserwacja makroskopowa: 829 mg/kg mc./dzień (1% w paszy) umiarkowane osady (częstość występowania nie została podana), ale bez kamieni (zdarzenia nie były istotnie zwiększone statystycznie) proste zmiany hiperplastyczne w pęcherzu u 2/15 zwierząt 4280 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) istotne zwiększenie objętości moczu (o 76%) liczne kamienie u 4/15 szczurów istotne statystycznie proste zmiany hiperplastyczne w pęcherzu (5/15) wystąpienie hiperplazji brodawek lub guzów pęcherza moczowego (4/15 w porównaniu z 0/15 w grupie kontrolnej) zwiększone wskaźniki białka PCNA przy zmianach hiperplastycznych NOAEL: 829 mg/kg mc./dzień LOAEL: 4280 mg/kg mc./dzień w odniesieniu do skutku krytycznego jakim jest istotne zmniejszenie masy ciała (>10% w stosunku do kontroli), zwiększenie względnej i bezwzględnej masy pęcherza moczowego oraz zwiększenie częstości występowania prostych hiperplazji w pęcherzu moczowym	Cui i in. 2006a

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

kamieni w pęcherzu moczowym, a u samic po dawce 2500 mg/kg – tylko u 1. Po najwyższej dawce (2500 mg/kg mc.) stwierdzono hiperplazję w nabłonku pęcherza moczowego u 3/9 samców i 5/10 samic szczurów Wistar oraz u 1/10 samców i 4/10 samic szczurów Sprague-Dawley (CIIT, 1982) (tab. 6).

Szczurom rasy Sprague-Dawley (samce i samice 17 lub 18 w grupie) przez 90 dni podawano TPA z paszą w dawkach: 0 mg/kg mc./dzień (kontrola), 50 mg/kg mc./dzień, 500 mg/kg mc./dzień lub 5000 mg/kg mc./dzień. Głównymi efektami działania było tworzenie się kamieni w pęcherzu moczowym oraz uszkodzenia nabłonka pęcherza moczowego, tworzenie się guzów. Po dawce 50 mg/kg mc./dzień obserwowano pojedyncze hiperplazje u 10/17, po 500 mg/kg mc./dzień – kamienie w pęcherzu moczowym u 2/18, nietypowe hiperplazje u 10/17, pojedyncze hiperplazje u 5/18, po dawce 5000 mg/kg mc./dzień – kamienie w pęcherzu moczowym u 10/17, guzy komórek przejściowych pęcherza u 4/17, nietypowe hiperplazje u 5/17 i pojedyncze hiperplazje u 7/17. Autorzy podsumowali, że zmiany patologiczne w pęcherzu były zależne od dawki, ale nie stwierdzono korelacji między częstością występowania kamieni a zmianami patologicznymi w pęcherzu (Qi i in. 2002) (tab. 6).

Szczury Albino (samce i samice, $n = 30$) narażano na TPA w paszy w stężeniach: 0 (kontrola), 0,05%, 0,16%, 0,5%, 1,6% lub 5% przez 15 tygodni (60 zwierząt w każdej grupie dawkowania, 2 grupy kontrolne, dawki: 0 mg/kg mc./dzień (kontrola), 46 mg/kg mc./dzień, 146 mg/kg mc./dzień, 460 mg/kg mc./dzień, 1456 mg/kg mc./dzień lub 4600 mg/kg mc./dzień dla samic oraz odpowiednio: 0 (kontrola), 38 mg/kg mc./dzień, 122 mg/kg mc./dzień, 393 mg/kg mc./dzień, 1220 mg/kg mc./dzień lub 3837 mg/kg mc./dzień dla samców). Zaobserwowano jedynie niewielkie zmniejszenie przyrostu masy ciała w grupie narażonej na najwyższe stężenie oraz (głównie u samców) występowanie hematurii, kamieni w pęcherzu moczowym i uszkodzeń nabłonka pęcherza moczowego (Amoco Chemicals Corporation 1970). Po narażeniu na TPA w stężeniu 5% w paszy uszkodzenia nabłonka pęcherza moczowego obserwowano u 3/3 samców po 30 dniach, 2/3 po 60 dniach, 2/3 po 90 dniach, 9/17 po 105 dniach. Stężenie kwasu *p*-ftalowego w moczu wynosiło u samców po dawce 38 mg/kg mc./dzień – 40 µg/ml, a po dawce 3800 mg/kg mc./dzień – 3780 µg/ml. Z kolei u samic

po dawce 146 mg/kg mc./dzień wynosiło 40 µg/ml, a po dawce 4600 mg/kg mc./dzień – 7020 µg/ml. Za NOAEL przyjęto wartość stężenia 1,6% TPA w paszy (1220 mg/kg mc./dzień u samców i 1456 mg/kg mc./dzień u samic) (tab. 6).

Szczury Wistar i CD (30 samców i 30 samic/na szczep/na dawkę) były przez 90 dni karmione paszą zawierającą TPA w stężeniach: 0 (kontrola), 0,03%, 0,125%, 0,5%, 2% lub 5% (Ball i in. 2012). Autorzy badania wskazali, że tygodniowa analiza próbek pokarmu wykazała konsekwentnie wyższe niż oczekiwane stężenie TPA w paszy. Na podstawie średnich mas ciała i średnich łącznych poziomów spożywanego TPA na szczura, poziomy narażenia ustalono na odpowiednio: 0 (kontrola), 15,3 mg/kg mc./dzień, 79,09 mg/kg mc./dzień, 266 mg/kg mc./dzień, 1020 mg/kg mc./dzień lub 2650 mg/kg mc./dzień u samców Wistar, 0 (kontrola), 19,3 mg/kg mc./dzień, 114,5 mg/kg mc./dzień, 313 mg/kg mc./dzień, 1280 mg/kg mc./dzień lub 3100 mg/kg mc./dzień u samic Wistar, 0 (kontrola), 14,6 mg/kg mc./dzień, 76,15 mg/kg mc./dzień, 247 mg/kg mc./dzień, 976 mg/kg mc./dzień lub 2590 mg/kg mc./dzień u samców CD oraz 0 (kontrola), 17,6 mg/kg mc./dzień, 86,57 mg/kg mc./dzień, 286 mg/kg mc./dzień, 1260 mg/kg mc./dzień lub 2840 mg/kg mc./dzień u samic CD. Obserwacje objawów, zachorowalności i śmiertelności były przeprowadzane 2 razy dziennie. Co tydzień wykonywano badania ogólnego stanu zwierząt oraz pomiary spożycia pokarmu i masy ciała. Szczury uśmiercano: 5 szczurów w grupie/dawkę w 30. i 60. dniu eksperymentu, a 10 szczurów w grupie/dawkę w 90. dniu. W 34. i 60. dniu padły odpowiednio: 1 samiec i 1 samica (po najwyższej dawce), a 3 kolejne samice szczurów CD padły w 59., 75. i 90. dniu. W innych grupach nie zaobserwowano zgonów. W ciągu pierwszych 4 tygodni doświadczenia liczba zwierząt wykazujących objawy działania toksycznego (w tym biegunkę, utratę masy ciała lub wydzielinę urogenitalną) była większa u samców po wysokiej dawce TPA (37% w porównaniu z 3% w grupie kontrolnej) i samic (43% w porównaniu z 10% w grupie kontrolnej) szczurów Wistar oraz u samic (57% w porównaniu z 20% w grupie kontrolnej) szczurów CD. Pod koniec eksperymentu nie stwierdzono jednak istotnych różnic między grupami. Statystycznie istotne zmniejszenie średnich mas ciała występowało głównie u zwierząt obu ras i płci

otrzymujących najwyższe dawki. Z wyjątkiem samic szczurów CD w 13. tygodniu (z 15% obniżoną masą ciała w porównaniu z grupą kontrolną), wielkości zmian były niewielkie (<10% kontroli). Znaczące obniżenia całkowitego średniego przyrostu masy ciała wydawały się związane z dawką, przy czym największe spadki występowały u samic szczurów CD. Obniżone przyrosty masy ciała u szczurów Wistar były istotne tylko po najwyższej dawce w 13. tygodniu. Redukcje masy ciała ogólnie przypisywano obniżeniu spożycia pokarmu. Obserwowano rozciągnięcie i powiększenie pęcherza moczowego, kamienie w pęcherzu moczowym oraz rozciągnięcie jelit ślepego i grubego u szczurów obu ras – samców i samic, które otrzymały 5% TPA w diecie. Kamienie w pęcherzu moczowym zaobserwowano u 1/5 samców szczurów Wistar po zastosowaniu dawki 2650 mg/kg mc./dzień w 30. dniu oraz u 3/10 samców Wistar, 1/10 samic Wistar i 1/10 samic CD, z wszystkich z grup otrzymujących najwyższe dawki – w 90. dniu. Inne zauważone zmiany histologiczne obejmowały częste przewlekłe stany zapalne w śluzówce pęcherza moczowego oraz korze, rdzeniu i miedniczce nerkowej. W pęcherzu moczowym zapalenie wydawało się być związane z minimalnym do umiarkowanego rozrostem nabłonka przejściowego i było największe u szczurów otrzymujących 5% TPA. Autorzy badania zauważyli, że zmiany te były częściej obserwowane u samic oraz, że zmiany w pęcherzu moczowym i cewce moczowej były częstsze u szczurów Wistar w porównaniu z szczurami CD. Jednakże autorzy badania wskazali, że niskie częstotliwości występowania zmian (mniej niż połowa zwierząt) uniemożliwiają wyciągnięcie jednoznacznych wniosków na temat potencjalnej zależności skutków od narażenia. Dla szczurów Wistar ustalono NOAEL na poziomie 3100 mg/kg mc./dzień u samic. Wartość LOAEL nie może zostać ustalona ze względu na brak statystycznie istotnych efektów: powstawania kamieni w pęcherzu i cewce moczowej, przewlekłego zapalenia pęcherza, przewlekłego zapalenia cewki moczowej oraz hiperplazji komórek przejściowych w pęcherzu i cewce moczowej u samców oraz samic (Ball i in. 2012). Pomimo wystąpienia statystycznie istotnych spadków masy ciała, LOAEL nie został zaproponowany dla tego efektu, ponieważ zmiany te nie zostały uznane za istotne biologicznie (były <10%). Dla szczurów CD ustalono NOAEL na poziomie 1260 mg/kg mc./dzień i LOAEL na poziomie

2840 mg/kg mc./dzień (dla spadku masy ciała >10%) u samic narażonych na TPA w paszy przez 90 dni. Inne obserwacje po tej dawce to niewielka liczba kamieni w pęcherzu moczowym, przewlekłe zapalenie pęcherza, przewlekłe zapalenie cewki moczowej oraz hiperplazja komórek przejściowych w pęcherzu i cewce moczowej. Dodatkowe szczegóły i wyniki części reprodukcyjnej badania są opisane w sekcji Działanie na rozrodczość (Ball i in. 2012) (tab. 6).

W 2 raportach (Dai i in. 2005c; Dai i in. 2006a) oceniono efekty narażenia szczurów SD (Shanghai Animal Center) na TPA podawany w paszy. Samce i samice szczurów SD (12–23 samic/grupę i 12–52 samców/grupę) były karmione przez 90 dni paszą zawierającą TPA w stężeniach: 0 (kontrola), 0,04%, 0,2%, 1% lub 5%. Szacowane dzienne dawki wynosiły odpowiednio: 0 (kontrola), 36 mg/kg mc./dzień, 179 mg/kg mc./dzień, 906 mg/kg mc./dzień lub 4550 mg/kg mc./dzień dla samców oraz 0 (kontrola), 40 mg/kg mc./dzień, 197 mg/kg mc./dzień, 997 mg/kg mc./dzień lub 4970 mg/kg mc./dzień dla samic. Narażenie na TPA nie miało istotnego wpływu na masę ciała lub przyrost masy ciała. Sporadyczne zmiany niezwiązane z narażeniem wystąpiły w niektórych parametrach, takich jak: białko całkowite, albuminy i trójglicerydy w surowicy. Wartość pH moczu zmniejszyła się istotnie u samców i samic w najwyższym stężeniu (5% TPA w paszy) w porównaniu z grupą kontrolną (6,53 vs. 5,66) oraz u samic w stężeniach 0,04%, 5% i 1% w paszy (odpowiednio: 6,56 vs. 6,2, 6,56 vs. 5,77 i 6,56 vs. 6,08). Istotne zmiany w elektrolitach w moczu obserwowano głównie po 2 najwyższych poziomach narażenia (1% i 5% w paszy). Istotne statystycznie zmiany w masie narządów wydawały się losowe i niezwiązane z narażeniem. Podczas analiz sekcyjnych u 1 samca stwierdzono powiększony pęcherz. Białe osady w moczu pojawił się we wszystkich grupach samców i po 3 najwyższych poziomach dawkowania u samic. Występowanie kamieni w pęcherzu moczowym było istotnie statystycznie u samców po najwyższym stężeniu (5% w paszy) (21/52), a u samic nie było istotne po żadnej dawce. Wystąpienia prostych (*simple*) (9/52) i nietypowych (*atypical*) (5/52) hiperplazji w pęcherzu wystąpiło u samców po najwyższej dawce, ale nie były one istotne statystycznie. Żadna hiperplazja nie została zaobserwowana w innej grupie dawkowej u samców. U 1 samicy po najwyższej dawce zidentyfikowano

hiperplazję prostą (*simple*). U większości zwierząt z hiperplazją (86,7%) uzyskano dodatni wynik PCNA (białka zaangażowanego w replikację DNA, jego naprawę oraz regulację cyklu komórkowego) i zazwyczaj zdiagnozowana hiperplazja współistniała z obecnością osadów i kamieni – tylko w 3 przypadkach hiperplazji nie stwierdzono obecności kamieni. NOAEL wynoszący 906 mg/kg mc./dzień oraz LOAEL – 4550 mg/kg mc./dzień zostały przyjęte na podstawie zwiększonej częstotliwości występowania kamieni pęcherza moczowego i hiperplazji u samców szczurów SD narażonych na TPA w paszy przez 90 dni. Kwasica moczu została również zaobserwowana u samców i samic po najwyższej dawce związku. Osady w moczu oraz zmiany w elektrolitach moczu zaobserwowano po otrzymywaniu niższych dawek u obu płci (tab. 6).

W badaniu paszowym trwającym 90 dni przeprowadzonym przez Haskell Laboratory (Dupont Chem Co 1955) analizowano potencjalne skutki narażenia na TPA u młodych szczurów albinosów (6 samców i 6 samic/grupę) odstawionych od matki. Dostępne było niewiele szczegółów badania. Pasza zawierała: 0 (kontrola), 1%, 3,2% lub 10% TPA, co odpowiadało dawkom: 0 mg/(kontrola), 859 mg/kg mc./dzień, 2754 mg/kg mc./dzień lub 10500 mg/kg mc./dzień dla samców oraz: 0 (kontrola), 992 mg/kg mc./dzień, 3170 mg/kg mc./dzień lub 11200 mg/kg mc./dzień dla samic. Zwierzęta były obserwowane pod kątem objawów działania toksycznego, zmian masy ciała, spożycia paszy i wody. Próbkę moczu były pobierane od 4 szczurów w grupie karmionej 10-procentowym TPA. Przeprowadzono analizę parametrów hematologicznych. Zwierzęta były badane pod kątem patologii ogólnoustrojowej. Wykonano pomiar azotu mocznikowego we krwi (BUN) oraz badano poziom wapnia i fosforu w osoczu. Główne narządy badano pod kątem mikropatologii. Kamienie moczowe zebrane z pęcherza moczowego i nerek były liczne oraz analizowane pod kątem składu. Spośród 6 samców karmionych dawką 10500 mg TPA/kg/dzień 4 padły z powodu wytrącania się kryształów TPA w drogach moczowych (tworzenie złożeń). Do 11. dnia narażenia u 5/6 samców otrzymujących wysoką dawkę stwierdzono hematurię. Żadna z samic nie padła. Występowanie krwi w moczu uzasadniano bezpośrednim uszkodzeniem dróg moczowych, spowodowanym tworzeniem się kamieni (głównie z fosforanu wapnia). Inne objawy, które

zauważyli autorzy badania to wysychanie i pękanie skóry oraz biegunka – od łagodnej do ciężkiej (częstość nie została podana). Żadne objawy działania toksycznego nie były opisywane w grupach narażonych na TPA w paszy w stężeniach 1% i 3,2%. W porównaniu z grupą kontrolną przyrosty masy ciała oraz sama masy ciała u szczurów były znacznie obniżone po 30., 60. i 90. dniach narażenia u samców otrzymujących wysoką dawkę (spadek masy ciała 45 ÷ 51%) oraz u samic (spadek masy ciała 33 ÷ 36%). Autorzy badania wskazali, że obserwowano istotne zmniejszenie spożycia pokarmu u samców i samic otrzymujących wysokie dawki, a spożycie wody było około 2-krotnie większe niż w grupie kontrolnej. W żadnej z grup nie zaobserwowano zmian ponadnormatywnych w stężeniach azotu mocznikowego, wapnia lub fosforu w osoczu. Wskazano na niewielkie tendencje do anemii we wszystkich grupach pod koniec badania oraz możliwą umiarkowaną hiperfosfatemię u szczurów otrzymujących wysokie dawki TPA. Podczas badań sekcyjnych stwierdzono obecność kamieni i związane z nimi uszkodzenia dróg moczowych u 2/12 szczurów w grupie otrzymującej dawkę 2754 mg/kg mc./dzień oraz u 11/11 szczurów w grupie otrzymującej dawkę 10 500 mg/kg mc./dzień. Uszkodzenie nerek było poważne u samców z grupy wysokich dawek (mniej u samic) i przypisywane obecności kamieni. Zmiany w drogach moczowych u zwierząt w grupie średnich dawek były uważane za łagodne. Żadnych zmian patologicznych nie obserwowano u szczurów otrzymujących niskie dawki. Wyznaczono tzw. FEL (poziom efektu bezpośredniego) wynoszący 10 500 mg/kg mc./dzień – na podstawie śmierci 4/6 samców oraz towarzyszących objawów (hematuria), zmniejszenia masy ciała i poważnego uszkodzenia nerek związanych z obecnością kamieni w drogach moczowych. Niższa dawka – 2754 mg/kg mc./dzień – została przyjęta za NOAEL, chociaż u 2/12 zwierząt w tej dawce obserwowano łagodne uszkodzenie nerek (tab. 6).

Skutki powtarzanej ekspozycji szczurów Wistar (30 samców/grupę) na TPA w stężeniach 1% lub 5% w paszy oceniano po 22 tygodniach narażenia (Cui i in. 2006a) (tab. 6). Średnie dawki związku odpowiadały odpowiednio 829 mg/kg mc./dzień lub 4280 mg/kg mc./dzień. Stwierdzono istotne zmniejszenie końcowych mas ciała w obu grupach dawkowania (o 8 % i 12% w stosunku do kontroli

po dawkach odpowiednio 829 mg/kg mc./dzień i 4 280 mg/kg mc./dzień). Absolutne i względne masy pęcherza moczowego były istotnie zwiększone (o 60% i 82% odpowiednio) po wysokiej dawce (tab. 7). Stwierdzono istotne zmniejszenie pH moczu, obniżenie stężenia sodu, potasu i chlorków (w sposób związany z dawką) oraz zwiększenie stężenia wapnia i fosforu w obu grupach. Objętość moczu była istotnie zwiększona (o 76% w stosunku do kontroli) po wysokiej dawce, a zwiększające się ilości osadu w moczu obserwowano w sposób związany z wielkością dawki. U 4/15 szczurów karmionych TPA w dawce 4280 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) wystąpiły liczne kamienie (w grupie kontrolnej ich nie zanotowano). Umiarkowane osady (częstość występowania nie została podana), ale bez powstawania kamieni w pęcherzu moczowym, obserwowano po niskiej dawce, ale nie były one istotne statystycznie. Łagodne, rozrostowe zmiany nabłonka w pęcherzu wystąpiły u 2/15 zwierząt po niskiej dawce i 5/15 po wysokiej dawce (istotne statystycznie). U zwierząt otrzymujących 4280 mg TPA/kg/dzień obserwowano wystąpienie hiperplazji brodawek lub guzów pęcherza moczowego (4/15 w porównaniu z 0/15 w grupie kontrolnej), które nie były istotnie zwiększone. Poziom białka PCNA przy zmianach hiperplastycznych u zwierząt po wysokiej dawce był większy w porównaniu ze wskaźnikami PCNA w tkankach pęcherza moczowego pobranych od szczurów kontrolnych. Nie zaobserwowano brodawczaków ani raków komórek przejściowych pęcherza. Wyznaczono NOAEL na poziomie 829 mg/kg mc./dzień oraz LOAEL na poziomie 4280 mg/kg mc./dzień (5% w paszy), przyjmując za skutek krytyczny istotne zmniejszenie masy

ciała (>10% w stosunku do kontroli), zwiększenie względnej i bezwzględnej masy pęcherza moczowego oraz zwiększenie częstości występowania prostych hiperplazji w pęcherzu moczowym (tab. 6). Skutki nowotworowe opisano w rozdziale Działanie rakotwórcze.

Codzienne podawanie TPA w dawce 0,5% w paszy 25-dniowym myszom Swiss Albino przez 65 dni nie powodowało objawów toksyczności. Jedyną obserwowaną zmianą był wzrost masy ciała zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną, który nie został uznany za wskaźnik działania toksycznego (Nagasawa, Kuretani 1965).

Codzienne doustne podawanie TPA w dawce 0,5% w paszy 25-dniowym myszom Swiss Albino przez 65 dni nie wywołało żadnych objawów toksyczności poza zaobserwowanym wzrostem masy ciała zwierząt w stosunku do grupy kontrolnej (Nagasawa, Kuretani 1965).

Zgodnie z danymi producenta PKN Orlen (karta charakterystyki 2023) wartość NOAEL dla działania toksycznego na narządy docelowe – narażenie powtarzane wynosi 125 mg/kg mc./dzień. Za narząd docelowy uznano pęcherz moczowy. Nie są znane dane źródłowe tej opinii.

Toksyczność przewlekła

Podanie drogą dożołądkową

Samcom i samicom szczurów F344 (n = 26) podawano przez okres 2 lat TPA w dawkach: 0 (kontrola), 20 mg/kg mc./dzień, 142 mg/kg mc./dzień lub 1000 mg/kg mc./dzień. Po 6, 12, 18 i 24 miesiącach nie zaobserwowano istotnych zmian w dynamice przyrostu masy ciała, spożyciu pokarmu,

Tabela 7. Masy ciała i masy pęcherza moczowego szczurów samców narażonych na kwas tereftalowy (TPA) z paszą przez 22 tygodnie (Cui 2006a; EPA 2020)

Table 7. Body weights and urinary bladder weights of male rats exposed to terephthalic acid (TPA) in feed for 22 weeks (Cui 2006a; EPA 2020)

Parametr oceniany (endpoint)	Dawka TPA w paszy, mg/kg mc./dzień		
	0	829	4280
Masa ciała, g	424,6±36,33 (a)	389,13±37,35* (-8%) (b)	375,4±28,36** (-12%)
Absolutna masa pęcherza moczowego	0,094±0,035	0,1±0,045 (+6%)	0,15±0,075** (+60%)
Względna masa pęcherza moczowego	0,022±0,006	0,025±0,009	0,04±0,02** (+82%)

Objaśnienia:

a – dane są przedstawione jako średnia ± wariancja; n = 30 (grupa kontrolna), n = 15 (grupy narażone).

b – wartość w nawiasie to procentowa zmiana w stosunku do grupy kontrolnej = [(średnia dla grupy narażonej – średnia dla grupy kontrolnej) ÷ średnia dla grupy kontrolnej] × 100.

* – znamienne różne od kontroli (p < 0,05), na podstawie testów ANOVA i najmniejszej istotnej różnicy.

** – znamienne różne od kontroli (p < 0,01), na podstawie testów ANOVA i najmniejszej istotnej różnicy.

parametrach biochemicznych, hematologicznych, analizach moczu, badaniach okulistycznych i neurologicznych, masie narządów oraz histopatologii. Niewielkie efekty (obniżenie pH moczu, zmniejszenie masy nerek) wystąpiły tylko po narażeniu na TPA w najwyższej dawce. U samic stwierdzono 12/86 przypadków obecności kamieni w pęcherzu moczowym. Autorzy zaproponowali NOAEL na poziomie 142 mg/kg mc./dzień. Badania histopatologiczne przeprowadzono w 2 różnych instytutach (CIIT 1983a; 1983b). U zwierząt stwierdzono hiperplazję nabłonka i nowotwory pęcherza moczowego, co opisano w rozdziale Działanie rakotwórcze (tab. 8).

W 2-letnim doświadczeniu na szczurach Wistar zarówno samce, jak i samice ($n = 50$), otrzymywały w paszy TPA w stężeniach: 0 (kontrola), 1%, 2% lub 5% (co odpowiadało dawkom: 0 (kontrola), 20 mg/kg mc./dzień, 142 mg/kg mc./dzień lub 1000 mg/kg mc./dzień) (BG Chemie 1990; SIDS 2001). Po dawce 20 mg/kg mc./dzień stwierdzono zmniejszenie średniej masy nerek, u samic zmniejszenie średniej masy wątroby, kamienie w pęcherzu moczowym oraz neoplazje w układzie moczowo-płciowym. Po dawce 142 mg/kg mc./dzień obserwowano zmniejszenie średniej masy wątroby, a u samców obniżenie średniej masy ciała, u samic natomiast zmniejszenie średniej masy serca. Po dawce 1000 mg/kg mc./dzień zanotowano obniżenie średniej masy ciała, wzrost śmiertelności po 2 miesiącach, tworzenie kamieni, niedrożność moczowodu, infekcje dróg moczowych, zmienność masy nadnerczy, zmiany w nabłonku dróg moczowych. Obserwowano tworzenie się kamieni w pęcherzu moczowym (tab. 8). Skutki nowotworowe opisano w rozdziale Działanie rakotwórcze.

Samce szczurów rasy Wistar (20 w grupie kontrolnej, 38 w grupie narażonej) były karmione paszą zawierającą 0 (kontrola) lub 5% (3680 mg/kg mc./dzień) TPA przez 48 tygodni (Cui i in. 2007; Cui i in. 2006b, Shi i in. 2006). W grupie narażonej padły 2 szczury z powodu niedrożności cewki moczowej. Hematuria została stwierdzona u zwierząt po 2 tygodniach ekspozycji. Średnie masy szczurów systematycznie się zmniejszały. Średnie bezwzględne i względne masy pęcherza moczowego były znacząco zwiększone. Kamienie pęcherza moczowego oraz hiperplazje brodawkowe lub guzkowe były istotnie zwiększone u narażonych szczurów odpowiednio w 12., 24. i 48. tygodniu badania (w grupie

kontrolnej zmian takich nie było). Dla wskaźników nienowotworowych za wartość LOAEL (na podstawie zwiększonego występowania kamieni pęcherza moczowego i hiperplazji w 12., 24. i 48. tygodniu) przyjęto 3680 mg/kg mc./dzień. Była to jedyna dawka, jaką zastosowano w doświadczeniu, dlatego wartości NOAEL nie można było określić (tab. 8). Skutki nowotworowe opisano w rozdziale Działanie rakotwórcze.

Grupy szczurów rasy Wag/Rij (Wistar) (po 50 samców i 50 samic na grupę) były przez 24 miesiące karmione paszą zawierającą: 0 (kontrola), 1%, 2% lub 5% TPA (co odpowiadało dawkom: 0 (kontrola), 736 mg/kg mc./dzień, 1470 mg/kg mc./dzień lub 3680 mg/kg mc./dzień u samców oraz 0 (kontrola), 842 mg/kg mc./dzień, 1680 mg/kg mc./dzień lub 4210 mg/kg mc./dzień u samic) (Gross 1977). W grupie narażonej na najwyższą dawkę TPA znaczna liczba zwierząt padła w trakcie eksperymentu, zaczynając od 2 miesiąca. Po 24 miesiącach procent przeżycia samców i samic otrzymujących TPA w paszy w stężeniu 5% wynosił odpowiednio 32% i 30% (w porównaniu z 66% i 74% w grupach kontrolnych). Autorzy badania wskazali, że główną przyczyną śmierci zwierząt po wysokiej dawce było tworzenie się kamieni w układzie moczowym. Brak danych na temat spożycia pokarmu lub wody. Pod koniec eksperymentu ostateczne masy ciała samców karmionych TPA w dawkach 1470 mg/kg mc./dzień i 3680 mg/kg mc./dzień były istotnie zmniejszone (odpowiednio o 10% i 22% w stosunku do kontroli). Masa ciała samic została istotnie zmniejszona o 20% w grupie narażonej na TPA w dawce 4210 mg/kg mc./dzień. Nie zaobserwowano istotnych zmian w mierzonych wskaźnikach hematologicznych (hemoglobina oraz liczba krwinek czerwonych i białych). W porównaniu z grupą kontrolną odsetek zwierząt z podwyższonym poziomem mocznika we krwi ≥ 40 mg% (40 mg/dl) był istotny ($p < 0,05$) u zwierząt otrzymujących wysoką dawkę (samice: 26% w porównaniu z 5% w grupie kontrolnej; samce: 23% w porównaniu z 17% w grupie kontrolnej). Zmiany mas narządów były ogólnie zgodne z obserwowanym zmniejszeniem masy ciała, przy czym bezwzględne masy narządów malały, a względne masy narządów wzrastały, szczególnie u samców po średniej i wysokiej dawce oraz u samic po wysokiej dawce. Wyjątkiem były nadnercza, które wykazały wzrosty zarówno w bezwzględnych, jak i względnych masach u samców i samic

Tabela 8. Wyniki badań toksyczności przewlekłej kwasu tereftalowego (TPA) u zwierząt po podaniu związku z paszą
Table 8. Results of chronic toxicity studies on terephthalic acid (TPA) in animals following administration of the compound in feed

Gatunek, szczep, płeć	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wistar	5% w paszy; 3680 mg/kg mc./dzień; 48 tyg.	3680 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) śmierć 2 zwierząt z powodu niedrożności cewki moczowej hematuria ciągłe zmniejszenie średniej masy ciała szczurów zwiększenie średniej bezwzględnej i względnej masy pęcherza moczowego zwiększenie występowania kamieni pęcherza moczowego oraz hiperplazji brodawkowych lub guzkowych LOAEL: 3680 mg/kg mc./dzień na podstawie zwiększonego występowania kamieni pęcherza moczowego i hiperplazji NOAEL: nie zidentyfikowano	Cui i in. 2007; Cui i in. 2006b; Shi i in. 2006
Szczury F344, ♂♀	0 (kontrola), 20, 142, 1000 mg/kg mc./dzień; w paszy; 2 lata	142 mg/kg mc./dzień nie zaobserwowano istotnych zmian w dynamice przyrostu masy ciała, spożyciu pokarmu, parametrach biochemicznych, hematologii, analizach moczu, badaniach okulistycznych i neurologicznych, patologii po 6, 12, 18 i 24 miesiącach, masie narządów oraz histopatologii 1000 mg/kg mc./dzień obniżenie pH, zmniejszenie masy nerek badania histopatologiczne: zmiany w pęcherzu moczowym sklasyfikowane jako „gruczolaki komórek przejściowych” lub „hiperplazje nabłonka” w zależności od laboratorium przeprowadzającego badanie 12/86 przypadków kamieni w pęcherzu moczowym u ♀ NOAEL: 142 mg/kg mc./dzień	CIIT 1983 a; b
Szczury Wistar, ♂♀	0 (kontrola), 1, 2, 5% w paszy; 0 (kontrola, 20, 142, 1000 mg/kg mc./dzień; 2 lata	20 mg/kg mc./dzień (1% w paszy) zmniejszenie średniej masy nerek ♀1/48 – zmniejszenie średniej masy wątroby, kamienie w pęcherzu moczowym 142 mg/kg mc./dzień (2% w paszy) zmniejszenie średniej masy wątroby zmniejszenie średniej masy ciała u ♂ nowotwory pęcherza moczowego i moczowodu u ♂ 1/48 zmniejszenie średniej masy serca, nowotwory pęcherza moczowego i moczowodu u ♀ 2/47 1000 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) zmniejszenie średniej masy ciała, wzrost śmiertelności po 2 miesiącach narażenia (tworzenie kamieni, zastoje moczowodu, infekcja dróg moczowych) zmienność masy nadnerczy zmiany w nabłonku dróg moczowych: hiperplazje, brodawczaki, rogowacenie, metaplazja płaskonabłonkowa i rak płaskonabłonkowy, nowotwory komórek przejściowych wzrost masy nerek, kamienie w pęcherzu moczowym u ♂ 42/47, kamienie w pęcherzu moczowym ♀ 39/42	BG Chemie 1990

cd. tab. 8/table 8 cont.

Gatunek, szczep, płeć	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Wag/Rij (Wistar), ♂♀	0 (kontrola), 1, 2, 5% w paszy; ♂: 0 (kontrola), 736, 1470, 3680 mg/kg mc./dzień; ♀: 0 (kontrola), 842, 1680, 4210 mg/kg mc./dzień; 2 lata	♂ 3680 mg/kg mc./dzień, ♀ 4210 mg/kg mc./dzień (5% w paszy) padnięcie znacznej liczby zwierząt, zaczynając od 2 miesiąca z powodu formacji kamieni w układzie moczowym istotny wzrost odsetka zwierząt z podwyższonym poziomem mocznika we krwi ≥ 40 mg % (40 mg/dl) kamienie w drogach moczowych (pęcherz moczowy i miedniczki nerkowe) u obu płci (♀93 i ♂89%), istotnie zwiększone u obu płci istotne zwiększenie występowania nefropatii, obejmującej ogniska zniszczenia struktury nerek, utratę struktury nerek z naciekami komórek zapalnych i martwicą brodawek ♂1470 i 3680 mg/kg mc./dzień, ♀1680 i 4210 mg/kg mc./dzień ♂ istotne zmniejszenie masy ciała (o 10 i 22%) ♀ statystycznie istotne zmniejszenia zarówno bezwzględnych, jak i względnych mas wątroby, nerek i serca; podobne zmiany nie zostały zaobserwowane u samców LOAEL: 1470 mg/kg mc./dzień NOAEL: 736 mg/kg mc./dzień (oparty na skutku 10-procentowego spadku masy ciała)	Gross 1977
Szczury F344, ♂♀	♂: 0 (kontrola), 20, 142, 1000 mg/kg mc./dzień; ♀: 0 (kontrola), 19,2, 136,6, 989,8 mg/kg mc./dzień; w paszy, 2 lata	♀ 989,8 mg/kg mc./dzień istotne zwiększenie bezwzględnej i względnej masy wątroby (30%) po 12 miesiącach narażenia występowanie (umiarkowanego do znacznego) osadu w moczu w porównaniu z kontrolą w 24. miesiącu obecność kamieni w pęcherzu moczowym u 11/86 piaskopodobne cząstki lub kamienie u 16/126 zwierząt nieistotny wzrost występowania hiperplazji pęcherza moczowego w 18. miesiącu (5/27 w porównaniu do 0/22 w kontrolach) i w 24. miesiącu (14/79 w porównaniu do 8/83 w kontrolach) istotnie zwiększone występowanie metaplazji płaskonabłonkowej (9/79 w porównaniu do 0/83 w kontrolach) w 24. miesiącu; metaplazje płaskonabłonkowe zawsze obserwowano obok guzów pęcherza ♂ 1000 mg/kg mc./dzień zmniejszenie poziomu pH moczu częstość występowania hiperplazji pęcherza moczowego u samców nie różniła się w porównaniu z grupą kontrolną ♀ 136,6 mg/kg mc./dzień istotne zwiększenie bezwzględnej i względnej masy wątroby (23%) po 6 miesiącach narażenia NOAEL: 995,4 mg/kg mc./dzień	Preache 1983; Grubbs 1979

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.

po wysokiej dawce, ale były nieistotne w przypadku samic. Statystycznie istotne zmniejszenia zarówno bezwzględnych, jak i względnych mas wątroby, nerek i serca u samic po niskiej i średniej dawce przy braku istotnych zmian masy ciała w tych grupach zinterpretowano jako dane o niepewnym znaczeniu toksykologicznym, ponieważ względne masy nie zmniejszyły się w grupie narażonej na najwyższą dawkę, a podobne zmiany nie zostały zaobserwowane u samców. Kamienie w drogach moczowych zostały zaobserwowane niemal wyłącznie u zwierząt obu płci po najwyższej dawce. U 93% samic i 89% samców narażonych na TPA w najwyższej dawce stwierdzono obecność kamieni (w porównaniu z pojedynczymi przypadkami lub brakiem ich wystąpienia w innych grupach narażonych lub kontrolnych). Występowanie kamieni u szczurów, które otrzymywały najwyższą dawkę było istotnie zwiększone u obu płci. Kamienie zarówno wypełniały, jak i rozprężyły pęcherz moczowy oraz występowały w miedniczkach nerek. Ich obecność zanotowano u: 0%, 0%, 0% i 89% samców oraz 0%, 2%, 0% i 93% samic odpowiednio w dawkach TPA 0%, 1%, 2% lub 5% w paszy. Badanie histopatologiczne nerek zwierząt narażonych na TPA w wysokiej dawce wykazało istotne zwiększenie występowania nefropatii, obejmującej ogniska zniszczenia struktury nerek do ogólnej utraty struktury nerek z naciekami komórek zapalnych i martwicą brodawek. Dla wskaźników nienowotworowych LOAEL wynosił 1470 mg/kg mc./dzień (jest oparty na skutku 10-procentowego spadku masy ciała, który uważany jest za biologicznie istotny), a NOAEL – 736 mg/kg mc./dzień. Po otrzymywaniu wyższych dawek u obu płci zaobserwowano zwiększone występowanie wysokich poziomów mocznika we krwi, nefropatii i kamieni w drogach moczowych (tab. 8). Skutki nowotworowe opisano w rozdziale Działanie rakotwórcze.

Instytut Toksykologii Przemysłu (ITT) w USA przeprowadził badanie trwające 24 miesiące na szczurach w celu oceny potencjału toksykologicznego i kancerogennego TPA (Preache 1983; Grubbs 1979). Szczury F344 (126/płeć/dawkę) były karmione TPA w nominalnych dawkach: 0 (kontrola), 20 mg/kg mc./dzień, 142 mg/kg mc./dzień lub 1000 mg/kg mc./dzień (co odpowiadało faktycznym dawkom: 0 (kontrola), 19,5 mg/kg mc./dzień, 138,2 mg/kg mc./dzień i 995,4 mg/kg mc./dzień dla samców oraz 0 (kontrola), 19,2 mg/kg mc./dzień, 136,6 mg/kg mc./dzień i 989,8 mg/

kg mc./dzień dla samic). W ciągu pierwszych 12 miesięcy nie zaobserwowano wyraźnych objawów związanych z narażeniem. Oceny neurologiczne przeprowadzone u wszystkich zwierząt w 6. i 12. miesiącu narażenia były w granicach normy. Stwierdzono istotne zmniejszenie średniej masy ciała zarówno u samców, jak i samic we wszystkich grupach w porównaniu z kontrolą (przez pierwsze 12 miesięcy narażenia), które przekraczały 10% u samic wszystkich grup. Spożycie pokarmu również znacząco różniło się w ciągu badania we wszystkich narażonych grupach samców i samic w porównaniu z kontrolą. Masy serca (zarówno bezwzględne, jak i względne) u samców po wysokiej dawce były istotnie zmniejszone po 6. miesiącach o odpowiednio 10% i 17% w porównaniu z kontrolą, ale nie były zmniejszone po 12 miesiącach. U samic bezwzględne i względne masy wątroby były istotnie zwiększone (o 23% i 30%) w grupie otrzymującej średnie dawki po 6 miesiącach oraz u samic w grupie otrzymującej wysokie dawki po 12 miesiącach. Nie zaobserwowano istotnych zmian w masie nerek u samców i samic. Przeprowadzono również analizę moczu (pH, gęstość właściwa i diureza), badanie krwi (RBC, Hb, hematokryt i WBC) oraz badania biochemiczne (glukoza, BUN, ALT i ALP) na małej liczbie zwierząt ($n = 5$) i nie wykazano wyraźnych efektów związanych z dawką TPA. Nie stwierdzono spójnych zmian w ogólnej patologii w żadnej z grup po 6 lub 12 miesiącach. Wiele spontanicznych zmian histologicznych obserwowano zarówno u szczurów kontrolnych, jak i tych otrzymujących wysoką dawkę, ale ich częstość występowania nie była istotna i nie były one uważane przez autorów badania za związane z narażeniem. W 24. miesiącu u samic po wysokiej dawce opisano występowanie osadu w moczu (umiarkowane do znacznego) w porównaniu z kontrolą. Zmniejszenie pH moczu zanotowano u samców. Podczas badań sekcyjnych w 18. i 24. miesiącu, odpowiednio u 2/27 i 11/86 samic po wysokiej dawce stwierdzono obecność kamieni w pęcherzu moczowym. Nie zanotowano zmian w wynikach badań biochemicznych i w morfologii krwi związanych z ekspozycją. Masy nerek u samców po wysokiej dawce były zmniejszone w 18. miesiącu. W 24. miesiącu masy serca i nerek były zmniejszone u samic po średniej i wysokiej dawce, ale autorzy nie wskazywali, czy były to masy bezwzględne czy względne narządów. Makroskopowe analizy sekcyjne wykazały, że piaskopodobne cząstki lub kamienie

występowały u 16/126 samic po wysokiej dawce. Początkowa ocena histopatologiczna wykazała nieistotny wzrost występowania hiperplazji pęcherza moczowego u samic po wysokiej dawce w 18. miesiącu (5/27 w porównaniu do 0/22 w kontrolach) i w 24. miesiącu (14/79 w porównaniu do 8/83 w kontrolach). Występowanie hiperplazji pęcherza moczowego u samców po wysokiej dawce nie różniło się od kontroli w obu okresach. W 24. miesiącu u samic zaobserwowano również istotnie zwiększone występowanie metaplazji płaskonabłonkowej (9/79 w porównaniu do 0/83 w kontrolach). Metaplazje płaskonabłonkowe zawsze obserwowano obok guzów pęcherza. Najwyższa dawka w tym badaniu wynosząca 995,4 mg/kg mc./dzień została przyjęta jako NOAEL dla skutków nienowotworowych. Zaufanie do tego badania jest niskie ze względu na braki eksperymentalne (tj. ekspozycja na ciągłe światło w nieokreślonym okresie badania, ekspozycja na nadmiar witamin, stężenia TPA w paszy nie były tak starannie kontrolowane, jak zamierzano) (tab. 8).

Narażenia inhalacyjne

Po inhalacyjnym narażeniu samców szczurów S-D i świnek morskich rasy Hartley na pył TPA w stężeniu 10 mg/m³ (stężenie pyłu respirabilnego – 5 mg/m³) przez 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu, przez 6 miesięcy nie zaobserwowano żadnych efektów działania toksycznego (oceniano m.in. masę ciała, masę narządów: płuca, wątroba, nerki lub śledziona oraz biochemię i analizę moczu). Nie opisano żadnych makroskopowych ani histologicznych zmian poza granicami normy (Lewis i in. 1982) (tab. 9).

Przewlekłe badania inhalacyjne, w których narażano szczury i świnki morskie na TPA w stężeniu do 10 mg/m³ (6 h/dzień, 5 dni/tydzień przez

180 dni) wykazały łagodne podrażnienie dróg oddechowych u szczurów. Nie stwierdzono żadnych skutków działania narządowego. Brak istotnych szczegółów badania (Heck, Tyl 1985) (tab. 9).

Podsumowanie

W badaniach przewlekłej toksyczności TPA przeprowadzonych na szczurach różnych szczepów zaobserwowano głównie efekty związane z układem moczowym, w tym tworzenie się kamieni w pęcherzu moczowym i uszkodzenia nabłonka pęcherza. Szczury Wistar okazały się bardziej podatne na tworzenie kamieni w porównaniu do innych szczepów. W większości badań toksyczność TPA była oceniana przez podawanie zwierzętom związku w paszy, a skutki były zależne od dawki. W kilku eksperymentach zaobserwowano tworzenie się kamieni w pęcherzu oraz hiperplazję nabłonka pęcherza moczowego, szczególnie po podaniu wyższych dawek TPA. Hiperplazja nabłonka często współwystępowała z obecnością kamieni. Toksyczność była wyraźnie zależna od dawki. Po wyższych stężeniach (np. 5% TPA w paszy, co odpowiadało dawce około 2500 mg/kg mc./dzień) częściej występowały poważne zmiany patologiczne, takie jak nietypowa hiperplazja, guzy z komórek przejściowych, a także zwiększona śmiertelność w wyniku powikłań związanych z obecnością kamieni w pęcherzu. W niektórych doświadczeniach zaobserwowano także obniżenie masy ciała i przyrostu masy ciała, szczególnie po podaniu najwyższych dawek. W kilku eksperymentach udało się ustalić poziomy NOAEL i LOAEL. Wartości NOAEL wynosiły od 142 mg/kg mc./dzień do 3100 mg/kg mc./dzień, podczas gdy wartość LOAEL, przy której obserwowano już wyraźne efekty toksyczne, wynosiła

Tabela 9. Wyniki badań toksyczności przewlekłej kwasu tereftalowego (TPA) u zwierząt po narażeniu drogą inhalacyjną
Table 9. Results of chronic toxicity studies on terephthalic acid (TPA) in animals following inhalation exposure

Gatunek, szczep, płeć	Warunki narażenia (dawka, droga podania, czas)	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury S-D i świnki morskie rasy Hartley ♂♀	10 mg/m ³ (stężenie pyłu respirabilnego – 5 mg/m ³); 6 h/dzień, 5 dni/tyg., 6 miesięcy	-brak wpływu na masę ciała, masę narządów (płuca, wątroby, nerek ani śledziony), wyniki badań biochemicznych oraz analizy moczu. brak zmian makroskopowych i histologicznych	Lewis i in. 1982
Szczury S-D i świnki morskie rasy Hartley, ♂♀	10 mg/m ³ , 6 h/dzień, 5 dni/tyg., 180 dni	łagodne podrażnienie dróg oddechowych u szczurów brak skutków działania narządowego TPA związanych z narażeniem	Heck, Tyl 1985

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.

2840 mg/kg mc./dzień w badaniu 90-dniowym (szczury CD) (Ball i in. 2012) i 1470 mg/kg mc./dzień w doświadczeniu 2-letnim (szczury Wistar) (Gross 1977).

W eksperymencie prowadzonym po narażeniu inhalacyjnym stwierdzono, że przewlekła ekspozycja na pył TPA w stężeniu 10 mg/m³ nie spowodowała poważnych skutków dla zdrowia, z wyjątkiem łagodnego podrażnienia dróg oddechowych przy długotrwałym narażeniu.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

W badaniach kwasu tereftalowego (TPA) z wykorzystaniem bakterii *Salmonella Typhimurium* (szczyty: TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 i TA1538) nie zaobserwowano działania mutagennego zarówno po aktywacji metabolicznej, jak i przy jej braku. Testowane stężenia to 3 mmol TPA na płytkę i 10 mg TPA na płytkę. Przy stężeniu 10 mg na płytkę wystąpił osad, co uniemożliwiło przeprowadzenie testów z wyższymi dawkami. Przegląd wskazuje, że TPA nie wykazuje właściwości mutagennych w badanych warunkach (ACGIH 2001; Brooks i in. 1989; Heck, Tyl 1985; SIDS 2001).

W teście nieplanowej syntezy DNA na hepatocytach szczura i w testach mikrojądrowych na ludzkich limfocytach, TPA nie wykazywał działania przy żadnych z badanych stężeń: 0 (kontrola), 0,5 mg/ml, 5 mg/ml, 50 mg/ml i 500 mg/ml (Lerda 1996) (tab. 10). W żadnym z doświadczeń nie zaobserwowano efektów cytotoksycznych.

Wynik pozytywny uzyskano w 1 teście mikrojądrowym *in vivo* przeprowadzonym na myszach, którym podano 1-razowo związek dootrzewnowo w dawkach 0,09 ÷ 4,3 mmola TPA/kg mc. (co odpowiada 15 ÷ 714 mg/kg mc.). Po 24 h, 48 h i 72 h, zaobserwowano zwiększenie liczby mikrojąder w polichromatycznych erytrocytach szpiku kostnego (najsilniej zaznaczone po 24 h) (Zabrejko, Goncharova 1989). W innym teście mikrojądrowym przeprowadzonym zgodnie z wytycznymi OECD 474 u myszy, 24 h lub 48 h po podaniu dootrzewnowym TPA w dawkach: 200 mg/kg, 400 mg/kg i 800 mg/kg uzyskano wynik negatywny (tab. 10) (SIDS 2001).

Działanie rakotwórcze

Na podstawie wytycznych dotyczących oceny ryzyka raka opracowanych przez EPA (2020) oceniono, że nie istnieje wystarczająca liczba informacji upoważniających do oceny potencjału rakotwórczego TPA u ludzi. Eksperymenty na zwierzętach przeprowadzono tylko na 1 gatunku i przy zastosowaniu TPA w wysokich dawkach, przy których mogą tworzyć się kamienie w drogach moczowych tj. >2000 mg/kg mc./dzień (Heck 1981). Jednak uznano, że istnieją dowody na potencjalne działanie rakotwórcze TPA z powodu niegenotoksycznego, ale proliferacyjnego efektu drażniącego na pęcherz moczowy w wyniku tworzących się kamieni.

Działanie rakotwórcze u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących działania rakotwórczego TPA u ludzi.

Działanie rakotwórcze u zwierząt

W przewlekłych badaniach, w których podawano TPA z paszą, stwierdzono wzrost częstości występowania nowotworów pęcherza moczowego u szczurów. Jednak uważano, że nowotwory te były wtórne w stosunku do rozwoju kamieni w pęcherzu moczowym. Ta opinia opiera się między innymi na braku działania genotoksycznego TPA. Ponadto, kamienie prawdopodobnie indukują fizycznie przewlekłe uszkodzenia i zwiększenie mitozy w nabłonku, który wyściela układ moczowy, w tym pęcherz moczowy, moczowody oraz cewkę moczową. Nowotwory występowały głównie w grupach zwierząt narażonych na TPA w wysokich dawkach i zwykle były związane z kamieniami w pęcherzu. Oceniono, że w tych przypadkach, gdy podczas testu nie znaleziono kamieni w pęcherzu moczowym, mogły one być wydalone lub zgubione podczas przetwarzania tkanek. Badacze uważali, że tworzenie się kamieni reprezentuje efekt progowy działania TPA (Heck, Tyl 1985).

U szczurów F344 obu płci, które przez 2 lata były narażane na TPA (podawany z paszą) w dawkach 0 (kontrola), 20 mg TPA/kg mc./dzień, 142 mg TPA/kg mc./dzień lub 1000 mg TPA/kg mc./dzień, oprócz zmian nienowotworowych obserwowano występowanie guzów pęcherza moczowego u 19 z 118 zwierząt w grupie otrzymującej najwyższą dawkę. W wielu przypadkach nowotwory te rozwijały się na tle wcześniejszej hiperplazji nabłonka pęcherza (CIIT 1983a; 1983b) (tab. 11).

Tabela 10. Podsumowanie badań genotoksyczności kwasu tereftalowego (TPA) w badaniach in vitro i in vivo
Table 10. Summary on genotoxicity studies of terephthalic acid (TPA) in in vitro and in vivo tests

Oceniany efekt	Badany układ	Dawki/stężenia testowane	Wyniki bez aktywacji	Wyniki z aktywacją	Piśmiennictwo
Badania genotoksyczności na organizmach prokariotycznych					
Mutacja/test Ames	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98, TA100, TA1535, TA1538	0 ÷ 400 µg/płytkę; 5 dawek	–	–	Brooks i in. 1989
Mutacja/test przedin- kubacyjny	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98, TA100, TA1535, TA1537	3 µmol/płytkę	–	–	Florin i in. 1980
Mutacja/test Ames	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537	0, 20, 100, 500, 2500, 12500 µM	–	–	Lee, Lee 2007
Mutacja/test Ames	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 0,5, 5, 50, 500, 5000 µg/płytkę	–	–	Lerda 1996
Mutacja/test przedin- kubacyjny	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 100, 133, 1000, 3333, 100000 µg/płytkę	–	–	Zeiger i in. 1982; Zeiger i in. 1985
Uszkodzenia DNA	<i>Salmonella</i> Typhimurium: NM2009 izolowane mikrosomy wątroby szczurów S-D zawierające TPA oraz układ wytwarzający NADPH zostały inkubowane z zawiesiną bakterii NM2009, a ekspresja genu „umu” została zmierzona jako aktywność specyficznej galaktozydazy na jednostkę na białko	0,025, 0,05, 0,1 µmol/l	–	–	Dai i in. 2006b
Badania genotoksyczności na komórkach ssaków – in vitro					
CA	komórki CHO	0, 20, 100, 500, 2500, 12500 µM	–	–	Lee, Lee 2007
CA	komórki CHL	do 2000 µg/ml lub 12 mM	–	–	Ball i in. 2012
MN	bnuklearne limfocyty ludzkie	0, 0,5, 5, 50, 500 µg/ml	–	nie badano	Lerda 1996
UDS	komórki ludzkiej linii HeLa o heteroploidii	0, 0,5, 5, 50, 500 µg/ml	–	–	Lerda 1996
UDS	hepatocyty szczura	0, 0,5, 5, 50, 500 µg/ml	–	nie badano	Lerda 1996
Badania genotoksyczności – gatunki ssaków in vivo					
MN (szpik kostny)	samce myszy ICR: TPA w pojedynczym wstrzyknięciu i.p.	0, 20, 100, 500, 2500, 12500 µmol/kg (ok. 0, 3,3, 17, 83, 400, 2100 mg/kg)	–	nie badano	Lee, Lee 2007
MN (szpik kostny)	samce i samice myszy ICR: TPA w pojedynczym wstrzyknięciu i.p.	0, 200, 400, 800 mg/kg	–	nie badano	SIDS 2001
Uszkodzenia DNA (test kometowy)	samce szczurów Wistar lub S-D: podano TPA drogą pokarmową (przez zgłębnik) komórki z pęcherza moczowego zostały wyizolowane do testu kometowego	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	–	nie badano	Kyoya i in. 2018

cd. tab. 10/table 10cont.

Oceniany efekt	Badany układ	Dawki/stężenia testowane	Wyniki bez aktywacji	Wyniki z aktywacją	Piśmiennictwo
MN (szpik kostny)	mysz, <i>i.p.</i>	od 0,09 do 4,3 mmola TPA/ kg mc. (od 15 do 714 mg/kg)	+	nie badano	<i>Zabrejko, Goncharova, 1989</i>

Objaśnienia:

- - wynik negatywny.
- + - wynik pozytywny.
- CA - aberracja chromosomowa.
- CHL - komórki płuc chomika chińskiego.
- CHO - komórki jajnika chomika chińskiego.
- DNA - kwas deoksyrybonukleinowy.
- i.p.* - podanie dootrzewnowe.
- MN - mikrojądra.
- NADPH - zredukowana forma fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego.
- UDS - nieplanowana synteza DNA.

W 2-letnim doświadczeniu z udziałem samców i samic szczurów Wistar podawano w paszy TPA w stężeniach: 1%, 2% i 5% (co odpowiada dawkom: 500 mg/kg mc./dzień, 1000 mg/kg mc./dzień i 2500 mg/kg mc./dzień dla szczura o masie 400 g i spożyciu karmy wynoszącym 20 g/dzień). Zwiększona śmiertelność zwierząt w grupie otrzymującej TPA w najwyższej dawce wyjaśniona została tworzeniem się kamieni w układzie moczowym i związanym z tym występowanie guzów. Obecność kamieni w układzie moczowym prowadziła do zmian w nabłonku, od hiperplazji przez brodawczaki, metaplasje i raki płaskonabłonkowe po guzy z komórek przejściowych. W grupie narażonej na TPA w najwyższej dawce (2500 mg/kg mc./dzień) kamienie wystąpiły u 42/47 samców i 39/42 samic. W grupie karmionej TPA w niskiej dawce (500 mg/kg mc./dzień) kamienie wystąpiły u 1/48 samic i u żadnego z samców, a w grupie otrzymującej TPA w średniej dawce (1000 mg/kg mc./dzień), żadne ze zwierząt nie miało kamieni w pęcherzu moczowym. Guzy pęcherza moczowego i moczowodu były obecne w grupie karmionej TPA w najwyższej dawce u 21/37 samców i 21/34 samic, w grupie otrzymującej TPA w średniej dawce u 1/48 samców i 2/47 samic, a po niskiej dawce – u 1/43 samców. W grupie karmionej TPA w niskiej dawce u samic i w grupie kontrolnej również wystąpiły nowotwory w układzie moczowo-płciowym (BG Chemie 1990; SIDS 2001) (tab. 11).

Przeprowadzono doświadczenie dotyczące rakotwórczości oraz kalkulogenezy (procesu pow-

stawiania złogów lub kamieni w organizmie – zwłaszcza w układzie moczowym) wywołanej TPA w pęcherzu moczowym. Szczurom szczepu S-D podawano TPA w dawkach 50 mg/kg mc./dzień, 500 mg/kg mc./dzień oraz 5000 mg/kg mc./dzień przez 90 kolejnych dni. Złogi w pęcherzu moczowym stwierdzono w grupach otrzymujących dawki 5000 mg/kg mc./dzień (10/17) oraz 500 mg/kg mc./dzień (2/18). Częstość występowania kamieni była większa u samców niż u samic w grupie otrzymującej dawkę 5000 mg/kg mc./dzień. W tej samej grupie zaobserwowano również raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego (4/17), atypowy rozrost (5/17) oraz nieatypowy rozrost pęcherza moczowego (7/17). W grupie otrzymującej dawkę 500 mg/kg mc./dzień odnotowano atypowy rozrost (10/18) oraz nieatypowy rozrost (5/18), a w grupie otrzymującej 50 mg/kg mc./dzień – jedynie nieatypowy rozrost pęcherza moczowego (10/17). W grupie kontrolnej stwierdzono pojedynczy przypadek nieatypowego rozrostu pęcherza moczowego (1/18). Zaobserwowano dodatnią korelację między dawkowaniem a występowaniem zmian patologicznych. U szczurów, u których nie doszło do powstania złogów w pęcherzu moczowym, także wystąpiły pewne zmiany, jednak nie zaobserwowano u nich metaplasji płaskonabłonkowej ani raka. Wyniki sugerują, że w warunkach eksperymentu TPA mógł indukować kancerogenność w komórkach przejściowych, przy czym złogi mogły nie być głównym czynnikiem wywołującym raka (Qi i in. 2002) (tab. 11).

Szczury rasy Fischer 344 (504 osobniki obu płci) były karmione TPA w dawkach: 20 mg/kg mc. dzień, 142 mg/kg mc. dzień i 1000 mg/kg mc. dzień mg/kg mc. dzień przez 2 lata, począwszy od 7. tygodnia życia. W trakcie badania zaobserwowano, że zarówno masa ciała, jak i spożycie pokarmu były mniejsze w porównaniu z grupą kontrolną. Po zakończeniu obserwacji stwierdzono również zmniejszenie mas płuc, serca, wątroby oraz nerek u samic we wszystkich grupach dawkowania, a także u samców otrzymujących najwyższą dawkę. Kwas tereftalowy wywołał powstanie kamieni w pęcherzu moczowym lub cząsteczek piasku u 13 z 126 samic po wysokiej dawce (1000 mg/kg mc./dzień), a u 3 innych samic w tej grupie zaobserwowano mikrokamienie lub zwapnienia w ocenie histopatologicznej. Nowotwory pęcherza moczowego z tej grupy wystąpiły u 19 na 118 samic. U 6 spośród tych 19 samic z nowotworami nie zaobserwowano zmian makroskopowych ani histologicznych. Metaplasja płaskonabłonkowa była obecna w pęcherzu moczowym u 11 z 118 samic otrzymujących dawkę 1000 mg/kg mc./dzień (nie występowała w grupie kontrolnej), a przypadki tej metaplasji były zawsze związane z obecnością nowotworu pęcherza. Liczba przypadków hiperplazji pęcherza moczowego była również zwiększona u samic karmionych wysoką dawką TPA (14 przypadków), chociaż odnotowano ją także u samic kontrolnych (8 przypadków) oraz u samców (2 przypadki). U samców nie zaobserwowano nowotworowych zmian w pęcherzu moczowym, jedynie 2 przypadki hiperplazji oraz 3 cysty. Ponadto podczas eksperymentu odnotowano wyjątkowo częste występowanie zmian ocznych, takich jak zaćma oraz związane z nią uszkodzenia siatkówki, a także wysoką częstość występowania gruczolakoraka macicy. Ponieważ te zmiany występowały zarówno w grupach kontrolnych, jak i narażonych, nie można ich jednoznacznie przypisać narażeniu na TPA (U.S. Environmental Protection Agency 1984) (tab. 11).

W badaniu skutków powtarzającej się ekspozycji (przez 22 tygodnie) na TPA w paszy w stężeniach 1% (829 mg/kg mc./dzień) lub 5% (4280 mg/kg mc./dzień), u szczurów Wistar (30 samców/grupa) (Cui i in. 2006a), (opisanym szczegółowo w rozdziale Toksyczność podprzewlekła) nie zaobserwowano dowodów na działanie rakotwórcze TPA w pęcherzu moczowym po żadnej z dawek. Brak zgodności między częstością występowania

osadu w moczu, kamieni w pęcherzu moczowym a hiperplazją pęcherza sprawia, że związki przyczynowo-skutkowe są niejasne. Obserwowano występowanie hiperplazji lub osadu w moczu, podczas gdy w pęcherzu moczowym kamienie nie występowały (tab. 6).

Samce szczurów rasy Wistar (20 w grupie kontrolnej, 38 w grupie narażonej) były karmione paszą zawierającą 0 (kontrola) lub 5% (3680 mg/kg mc./dzień) TPA przez 48 tygodni (Cui i in. 2007; Cui i in. 2006b; Shi i in. 2006). Kamienie w pęcherzu moczowym oraz hiperplazje brodawkowe lub guzkowe były znacząco zwiększone u narażonych szczurów w 12, 24 i 48 tygodniu, w porównaniu z brakiem ich występowania w grupie kontrolnej. Statystycznie istotne wskaźniki występowania brodawkowatych zmian pęcherza moczowego obserwowano po 24 (8/8) i 48 tygodniach (18/20), a istotne wystąpienie komórkowego raka przejściowego w pęcherzu wystąpiło u szczurów narażonych na TPA pod koniec badania (16/20). Autorzy doświadczenia wyciągnęli wniosek, że TPA działa jako kancerogen pęcherza moczowego u szczurów po narażeniu *per os*. Analiza immunohistochemiczna PCNA została przeprowadzona na próbkach wszystkich zmian patologicznych w celu wykrycia proliferacji komórek klonalnych. We wszystkich punktach czasowych (12., 24. i 48. tydzień) zmiany w pęcherzu miały istotnie wyższe indeksy białka PCNA niż odpowiadające tkanki kontrolne, mniejsze dla hiperplazji brodawkowej lub guzkowej i większe dla raka przejściowego i komórkowego (tab. 11).

Grupy szczurów rasy Wag/Rij (Wistar) (po 50 samców i 50 samic na grupę) były karmione paszą zawierającą: 0 (kontrola), 1%, 2% lub 5% TPA (co odpowiadało dawkom: 0 (kontrola), 736 mg/kg mc./dzień, 1470 mg/kg mc./dzień i 3680 mg/kg mc./dzień u samców oraz 0 (kontrola), 842 mg/kg mc./dzień, 1680 mg/kg mc./dzień i 4210 mg/kg mc./dzień u samic) przez 24 miesiące (Gross 1977). Zmiany patologiczne, opisane przez autorów eksperymentu jako prawie wyłącznie występujące u zwierząt, którym podawano TPA w wysokiej dawce, obejmowały hiperplazję nabłonka miedniczki, moczowodu i/lub pęcherza, nacieki komórek przejściowych oraz metaplasję nabłonka płaskiego. Nowotwory związane z narażeniem były obecne w pęcherzu moczowym i moczowodzie u 1/43, 1/48 i 21/37 samców oraz u 0/48, 2/47 i 21/34 samic odpowiednio w grupach otrzymujących

niskie, średnie i wysokie dawki. Liczba nowotworów pęcherza moczowego i moczowodu była istotnie zwiększona u obu płci po najwyższej dawce. Nie zaobserwowano nowotworów pęcherza moczowego ani moczowodu w grupach kontrolnych (0/45 samców i 0/46 samic). Dyskusja w dostępnym tekście raportu Grossa (1977) wskazuje, że te zmiany były głównie nowotworami komórek przejściowych lub rakami płaskonabłonkowymi. Autorzy doświadczenia zauważyli, że nowotwory spontaniczne (gdy występowanie w grupach kontrolnych przewyższało występowanie w grupach narażonych) znajdowano głównie w przysadce mózgowej i tarczycy u obu płci oraz w gruczolach mlekowych u samic. Zaobserwowano także występowanie nowotworów w rdzeniu nadnerczy na tym samym poziomie (2/46 u samic), co w grupie narażonej na TPA w niskiej dawce. Zanotowano nieuzasadnione zmniejszenie liczby kilku nowotworów spontanicznych, głównie u zwierząt otrzymujących wysoką dawkę (tab. 11).

Instytut Toksykologii Przemysłu (ITT) w USA przeprowadził doświadczenie trwające 24 miesiące na szczurach w celu oceny potencjału toksykologicznego i kancerogennego TPA (Preache 1983; Grubbs 1979). Szczury F344 (126/płeć/dawka) były karmione TPA w dawkach: 0 (kontrola), 20 mg/kg mc./dzień, 142 mg/kg mc./dzień lub 1000 mg/kg mc./dzień przez 24 miesiące (co dla samców odpowiadało: 0 (kontrola), 19,5 mg/kg mc./dzień, 138,2 mg/kg mc./dzień lub 995,4 mg/kg mc./dzień, a dla samic: 0 (kontrola), 19,2 mg/kg mc./dzień, 136,6 mg/kg mc./dzień i 989,8 mg/kg mc./dzień). Początkowa ocena histopatologiczna wykazała nieistotny wzrost występowania hiperplazji pęcherza moczowego u samic po wysokiej dawce w 18. miesiącu (5/27 w porównaniu do 0/22 w kontrolach) i w 24. miesiącu (14/79 w porównaniu do 8/83 w kontrolach). Występowanie hiperplazji pęcherza moczowego u samców po wysokiej dawce nie różniło się od kontroli w obu okresach. W 24. miesiącu u samic zaobserwowano istotnie zwiększone występowanie metaplazji płaskonabłonkowej (9/79 w porównaniu do 0/83 w kontrolach). Metaplazje płaskonabłonkowe zawsze obserwowano obok guzów pęcherza. Stwierdzono gruczolaki z komórek przejściowych w pęcherzu u 15/79 samic po wysokiej dawce i 1/83 w grupie kontrolnej w 24. miesiącu, co zostało uznane za statystycznie istotną różnicę. W ponownej

analizie histopatologicznej kilka zmian zostało przekategoryzowanych z gruczolaków komórek przejściowych na hiperplazje. Nowotwory pęcherza zgłoszone w ponownej analizie (wszystkie w 24. miesiącu) to gruczolaki komórek przejściowych u 10 samic po wysokiej dawce i 1 samicy w grupie kontrolnej, rak z komórek przejściowych u 1 samicy po wysokiej dawce oraz brodawkowaty rak z komórek przejściowych u 2 samic po niskiej dawce. Na podstawie danych zgłoszonych w ponownej analizie wystąpienie gruczolaków pęcherza było istotnie zwiększone u samic po wysokiej dawce. W 24. miesiącu narażenia 9 spośród 15 zwierząt (samic) z gruczolakami z komórek przejściowych oraz oba zwierzęta z rakiem z komórek przejściowych miały kamienie w pęcherzu moczowym. Gruczolakoraki macicy występowały u 30/81 i 32/75 łącznie u samic po niskiej i średniej dawce. Autorzy badania ocenili, że te agresywne gruczolakoraki macicy wydają się być związane z narażeniem (istotność statystyczna nie została stwierdzona). U 40% samic otrzymujących wysoką dawkę (w porównaniu z brakiem w kontrolach) w 18. miesiącu wykazano nowotwory macicy. Jednakże podobne nowotwory zaobserwowano również u zwierząt kontrolnych z innego eksperymentu, w którym zwierzęta były hodowane w tym samym pomieszczeniu, co zwierzęta kontrolne dla doświadczenia oceniającego toksyczność TPA. Do 24. miesiąca guzy macicy faktycznie pojawiły się we wszystkich grupach, występując w 17% kontroli oraz w grupach otrzymujących dawki: 22% (niską), 24% (średnią) i 25% (wysoką). Wskazano, że wysoka częstość występowania guzów macicy może potencjalnie wynikać ze zwiększenia poziomu estrogenów indukowanych światłem (tab. 11).

Podsumowując, badania rakotwórczości TPA u szczurów, szczególnie przy długotrwałej ekspozycji na wysokie dawki TPA (>1000 mg/kg mc./dzień) podawane w paszy, wskazują na potencjalny związek między narażeniem na TPA a zwiększonym ryzykiem nowotworów pęcherza moczowego. Kluczowe wnioski z tych badań:

- w wielu doświadczeniach obserwowano, że u szczurów narażonych na wysokie dawki TPA dochodziło do rozwoju nowotworów, np. raki przejściowokomórkowe, raki płaskonabłonkowe, brodawczaki. Występowanie nowotworów pęcherza było szczególnie częste w grupach narażonych na najwyższe dawki TPA i często towarzyszyły one obecności

Tabela 11. Skutki działania rakotwórczego kwasu tereftalowego (TPA) u szczurów w wyniku przewlekłego podawania związku z paszą
Table 11. Carcinogenic effects on terephthalic acid (TPA) in rats following chronic dietary administration

Zwierzę, gatunek, płeć, liczba zwierząt/grupę	Dawka TPA/czas narażenia	Obserwowane skutki nowotworowe	Piśmiennictwo
Szczury F344, ♂♀	0 (kontrola), 20, 142, 1000 mg/kg mc./dzień; 2 lata	1000 kg mc./dzień występowanie guzów pęcherza moczowego u 19/118 zwierząt (większość guzów została zakwalifikowana jako efekt wcześniejszej hiperplazji)	CIIT 1983 a; 1983 b
Szczury Wistar, ♂♀	1, 2, 5% w paszy; 500, 1000, 2500 mg/kg mc./dzień; 2 lata	hiperplazje, metaplazje, tworzenie się kamieni w układzie moczowym i związane z tym występowanie guzów (brodawczaki i raki płaskonabłonkowe, guzy z komórek przejściowych) 500 mg/kg mc./dzień kamienie w pęcherzu moczowym: ♂0 i ♀1/48 guzy pęcherza moczowego i moczowodu: ♂1/43 i ♀0 1000 mg/kg mc./dzień kamienie w pęcherzu moczowym: ♂0 i ♀0 guzy pęcherza moczowego i moczowodu: ♂1/48 i ♀2/47 2500 mg/kg mc./dzień kamienie w pęcherzu moczowym: ♂42/47 i ♀39/42 guzy pęcherza moczowego i moczowodu: ♂21/37 i ♀21/34	BG Chemie 1990; SIDS 2001
Szczury S-D, ♂♀	50, 500, 5000 mg/kg mc./dzień, 90 dni	50 mg/kg mc./dzień pojedynczy rozrost pęcherza moczowego 10/17 500 mg/kg mc./dzień złoگی w pęcherzu moczowym 2/18 atypowy rozrost 10/18 i pojedynczy przerost pęcherza moczowego 5/18 5000 mg/kg mc./dzień złoگی w pęcherzu moczowym 10/17 raki przejściowokomórkowe pęcherza moczowego 4/17 atypowy rozrost 5/17 pojedynczy rozrost 7/17	Qii in. 2002
Szczury Fischer 344, ♂♀	20, 142, 1000 mg/kg mc./dzień 2 lata	1000 mg/kg mc./dzień kamienie w pęcherzu moczowym lub występowanie cząsteczek piasku ♀13/126 mikrokamienie ♀3 nowotwory pęcherza moczowego ♀19/118 metaplazja płaskonabłonkowa, obecna w pęcherzu moczowym ♀11/118 u samców nie obserwowano zmian nowotworowych w pęcherzu moczowym. stwierdzono 2 przypadki hiperplazji oraz 3 cysty	U.S. Environmental Protection Agency 1984
Szczury Wistar, ♂	5% w paszy, 3680 mg/kg mc./dzień, 48 tygodni	brodawkowate zmiany pęcherza moczowego po 24 (8/8) i 48 (18/20) tygodniach raki przejściowe pęcherza 16/20	Cui i in. 2007; Cui i in. 2006b; Shi i in. 2006
Szczury Wag/Rij (Wistar) 344, ♂♀	0 (kontrola), 1, 2, 5% w paszy; ♂: 0 (kontrola), 736, 1470, 3680 mg/kg mc./dzień, ♀: 0 (kontrola), 842, 1680, 4210 mg/kg mc./dzień, 2 lata	nowotwory w pęcherzu moczowym i moczowodzie (głównie nowotwory z komórek przejściowych lub raki płaskonabłonkowe) 736 mg/kg mc./dzień ♂1/43 i ♀0/48 1470 mg/kg mc./dzień ♂1/48 i ♀2/47 3680 mg/kg mc./dzień ♂21/37 i ♀21/34	Gross 1977
Szczury F344 (126/płeć/dawka)	0 (kontrola), 20, 142, 1000 mg/kg mc./dzień; 2 lata	20 mg/kg mc./dzień brodawkowaty rak z komórek przejściowych: ♀2 kg mc./dzień nowotwory pęcherza (gruczolaki z komórek przejściowych ♀10, raki z komórek przejściowych ♀1); (u 9/15 samic z gruczolakami z komórek przejściowych oraz u zwierząt z rakiem z komórek przejściowych wystąpiły kamienie w pęcherzu moczowym)	Preache 1983; Grubbs 1979

Objaśnienia:
♂ – samce.
♀ – samice.

kamieni w pęcherzu moczowym. Sugeruje się, że kamienie mogą wywoływać przewlekłe uszkodzenia fizyczne, które z kolei prowadzą do zwiększonej mitozy i rozwoju nowotworów;

- zaobserwowano przypadki metaplastji płaskonabłonkowej oraz hiperplastji pęcherza moczowego, szczególnie u samic szczurów, które otrzymywały wysokie dawki TPA. Te zmiany były często powiązane z występowaniem nowotworów pęcherza;
- TPA może indukować zmiany nowotworowe w komórkach przejściowych pęcherza moczowego, nawet w przypadku braku kamieni. W jednym z doświadczeń wykazano, że u szczurów, które nie miały kamieni, również rozwijały się zmiany nowotworowe, co sugeruje, że kamienie mogą nie być jedynym czynnikiem wywołującym raka;
- w jednym z eksperymentów zauważono zwiększoną śmiertelność u szczurów narażonych na najwyższe dawki TPA, co tłumaczono tworzeniem się kamieni w układzie moczowym oraz związanym z tym występowaniem nowotworów.

Kwas tereftalowy może działać jako czynnik rakotwórczy w układzie moczowym szczurów, szczególnie w przypadku ekspozycji na wysokie dawki. Jednakże istnienie nowotworów również w grupach kontrolnych lub przy stosowaniu niższych dawek oraz brak jednoznacznych dowodów na działanie genotoksyczne TPA sugerują, że kamienie pęcherza mogą być głównym czynnikiem wywołującym raka, ale niekoniecznie jedynym.

Działanie na rozrodczość

Działanie na rozrodczość u ludzi

Nie znaleziono danych o wpływie TPA na rozrodczość u ludzi.

Działanie na rozrodczość u zwierząt

Narażenie drogą pokarmową

Narażenie na TPA może powodować upośledzenie funkcji jąder. U szczurów samców Sprague-Dawley, którym podawano z paszą TPA w stężeniach: 0 (kontrola), 0,2%, 1% lub 5% (co odpowiadało dawkom: 0 (kontrola), 172 mg/kg mc./dzień, 861 mg/kg mc./dzień, 4310 mg/kg mc./dzień) przez

90 dni stwierdzono uszkodzenie komórek plemnikotwórczych i komórek Sertoliego, a także obniżenie produkcji i liczebności plemników. Zmniejszenie ruchliwości plemników było istotne wraz ze zwiększeniem dawki TPA. Stężenie testosteronu w surowicy nie uległo obniżeniu (Cui i in. 2004). Zmniejszenie liczby główek plemników oraz dziennego przyrostu produkcji plemników (spadek o 19% w porównaniu z grupą kontrolną) było istotne przy wysokiej dawce. Narażenie na TPA istotnie wpłynęło na kilka parametrów ruchliwości plemników w sposób zależny od dawki: prędkość ruchu na prostej linii (VSL) (spadek o $27 \div 39\%$) oraz procent prostoliniowości (STR) (spadek o $18 \div 24\%$) były istotnie zmniejszone w porównaniu z wartościami kontrolnymi we wszystkich grupach. Linearyczność (LIN) oraz częstotliwość skrzyżowania linii ruchu (BCF) również zmniejszały się wraz ze zwiększającą się ekspozycją na TPA i były istotne w największej dawce tj. 4310 mg/kg mc./dzień. Nie zaobserwowano oczywistych zmian histologicznych. W mikroskopie elektronowym zidentyfikowano odstępstwa w komórkach z kilku etapów spermatogenezy. Obserwacje obejmowały nieprawidłowy rozkład heterochromatyny w spermatogoniach, spermatocytach i komórkach Sertoliego, wakuolizację i/lub utratę kryształków mitochondrialnych w spermatogoniach, spermatocytach i komórkach Sertoliego; hiperplastję liposomów w spermatogoniach. Nie zaobserwowano zmian w komórkach Leydiga. Poziomy enzymów w jądrach były w dużej mierze niezmiennione, za wyjątkiem dehydrogenazy sorbitolu (SDH), która została istotnie zmniejszona (o 16%) w porównaniu z grupą kontrolną. Poziom testosteronu w surowicy również nie zmienił się w wyniku narażenia na TPA. Wyznaczono NOAEL wynoszący 861 mg/kg mc./dzień oraz LOAEL wynoszący 4310 mg/kg mc./dzień.

Wpływ ekspozycji TPA na męskie narządy rozrodcze został zbadany przez Kwacka, Lee (2015). Szczury SpragueDawley (5 samców na grupę, w wieku 6 tygodni) były codziennie narażone (za pomocą sondy dożołądkowej) na TPA w dawkach: 0 (kontrola), 10 mg/kg mc./dzień, 100 mg/kg mc./dzień lub 1000 mg/kg mc./dzień przez 4 tygodnie. Po 4 tygodniach jądra, ogony najądrzy i nasieniodody zostały pobrane do badania. Zarejestrowano bezwzględne i względne masy jąder i najądrzy, oceniono parametry nasienia w grupach kontrolnych i u szczurów narażonych na TPA w najwyższej dawce. Ustalono procent ruchliwych, statycznych,

progresywnych i szybkich plemników we wszystkich grupach. Nie stwierdzono znaczących zmian w bezwzględnej i względnej masie jąder, najądrzy, w całkowitej liczbie plemników u szczurów po otrzymaniu najwyższej dawki (w porównaniu z grupą kontrolną). Z kolei przy zastosowaniu tej samej dawki TPA ruchliwość plemników była istotnie zmniejszona (o 26%) w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano ogólny spadek innych parametrów ruchliwości plemników mierzonych za pomocą systemu CASA (amplituda bocznego przemieszczenia główki, częstotliwość przecinania linii, linearyczność, prostoliniowość, średnia prędkość ścieżki, prędkość zakrzywionej linii i prędkość prostej linii), ale nie był on statystycznie istotny. Za wartość NOAEL uznano dawkę 100 mg/kg mc./dzień, a za LOAEL – 1000 mg/kg mc./dzień (na podstawie zmniejszonej ruchliwości plemników).

U szczurów Wistar i CD (9 ÷ 10 par/grupę), które były już karmione paszą z TPA przez około 90 dni, kontynuowano narażenie przez okres krycia, ciąży i laktacji aż do zaplanowanego uśmiercenia (*Ledoux, Reel 1982*). Obliczone dawki (odpowiadające stężeniom: 0 (kontrola), 0,03%, 0,154%, 0,5%, 2% lub 5% TPA w paszy) wynosiły: 0 (kontrola), 15,3 mg/kg mc./dzień, 79,09 mg/kg mc./dzień, 266 mg/kg mc./dzień, 1020 mg/kg mc./dzień lub 2650 mg/kg mc./dzień (samce) oraz 0 (kontrola), 19,3 mg/kg mc./dzień, 114,5 mg/kg mc./dzień, 313 mg/kg mc./dzień, 1280 mg/kg mc./dzień lub 3100 mg/kg mc./dzień (samice) dla szczurów Wistar, a także 0 (kontrola), 14,6 mg/kg mc./dzień, 76,15 mg/kg mc./dzień, 247 mg/kg mc./dzień, 976 mg/kg mc./dzień lub 2590 mg/kg mc./dzień (samce) oraz 0 (kontrola), 17,6 mg/kg mc./dzień, 86,57 mg/kg mc./dzień, 286 mg/kg mc./dzień, 1260 mg/kg mc./dzień lub 2840 mg/kg mc./dzień (samice) dla szczurów CD. Następnie u 20 młodych/szczep/grupa kontynuowano narażenie na TPA przez 30 dni w tej samej paszy, którą otrzymywali ich rodzice. Rejestrowano wskaźniki reprodukcyjne i rozwojowe, w tym wskaźnik płodności, wielkość miotu, płeć, żywotność i przeżywalność, a także ogólne objawy, śmiertelność, masę ciała potomstwa (w PND 21 oraz po odstawieniu PND 21). Zwierzęta były badane pod kątem zmian w narządach klatki piersiowej i jamy brzusznej, ze szczególnym uwzględnieniem układu moczowego i nerek. Między 116. a 148. dniem ekspozycji padło 5 samic szczurów Wistar, 1 samica

szczurów CD, 2 samce szczurów CD z grupy rodzicielskiej (F0). Autorzy doświadczenia nie stwierdzili wpływu narażenia na TPA na wydajność reprodukcyjną. Nie stwierdzono istotnych zmian w indeksie płodności ani wielkości miotu między odpowiednimi grupami kontrolnymi a narażonymi szczurami Wistar lub CD. We wszystkich grupach narażonych na TPA urodziło się martwych 17 młodych szczurów Wistar i 23 młode szczury CD (około 5%). Łącznie 76% martwo urodzonego potomstwa Wistar i 96% martwo urodzonego potomstwa CD znajdowano po 2 najwyższych stężeniach TPA. Nie zaobserwowano znaczącego wpływu na liczbę żywego potomstwa na miot w PND 0, 1 lub 21. Odsetek potomstwa płci męskiej i żeńskiej szczurów CD, które przeżyły do PND 21, był znacząco zmniejszony w grupie, która otrzymała najwyższą dawkę. W przypadku szczurów Wistar obserwowano nieistotne zmniejszenie przeżycia potomstwa. Od urodzenia do odsadzenia nie zaobserwowano istotnych objawów związanych z narażeniem u potomstwa F1 obu szczepów. Obecność kamieni w pęcherzu była związana z 10/19 i 12/18 zgonami młodych szczurów Wistar i CD (odpowiednio) po najwyższej dawce. Szczegółowe badania sekcyjne potomstwa F1 przeprowadzone między PND 21 a 51 nie wykazały istotnych zmian w pęcherzu u zwierząt karmionych paszą zawierającą: 0,03%, 0,154%, 0,5% i 2% TPA. Po podaniu najwyższej dawki stwierdzono znacznie zwiększone występowanie kamieni w pęcherzu moczowym i pogrubienie ścian pęcherza, co wystąpiło u 8/18 samców i 16/31 samic potomstwa Wistar oraz u 5/9 samców i 9/13 samic potomstwa CD. Inne obserwacje makroskopowe zgłoszone przez autorów w grupie potomstwa matek narażonych na najwyższą dawkę obejmowały powiększenie jelita ślepego i pęcherza, poszerzenie nerek oraz plamy na nerkach. W tym eksperymencie za NOAEL uznano dawkę 313 mg/kg mc./dzień u szczurów Wistar, a za LOAEL – 1280 mg/kg mc./dzień (na podstawie biologicznie istotnych spadków masy ciała potomstwa na PND 21 ($\geq 5\%$)). U potomstwa szczurów w okresie PND 21–51 po wyższych dawkach obserwowano zwiększoną częstość występowania kamieni w pęcherzu moczowym podczas nekropsji. U szczurów CD wyznaczono LOAEL na poziomie 17,6 mg/kg mc./dzień (najniższa dawka) dla biologicznie istotnie zmniejszonej masy ciała potomstwa na PND 21 ($\geq 5\%$). Nie ustalono wartości NOAEL dla szczurów CD (*Ledoux, Reel 1982*).

Na podstawie pracy *Ledoux, Reel* (1982), EPA (2020) oszacowała dawkę wyznaczającą BMDL₀₅ dla obniżenia masy ciała płodów u szczurów Wistar i CD (tab. 12).

Rozrodowi poddano 50 myszy izogenicznych C57BL/6 J (10 samców i 40 samic), płciowo dojrzałych (około 70 dni). Myszy otrzymywały do-
żłądkowo TPA w dawce 0,0014 g/ml (TPA1) i 0,56 g/ml (TPA2). Grupa kontrolna otrzymywała tylko nośnik (karboksymetylocelulozę). Wybrane dawki TPA były 10× (TPA1) i 4000× (TPA2) większe od dawki bezpiecznej przyjętej dla człowieka w 1996 r. przez ACGIH, tj. 1,4 mg/kg mc. Narażenie zwierząt miało miejsce w 4 okresach rozwojowych (GD – dzień ciąży; ang. *gestation day*):

a) grupa I: w okresie płodowym (GD 10,5 ÷ 18,5), z uśmierceniem w GD 18,5;

b) grupa II: w okresie płodowym (GD 10,5 ÷ 18,5) i w okresie laktacyjnym (PND 1 ÷ 15), z uśmierceniem w PND 15;

c) grupa III: w okresie płodowym (GD 10,5 ÷ 18,5), z uśmierceniem po 70 dniach (wiek dojrzałości płciowej);

d) grupa IV: w okresie płodowym (GD 10,5 ÷ 18,5) i w okresie laktacyjnym (PND 1 ÷ 15), z uśmierceniem po 70 dniach.

W dniu uśmiercenia zebrano dane biometryczne, takie jak: indeks gonadosomatyczny (procentowy stosunek masy jąder do masy ciała), indeks analno-płciowy (u młodych zwierząt), odległość analno-płciowa (u zwierząt płciowo dojrzałych) i długość prącia. Do oceny funkcji jąder myszy użyto badań histomorfometrycznych. Obrazy były rejestrowane za pomocą mikroskopu trójokularowego i analizowane za pomocą programu ImageJ. Oceniano następujące parametry:

- średnica strun/naczyniek nasieniowatych,
- gęstość objętościowa jądra,

- objętość i liczba komórek Leydiga na jądro,
- objętość jądrowa i liczba komórek Sertoliego na jądro.

Poziom istotności ustalono na $p < 0,05$. Istotne zmniejszenie masy ciała u zwierząt w GD 18,5 (grupa I) obserwowano wyłącznie po podaniu dawki TPA2. Nie stwierdzono różnic w masie jąder między kontrolą a zwierzętami narażonymi na TPA, z wyjątkiem zwierząt, które otrzymały TPA2 i zostały uśmiercone w GD 18,5 i które wykazały zmniejszenie masy jądra. Istotną tendencję do zmniejszenia się długości penisa obserwowano także tylko u zwierząt, które otrzymały TPA2 i zostały uśmiercone w GD 18,5. Wskaźnik analno-płciowy zwierząt uśmierconych w GD 18,5, narażonych na TPA2, był istotnie niższy niż w przypadku grupy kontrolnej. Obserwowano tendencję do zmniejszenia się odległości analno-płciowej oraz istotne zwiększenie rozrostu nabłonka w nasieniowodach i światła naczyń nasieniowatych u zwierząt z grupy II. Myszy z grup I, III i IV nie wykazywały zmian w świetle naczyń nasieniowatych. Ponadto w grupie I nastąpił istotny wzrost odsetka włosowatych naczyń krwionośnych u zwierząt narażonych na TPA1 i TPA2. Narażenie nie zmieniło procentowej zawartości komórek Leydiga w przestrzeni międzyprzewodowej w grupach I, III i IV. W grupie II 2-krotne podanie TPA (wewnątrzmacicznie (GD 10,5 ÷ 18,5) i w okresie laktacyjnym) zmniejszyło istotnie procentową zawartość komórek Leydiga oraz ich objętość jądrową cytoplazmatyczną. Podsumowując, można stwierdzić, że wyniki niniejszego eksperymentu wykazały, że TPA w stężeniu 0,56 g/ml zmniejszył ($p < 0,05$) masę ciała, masę jąder, indeks gonadosomatyczny (IGS) oraz długość penisa u zwierząt w GD 18,5. W tym samym okresie narażenia zaobserwowano, że TPA2 zmniejszył wskaźniki anogenitalne. Zmiany

Tabela 12. Dawki wyznaczające (BMDL₀₅) dla obniżenia masy ciała płodów u szczurów oszacowane przez EPA (2020)

Table 12. Benchmark dose lower confidence limits (BMDL05) for reduced fetal body weight in rats estimated by the EPA (2020).

Punkt końcowy (<i>endpoint</i>)	POD, mg/kg /dzień, (<i>point of departure</i> – odnosi się do dawki, od której zaczyna się obserwować skutki)
Obniżenie masy ciała płodów szczurów Wistar u obu płci w dniu PND 21	59,9 (BMDL ₀₅)
Obniżenie masy ciała płodów samców szczurów Wistar w dniu PND 21	58,8 (BMDL ₀₅)
Obniżenie masy ciała płodów samic szczurów Wistar w dniu PND 21	61,8 (BMDL ₀₅)
Obniżenie masy ciała płodów szczurów CD u obu płci w dniu PND 21	55,5 (BMDL ₀₅)
Obniżenie masy ciała płodów samców szczurów rasCD w dniu PND 21	54,6 (BMDL ₀₅)
Obniżenie masy ciała płodów samic szczurów CD w dniu PND 21	54,4 (BMDL ₀₅)

Objaśnienie: BMDL – dolna granica przedziału ufności dawki powodującej 5% zmianę odpowiedzi.

($p < 0,05$) można również zauważyć w elementach jąder, takich jak naczynia krwionośne/kapilary, naczynia limfatyczne i tkanka łączna u zwierząt uśmierconych w okresie dojrzewania. Jest to pierwsze badanie w literaturze, które uwzględnia wpływ TPA na rozwój embrionalny/płodowy i postnatalny u myszy (Monteiro i in. 2023).

U samców myszy domowej zbadano toksyczność reprodukcyjną TPA z odpadów produkcyjnych po 35-dniowym narażeniu dożołądkowym. Stężenie TPA wyrażono poprzez chemiczne zapotrzebowanie tlenu (COD) w wodzie ściekowej, które wynosiło prawie 10 000 mg/l. Kwas tereftalowy indukował zmniejszenie odsetka żywotnych komórek spermatogennych ($93,1 \pm 2,3$ w grupie kontrolnej vs. $90,4 \pm 1,9$ w grupie narażonej). Histopatologia jąder ujawniła rozszerzenie przestrzeni śródmiąższowej oraz zmniejszenie liczby i rozmiaru komórek Leydiga, co zostało dodatkowo potwierdzone zmniejszeniem (o 10,6%) względnej masy jąder i wzrostem (101,3%) nieprawidłowości kształtu plemników (Zhanga i in. 2010).

Podsumowując, badania nad wpływem TPA na funkcje reprodukcyjne u zwierząt wykazały, że ekspozycja na TPA drogą pokarmową może prowadzić do uszkodzenia komórek jąder, zmniejszenia liczby plemników, ich ruchliwości oraz produkcji, a także do zmian strukturalnych w jądrach u szczurów i myszy. Przy większych dawkach zaobserwowano także zmniejszenie masy ciała, długości penisa oraz wskaźników anogenitalnych, co może wskazywać na działanie antyandrogenne. Oceny histologiczne ujawniły zmiany w komórkach Leydiga i Sertoliego oraz w budowie naczyń w jądrach. Ponadto, u potomstwa narażonego na TPA zauważono wzrost występowania kamieni w pęcherzu moczowym i zmniejszoną przeżywalność. Ostatecznie ustalono różne wartości NOAEL i LOAEL dla tych efektów, zależne od dawki i długości narażenia (tab. 13).

Narażenie inhalacyjne

W badaniach inhalacyjnych (Chemical Manufacturers Association 2000) na ciężarnych szczurach Sprague-Dawley, które były narażane na aerozol TPA wyznaczono wartość NOAEL wynoszącą $10,4 \text{ mg/m}^3$ dla skutków zdrowotnych zarówno u matek, jak i u płodów. Ciężarne szczury Sprague-Dawley ($22 \div 25$ na grupę) były narażane na oczyszczony aerozol cząstek TPA poprzez inhalację całego ciała przez 6 h dziennie, 7 dni

w tygodniu, w dniach 6. ÷ 15. ciąży (GD). Średnie ważone stężenia (TWA) TPA wynosiły: $0,90 \text{ mg/m}^3$, $4,73 \text{ mg/m}^3$ lub $10,4 \text{ mg/m}^3$, a średnie aerodynamiczne średnice masy (MMAD) cząstek to odpowiednio: $4,16 \mu\text{m}$, $4,87 \mu\text{m}$ lub $5,39 \mu\text{m}$, z frakcjami respirabilnymi wynoszącymi: 91,1%, 89,4% i 85,0%. Szczury z grupy kontrolnej były narażone jedynie na filtrowane powietrze. W 20. dniu ciąży uśmiercono samice, a następnie przeprowadzono ogólne sekcje zwłok. Połowa miotu była losowo wybierana do badań szkieletowych lub trzewnych. Anomalie zostały zarejestrowane i ocenione pod względem nasilenia na podstawie danych historycznych z grup kontrolnych. W trakcie doświadczenia nie odnotowano zgonów matek. Objawy działania były sporadyczne i niezwiązane z ekspozycją, poza nieznacznie wyższą, lecz nieistotną częstością występowania łuszczonego ogona w grupach narażonych na TPA. Masa ciała samic, przyrost masy ciała, masa macicy oraz skorygowana masa ciała (masa ciała minus masa macicy) były porównywalne z osobnikami z grupy kontrolnej. Nie odnotowano znaczących zmian w wynikach sekcji zwłok samic ani oznak toksyczności matczynej przy testowanych stężeniach. Narażenie na TPA nie wpłynęło na żywotność miotu, liczbę żywych i martwych płodów, liczbę implantów ani resorpcji, ani na stosunek płci płodów. Masa ciała płodów była porównywalna z grupą kontrolną we wszystkich grupach. Nie stwierdzono istotnych zewnętrznych zmian związanych z ekspozycją, choć odnotowano pojedyncze przypadki krótkiego lub nitkowatego ogona oraz agnatii (brak części lub całości szczęk) po otrzymaniu wyższego stężenia (jednak zmiany te nie były statystycznie istotne). Odchylenia trzewne, takie jak wodonercze i wodomocz, były obecne we wszystkich grupach (w tym w kontrolnej). Po narażeniu matki na TPA w stężeniu $10,4 \text{ mg/m}^3$ 1 płód miał także zrosnięte nerki z przesuniętymi moczowodami i jajnikami. Zaobserwowano kilka anomalii żeber, takich jak żebra faliste, bulwiaste i niekompletnie skostniałe, z istotnym statystycznie zwiększeniem się całkowitej liczby anomalii żeber w grupie narażonej na TPA w średnim stężeniu ($4,73 \text{ mg/m}^3$). Nie było jednak istotnego wzrostu anomalii w grupie otrzymującej wysokie stężenie ($10,4 \text{ mg/m}^3$), a analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych anomalii szkieletowych między grupami. Autorzy doświadczenia stwierdzili, że choć anomalia żeber była statystycznie istotna po otrzymaniu

Tabela 13. Zestawienie wartości NOAEL i LOAEL wyznaczonych w badaniach rozrodczości kwasu tereftalowego (TPA) przeprowadzonych na szczurach

Table 13. Summary of NOAEL and LOAEL values identified in reproductive toxicity studies of terephthalic acid (TPA) conducted on rats

Zwierzę, gatunek, droga podania czas narażenia	NOAEL	LOAEL	Obserwowany skutek	Piśmiennictwo
Szczury Sprague-Dawley, z paszą, 90 dni	861 mg/kg mc./dzień	4310 mg/kg mc./dzień	upośledzenie funkcji jąder uszkodzenie komórek plemnikotwórczych i komórek Sertoliego zmniejszenie produkcji i liczebności plemników	Cui i in. 2004
Szczury Sprague-Dawley, za pomocą sondy dożołądkowej, 90 dni	100 mg/kg mc./dzień	1000 mg/kg mc./dzień	istotne zmniejszenie ruchliwości plemników ogólny spadek innych parametrów ruchliwości plemników mierzonych za pomocą systemu CASA (amplituda bocznego przemieszczenia główki, częstotliwość przecinania linii, linearyczność, prostoliniowość, średnia prędkość ścieżki, prędkość zakrzywionej linii i prędkość prostej linii)	Kwack, Lee 2015
Szczury Wistar, z paszą, 90 dni	313 mg/kg mc./dzień	1280 mg/kg mc./dzień	biologicznie istotny spadek masy ciała potomstwa na PND 21 ($\geq 5\%$)	Ledoux, Reel 1982
Szczury CD, z paszą, 90 dni	nie zidentyfikowano, najniższa dawka wywołała efekty niepożądane	17,6 mg/kg mc./dzień	biologicznie istotny spadek masy ciała potomstwa na PND 21 ($\geq 5\%$)	Ledoux, Reel 1982

średniego stężenia, nie była wskaźnikiem teratogenności TPA. Wartość NOAEL dla efektów matczynych i płodowych określono na 10,4 mg/m³, a wartość LOAEL nie została określona. Przeliczone wartości TWA na ludzkie odpowiedniki stężeń dla efektów poza układem oddechowym (HECER, ang. *human equivalent concentrations for extrarespiratory effects*) wynosiły odpowiednio: 0,59 mg/m³, 2,96 mg/m³ i 6,24 mg/m³.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

Dane dotyczące kinetyki i losów metabolicznych kwasu tereftalowego (TPA) u ludzi są ograniczone do 2 h badań *in vitro*. Ludzkie skrawki korowe nerek akumulowały TPA wbrew gradientowi stężeń, mimo że nie zachodził żaden metabolizm (Tremaine, Quebbemann 1985). Średnia szybkość wchłaniania przezskórnego DEHT (tereftalanu bis(2-etyloheksylu) – związku podobnego do TPA) przez skórę ludzkich zwłok wynosiła 0,103 µg/cm²/h, co sugeruje bardzo powolne wchłanianie przez skórę (Eastman Kodak, 2002; SIDS 2001, Ball i in. 2012).

Absorpcja TPA z przewodu pokarmowego została zbadana u samic szczurów Wistar za pomocą związku znakowanego izotopowo [¹⁴C]-TPA w dawce 85 mg/kg mc. Na podstawie wydalania znacznika z moczem i kałem szacuje się, że około

97% TPA podanego doustnie jest szybko wchłaniane przez przewód pokarmowy (Hoshi, Kuretani 1967). Po analizie różnych segmentów przewodu pokarmowego autorzy obliczyli, że 70% i 26% podanej dawki zostało wchłonięte odpowiednio z górnej (tj. żołądek i jelito cienkie) oraz dolnej części (tj. kątnica i jelito grube) przewodu pokarmowego.

Narażenie skórne i przez oczy na TPA wykazało słabe wchłanianie po pojedynczym lub wielokrotnym narażeniu (Hoshi i in. 1968). Jednorazowe narażenie szczurów na TPA przez skórę przez 5 h skutkowało śladowym wchłanianiem, a powtórzone narażenie przez skórę spowodowało odzyskanie około 13% podanej dawki, co wskazuje, że pewna ilość TPA wchłania się przez skórę (Moffitt i in. 1975). Aplikacja TPA do oka królika na 24 h spowodowała odzyskanie 37% dawki, co wskazuje na wchłanianie związku przez tkanki oczne (Moffitt i in. 1975).

Rozmieszczenie

U szczurów po podaniu TPA przez zgłębnik w stężeniu 0,5%, po 2 h od ekspozycji około 64% dawki TPA pozostało w żołądku, jelitach cienkim, ślepyim, a w mniejszym stopniu także w jelicie grubym. Po 24 h stężenie TPA nie było już wykrywalne (Hosh, Kuretani 1967). Niewielkie ilości związku zanotowano także w innych tkankach, głównie w wątrobie i nerkach. Stwierdzono, że TPA jest szybko wydalany i nie gromadzi się w organizmie (Hoshi, Kuretani 1968).

Po wielokrotnym dożylnym narażeniu na TPA (5 dawek, łącznie $0 \div 10$ mg/kg), mniej niż 1% całkowitej dawki znaleziono w płucach i węzłach chłonnych tchawicy, 24 h po ostatnim podaniu (Hoshi i in. 1968).

Po podaniu dożylnym TPA szczurom do danych dotyczących stężenia TPA w osoczu w funkcji czasu dopasowano model farmakokinetyczny. Średni czas półtrwania u 3 szczurów wynosił $1,2 \pm 0,4$ h, a średnia objętość dystrybucji wynosiła $1,3 \pm 0,3$ l/kg. Po podaniu przez zgłębnik uzyskano dłuższy czas półtrwania (Wolkowski-Tyl i in. 1982).

U szczurów Sprague-Dawley narażonych inhalacyjnie na aerozol TPA w stężeniu 10 mg/m^3 , 6 h dziennie przez 25 kolejnych dni stwierdzono, że TPA nie był wykrywalny we krwi po pierwszych 5 dniach narażenia. Próbkę krwi zostały pobrane dzień przed narażeniem oraz po: 1, 5, 10, 15 i 25 dniach narażenia, a także co 7 dni w ciągu 28-dniowego okresu rekonwalescencji. Wykrywalne stężenia TPA we krwi obserwowano po 10 kolejnych dniach narażenia i stopniowo wzrastały one w pozostałym okresie narażenia. Najwyższe średnie stężenie TPA we krwi wynosiło $2,7 \text{ } \mu\text{g/ml}$ w 25. dniu. Stężenie TPA we krwi było niższe niż $1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ 7 dni po zakończeniu okresu narażenia. Jednakże obecność śladowych ilości TPA wykrywano we krwi przez cały okres rekonwalescencji po zakończeniu narażenia (Amoco Corporation 1989, SIDS 2001).

Kwas tereftalowy jest transportowany przez łożysko u ciężarnych szczurów i rozprowadzany do tkanek płodu. Poziom znacznika izotopowego u płodów był najwyższy w pęcherzu płodowym, z biologicznym okresem półtrwania wynoszącym około 3 h. Stężenia TPA w tkankach płodów były mniej więcej o 2 rzędy wielkości mniejsze niż u matek (Wolkowski-Tyl i in. 1982).

Bezpośrednie podanie do płuc szczurów znaczonego [^{14}C]-TPA 1-procentowego emulgowanego roztworu wodnego w dawce $0 \div 10$ mg TPA, 5-krotnie w ciągu 10 dni nie wykazało dowodów na gromadzenie się znacznika izotopowego w tkance płucnej. Mniej niż 1% podanej dawki było obecne w płucach i węzłach chłonnych tchawicy 24 h po ostatnim podaniu. Znikome ilości znacznika ($<0,1\%$ dawki) zostały wykryte w innych badanych narządach (Hoshi i in. 1968).

Metabolizm

Badania metabolizmu TPA u szczurów wykazały obecność jedynie macierzystego związku, tj. TPA w moczu szczurów, którym podawano z paszą lub

dożylnie czystą substancję, co wskazuje, że TPA nie jest metabolizowany (Heck 1979; Hoshi, Kuretani 1967; Wolkowski Tyl i in. 1982). Analizy za pomocą chromatografii cienkowarstwowej oraz techniką autoradiografii nie wykazały obecności żadnych metabolitów TPA w moczu (Hoshi, Kuretani, 1967, Wolkowski-Tyl i in. 1982).

W badaniu na kurczakach, którym TPA podawano do portalu nerkowego, również nie udało się zidentyfikować żadnych metabolitów TPA (Tremaine, Quebbemann 1985).

Wydalanie

U szczurów, którym podano przez sondę znakowany [^{14}C]-TPA w dawce 85 mg/kg, w ciągu 24 h zostało wydalone odpowiednio z moczem i kałem 93,8% i 3,3% dawki podanej (Hoshi, Kuretani 1967). W wydychanym powietrzu oznaczono aktywność znacznika izotopowego TPA na poziomie 3,3%.

Podobne poziomy odzysku opisali Moffitt i in. (1975). W obu pracach niemal 100-procentowa eliminacja TPA była stwierdzana w ciągu 48 h od podania.

Wydalenie [^{14}C]-TPA z moczem po dożylnym podaniu było równe $101 \pm 8\%$, co wskazuje na praktycznie kompletne wydalenie związku z moczem (Wolkowski-Tyl i in. 1982). Po 48 h po podaniu TPA w pojedynczej dawce dożylnie ($0 \div 10$ mg/kg), szczury wydalą 49 $\div$ 73% całkowitej dawki; 45 $\div$ 66,6% zostało odzyskane w moczu, a 3,4 $\div$ 6,4% w kale (Hoshi i in. 1968).

Dorosłym samcom szczurów podawano dożylnie znakowany [^{14}C]-TPA, zarówno w pojedynczych dawkach wynoszących od 0 do 80 mg/kg, jak i w seriach wielokrotnych, obejmujących łącznie 5 dawek ($0 \div 80$ mg/kg) przez okres 10 dni. Stwierdzono, że ponad 80% pojedynczej dawki [^{14}C]-TPA zostało wydalone z moczem i kałem w ciągu 48 h od podania. Po wielokrotnym podawaniu ponad 89% całkowitej dawki zostało odzyskane z moczem i kałem w ciągu 24 h od ostatniej dawki (Hoshi i in. 1968).

Po infuzji znakowanego [^{14}C]-TPA do krążenia nerkowego kurczaków wykazano, że związek ten jest wydalany z moczem w postaci niezmienionej. Model ten posłużył do dalszej charakterystyki transportu wydalniczego [^{14}C]-TPA – przy szybkości infuzji wynoszącej $0,4 \text{ nmol/min}$, 60% [^{14}C]-TPA, które dotarło do nerki, było bezpośrednio wydalone. Zwiększenie szybkości infuzji do 3 lub

6 $\mu\text{mol}/\text{min}$ spowodowało całkowite usunięcie [^{14}C]-TPA przez nerki (Quebbemann i in. 1982; Tremaine, Quebbemann 1985).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Po spożyciu kwasu tereftalowego (TPA) dochodzi do kwasicy moczowej oraz nasycenia moczu tereftalanem wapnia (Ca-TPA). Kwas tereftalowy może także prowadzić do zwiększonego wydalania wapnia z moczem (hiperkalciuria) i krystalizacji soli wapnia, co skutkuje tworzeniem się kamieni w pęcherzu moczowym. Drażnienie dróg moczowych spowodowane obecnością kamieni może prowadzić do zmian patologicznych, proliferacji komórek regeneracyjnych, hiperplazji, a w końcu do nowotworów pęcherza u szczurów karmionych TPA w dawce 1000 mg/kg mc./dzień. Brak efektów po zastosowaniu dawki 142 mg/kg mc./dzień potwierdza teorię istnienia progu nasycenia moczu Ca-TP, który jest kluczowy dla tworzenia kamieni (Ball i in. 2012; Cohen i in. 2002; Heck, Tyl 1985).

Wielu badaczy skupiło się na fizycznych cechach kamieni pęcherza u gryzoni narażonych na TPA oraz na mechanizmach powstawania kamieni indukowanych przez TPA (Cui i in. 2006a; Chin i in. 1981; Dai i in. 2005a; 2005c; Heck, Tyl 1985; Heck 1979; 1981). Heck (1979) oraz Chin i in. (1981) zbadali skład kamieni z pęcherza moczowego, identyfikując Ca-TPA jako główny ich składnik u szczurów. Heck (1981) badał równowagę składników wymaganych do tworzenia się kamieni oraz rozpuszczalność Ca-TPA, stwierdzając, że stężenie TPA w moczach wynoszące około 100 mM indukuje tworzenie się kamieni u szczurów. Heck (1979) oszacował, że do nasycenia próbki ludzkiego moczu wymagane jest stężenie TPA wynoszące 8 mM, co odpowiadałoby narażeniu na 2,4 g TPA/dzień. Hiperkalciuria i kwasica moczowa zostały również określone jako niezbędne, choć niewystarczające, do indukcji tworzenia kamieni przez TPA (Wolkowski-Tyl, Chin 1983).

Inne eksperymenty koncentrowały się na mechanizmach zachodzących po powstaniu kamieni, które mogą prowadzić do nowotworów. Hiperplastyczne zmiany w pęcherzu szczurów narażonych na TPA wykazywały podwyższone wskaźniki białka jądrowego PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), kluczowego dla replikacji i naprawy DNA. Obserwowano także wzrost poziomów

białka regulacyjnego cykliny D1 i kinazy CDK4, które kontrolują progresję cyklu komórkowego z fazy G1 do S (Cui i in. 2006b). Żaden z nowotworów komórek przejściowych (TCC, ang. *transitional cell carcinoma*) nie wykazał mutacji w genach *K-ras* i *H-ras*, co sugeruje, że narażenie na TPA może prowadzić do zmian w szlaku przeciwnowotworowym, takich jak modyfikacje białka Rb (Cui i in. 2006b). Autorzy ci przeprowadzili również badania proteomiczne, które zidentyfikowały potencjalne białka zaangażowane w indukowaną przez TPA kancerogenezę, stwierdzając podwyższenie poziomu prostaglandyny E2 (PGE2), związanej z progresją nowotworów, ponieważ mogą stymulować wzrost komórek nowotworowych, angiogenezę i hamować odpowiedź immunologiczną przeciwnowotworową w tkankach (Shi i in. 2006).

Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska oceniła, że zwiększona replikacja komórek w nabłonku pęcherza moczowego spowodowana przewlekłym urazem fizycznym była prawdopodobnie głównym czynnikiem w mechanizmie powstawania guzów pęcherza przez kamienie (EPA 2020). Nowotwory pęcherza występowały głównie w grupach otrzymujących wysokie dawki TPA i zazwyczaj, choć nie zawsze, były związane z występowaniem kamieni. Możliwe, że kamienie zostały wydalone lub zgubione podczas przetwarzania tkanek do oceny histopatologicznej, co mogłoby tłumaczyć ich brak w niektórych przypadkach nowotworów. Tworzenie się kamieni w pęcherzu moczowym jest przykładem efektu progowego.

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Wykazano, że kwas tereftalowy (TPA) wpływa na biomarkery surowicy wskazujące na uszkodzenie wątroby i nerek u pracowników narażonych łącznie na TPA, glikol etylenowy (EG) i Dowterm (DOW, mieszanina bifenylu i jego tlenku) w korporacji włókienniczo-chemicznej w Chinach. Poziomy gamma-glutamylotranspeptydazy (GGT) oraz całkowitego kwasu żółciowego (TBA) w grupie mężczyzn narażonych na TPA + EG + DOW wynosiły odpowiednio: $35,45 \pm 16,09$ U/l i $10,29 \pm 6,76$ $\mu\text{mol}/\text{l}$, a poziomy aminotransferazy alaninowej (ALT) i TBA w grupie kobiet narażonych na TPA + EG + DOW wynosiły odpowiednio: $30,68 \pm 8,58$ U/l i $9,53 \pm 6,63$ $\mu\text{mol}/\text{l}$, co było znacząco wyższe niż w grupach kontrolnych

($p < 0,01$). Wartości *N*-acetylo- β -D-glukozaaminidazy (NAG) i β -2-mikroglobuliny (β_2 -MG) w grupie narażonej łącznie na TPA + EG + DOW zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet wzrosły znacząco w porównaniu z grupami TPA, DOW i kontrolną ($p < 0,05$, $p < 0,01$), osiągając odpowiednio $5,68 \pm 4,01$ U/mmol kreatyniny i $23,49 \pm 13,44$ mg/mol kreatyniny oraz $6,68 \pm 4,68$ U/mmol kreatyniny i $22,80 \pm 13,00$ mg/mol kreatyniny. Analiza regresji wskazała, że zarówno uszkodzenia wątroby, jak i nerek u pracowników były wyraźnie skorelowane z ich narażeniem na TPA, EG i DOW po uwzględnieniu czynników interferujących, takich jak płeć, palenie, picie alkoholu itp. ($p < 0,001$). Wyciągnięto wnioski, że należy uwzględnić wspólne działanie TPA, EG i/lub DOW w przypadku uszkodzenia wątroby i nerek wśród pracowników. Poziomy ALT, GGT, TBA w surowicy oraz NAG i β_2 -MG w moczu powinny być przyjęte jako biomarkery uszkodzenia wątroby i nerek (Yao i in. 2002).

Kwas tereftalowy okazał się potencjalizować działanie biologiczne substancji, takich jak antybiotyki, tiamina i sulfonamidy (Hoshi i in. 1967). Podawanie 0,5% TPA w paszy przez 1 tydzień szczurom i królikom, leczonym drogą pokarmową sulfadimetoksyną (antybiotyk sulfonamidowy, stosowany w leczeniu zakażeń bakteryjnych), prowadziło do wzrostu poziomów leku we krwi, w wątrobie i jelicie. Biologiczny okres półtrwania sulfadimetoksyny we krwi był wydłużony, a tempo wydalania w moczu było zmniejszone (Hoshi i in. 1967).

ZALEŻNOŚĆ EFEKTU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność skutków toksycznych od wielkości narażenia przewlekłego u zwierząt opisano w tabeli 8.

Poniżej zestawiono wartości NOAEL i LOAEL wyznaczone w badaniach *per os* na szczurach dla działania układowego TPA, manifestującego się zmniejszeniem masy ciała oraz powstawaniem kamieni w pęcherzu moczowym. Najmniejsza wyznaczona wartość LOAEL w eksperymencie 90-dniowym wynosiła 2840 mg/kg mc./dzień (Ball i in. 2012), a w badaniu 2-letnim 1470 mg/kg mc./dzień (Gross 1977) (tab. 14). W tabeli 14 zestawiono wartości NOAEL i LOAEL wyznaczone w badaniach podprzewlekłych i przewlekłych na szczurach dla

układowego, nienowotworowego działania TPA podawanego drogą pokarmową.

W eksperymentach inhalacyjnych (Chemical Manufacturers Association 2000) na ciężarnych szczurach Sprague-Dawley, które były narażane na aerozol cząstek TPA poprzez inhalację całego ciała w $6 \div 15$ dnia ciąży wyznaczono wartość NOAEL wynoszącą $10,4$ mg/m³ dla skutków u matek i płodu.

Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska uznała 2 doświadczenia dotyczące przewlekłego działania TPA (Cui i in. 2006a; Gross, 1977) za wystarczające do wyznaczenia przewlekłej, tymczasowej dawki odniesienia (p-RfD, ang. *provisional reference dose*) (EPA 2020). Jest to wskaźnik, który określa poziom ekspozycji, który nie powinien wywoływać niepożądanych efektów zdrowotnych u ludzi, ale może ulec zmianie w miarę pojawiania się nowych informacji lub dokładniejszych badań. Wartości NOAEL i LOAEL wynoszące odpowiednio 829 mg/kg mc./dzień i 4280 mg/kg mc./dzień zostały przyjęte na podstawie zidentyfikowanej zwiększonej hiperplazji pęcherza moczowego, zwiększonej masy pęcherza moczowego oraz zmniejszonej masy ciała u samców szczurów Wistar narażonych na TPA w paszy przez 22 tygodnie (Cui i in. 2006a). Z kolei w 2-letnim eksperymencie przeprowadzonym przez Grossa (1977) efekty ze strony układu moczowego (kamienie, nefropatia, zwiększone poziomy mocznika we krwi) zaobserwowano tylko po otrzymaniu wysokiej dawki u obu płci szczurów Wistar ($3680 \div 4210$ mg/kg mc./dzień). Najbardziej wrażliwym efektem był spadek masy ciała u samców szczurów, co zdefiniowało LOAEL i NOAEL odpowiednio na poziomach 1470 mg/kg mc./dzień i 736 mg/kg mc./dzień. wychodząc z tych doświadczeń EPA oszacowała punkt wyjścia (POD, ang. *point of departure*) do wyliczenia dawek referencyjnych na podstawie standardowej wartości progowej odpowiedzi (BMR, ang. *benchmark response*) wynoszącej 10% dodatkowego ryzyka dla zmniejszonej masy ciała zaobserwowanej w 2-letnim badaniu na samcach i samicach szczurów Wistar (Gross 1977) lub na podstawie wartości NOAEL dla zwiększonej hiperplazji pęcherza moczowego u samców oraz wzrostu względnej i absolutnej masy pęcherza moczowego (Cui i in. 2006a). Zmiana masy ciała u dorosłych zwierząt na poziomie 10% jest ogólnie uważana za biologicznie istotną (EPA 2020). Dane eksperymentalne zostały

Tabela 14. Zestawienie wartości NOAEL i LOAEL wyznaczonych w badaniach podprzewlekłych i przewlekłych na szczurach dla układowego, nienowotworowego działania kwasu tereftalowego (TPA) podawanego drogą pokarmową
Table 14. Summary of NOAEL and LOAEL orally values derived from subchronic and chronic rat studies for the systemic, non-carcinogenic effects of terephthalic acid (TPA) administered via oral exposure

Czas trwania badania	Gatunek	NOAEL	LOAEL	Skutek krytyczny	Piśmiennictwo
Narażenie podprzewlekłe (90 dni)	Szczury CD	1260 mg/kg mc./dzień	2840 mg/kg mc./dzień	istotny spadek masy ciała (>10%)	Ball i in. 2012
Narażenie podprzewlekłe (90 dni)	Szczury Wistar i CD	–	3100 mg/kg mc./dzień	występowanie kamieni w pęcherzu moczowym	Ball i in. 2012
Narażenie przewlekłe (22 tygodnie)	Szczury Wistar	829 mg/kg mc./dzień	4280 mg/kg mc./dzień	istotne zmniejszenie masy ciała (>10%), zwiększenie względnej i bezwzględnej masy pęcherza moczowego oraz zwiększenie częstości występowania prostych hiperplazji w pęcherzu moczowym	Cui i in. 2006a
Narażenie podprzewlekłe (90 dni)	Szczury S-D	906 mg/kg mc./dzień	4550 mg/kg mc./dzień	występowanie kamieni w pęcherzu moczowym	Dai i in. 2005c; Dai i in. 2006a
Narażenie podprzewlekłe (90 dni)	Szczury Albino	1220 mg/kg mc./dzień, ♂; 1456 mg/kg mc./dzień, ♀	3837 mg/kg mc./dzień, ♂; 4600 mg/kg mc./dzień, ♀	występowanie kamieni w pęcherzu moczowym	Amoco Co 1970
Narażenie przewlekłe (48 tygodni)	Szczury Wistar	–	3680 mg/kg mc./dzień	występowanie kamieni w pęcherzu moczowym	Cui i in. 2007; Cui i in. 2006b; Shi i in. 2006
Narażenie przewlekłe (2 lata)	Szczury Wistar	736 mg/kg mc./dzień	1470 mg/kg mc./dzień	10-procentowy spadek masy ciała	Gross 1977
Narażenie przewlekłe (2 lata)	Szczury F344	995,4 mg/kg mc./dzień	–	występowanie kamieni w pęcherzu moczowym	Preache 1983; Grubbs 1979

dopasowane do wszystkich modeli dychotomicznych BMDS (ang. *Benchmark Dose Software*) oprogramowania stosowanego w ocenie ryzyka toksykologicznego przez EPA (wersja 2.7). Najlepiej dopasowany okazał się model LogLogistic. Dane te w przeliczeniu na dawkę ekwiwalentną dla człowieka przedstawiono w tabeli 15.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Istniejące wartości NDS i DSB

W Polsce dotychczas nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla kwasu tereftalowego (TPA) w powietrzu środowiska pracy. W tabeli 16 zamieszczono wartości normatywne obowiązujące w innych państwach.

Producent TPA w Polsce (PKN Orlen) wskazuje w karcie charakterystyki substancji następujące wartości DNEL (*Derived No-Effect Level* – pochodny poziom, przy którym nie obserwuje się szkodliwych skutków zdrowotnych u ludzi) dla pracownika poprzez wdychanie i przez skórę (Karta charakterystyki 2023):

- DNELpracownik (skóra, toksyczność przewlekła) 67 mg/kg mc./dzień
- DNELpracownik (wdychanie, toksyczność przewlekła) 23 mg/m³

Uzasadnienie wartości MAK (MAK 2006; 2009; 2015)

W Niemczech ustalenie wartości dopuszczalnej dla TPA wywołało wiele kontrowersji. Wartość dopuszczalna TPA została ustalona w 2006 r. na poziomie 0,1 mg/m³, a następnie w 2012 r. została zwiększona do 5 mg/m³.

W 2006 r. podstawę do ustalenia wartości MAK stanowiła praca Amoco Corporation z 1987 r. (MAK 2006; 2009). W trakcie 4-tygodniowej ekspozycji szczurów na TPA stwierdzono degenerację

Tabela 15. Oszacowane dawki ekwiwalentne dla człowieka dla różnych skutków działania kwasu tereftalowego (TPA)
Table 15. Estimated human equivalent doses for different effects of terephthalic acid (TPA)

Punkt końcowy (<i>endpoint</i>)	POD, mg/kg mc. /dzień
Zwiększona hiperplazja pęcherza moczowego u samców	95,0 (BMDL ₁₀) 194,0 (BMD ₁₀)
Zmniejszenie masy ciała u samców szczura	196,0 (NOAEL)
Zwiększenie absolutnej masy pęcherza u samców szczura	196,0 (NOAEL)
Zwiększenie względnej masy pęcherza u samców szczura	196,0 (NOAEL)

nabłonka tchawicy (zależną od poziomy narażenia), występującą już od stężenia 0,52 mg/m³. Zaskakujące jest, że zmiany miejscowe wystąpiły tylko w tchawicy, a nie w jamie nosowej. Ponieważ szczury oddychają tylko przez nos, można by się spodziewać przynajmniej częściowego osadzania się cząstek i związanych z tym uszkodzeń nabłonka nosa, jednak nie zaobserwowano tego efektu. Szczegółowy opis zmian w nabłonku oddechowym tchawicy obejmuje zmniejszenie liczby komórek rzęskowych, pewne nieuporządkowanie komórek w warstwie nabłonka oraz miejscowe łagodne rozrosty nabłonka. Stopień tych zmian nie zwiększa się wraz z dawką ekspozycji, chociaż ich częstość wzrasta. Stopień „minimalny” oznacza, że wystąpiło bardzo małe odstępstwo od normy. Niemniej jednak występuje zmiana związana z substancją, która wykazuje specyficzną dla dawki progresję efektów. W kontekście niezmiennych parametrów ogólnoustrojowych (w szczególności parametrach krwi i fizjologii oddechowej) można uznać oba niższe poziomy stężeń stosowane w eksperymencie tj. 0,52 mg/m³ i 1,19 mg/m³ za poziomy o „małym” efekcie. Najniższe stężenie wynoszące 0,52 mg/m³ było punktem wyjścia do ustalenia wartości MAK. Aby uwzględnić fakt, że badanie dotyczące inhalacji trwało tylko 4 tygodnie, wartość MAK dla TPA ustalono na poziomie 0,1 mg/m³. Ponieważ wartość MAK jest ustalana na podstawie efektów miejscowych, przyjęto, że istnieje ograniczenie pikowe zgodnie z kategorią I, ze współczynnikiem przekroczenia wynoszącym 2. TPA przez skórę jest niewielkie. Również toksyczność ogólnoustrojowa jest niewielka. Dlatego TPA nie jest oznaczany jako substancja wchłaniająca się przez skórę („H”). Nie ma również danych uzasadniających oznaczenie jako „substancja uczulająca”. Kwas tereftalowy nie wykazał działania genotoksycznego w dostępnych badaniach. W eksperymentach *per os* na szczurach, w których również potomstwo było ekspozowane w zakresie wysokiej dawki (≥ 1000 mg/kg mc./dzień) zaobserwowano zwiększoną śmiertelność

potomstwa. Kwas tereftalowy sklasyfikowano zatem w grupie zagrożeń dla przebiegu ciąży do kategorii D (istnieją dowody na ryzyko uszkodzenia płodu) z tendencją do grupy C (może stanowić potencjalne ryzyko dla płodu), ponieważ przy zachowaniu wartości MAK obciążenie substancją jest wyraźnie poniżej progu działania, ale badania były prowadzone tylko na 1 gatunku zwierząt.

W 2012 r. przeprowadzono weryfikację wartości MAK ustalonej w 2006 r. (MAK 2015). W nowym 28dniowym doświadczeniu inhalacyjnym, z rozszerzonym zakresem badań, na szczurach Sprague Dawley, które narażano na aerozol TPA w stężeniach do 10 mg/m³, tylko przez nos, nie wystąpiły żadne efekty (w płucach, krtani, tchawicy ani w obszarze nosa) spowodowane narażeniem ani u zwierząt badanych bezpośrednio po zakończeniu ekspozycji, ani u tych obserwowanych po ekspozycji (Plastics Europe 2008). W związku z tym oceniono, że zmiany opisane w tchawicy w badaniu Amoco (1987) nie zostały powtórzone w nowym eksperymencie. Przyjęto je więc jako przypadkowe zdarzenie. Wartość MAK wyprowadzono na podstawie NOAEC tj. najwyższego przetestowanego stężenia wynoszącego 10 mg/m³. Wzięto także pod uwagę, że nie jest znana wartość LOAEC, stąd rzeczywisty NOAEC może więc być wyższy oraz fakt, że badania obejmowały ekspozycję przez 4 tygodnie. Brak jest informacji dotyczących skutków przewlekłego narażenia drogą inhalacyjną. Porównano działanie TPA do działania podobnie silnego kwasu, tj. kwasu mrówkowego (pKa: 3,75), dla którego wartość NOAEC dla skutków działania miejscowego, wyznaczona w eksperymencie 90-dniowym wynosi 32 ml/m³. NOAEC 10 mg/m³ TPA stanowi około 1/20 wartości w przeliczeniu molowym. Dlatego można oczekiwać, że NOAEC 10 mg/m³ również będzie dotyczył długotrwałej ekspozycji, zwłaszcza że TPA jest tylko lekko drażniący dla oka, w przeciwieństwie do silnie drażniącego kwasu mrówkowego. Dlatego też wartość MAK dla TPA ustalono na poziomie 5 mg/m³.

Tabela 16. Wartości normatywów higienicznych TPA w różnych państwach (Guide to Occupational Exposure Values Compiled by ACGIH 2024; GESTIS 2024; MAK 2015; List of MAK and BAT Values 2022)

Table 16. Occupational exposure limit values for TPA in different countries (Guide to Occupational Exposure Values compiled by ACGIH 2024; GESTIS 2024; MAK 2015; List of MAK and BAT Values 2022)

Państwo	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSch, mg/m ³
Belgia	10	–
Kanada	10	–
Dania	10	20
Niemcy (AGS)	5. frakcja wdychalna aerozolu	10. frakcja wdychalna aerozolu 15-minutowa średnia wartość
Niemcy (DFG)	5. frakcja wdychalna aerozolu Grupa C – Uszkodzenie zarodka lub płodu jest mało prawdopodobne, jeśli wartość MAK lub BAT jest przestrzegana	10 frakcja wdychalna aerozolu 15-minutowa średnia wartość
Irlandia	10	–
Hiszpania	5	10 (1)
Szwajcaria	5. frakcja wdychalna aerozolu	10. frakcja wdychalna aerozolu
ACGIH (2024)	10	–

Uzasadnienie ACGIH

Kwas tereftalowy można uznać za praktycznie nietoksyczny w badaniach toksyczności ostrej na zwierzętach, przy czym jedyny potwierdzony efekt ogranicza się do rozwoju kamieni w pęcherzu moczowym i w następstwie tego skutku rozwoju nowotworów pęcherza (uważanych za wtórne do rozwoju kamieni) po spożyciu bardzo wysokich dawek TPA nawet przez krótki czas tj. 2 tygodnie. Istniejące dane sugerują, że kwas tereftalowy jest szybko usuwany i nie gromadzi się preferencyjnie w żadnych tkankach ani narządach. Ustalono wartość TLVTWA dla TPA wynoszącą 10 mg/m³, aby zapobiec wystąpieniu skutków narażenia na kwas tereftalowy wynikającego z działania na drogi oddechowe lub moczowe, opartą na obserwowanych efektach w eksperymentach na zwierzętach. Nie zastosowano oznaczenia rakotwórczości, ponieważ dostępne dane dotyczące potencjalnej rakotwórczości uznano za niejednoznaczne. Dostępne dane nie pozwalają na zalecenie notacji dla wchłaniania TPA przez skórę lub wartości chwilowej.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Skutkiem krytycznym działania TPA u zwierząt po spożyciu w wysokich dawkach jest działanie układowe manifestujące się istotnym zmniejszeniem masy ciała, rozwojem kamieni w pęcherzu moczowym i w następstwie tego skutku możliwym rozwojem nowotworów pęcherza moczowego.

U ludzi nie stwierdzono kamicy nerkowej i nowotworów pęcherza moczowego w przypadku narażenia zawodowego. Zaobserwowano istotny spadek stężenia albuminy w surowicy oraz wzrost poziomu mikroglobuliny β_2 -MG w moczu w kohorcie 141 pracowników narażonych na pył TPA, którzy pracowali średnio przez 6,2 lat w chińskich fabrykach włókien, a obliczone narażenie skumulowane pracowników na TPA dochodziło do ok. 80 mg/m³ TPA (rozmiar cząstek wyrażony jako MMAD wynosił: <2 μ m – 81%, 2 ÷ 5 μ m – 10% i >5 μ m – 9%) (Dai i in. 2005b).

W przypadku narażenia inhalacyjnego na aerozol TPA skutkiem krytycznym jest działanie na drogi oddechowe:

- u ludzi (Dai i in. 2005b) wyniki testów czynnościowych płuc przeprowadzonych u pracowników narażonych na TPA w stężeniu skumulowanym pyłu całkowitego ok. 50 mg/m³ oraz ok. 80 mg/m³ nie różniły się istotnie w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono niewielki, ale istotny wzrost poziomu aktywności enzymu konwertującego angiotensynę (SACE) w obu stężeniach. Badanie radiologiczne nie wykazało istotnych zmian. Z kolei w pracy Li i in. (1999), której szczegóły nie są dostępne, u 140 pracowników narażonych na TPA w fabryce włókien na terenie Chin stwierdzono znaczący spadek wskaźników funkcji płuc w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$),

a analiza regresji wielokrotnej wykazała, że spadek ten był związany ze zwiększonym stężeniem TPA (nie podano jakim). Li i in. (1999) zaproponowali dopuszczalny limit narażenia zawodowego na pył całkowity TPA wynoszący 4,30 mg/m³, jednak szczegóły nie są dostępne;

- w eksperymentach na zwierzętach nie zaobserwowano ogólnych objawów toksycznych związanych z narażeniem ani makroskopowych, ani histologicznych zmian patologicznych w płucach, krtani, tchawicy i tkankach nosa u samców i samic szczurów S-D (10/grupa/płec), narażonych na aerozol TPA w stężeniach 0 (kontrola), 1 mg/m³, 3 mg/m³ lub 10 mg/m³ wyłącznie przez nos przez 28 dni (stosowano aerozol TPA o średniej średnicy cząstek wynoszącej odpowiednio 3,25 µm, 2,87 µm lub 2,94 µm) (Plastics Europe 2008 cyt. w MAK-Commission 2015; Amoco Co 1989; Lewis i in. 1982; Heck, Tyl 1985). Przyjmując za NOAEC wartość stężenia 10 mg/m³ wyznaczoną w tym badaniu dla działania na drogi oddechowe, obliczono wartość NDS po zastosowaniu współczynników niepewności:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \frac{\text{NOAEC}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{1750 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 3 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2} = \\ &= \frac{1750 \text{ mg/m}^3}{24} = 2,9 \text{ mg/m}^3 \end{aligned}$$

gdzie:

- $A = 1$ – współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi (w badaniach na ludziach nie zaobserwowano różnic we wrażliwościach osobniczych),
- $B = 1$ – różnice międzygatunkowe i droga podania (eksperyment inhalacyjny na szczurach),
- $C = 1$ – przejście z narażenia krótkoterminowego do przewlekłego (eksperyment 4 tygodnie), (działanie drażniące pyłu, długość badania nie jest istotna)
- $D = 1$ – zastosowano wartość NOAEC,
- $E = 2$ – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych) – niejednoznaczne wyniki badań rakotwórczości i reprotoksyczności drogą pokarmową:
 - zwiększona hiperplazja pęcherza moczowego u samców szczurów BMDL₁₀
 - 95,0 mg/kg mc./dzień,

- biologicznie istotnie zmniejszona masa ciała potomstwa (<5%) na PND 21: LOAEL – 17,6 mg/kg mc./dzień, BMDL₀₅ – 54,6 mg/kg mc./dzień,
- spadek parametrów ruchliwości plemników: LOAEL – 1000 mg/kg mc./dzień,
- w badaniach inhalacyjnych (Chemical Manufacturers Association 2000) na ciężarnych szczurach Sprague-Dawley, które były narażane na aerozol TPA wyznaczono wartość NOAEL wynoszącą 10,40 mg/m³ dla skutków zarówno u matek, jak i u płodu.

Można obliczyć, że ekwiwalentne stężenie HBMD₁₀ dla człowieka, obliczone na podstawie BMDL₁₀ na poziomie 95,0 mg/kg mc./dzień dla zwiększonej hiperplazji pęcherza moczowego u samców szczurów, wynosi 665 mg/m³ i jest ok. 133 razy większe od wartości NDS proponowanej na podstawie badań inhalacyjnych na gryzoniach tj. 5 mg/m³.

Z kolei wartość stężenia ekwiwalentnego do wartości LOAEL na poziomie 1470 mg/kg mc./dzień ustalonej na podstawie działania układowego, które przejawiało się tworzeniem kamieni w pęcherzu moczowym oraz zmniejszeniem masy ciała (Gross 1977) wynosi 10290 mg/m³ i jest ok. 2000 razy większa od propozycji wartości NDS.

Można zatem przyjąć, że wyznaczona na podstawie eksperymentu inhalacyjnego na szczurach wartość NDS równa 5 mg/m³ będzie chronić także przed potencjalnym działaniem układowym TPA przejawiającym się zmniejszeniem masy ciała i tworzeniem kamieni w pęcherzu moczowym, a w konsekwencji hiperplazją pęcherza moczowego.

Przegląd danych literaturowych wskazuje, że skutki narażenia na TPA obserwowano w przypadku wdychania pyłu całkowitego. Proponuje się zatem ustalić NDS dla frakcji wdychalnej TPA na poziomie 5 mg/m³ i nie ustalać NDSch. Nie ma podstaw do przypisania notacji „skóra”.

Wykaz skrótów stosowanych w dokumentacji wraz z objaśnieniami

α1-MG	α1-mikroglobulina (ang. <i>α1-microglobulin</i>)	DNEL	pochodny poziom niepowodujący zmian (ang. <i>derived no-effect level</i>)
ALP	fosfataza alkaliczna (ang. <i>alkaline phosphatase</i>)	DOW	Dowterm – mieszanina bifenylu i jego tlenku
ALT	aminotransferaza alaninowa (ang. <i>alanine aminotransferase</i>)	ECHA	Europejska Agencja Chemikaliów (ang. <i>European Chemicals Agency</i>)
ANOVA	analiza wariancji (ang. <i>analysis of variance</i>)	EG	glikol etylenowy (ang. <i>ethylene glycol</i>)
AST	aminotransferaza asparaginianowa (ang. <i>aspartate aminotransferase</i>)	FEL	poziom efektu bezpośredniego (ang. <i>Frank Effect Level</i>)
β ₂ -MG	β ₂ -mikroglobulina (ang. <i>β₂-microglobulin</i>)	FEV ₁	natężona objętość wydechu pierwszosekundowa (ang. <i>forced expiratory volume in 1 second</i>)
BAL	popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (ang. <i>bronchoalveolar lavage</i>)	FVC	natężona pojemność życiowa (ang. <i>forced vital capacity</i>)
BAT	wartość dopuszczalna w materiale biologicznym (niem. <i>Biologischer Arbeitsstoff-Toleranzwert</i>)	GD	dzień ciąży (ang. <i>gestation day</i>)
BCF	Częstotliwość skrzyżowania linii ruchu Beat-cross frequency	GGT	gamma-glutamylotransferaza (ang. <i>gamma-glutamyltransferase</i>)
BMR	standardowa wartość progowa odpowiedzi (ang. <i>benchmark response</i>)	HCT	hematokryt (ang. <i>hematocrit</i>)
BMDL	dolna granica dawki wyznaczającej (ang. <i>benchmark dose lower confidence limit</i>)	HECER	przeliczone stężenia dla człowieka (efekty poza układem oddechowym) (ang. <i>human equivalent concentrations for extrapulmonary effects</i>)
BUN	azot mocznikowy we krwi (ang. <i>blood urea nitrogen</i>)	IGS	indeks gonadosomatyczny (ang. <i>gonadosomatic index</i>)
C8	węglowodory aromatyczne o 8 atomach węgla (ang. <i>aromatic hydrocarbons with 8 carbon atoms</i>)	IUPAC	Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (ang. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
CA	aberracja chromosomowa (ang. <i>chromosomal aberration</i>)	LC ₅₀	mediana stężenia śmiertelnego (ang. <i>median lethal concentration</i>)
CAS	unikalny numer przypisany substancji (ang. <i>Chemical Abstracts Service numer</i>)	LD ₅₀	mediana dawki śmiertelnej (ang. <i>median lethal dose</i>)
CASA	komputerowa analiza nasienia (ang. <i>komputer-aided sperm analysis</i>)	LDH	dehydrogenaza mleczanowa (ang. <i>lactate dehydrogenase</i>)
CLP	rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (ang. <i>Classification, Labelling and Packaging Regulation</i>)	LIN	linearyczność (ang. <i>linearity</i>)
		LOAEL	najniższy poziom, przy którym obserwuje się szkodliwe skutki (ang. <i>lowest observed adverse effect level</i>)
		log Pow	współczynnik podziału oktanol-woda (ang. <i>octanol-water partition coefficient</i>)
		NOAEC	stężenie, przy którym nie obserwuje się szkodliwych skutków (ang. <i>no observed adverse effect concentration</i>)
COD	chemiczne zapotrzebowanie tlenu (ang. <i>chemical oxygen demand</i>)		
CTA	surowy kwas tereftalowy (ang. <i>crude terephthalic acid</i>)	MAK	najwyższe dopuszczalne stężenie (niem. <i>Maximale Arbeitsplatz-Konzentration</i>)

MEF(75/50/25)	Maksymalny przepływ wydechowy (przy % FVC) (ang. <i>maximal expiratory flow</i>)	PTFE	politereftalan etenu – polimer żaroodporny (ang. <i>polyethylene terephthalate – heat-resistant polymer</i>)
MMAD	mediana średnicy aerodynamicznej masy (ang. <i>mass median aerodynamic diameter</i>)	SACE	aktywność konwertazy angiotensyny w surowicy (ang. <i>serum angiotensin-converting enzyme</i>)
MN	mikrojądra (ang. <i>micronucleus</i>)	SDH	dehydrogenaza sorbitolu (ang. <i>sorbitol dehydrogenase</i>)
MVV	Maksymalna wentylacja dowolna (ang. <i>maximal voluntary ventilation</i>)	STR	procent prostoliniowości (ang. <i>straightness</i>)
NAG	N-acetylo-beta-D-glukozaaminidaza (ang. <i>N-acetyl-beta-D-glucosaminidase</i>)	TBA	całkowity kwas żółciowy (ang. <i>total bile acids</i>)
NOAEL	poziom, przy którym nie obserwuje się szkodliwych skutków (ang. <i>no observed adverse effect level</i>)	TCC	rak z komórek przejściowych (ang. <i>transitional cell carcinoma</i>)
OECD	Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (ang. <i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>)	TPA/TA	kwas tereftalowy (ang. <i>terephthalic acid</i>)
OEL	wartość dopuszczalna narażenia zawodowego (ang. <i>occupational exposure limit</i>)	TLV-TWA	wartość progowa wg ACGIH – średnia ważona w czasie (ang. <i>threshold limit value – time weighted average</i>)
QSAR	Ilościowa zależność struktura-aktywność (ang. <i>quantitative structure-activity relationship</i>)	TWA	średnia ważona (stężenie) (ang. <i>ime-weighted average</i>)
PCNA	białko jądrowe proliferujących komórek (ang. <i>proliferating cell nuclear antygen</i>)	UDS	nieplanowa synteza DNA (niem. <i>Unscheduled DNA Synthesis</i>)
PEF / PEFR	szczytowy przepływ wydechowy (ang. <i>peak expiratory flow (rate)</i>)	US EPA	Agencja Ochrony Środowiska – USA (ang. <i>United States Environmental Protection Agency</i>)
PET	politereftalan etylenu (ang. <i>polyethylene terephthalate</i>)	VC	pojemność życiowa płuc (ang. <i>vital capacity</i>)
pKa	stała dysocjacji (ang. <i>acid dissociation constant</i>)	VSL	prędkość ruchu na prostej linii (plemniki) (ang. <i>velocity on a straight line</i>)
PND	dzień po urodzeniu (ang. <i>Post-Natal Day</i>)	WE/EC	Wspólnota Europejska – numer rejestru (ang. <i>European Community – number</i>)
POD	punkt wyjścia (w ocenie ryzyka) (ang. <i>Point of Departure</i>)		
p-RfD	tymczasowa dawka odniesienia (ang. <i>provisional reference dose</i>)		

PIŚMIENNICTWO

- ACGIH (2001). TLV Documentation on CD. Terephthalic acid. Cincinnati Ohio.
- Amoco Chemicals Corporation (1970). Fifteen week subacute oral toxicity of terephthalic acid – albino rats. Lifestream Laboratories, 26 march 1970. Chicago, IL, USA [cyt. za MAK 2015].
- Amoco Chemicals Corporation (1972). Subacute feeding study (13-week) in rats with dimethyl terephthalate (DMT), isophthalic acid (IA), and terephthalic acid (TA). Food and Drug Research Laboratories, 30 march 1972. Chicago, IL, USA [cyt. za MAK 2015].
- Amoco Corporation (1973). 4-Week Inhalation Toxicity Study of Terephthalic Acid (TA) In Rats. Conducted by IIT Research Institute. IITRI Study #1104 [cyt. za SIDS 2001].
- Amoco Corporation (1975). Acute Oral Toxicity Study with Terephthalic Acid in Rats. Conducted by Industrial Bio Test Laboratories, Inc. IBT Study #601-06339 [cyt. za SIDS 2001].
- Amoco Corporation (1987a). Acute inhalation toxicity study of purified terephthalic acid in rats. IIT Research Institute, Study No. 1158. Chicago, IL, USA [cyt. za MAK 2015].
- Amoco Corporation (1987b). Four-week inhalation toxicity study of terephthalic acid in rats. IIT Research Institute, Study No. 1104. Chicago, IL, USA [cyt. za MAK 2015].

- Amoco Corporation (1989). Time-course analysis of terephthalic acid concentration in blood and urine of rats following multiple inhalation exposures. IIT Research Institute, Study No. 1448A, Amoco Corporation, Chicago, IL, USA, [cyt. za MAK 2015].
- Amoco Corporation (1990a). Abbreviated primary eye irritancy study of terephthalic acid in rabbits. IIT Research Institute, Study No. 1555. Chicago, IL, USA [cyt. za MAK 2015].
- Amoco Corporation (1990b). Abbreviated acute dermal irritancy / corrosivity study of terephthalic acid in rabbits. IIT Research Institute, Study No. 1556, Amoco Corporation, Chicago, IL, USA, [cyt. za MAK 2015].
- Amoco Corporation (1990c). Acute dermal toxicity study of terephthalic acid in rabbits. IIT Research Institute, Study No. 1558, Amoco Corporation, Chicago, IL, USA, [cyt. za MAK 2015].
- Ball G.L., McLellan C.J., Bhat V.S. (2012). Toxicological review and oral risk assessment of terephthalic acid (TPA) and its esters: A category approach. *Crit. Rev. Toxicol.* 42(1), 28–67.
- Bang D.Y., Lee I.K., Lee B.M. (2011). Toxicological characterization of phthalic acid. *Toxicol Res.* 27, 191–203. DOI: 10.5487/TR.2011.27.4.191.
- BG Chemie (Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie) (1990). Terephthalic acid. W: Toxicological evaluations, potential health hazards of existing chemicals. Volume 3. Heidelberg: Springer Verlag.
- BP Amoco (2001). Mammalian erythrocyte micronucleus test. BioReliance Study No. AA41MJ.123.BTL, Naperville, IL, USA, [cyt. za MAK 2015].
- Brooks A.L., Seiler F.A., Hanson R.L. i in. (1989). In vitro Genotoxicity of Dyes Present in Colored Smoke Munitions. *Environ. Molec. Mutagen.* 13, 303–313.
- Chemical Manufacturers Association (2000). Letter from Chemical Manufacturers Association to USEPA submitting enclosed comments on the multi-substance rule for the testing of developmental/reproductive toxicity w/attachment. Technical Report, Report Number TSCATS/419279.
- Chin T.Y., Tyl R.W., Popp J.A. i in. (1981). Chemical urolithiasis, 1. Characteristics of bladder stone induction by terephthalic acid and dimethyl terephthalate in weanling Fischer-344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 58, 307–321.
- CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) (1982). A ninety day study of terephthalic acid-induced urolithiasis and reproductive performance in Wistar and CD rats. CIIT 11622. CIIT Research Triangle Park, NC, USA, <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS00001900.xhtml>
- CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) (1983a). Chronic dietary administration of terephthalic acid. Life Sciences Research Division, Report No. IITRI-L8026–6A, CIIT 20124. CIIT Research Triangle Park, NC, USA [cyt. za MAK 2015].
- CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) (1983b). CIIT project no L-8026 chronic dietary administration of terephthalic acid – revised pathology report. Experimental Pathology Laboratories Inc. CIIT Research Triangle Park, NC, USA [cyt. za MAK 2015].
- Cohen S.M., Johansson S.L., Arnold L.L. i in. (2002). Urinary tract calculi and thresholds in carcinogenesis. *Food Chem. Toxicol.* 40(6), 793–799.
- Cui L., Dai G., Xu L. i in. (2004). Effect of oral administration of terephthalic acid on testicular functions of rats. *Toxicology* 201(1–3), 59–66.
- Cui L., Shi Y., Dai G. i in. (2006a). Modification of N-methyl-N-nitrosourea initiated bladder carcinogenesis in Wistar rats by terephthalic acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 210 (1–2), 24–31. DOI: 10.1016/j.taap.2005.06.008.
- Cui L., Shi Y., Qian J. i in. (2006b). Deregulation of the p16-cyclin D1/cyclin-dependent kinase 4-retinoblastoma pathway involved in the rat bladder carcinogenesis induced by terephthalic acid-calculi. *Urol. Res.* 34(5), 321–328. DOI: 10.1007/s00240-006-0063-3.
- Cui L., Wang Y., Shi Y. i in. (2007). Overexpression of annexin a1 induced by terephthalic acid calculi in rat bladder cancer. *Proteomics* 7(22), 4192–4202. DOI: 10.1002/pmic.200700582.
- Dai G., Cui L., Song L. i in. (2005a). Bladder epithelial cell proliferation of rats induced by terephthalic acid-calculi. *Food Chem. Toxicol.* 43(2), 217–224.
- Dai G., Cui L., Song L. i in. (2005b). Terephthalic acid occupational exposure and its effect on organ functions in fiber workers. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 20(1), 209–214.
- Dai G.D., Cui L.B., Song L. i in. (2005c). Induction of bladder lesion by terephthalic acid and its mechanism. *Biomed. Environ. Sci.* 18(4), 211–219.
- Dai G.D., Cui L.B., Song L. i in. (2006a). Effects of terephthalic acid on rat lipid metabolism. *Biomed. Environ. Sci.* 19(4), 273–276.
- Dai G.D., Cui L.B., Song L. i in. (2006b). Metabolism of terephthalic acid and its effects on CYP4B1 induction. *Biomed. Environ. Sci.* 19, 8–14.
- Dupont Chem Co (1955) Technical Report NTIS/02160092. Initial submission: 90-day feeding study with terephthalic acid and 'mylar' ethylene glycol terephthalic acid resin with cover letter dated 10/15/1992
- Eastman Kodak Company (2002). Eastman Plasticizer 168. Measurement of the in vitro rate of percutaneous absorption through human skin. Final report dated December 4, 2002. TX-2002-079 [cyt. za SIDS 2001, Ball 2011].
- ECHA Chem (2026) EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. Terephthalic acid, substance ID: 100.002.573, <https://chem.echa.europa.eu/100.002.573/overview?searchText=terephthalic%20acid> [dostęp: 10.09.2026].

- EPA (2020). Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for p-Phthalic Acid (Terephthalic Acid) (CASRN 100-21-0). Center for Public Health and Environmental Assessment. 45268. EPA/690/R-20/007F. Cincinnati, OH: Office of Research and Development U.S.
- Florin I., Rutberg L., Curvall M. i in. (1980). Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology* 15, 219–232.
- GESTIS International Limit Values (dguv.de), <https://ilv.ifa.dguv.de/limitvalues/56874> [dostęp: 10.09.2025].
- Grigas E.O., Ruiz R., Aviado D.M. (1971). Cardiopulmonary effects of antimalarial drugs: IV. Terephthalic acid and its dihydroxamic derivative (WR 74,106). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 18(2), 469–486. DOI: 10.1016/0041-008X(71)90139-6.
- Gross J. (1977). Technical Report 88-920010939 Initial submission: The effects of prolonged feeding of terephthalic acid (TPA) in rats with cover letter dated 09/11/1992. TSCATS No. 441511.
- Grubbs C.J. (1979). Union Carbide Corp Location Danbury, CT Report No 88-920008881. Danbury: IIT Research Institute TSCATS. No 450209, EPA ReportNumber EPA/OT.
- Guide to Occupational Exposure Values. Compiled by ACGIH. Cincinnati Ohio 45241.
- Heck H.D. (1979). Technical Report TSCATS/450368. Initial submission: mechanisms of terephthalate induce hydrolithiasis with cover letter dated 08/10/1992 [cyt. za EPA 2020].
- Heck H.D. (1981). Chemical urolithiasis 2. Thermodynamic aspects of bladder stone induction by terephthalic acid and dimethyl terephthalate in weanling Fischer-344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1(4), 299–308. DOI: 10.1093/toxsci/1.4.299-b.
- Heck H.D., Tyl R.W. (1985). The Induction of Bladder Stones by Terephthalic Acid, Dimethylterephthalate, and Melamine (2,4,6-Triamino-s-triazine) and its Relevance to Risk Assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 5, 294–313.
- Hoshi A.R., Yanai K., Kureitani K. (1967). Effect of terephthalic acid upon sulfadimethoxine contents in blood plasma. *Chem. Pharm. Bull.* 15, 1138.
- Hoshi A., Kureitani K. (1967). Metabolism of terephthalic acid. 3. Absorption of terephthalic acid from gastrointestinal tract and detection of its metabolites. *Chem. Pharm. Bull.* 15(12), 1979–1984.
- Hoshi A., Kureitani K. (1968). Distribution of terephthalic acid in tissues. *Chem. Pharm. Bull.* 16(1), 131–135.
- Hoshi A., Yanai R., Kureitani K. (1968). Toxicity of terephthalic acid. *Chem. Pharm. Bull.* 16, 1655–1660.
- ICI Internal Report CTL/R/909 (1987) [cyt. za SIDS 2001].
- ICSC (International Safety Card) (2017). 0330 https://chemicalsafety.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=pl&p_card_id=0330&p_version=2 [dostęp: 10.09.2026].
- Khamidulina X.X., Radilow A.S., Dułow S.A. i in. (2020). Peresmotr PDK v vozdukhie rabochey zony tereftalevoy kisloty. DOI: 10.36946/0869-7922-2020-6-21-37.
- Kwack S.J., Lee B.M. (2015). Comparative cytotoxicity and sperm motility using a computer-aided sperm analysis system (CASA) for isomers of phthalic acid, a common final metabolite of phthalates. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A: Current Issues* 78(16), 1038–1050. DOI:10.1080/15287394.2015.1067503.
- Kyoya T., Terada M. (2018). Scanning electron microscopic analysis of the bladder epithelium in terephthalic acid administered rats: a case in acute toxicity study. *Fundam. Toxicol. Sci.* 5(1), 57–62.
- Ledoux T.A., Reel J.R. (1982). Technical Report TS-CATS/419265. EPA No 40-90132004. A ninety-day study of terephthalic acid induced urolithiasis and reproductive performance in Wistar and CD-rats with cover letter dated 02/15/1982.
- Lee K.H., Lee B.M. (2007). Study of mutagenicities of phthalic acid and terephthalic acid using in vitro and in vivo genotoxicity tests. *J. Toxicol. Environ. Health* 70, 1329–1335.
- Lerda D.E. (1996). Genotoxicity tests on the compounds of polyethylene glycol terephthalate (PET), dimethylterephthalate (DMT) and terephthalic acid (TPA). *Int. J. Environ. Health. Res.* 6, 125–130.
- Lewis T.R., Lynch D.W., Schules R.L. (1982). Absence of urinary bladder and kidney toxicity in rats and guinea pigs exposed to inhaled terephthalic acid and dimethyl terephthalate. *Toxicologist* 2, 25 [cyt. za: SIDS 2001].
- Li Z., Zhang C., Wang K. i in. (1999). Changes in the pulmonary function of factory workers exposure to terephthalic acid. *Wei Sheng Yan Jiu* 30, 28(1), 1–3.
- List of MAK and BAT Values (2022). Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Report 58.
- Luttrell W.E. (2016). Terephthalic acid. *JCHAS* 917, 1–4. DOI: 10.1016/j.jchas.2016.09.005.
- MAK (2006). o-Phthalsäure, m-Phthalsäure, p-Phthalsäure. Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe: MAK- und BAT-Werte-Liste 2006. 41. Weinheim: Lieferung. Wiley-VCH.
- MAK (2009). Phthalic acid and its isomers (isophthalic acid and terephthalic acid). The MAK-Collection Part I: MAK Value Documentations, vol. 25. Weinheim: DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- MAK (2015). o-Phthalic acid [88-99-3; phthalic acid], m-phthalic acid [121-91-5; isophthalic acid], p-phthalic acid [100-21-0; terephthalic acid]. Supplement 2012. The MAK-Collection Part I, MAK Value Documentations. Weinheim: DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

- Moffitt A.E. Jr., Clary J.J., Lewis T.R. (1975). Wchłanianie, dys-trybucja i wydalanie kwasu tereftalowego i tereftalanu dimetylu. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 36, 633–641.
- Monteiro G.N., Monteiro D.S., Oliveira R.J. i in. (2023). Testicular toxicity in mice exposed to terephthalic acid in utero and during lactation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 30, 66050–66061. DOI: 10.1007/s11356-023-26849-x.
- Muse W.T., Anthony J.S., Bergmann J.D. i in. (1997). Chemical and toxicological evaluation of pyrotechnically disseminated terephthalic acid smoke. *Drug Chem. Toxic.* 20(4), 293–302. DOI: 10.3109/01480549709003887.
- Nagasawa H., Kureitani K. (1965). Influence of terephthalic acid feeding on growth and reproduction in mice. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 36, 399.
- PKN Orlen (2023). Karta charakterystyki. Kwas tereftalowy. Wersja 3, 17.08.2023, <https://www.orlden.pl/content/dam/internet/orlden/pl/pl/dla-biznesu/produkty/chemia/kwas-pta-2023.pdf> [dostęp: 10.09.2026].
- Plastics Europe (2008). 28-Day inhalation toxicity study of terephthalic acid in Sprague-Dawley (SD) rats. Fraunhofer ITEM, Study No. 02G06019. Brussels, Belgium, [cyt. za MAK 2015].
- Preache M.M. (1983). Technical Report EPA/OTS Doc #FYI-OTS-0584-0190. Chronic dietary administration of terephthalic acid with cover letter dated 04/24/1984. Triangle Park, NC: Chemical Industry Institute of Toxicology Research, <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS00001901.xhtml>. [dostęp: 10.09.2026].
- PubChem (2024). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. PubChem Annotation Record for, TEREPHTHALIC ACID. Hazardous Substances Data Bank (HSDB), <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> [dostęp: 11.06.2024].
- Qi S., Wang X., Xu X. i in. (2002). Study on the bladder calculi and bladder cancer induced by terephthalic acid in rats (Abstract). *Wei Sheng Yan Jiu* 31, 2–10 [cyt. za MAK 2015].
- Quebbemann A.J., Chin T.Y., Roy R. i in. (1982). Renal excretion of 14C-terephthalic acid in the chicken. W: *Nephrotoxicity: Assessment and Pathogenesis: Proceedings of the International Symposium on Nephrotoxicity*, University of Surrey, UK, 7–11 September 1981. Chichester: John Wiley & Sons, 113–136.
- Shi A., Wang D., Wang X. i in. (2000). Changes of pulmonary surfactant in the rat lung exposed to terephthalic acid (Abstract). *Wei sheng yan jiu* 29, 71–72.
- Shi Y., Cui L., Dai G. i in. (2006). Elevated prostaglandin E2 level via cPLA2--COX-2--mPGES-1 pathway involved in bladder carcinogenesis induced by terephthalic acid-calculi in Wistar rats. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 74(5), 309–315. DOI: 10.1016/j.plefa.2006.02.005.
- SIDS Initial Assessment Report (SIAR) (2001). Terephthalic acid [CAS 100-21-0]. Paris: OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development).
- Standard Oil Company (1973). 4-Week inhalation toxicity assessment of terephthalic acid (TA) in albino rats. Food and Drug Research Laboratories, 15 May 1973. Chicago, IL, USA, [cyt. za MAK 2015].
- Thomson S.A., Burnett D.C., Crouse C.L. i in. (1988). Acute inhalation toxicity of pyrotechnically disseminated terephthalic acid. Technical Report No ADA199234. Chemical Research, Development and Engineering Center, Aberdeen Proving Ground, MD [cyt. za EPA 2020].
- Tremaine L.M., Quebbemann A.J. (1985). The renal handling of terephthalic acid. The renal handling of terephthalic acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 77, 165–174.
- Wójcicki D. (2019). Rynek PTA w Europie walczył z kurczącą się podażą. *Chemia i Biznes* 3, <https://www.chemiaibiznes.com.pl/artykuly/rynek-pta-w-europie-walczy-l-z-kurczaca-sie-podaza> [dostęp: 10.09.2026].
- Wolkowski-Tyl R., Chin T.Y. (1983). Effects of selected therapeutic agents on urolithiasis induced by terephthalic acid in the male weanling Fischer 344 rat. *Fundam. Appl. Toxicol.* 3, 552–558.
- Wolkowski-Tyl R., Chin T.Y., d'A Heck H. (1982). Chemical urolithiasis. III. Pharmacokinetics and transplacental transport of terephthalic acid in Fischer-344 rats. *Drug Metab. Dispos.* 10(5), 486–490.
- Yao H., Wang X., Wang D. i in. (2002). Investigation on injury of liver and kidney among the workers exposed to terephthalic acid, ethylene glycol and(or) dowertherm A. *Chin. J. Ind. Hyg. Occup. Dis.* 20(1), 5–9.
- Zabrejko S., Goncharova R.I. (1989). Clastogenic activity of some phthalates (Ph) in vivo somatic mouse cells. *Mutat. Res.* 216, 283–284.
- Zeiger E., Haworth S., Mortelmans K. i in. (1985). Mutagenicity testing of di(2-ethylhexyl)phthalate and related chemicals in Salmonella. *Environ. Mutagen.* 7, 213–232.
- Zeiger E., Haworth S., Speck W. i in. (1982). Phthalate ester testing in the National Toxicology Program's environmental mutagenesis test development program. *Environ. Health. Perspect.* 45, 99–101. DOI: 10.1289/ehp.82459.
- Zhang X.X., Sunb S. Lei, Zhang Y. i in. (2010). Toxicity of purified terephthalic acid manufacturing wastewater on reproductive system of male mice (*Mus musculus*). *J. Hazard. Mater.* 176, 300–305.

**ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE,
PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU
NA KWAS TEREFTALOWY – FRAKCJA WDYCHALNA**

dr n. med. Marcin Rybacki
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie, ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy, skórę, spojówki oczu
Badania pomocnicze: spirometria

Zakres badania okresowego:

Ogólne badanie lekarskie, ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy, skórę, spojówki oczu
Badania pomocnicze: spirometria
Częstotliwość badań okresowych: co 2–4 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

Narządy (układy) krytyczne

Nie zidentyfikowano narządów (układów) krytycznych.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia:

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy. O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.



Oznaczanie *p*-benzochinonu w powietrzu na stanowiskach pracy metodą chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym¹

Determination of *p*-benzoquinone in workplace air with high performance liquid chromatography with spectrophotometric detection

WIOLETTA MYSUR

<https://orcid.org/0009-0009-3664-2279>

AGATA CIEMCIOCH

<https://orcid.org/0009-0004-4880-9180>

MARZENA BONCZAROWSKA

<https://orcid.org/0000-0003-3612-0656>

e-mail: marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl

SŁAWOMIR BRZEŹNICKI

<https://orcid.org/0000-0002-0542-8538>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera w Łodzi
Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

Numer CAS: 106-51-4

Streszczenie

p-Benzochinon (BQ) występuje w postaci krystalicznej jako żółte, jednoskośne słupki o charakterystycznym zapachu przypominającym chlor. Otrzymywanie BQ odbywa się w wyniku utleniania hydrochinonu lub aniliny. Stosuje się go jako środek garbujący w przemyśle garbarskim, jako utleniacz w procesach wywoływania i utrwalania fotografii oraz jako półprodukt w syntezie pestycydów, barwników, polimerów i leków. Wykazuje szczególnie silne działanie drażniące na oczy i skórę, powodując różnego rodzaju zmiany i uszkodzenia tkanek. Badania nie wykazały mutagennego działania tego związku. Celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej i selektywnej metody oznaczania BQ w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiar jego stężenia, a następnie ocenę narażenia zawodowego. Metoda ta polega na zatrzymaniu BQ na rurce wypełnionej żelą krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym, następnie ekstrakcji związku z żelu za pomocą acetonitrylu i oznaczeniu badanej substancji metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (UV-VIS). Opisana metoda pozwala na oznaczenie BQ w zakresie stężeń $0,1 \div 2 \mu\text{g/ml}$, a zależność wskazań detektora UV-VIS od stężenia BQ ma charakter liniowy ($r = 0,999$). Zaproponowany sposób pobierania próbek i ekstrakcji BQ z żelu zapewnia wysoki odzysk analitu (średnia dla trzech stężeń wynosi 97,4%). Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i umożliwia selektywne oznaczenie BQ w obecności związków o podobnej budowie. Została ona zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

¹ Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr III.PN.05 pt.: „Opracowanie metod oznaczania 12 szkodliwych substancji chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy do oceny narażenia zawodowego”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy, będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: *p*-benzochinon, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, detekcja spektrofotometryczna, nauka o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

p-Benzoquinone (BQ) occurs in a crystalline form as yellow monoclinic columns with a noticeable odor resembling the smell of chlorine. It is obtained during the oxidation reaction of hydroquinone or aniline. It is used as a tanning agent in the tanning industry, as an oxidizing agent in the development and fixation of photographs in the photographic industry and as an intermediate in the production of pesticides, dyes, polymers and pharmaceuticals. BQ is particularly irritating to eyes and skin, causing various lesions and damage. Scientific research have not shown any mutagenic effects of this compound. The aim of this work was to develop a sensitive and selective method for determining *p*-benzoquinone in workplace air. This method would enable the measurement of this compound's concentration and subsequently allow for an assessment of occupational exposure. The developed method involves trapping BQ in a tube filled with silica gel impregnated with sulfuric acid, then extracting the compound from the gel using acetonitrile, and determining the test substance using high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection (UV-VIS). The described method allows for the determination of BQ in the concentration range of 0.1–2 µg/ml, and the dependence of the UV-VIS detector readings on the *p*-benzoquinone concentration is linear ($r=0.999$). The proposed method of sampling and extracting BQ from the gel allows for high analyte recovery (the average for three concentrations is 97.4%). The method is precise and allows for the selective determination of BQ with compounds of similar structure. The developed method for determining *p*-benzoquinone in workplace air has been written in the form of an analytical procedure, which is included in the Appendix. The thematic scope of the article includes the issues of health and safety and hygiene of the working environment being the subject of research in health sciences and environmental engineering.

Keywords: *p*-benzoquinone, analytical method, liquid chromatography method, spectrophotometric detection, health sciences, environmental engineering.

Adres do korespondencji/Contact details: Wioletta Mysur, Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, 91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8, e-mail: wioletta.mysur@imp.lodz.pl

WPROWADZENIE

p-Benzochinon (BQ, numer CAS: 106-51-4) jest substancją organiczną – nienasyconym, cyklicznym diketonem – należącą do grupy chinonów. Występuje w postaci krystalicznej jako żółte, jednoskośne słupki o zapachu przypominającym chlor. BQ dobrze rozpuszcza się w gorącej wodzie oraz w rozpuszczalnikach organicznych. Powstaje w wyniku utleniania hydrochinonu lub aniliny. Znajduje zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu, między innymi w przemyśle garbarskim jako środek garbujący oraz w przemyśle fotograficznym jako utleniacz wykorzystywany w procesach wywoływania i utrwalania zdjęć. Ponadto stanowi ważny półprodukt w syntezie pestycydów, barwników, polimerów oraz leków (Can i in. 2010; Piotrowski, Szymańska 2000).

Narażenie na działanie BQ może występować nie tylko w wyżej wymienionych sektorach przemysłu, lecz także w środowisku, np. w wyniku

ekspozycji na ścieki odprowadzane przez zakłady produkcyjne (Akyol 2019).

Badania nad toksycznością BQ wykazały jego negatywny wpływ na zdrowie ludzkie, a w szczególności na oczy i skórę. Miejscowe działanie tego związku na skórę powoduje powstawanie zmian skórnych, takich jak obrzęki, grudki, pęcherze, a także odbarwienia i rumienie. Długotrwały kontakt z tą substancją może również być przyczyną powstawania martwicy skóry. Pary BQ powodują zaburzenia widzenia, owrzodzenie rogówki i powstawanie na niej przebarwień (Akyol 2019; Piotrowski, Szymańska 2000).

Badania przeprowadzone na zwierzętach wykazały negatywny wpływ BQ na nerki oraz jego ostrą toksyczność po ekspozycji drogą pokarmową. Nie wykazano natomiast wpływu działania BQ prowadzącego do powstawania mutagennych zmian w organizmie (PubChem 2025).

W Unii Europejskiej BQ posiada zharmonizowaną klasyfikację, określoną w tabeli 3 załącznika VI do

rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Rozporządzenie... 2008). Klasyfikację i oznakowanie BQ przedstawiono w tabeli 1.

W Polsce wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) oraz najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch) dla BQ wynoszą odpowiednio 0,1 mg/m³ i 0,4 mg/m³ (Rozporządzenie... 1998).

Opisana w czasopiśmie „Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy” metoda oznaczania tego związku w powietrzu środowiska pracy (Madej 1997) umożliwia oznaczenie stężenia BQ na poziomie 0,025 mg/m³, czyli 1/4 wartości NDS, i nie spełnia obecnie obowiązujących wymagań dotyczących metod oznaczania szkodliwych substancji chemicznych w środowisku pracy, określonych w normie PN-EN 482.

Celem pracy było opracowanie odpowiednio czułej i selektywnej metody oznaczania BQ w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiar stężenia tego związku zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 482 oraz ocenę narażenia zawodowego.

Założenia opracowanej metody

W powietrzu BQ oznacza się z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej z detektorem masowym (Sousa i in. 2015), chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (Jeżewska,

Woźnica 2014; Madej 1997; Qiao i in. 2012) lub technik sprzężonych z tandemową spektrometrią mas (Pei i in. 2018; Wnorowski, Charland 2017).

Do pobierania próbek powietrza w celu oznaczania BQ dotychczas stosowano płuczki wypełnione roztworem 1,4-dioksanu (Madej 1997) lub żywicę XAD-2 (NIOSH 1977). W badaniach dotyczących oznaczania chinonów w powietrzu środowiskowym, ze względu na konieczność pobierania dużych objętości powietrza, wykorzystywano zestawy złożone z filtrów oraz płytek z naniesioną żywicą (Sousa i in. 2016) lub z filtrów i krążków z pianki poliuretanowej (Wnorowski, Charland 2017).

Na podstawie danych literaturowych oraz własnych doświadczeń związanych z oznaczaniem chinonów zdecydowano o zastosowaniu do pobierania próbek powietrza rurek sorpcyjnych wypełnionych żelem krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym. BQ ekstrahowano z żelu acetonitrylem, a następnie oznaczano metodą HPLC z zastosowaniem powszechnie stosowanych kolumn analitycznych wypełnionych złożem typu C-18 i detekcją spektrofotometryczną.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Przy opracowaniu metody oznaczania *p*-benzochinonu (BQ) w powietrzu przyjęto następujące założenia:

- pobór dwóch próbek powietrza w czasie jednej zmiany roboczej
- objętość pobranego powietrza 20 l

Tabela 1. Klasyfikacja i oznakowanie *p*-benzochinonu (BQ) zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP)

Table 1. Classification and labelling of *p*-benzoquinone (BQ) according to Regulation of the European Parliament and of the Council No 1272/2008 (CLP)

Klasa zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Acute Tox. 3*, inhal. – toksyczność ostra, kat. zagrożenia 3 – droga oddechowa	H331: Działa toksycznie w następstwie wdychania
Acute Tox. 3*, oral – toksyczność ostra, kat. zagrożenia 3 – droga pokarmowa	H301: Działa toksycznie po połknięciu
Eye Irrit. 2 – poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy, kat. zagrożenia 2	H319: Działa drażniąco na oczy
STOT SE 3 – działanie toksyczne na narządy docelowe – narażenie jednorazowe, kat. zagrożenia 3	H335: Może powodować podrażnienie dróg oddechowych
Skin Irrit. 2 – działanie żrące/drażniące na skórę, kat. zagrożenia 2	H315: Działa drażniąco na skórę
Aquatic Acute 1 – stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego – zagrożenie ostre, kat. zagrożenia 1	H400: Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne

- zakres pomiarowy $0,2 \div 4 \mu\text{g/rurkę}$ ($0,1 \div 2 \mu\text{g/ml}$), co dla próbki powietrza 20 l odpowiada zakresowi stężeń od $0,01 \text{ mg/m}^3$ do $0,2 \text{ mg/m}^3$ ($1/10 \div 2\text{NDS}$).

Aparatura, odczynniki i materiały

Do badań wykorzystano aspiratory indywidualne EHA Air 350, a także chromatograf cieczowy firmy Waters Acquity Arc LC System, wyposażony w poczwórny system pomp wysokociśnieniowych, detektor spektrofotometryczny Waters 2489, termostat kolumny analitycznej, automatyczny dozownik próbek oraz komputer z programem sterowania i akwizycji danych. Zastosowano kolumnę analityczną Waters SunFire (250 x 3 mm), wypełnioną złożem typu C18 o średnicy ziaren $5 \mu\text{m}$, a także mieszađło mechaniczne i wagę analityczną.

Do badań wykorzystano naczynka szklane o pojemności 2 ml i 4 ml , kolby miarowe o pojemności: 1 ml , 2 ml i 5 ml , pipety automatyczne nastawne o pojemności $0,01 \div 0,1 \text{ ml}$ i $0,1 \div 1 \text{ ml}$, filtry strzykawkowe z membraną PTFE o średnicy 13 mm i średnicy porów $0,45 \mu\text{m}$, a także rurki szklane wypełnione żelem krzemionkowym pokryte kwasem siarkowym (SKC Treated Silica Gel).

Stosowano następujące czynniki: acetonitryl (ACN) o czystości do HPLC (J.T. Baker), *p*-benzochinon (CRM – Supelco) oraz wodę dejonizowaną o czystości do HPLC, uzyskiwaną przy użyciu stacji Hydrolab.

Dobór optymalnych warunków analizy chromatograficznej techniką HPLC-UV-VIS

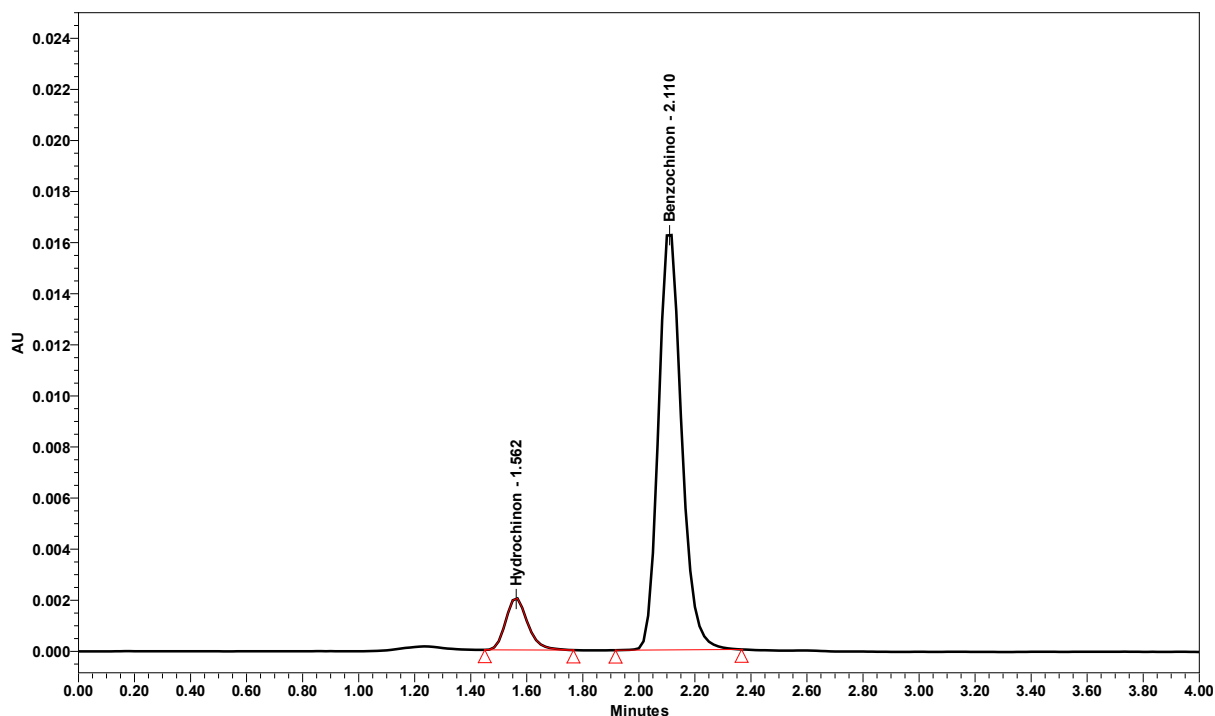
Badania dotyczące doboru optymalnych warunków analizy BQ przeprowadzono z zastosowaniem kolumny Waters SunFire (250 x 3 mm), wypełnionej złożem typu C18 o średnicy ziaren $5 \mu\text{m}$, z elucją mieszaniną wody i acetonitrylu o stałym składzie (elucja izokratyczna). Długość fali analitycznej stosowanej do oznaczania BQ (254 nm) przyjęto na podstawie danych literaturowych (Madej 1997).

W celu sprawdzenia możliwości selektywnego oznaczenia BQ przygotowano mieszaninę badanej substancji i hydrochinonu w acetonitrylu, którą w ilości $0,01 \text{ ml}$ naniesiono na 150 mg żelu krzemionkowego nasączonego roztworem kwasu siarkowego. Po odparowaniu rozpuszczalnika dodano 2 ml acetonitrylu i poddano ekstrakcji (30 min) przy użyciu mieszađła mechanicznego. Oczyszczony ekstrakt przesączono przez filtr strzykawkowy z membraną PTFE o średnicy porów $0,45 \mu\text{m}$, a następnie przeniesiono do naczynek o pojemności 2 ml i poddano analizie chromatograficznej.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że opracowane parametry analizy chromatograficznej umożliwiają selektywne oznaczenie BQ w obecności innych substancji o podobnej budowie chemicznej. Optymalne warunki pracy zestawu HPLC-UV-VIS stosowanego podczas opracowywania metody podano w tabeli 2, a przykładowy chromatogram mieszaniny hydrochinonu i BQ przedstawiono na rycinie 1.

Tabela 2. Warunki pracy chromatografu cieczowego z detektorem UV-VIS
Table 2. Working conditions of a liquid chromatograph and UV-VIS detector

Kolumna analityczna Waters Sun Fire 250 mm x 3 mm x 5 μm		
Faza ruchoma	woda (%) A	acetonitryl (%) B
Program izokratycznie (v:v)	50	50
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,8 ml/min	
Temperatura kolumny	25°C	
Objętość próbki (μl)	2	
Detektor UV-VIS	λ = 254 nm	



Rycina 1. Chromatogram mieszaniny hydrochinonu (czas retencji 1,562 min) *p*-benzochinonu (BQ) (czas retencji 2,110 min). Detektor UV-VIS, $\lambda = 254$ nm

Figure 1. Chromatogram of a mixture of hydroquinone (retention time 1,562 min) and *p*-benzoquinone (BQ) (retention time 2,110 min). UV-VIS detector, $\lambda=254$ nm

Badanie zakresu stosowania i liniowości metody analitycznej

W celu określenia zakresu roboczego metody oznaczania BQ przygotowano trzy serie po osiem rurek wypełnionych żelem krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym. Na żel krzemionkowy naniesiono po 0,01 ml acetonitrylowych roztworów wzorcowych BQ o stężeniach: 20 $\mu\text{g/ml}$; 40 $\mu\text{g/ml}$; 80 $\mu\text{g/ml}$; 100 $\mu\text{g/ml}$; 200 $\mu\text{g/ml}$; 300 $\mu\text{g/ml}$ i 400 $\mu\text{g/ml}$. Na ósmą rurkę jako ślepą próbkę naniesiono 0,01 ml acetonitrylu. Po dokładnym odparowaniu rozpuszczalnika żel krzemionkowy przeniesiono do naczynek o pojemności 4 ml, dodano 2 ml acetonitrylu i poddano 30-minutowemu wmywaniu przy użyciu mieszadła mechanicznego. Po oczyszczeniu ekstraktów za pomocą filtrów strzykawkowych (membrana PTFE, średnica porów 0,45 μm) do naczynek o pojemności 2 ml przeniesiono po 1 ml ekstraktu i poddano analizie chromatograficznej. Zawartość BQ w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosiła: 0,1 μg ; 0,2 μg ; 0,4 μg ; 0,5 μg ; 1 μg ; 1,5 μg ; 2 μg oraz 0 μg w próbce ślepej.

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 3 i na rycinie 2. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że zależność odpowiedzi detektora od stężenia BQ ma charakter liniowy w zakresie 0,2 ÷ 4 $\mu\text{g/rurkę}$ (0,1 ÷ 2 $\mu\text{g/ml}$), co dla próbki powietrza o objętości 20 l odpowiada zakresowi stężeń 0,01 ÷ 0,2 mg/m^3 (1/10 ÷ 2 NDS). Zależność tę opisuje równanie $y = 18454x - 282,6$. Wyrażony w procentach współczynnik zmienności (CV) dla trzech serii kalibracyjnych wynosi 5,7%, a współczynnik regresji $r = 0,9991$.

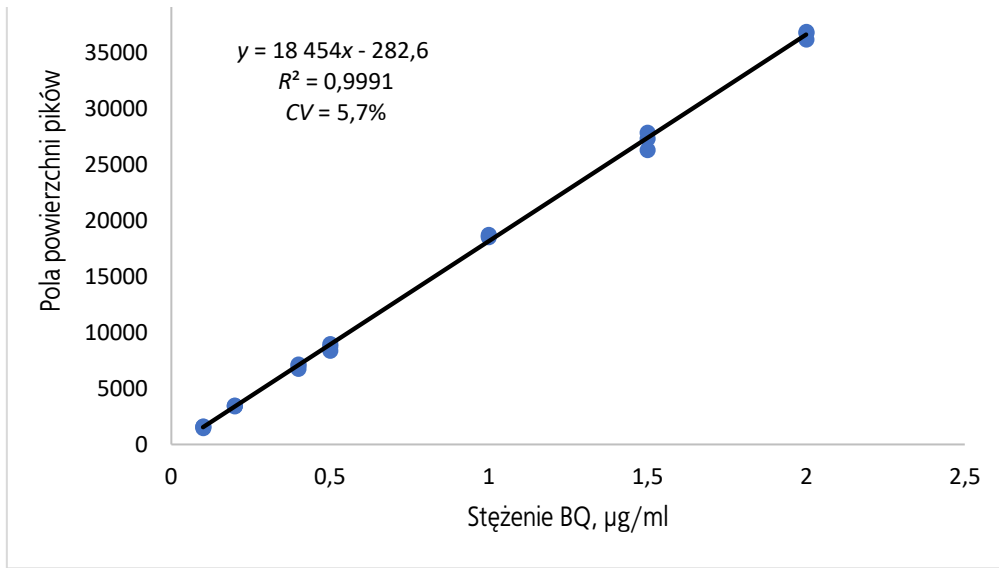
Badanie warunków pobierania próbek powietrza

W celu zbadania wpływu założonych warunków pobierania próbek powietrza na zatrzymanie BQ na rurkach wypełnionych żelem krzemionkowym impregnowanym kwasem siarkowym przygotowano trzy serie po sześć rurek. Na każdą rurkę naniesiono po 0,01 ml roztworów wzorcowych BQ o stężeniach: 20 $\mu\text{g/ml}$; 100 $\mu\text{g/ml}$ i 400 $\mu\text{g/ml}$, odpowiadających zakresowi stężeń badanej metody 1/10 ÷ 2 wartości NDS.

Tabela 3. Wyniki wzorcowania *p*-benzochinonu (BQ) na rurkach sorpcyjnych wypełnionych żel krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym

Table 3. Linearity testing of *p*-benzoquinone (BQ) on a tube filled with silica gel impregnated with sulfuric acid

Stężenie BQ, µg/ml	Pole powierzchni pików (PPP)	Średnia PPP	Odchylenie standardowe, SD	Współczynnik zmienności, CV, %
0,1	1474; 1631; 1596	1567,0	82,4	5,3
0,2	3490; 3489; 3417	3465,3	41,9	1,2
0,4	7087; 7157; 6790	7011,3	194,8	2,8
0,5	9000; 8767; 8396	8721,0	304,6	3,5
1	18 541; 18 764; 18 638	18 647,7	111,8	0,6
1,5	27 330; 26 320; 27 866	27 172,0	785,0	2,9
2	36 901; 36 765; 36 203	36 623,0	370,0	1,0



Rycina 2. Krzywa wzorcowa *p*-benzochinonu (BQ) w zakresie stężeń 0,1 ÷ 2 µg/ml. Detektor UV-VIS, λ = 254 nm

Figure 2. Calibration curve for *p*-benzoquinone (BQ) in the range 0.1–2 µg/ml. UV-VIS detector, λ = 254 nm

Po odparowaniu rozpuszczalnika rurki połączono za pomocą wężyka z aspiratorem indywidualnym i przepuszczono przez nie 20 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 111 ml/min. Po 3 h żel krzemionkowy z rurki przeniesiono do naczynek szklanych o pojemności 4 ml i poddano 30-minutowej ekstrakcji za pomocą 2 ml acetonitrylu z zastosowaniem mieszkadła mechanicznego. Ekstrakty przesączono przez filtry strzykawkowe z PTFE, a następnie z każdego roztworu do naczynek pojemności o 2 ml przeniesiono po 1 ml ekstraktu i poddano analizie chromatograficznej w ustalonych wcześniej warunkach. Wartości pól powierzchni pików badanego związku uzyskane podczas analizy ekstraktów porównano z wynikami analiz ekstraktów z żelu krzemionkowego, na który naniesiono roztwory wzorcowe BQ o takich

samych stężeniach, przez który nie przepuszczano powietrza przez rurki. Roztwory kontrolne poddano takiej samej procedurze analitycznej jak próbki badane.

Wyniki badań dotyczących warunków pobierania próbek powietrza przedstawiono w tabeli 4. Przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje istotnych strat analitu. Średnie wartości wydajności ekstrakcji BQ z rurek wypełnionych żel krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym, przez które przepuszczono 20 l powietrza, dla trzech analizowanych zawartości BQ na żelu (0,2 µg; 1 µg i 4 µg) wynoszą odpowiednio: 96,2% (SD – 5,2); 92,4% (SD – 4,9) i 91,3% (SD – 5,3). Średnia wartość współczynnika wydajności ekstrakcji dla trzech stężeń wynosi 93,3% (SD – 5,3).

Tabela 4. Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczania *p*-benzochinonu (BQ) z zastosowaniem rurek wypełnionych żelem krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym
Table 4. Investigation of air sampling conditions for *p*-benzoquinone (BQ) determinations on a tube filled with silica gel impregnated with sulfuric acid

Medium pochłaniające	Zawartość BQ na żelu, µg	Pole powierzchni pików		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wartość współczynnika wydajności ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	roztwór po desorpcji		
Rurka wypełniona żelem krzemionkowym nasączona kwasem siarkowym	0,2	1720 1869 1705	1787	101,3	96,2
			1734	98,3	
			1719	97,4	
			1639	92,9	
			1542	87,4	
	1	9186 9181 9285	1764	100,0	92,4
			8135	SD 5,2	
			8276	CV 5,4%	
			7962		
			8765		
	4	37 758 38 241 37 900	9056	88,3	91,3
			8911	89,8	
			31 174	86,4	
			36 019	95,1	
			33 824	98,2	
		35 801	96,7		
		36 639	SD 4,9		
		34 428	CV 5,3%		
Średni współczynnik odzysku, Śr, %		93,3			
Odchylenie standardowe, SD		5,3			
Współczynnik zmienności, CV, %		5,7			

Wyznaczanie granic wykrywalności i oznaczalności metody

Badanie granicy wykrywalności i oznaczalności BQ przeprowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w opracowaniu *Dobecki* (*Dobecki* 2000). Przygotowano dwadzieścia roztworów BQ w acetonitrylu o stężeniu 0,04 µg/ml, które następnie poddano analizie chromatograficznej. Wyniki analizy dotyczącej wyznaczania granicy wykrywalności (LOD) i granicy oznaczalności (LOQ) BQ z zastosowaniem techniki HPLC-UV-VIS przedstawiono w tabeli 5. Obliczono wartość średnią oraz odchylenie standardowe pól powierzchni pików uzyskanych podczas analizy dwudziestu roztworów BQ o stężeniu 0,04 µg/ml. Uwzględniając współczynnik nachylenia krzywej wzorcowej, obliczono granicę wykrywalności i granicę oznaczalności metody. Obliczone wartości wynoszą odpowiednio 0,0053 µg/ml i 0,0177 µg/ml.

Badanie precyzji metody oznaczania *p*-benzochinonu w powietrzu

W celu zbadania zgodności wyników przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia przygotowano trzy serie po dziesięć rurek wypełnionych żelem krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym, na które naniesiono po 0,01 ml roztworów wzorcowych BQ o stężeniach odpowiadających zakresowi badanej metody (1/10 ÷ 2 wartości NDS), tj.: 20 µg/ml; 100 µg/ml i 400 µg/ml. Po 30-minutowej ekstrakcji za pomocą 2 ml acetonitrylu z zastosowaniem mieszadła mechanicznego uzyskane ekstrakty przepuszczano przez filtry strzykawkowe z membraną z PTFE, a następnie poddano analizie chromatograficznej. Wyniki badań precyzji oznaczeń BQ przedstawiono w tabeli 6. Wskazują one, że przyjęte warunki wykonania analizy umożliwiają precyzyjne oznaczanie stężeń BQ w powietrzu. Wartości średnie oznaczonych stężeń BQ oraz współczynniki zmienności (CV) uzyskanych wyników dla stężeń: 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml i 2 µg/ml wynoszą odpowiednio: 0,1 (CV = 6,7%); 0,5 (CV = 3,9%) i 1,8 (CV = 7,5%).

Tabela 5. Wyznaczanie granic wykrywalności (GW) i oznaczalności (GO)
Table 5. Determination of the detection (LOD) and quantification limit (LOQ)

Wyznaczone parametry	Wartości sygnału	365	394
		390	403
		388	422
		417	427
		447	388
		428	369
		342	432
		381	433
		329	367
		426	371
Średnie pole powierzchni, $n = 20$		395,9	
Odchylenie standardowe, S		32,7	
Współczynnik zmienności, CV, %		8,3	
Granica wykrywalności (GW), $\mu\text{g/ml}$		0,0053	
Granica oznaczalności (GO), $\mu\text{g/ml}$		0,0177	

Tabela 6. Wyniki badania precyzji metody oznaczania *p*-benzochinonu (BQ)
Table 6. Results of the precision study of the method for determining *p*-benzoquinone (BQ)

Nr analizy	Stężenie BQ, $\mu\text{g/ml}$					
	zakładane	oznaczone	zakładane	oznaczone	zakładane	oznaczone
1	0,1	0,08	0,5	0,47	2	1,62
2		0,09		0,46		1,62
3		0,08		0,48		1,68
4		0,08		0,46		1,91
4		0,09		0,48		1,94
6		0,10		0,48		1,95
7		0,09		0,48		1,94
8		0,08		0,48		1,76
9		0,09		0,47		1,85
10		0,09		0,42		1,72
Średnia	0,1		0,5		1,8	
SD	0,01		0,02		0,1	
$CV, \%$	6,7		3,9		7,5	

Badanie trwałości próbek *p*-benzochinonu pobranych na rurki wypełnione żel krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym

W celu zbadania trwałości próbek powietrza zawierających BQ, pobranych na żel krzemionkowy nasączony kwasem siarkowym, przygotowano trzy serie po osiemnaście rurek wypełnionych żel krzemionkowym. Na rurki naniesiono po 0,01 ml roztworów wzorcowych BQ o stężeniach: 20 $\mu\text{g/ml}$; 100 $\mu\text{g/ml}$ i 400 $\mu\text{g/ml}$. Po odparowaniu rozpuszczalnika próbki przeniesiono do naczynek szklanych o pojemności 4 ml, szczelnie zamknięto i umieszczono w chłodziarce. Po 2, 4 i 8 dniach przechowywania sześć próbek żelu krzemionkowego z każdego stężenia poddano ekstrakcji za pomocą 2 ml acetonitrylu i mieszała mechanicznego. Ekstrakty przesączono przez filtry strzykawkowe

z PTFE, a następnie przeniesiono do naczynek o pojemności 2 ml i poddano analizie chromatograficznej. Wartości pól powierzchni pików badanego związku w ekstraktach porównano z wynikami analiz ekstraktów wzorców BQ o takich samych stężeniach, przygotowanych w dniu wykonania analizy.

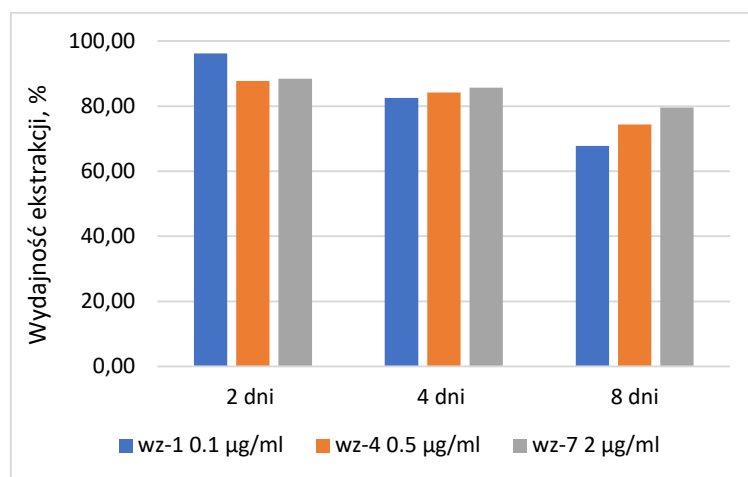
Wyniki badań warunków przechowywania pobranych próbek BQ przedstawiono na rycinie 3. Uzyskane wyniki wskazują, że próbki BQ pobrane na żel krzemionkowy nasączony roztworem kwasu siarkowego i przechowywane w chłodziarce są trwałe maksymalnie przez 2 dni. Po tym czasie średni współczynnik wydajności ekstrakcji (dla 3 stężeń BQ) wynosi 90,8 % ($SD - 4,7$). Po 4 i 8 dniach przechowywania średnie wartości współczynnika wydajności ekstrakcji dla trzech badanych stężeń BQ wynosiły odpowiednio 84,1% ($SD - 1,6$) i 73,9% ($SD - 5,9$) co wskazuje na krótką trwałość próbek BQ przechowywanych na żelu.

Badanie trwałości próbek *p*-benzochinonu pobranych na rurki wypełnione żelem krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym i poddanych ekstrakcji

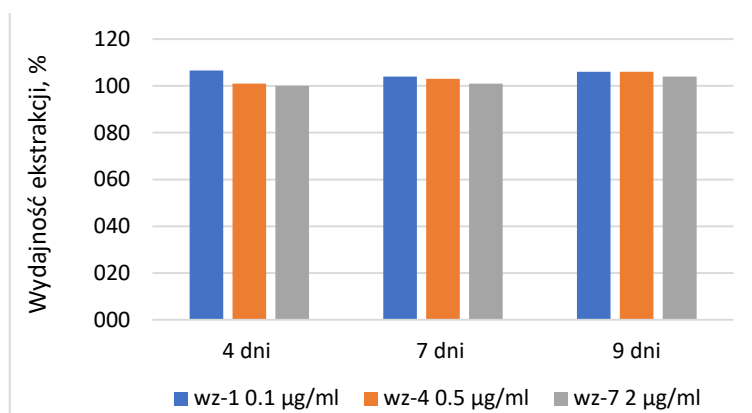
Z uwagi na krótki okres trwałości próbek BQ na żelu krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym wykonano dodatkowe badania oceny trwałości próbek poddanych ekstrakcji bezpośrednio po pobraniu powietrza. W tym celu przygotowano trzy serie po dziewięć rurek wypełnionych żelem krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym, na które naniesiono po 0,01 ml roztworów wzorcowych BQ o stężeniach: 20 µg/ml; 100 µg/ml i 400 µg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika próbki przeniesiono do naczynek szklanych o pojemności 4 ml i poddawano ekstrakcji za pomocą 2 ml acetonitrylu.

Następnie naczynka szczelnie zamknięto i umieszczono w chłodziarce. Po 4, 7 i 9 dniach przechowywania trzy próbki ekstraktów z każdego stężenia przesączono przez filtry strzykawkowe z PTFE, po czym każdy ekstrakt przeniesiono do naczynek o pojemności 2 ml i poddano analizie chromatograficznej. Wartości pól powierzchni pików badanego związku w ekstraktach porównano z wynikami analiz ekstraktów wzorców BQ o takich samych stężeniach, przygotowanych w dniu analizy.

Wyniki badań przedstawiono na rycinie 4. Wskazują one, że ekstrakcja próbek BQ pobranych na żel krzemionkowy nasączony kwasem siarkowym, wykonana bezpośrednio po pobieraniu próbek, pozwala na znaczne wydłużenie ich trwałości. Średnie wartości współczynnika wydajności ekstrakcji dla próbek o stężeniach BQ wynoszących 0,1 µg/ml;



Rycina 3. Badanie trwałości próbek *p*-benzochinonu (BQ) przechowywanych w chłodziarce
Figure 3. Studies of the persistence of *p*-benzoquinone (BQ) samples stored in a refrigerator



Rycina 4. Badanie trwałości wyekstrahowanych próbek *p*-benzochinonu (BQ) przechowywanych w chłodziarce
Figure 4. Studies of the persistence of extracted *p*-benzoquinone (BQ) samples stored in a refrigerator

0,5 µg/ml i 2 µg/ml, po 9 dniach przechowywania w chłodziarce, wynosiły odpowiednio: 106%, 106% i 104% (średnia: 105,6%; SD – 1,5).

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiem zawartym w normie europejskiej PN-EN 482:2021-08. Wyznaczono następujące parametry walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,1 ÷ 2 µg/ml
(0,01 ÷ 0,2 mg/m³ dla próbki powietrza 20 l i 2 ml roztworu użytego do ekstrakcji)
- granica wykrywalności 0,0053 µg/ml
- granica oznaczalności 0,0177 µg/ml
- współczynnik korelacji $r = 0,9991$
- niepewność rozszerzona metody 27,54%.

PODSUMOWANIE

Na podstawie przeprowadzonych badań opracowano metodę oznaczania *p*-benzochinonu (BQ) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną UVVIS. Wskazania detektora spektrofotometrycznego w funkcji stężenia BQ w badanym zakresie stężeń (0,1 ÷ 2 µg/ml) mają charakter liniowy. Próbkę powietrza do oznaczeń BQ można pobierać, stosując rurkę szklaną wypełnioną żel krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym. Zatrzymany na żelu krzemionkowym związek należy ekstrahować 2 ml acetonitrylu. Próbkę pobraną na żel krzemionkowy przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez 2 dni, natomiast gdy próbki zostaną zalane acetonirylem bezpośrednio po pobraniu, zachowują trwałość do 9 dni w chłodziarce. Metoda, w wersji przedstawionej w załączniku, umożliwia oznaczanie BQ w powietrzu na stanowiskach pracy w stężeniach od 0,01 mg/m³, czyli 0,1 obowiązującej wartości NDS.

Zaproponowana metodyka umożliwia selektywne oznaczanie BQ w obecności hydrochinonu.

PIŚMIENNICTWO

Akyol A. (2019). Toxicity assessment and degradation of benzoquinone by ZnO photocatalytic oxidation proces, Desalination and Water Treatment, 137 202–211. DOI: 10.5004/dwt.2019.23353.

Can O.T., Bayramoglu M. (2010). The effect of process conditions on the treatment of benzoquinone solution by electrocoagulation, J. Hazard. Mater., 173 731–736. DOI:10.1016/j.jhazmat.2009.08.146.

Dobecki M. (2000). Walidacja metod badań chemicznych i pyłowych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy. Podst. Met. Oceny Środow. Pr. 3(25), 5–14.

Jeżewska A., Woźnica A. (2014). Hydrochinon. Oznaczanie w powietrzu na stanowiskach pracy, Podst. Met. Oceny Środow. Pr. 3(81), s. 57–70.

Madej M. (1997). *p*-Benzochinon. Podst. Met. Oceny Środow. Pr. z.17, s. 13–16.

NIOSH (1977). National Institute for Occupational Safety and Health. Manual of Analytical Methods. Second edition. Method S181: Quinone.

Pei J., Wang Y., Yu K. (2018). Sensitive Determination of Quinones by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry with Methanol Derivatization.. Anal Sci. 2018;34 (3):335-340. DOI:10.2116/analsci.34.335.

Piotrowski J.K., Szymańska J. (2000). *p*-Benzochinon. Dokumentacja proponowanych poziomów narażenia zawodowego, Podst. Met. Oceny Środow. Pr. 4(26), s. 23–34

PN-EN 482: 2021-08 Narażenie na stanowiskach pracy – Procedury oznaczania stężenia czynników chemicznych – Podstawowe wymagania dotyczące parametrów procedur.

PubChem (2025). National Library of Medicine. Quinone. Compound summary <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4650> [dostęp: 27.10.2025].

Qiao J-Q., Yuan N., Tang C-J. i in. (2012). Determination of catalytic oxidation products of phenol by RP-HPLC, Res Chem Intermed 38:549–558. DOI:10.1007/s11164-011-0370-3.

Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Socjalnej z dnia 17 czerwca 1998 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 1998 Nr 79, poz. 513.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji,

oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008.

Sousa E.T., Cardoso M.P, Silva L.A. i in. (2015) Direct determination of quinones in fine atmospheric particulate matter by GC–MS, *Microchemical Journal*. DOI:10.1016/j.microc.2014.07.013.

Sousa E.T., Wilson A., Lopes W.A. i in. (2016). Sources, formation, reactivity and determination of quinones in the atmosphere. *Quim. Nova*, Vol. XY, No. 00, 1-10, DOI:10.5935/0100-4042.20160034.

Wnorowski A., Charland J-P. (2017) Profiling quinones in ambient air samples collected from the Athabasca region (Canada). *Chemosphere*, 189, 55–66.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA *p*-BENZOCINONU NA STANOWISKACH PRACY METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ Z DETEKcją SPEKTROFOTOMETRYCZNĄ

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze przedstawiono metodę oznaczania *p*-benzochinonu (numer CAS: 106-51-4) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczonej z detekcją spektrofotometryczną UV-VIS. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarno-higienicznych. Najmniejsze stężenie *p*-benzochinonu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,1 mg/m³.

2. Powołania normatywne

Do stosowania niniejszej procedury są niezbędne podane niżej dokumenty, które w całości lub w części zostały w nim normatywnie powołane. W przypadku powołań datowanych ma zastosowanie wyłącznie wydanie cytowane. W przypadku powołań niedatowanych stosuje się ostatnie wydanie dokumentu powołanego (łącznie ze zmianami).

PN-Z-04008-7 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

3. Terminy i definicje

W niniejszym dokumencie nie wymieniono terminów i definicji.

4. Zasada metody

Metody polega na zatrzymaniu obecnego w badanym powietrzu *p*-benzochinonu na żelu krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym, ekstrakcji zatrzymanego na żelu związku za pomocą acetonitrylu, a następnie analizy otrzymanego roztworu za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczonej z detekcją spektrofotometryczną.

5. Postanowienia ogólne

5.1. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie ważyc z użyciem wagi analitycznej z działką elementarną co najmniej 0,0002 g.

5.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej, pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

Pozostałe po analizie odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji uprawnionym instytucjom.

6. Odczynniki i materiały

Do analizy należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a., o ile nie zaznaczono inaczej.

6.1. *p*-Benzochinon

Stosować certyfikowany materiał odniesienia (CRM).

6.2. Acetonitryl

Acetonitryl o czystości do HPLC.

6.3. Woda destylowana

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC.

6.4. Roztwór wzorcowy podstawowy *p*-benzochinonu

Do kolby pomiarowej o pojemności 5 ml wg punktu 7.4 odważyć około 3 mg *p*-benzochinonu wg punktu 6.1. Substancję rozpuścić w acetonitrylu wg punktu 6.2, dokładnie wymieszać i uzupełnić acetonitrylem do kreski. Obliczyć stężenie *p*-benzochinonu w 1 ml roztworu.

6.5. Roztwór wzorcowy pośredni *p*-benzochinonu

Do kolby pomiarowej o pojemności 5 ml wg punktu 7.4 odmierzyć pipetą wg punktu 7.6 taką ilość roztworu wzorcowego podstawowego *p*-benzochinonu

wg punktu 6.4, aby końcowe stężenie *p*-benzochinonu wynosiło 400 µg/ml. Kolbę uzupełnić do kreski acetonitrylem.

6.6. Roztwory wzorcowe robocze

Do siedmiu kolb pomiarowych o pojemności 1 ml odmierzyć za pomocą pipet wg punktu 7.6 następujące objętości roztworu wzorcowego pośredniego *p*-benzochinonu wg punktu 6.5 w mililitrach: 0,05; 0,1; 0,2; 0,25; 0,5; 0,75; 1. Kolby uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 6.2. Stężenie *p*-benzochinonu w tak przygotowanych roztworach wynosi, w mikrogramach na mililitr, odpowiednio: 20; 40; 80; 100; 200; 300; 400.

Roztwory wzorcowe przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość do 7 dni.

7. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz następujący:

7.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy sprzężony z detektorem spektrofotometrycznym.

7.2. Rurki sorpcyjne

Stosować dostępne w handlu rurki do pobierania próbek powietrza, wypełnione dwiema warstwami żelu krzemionkowego nasączonego kwasem siarkowym (150/75 mg).

7.3. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie *p*-benzochinonu w obecności innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np. kolumna analityczna wypełniona żelami krzemionkowymi modyfikowanymi grupą oktadecylową o średnicy ziaren 5 µm, długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 3 mm.

7.4. Kolby pomiarowe

Kolby pomiarowe o pojemności 1 ml i 5 ml.

7.5. Naczynka

Naczynka szklane zamykane ml o pojemności 2 i 4 ml.

7.6. Pipety

Pipety automatyczne nastawne o pojemności: 0,010 ÷ 0,1 ml i 0,1 ÷ 1 ml.

7.7. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca pobranie próbki powietrza ze stałym strumieniem objętości w zakresie od 10 ml/min do 350 ml/min.

7.8. Mieszadło mechaniczne

7.9. Filtry strzykawkowe

Filtry strzykawkowe z politetrafluoroetylenem.

8. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbki powietrza za pomocą pompy ssącej wg punktu 7.7, przepuścić przez rurkę szklaną wg punktu 7.2 do 20 l powietrza ze stałym strumieniem objętości nieprzekraczającym 0,111 l/min.

Próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez 2 dni.

Trwałość próbek można wydłużyć, poddając je ekstrakcji zgodnie z rozdziałem 11 bezpośrednio po pobraniu.

Wyekstrahowane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość do 9 dni.

9. Warunki pracy chromatografu cieczowego z detektorem spektrofotometrycznym

Warunki pracy chromatografu należy dobrać tak, aby uzyskać oddzielenie *p*-benzochinonu od innych substancji występujących w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 7.3 optymalne warunki wykonania oznaczania przedstawiono w tabeli.

Tabela. Warunki pracy chromatografu cieczowego z detektorem UV-VIS

Table. Working conditions of a liquid chromatograph and UV-VIS detector

Kolumna analityczna Waters Sun Fire 250 mm x 3 mm x 5 µm		
Faza ruchoma	woda	acetonitryl
Program izokratycznie (v: v)	50	50
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,8 ml/min	
Temperatura kolumny	25°C	
Objętość próbki	2 µl	
Detektor UV-VIS o długości fali λ	λ = 254 nm	

Dopuszcza się stosowanie innych kolumn chromatograficznych lub faz ruchomych o innym składzie, zapewniających możliwość selektywnego oznaczania *p*-benzochinonu.

10. Sporządzanie krzywej wzorcowania

Na siedem rurek sorbentowych wg punktu 7.2 za pomocą pipet automatycznych wg punktu 7.6 nanieść po 0,01 ml roztworów wzorcowych roboczych *p*-benzochinonu wg punktu 6.6 na żel.

Po odparowaniu rozpuszczalnika zawartość rurki przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 7.5. Do każdego naczynka dodać 2 ml acetonitrylu wg punktu 6.2 i przeprowadzić ekstrakcję przez 30 min przy użyciu mieszadła mechanicznego wg punktu 7.8. Zawartość *p*-benzochinonu w 1 ml tak uzyskanych roztworów wynosi, w mikrogramach, odpowiednio: 0,2; 0,5; 0,8; 1; 2; 3; 4; oraz 0 µg w ślepej próbce. Ekstrakty przesączyć za pomocą filtrów strzykawkowych wg punktu 7.9. Następnie przenieść je do naczynek o pojemności 2 ml wg punktu 7.5 i wykonać analizę chromatograficzną w warunkach określonych w rozdziale 9. Sporządzić wykres krzywej wzorcowania, odkładając na osi odciętych zawartość *p*-benzochinonu, w mikrogramach w 1 ml otrzymanych roztworów, a na osi rzędnych – średnie wartości pola powierzchni piku.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie wykresu krzywej wzorcowania.

$$X = \frac{C}{V} \cdot 2$$

w którym:

- C – zawartość *p*-benzochinonu w 1 ml roztworu po ekstrakcji, odczytana z krzywej wzorcowania, w mikrogramach;
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez rurkę, w litrach;
- 2 – ilość roztworu zużyta do ekstrakcji.

11. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbek powietrza przesypać oddzielnie każdą warstwę żelu krzemionkowego nasączonego kwasem siarkowym do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 7.5, dodać 2 ml acetonitrylu wg punktu 6.2 i przeprowadzić ekstrakcję przez 30 min przy użyciu mieszadła mechanicznego wg punktu 7.8. Ekstrakty przesączyć za pomocą filtrów strzykawkowych wg punktu 7.9. Do naczynek o pojemności 2 ml wg punktu 7.5 przenieść 1 ml ekstraktu. Wykonać analizę chromatograficzną w warunkach określonych w rozdziale 9.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie *p*-benzochinonu (*X*) w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na metr sześcienny, zgodnie ze wzorem:



Oznaczanie kwasu pentadekafluorooktanowego w powietrzu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas¹

Determination of perfluorooctanoic acid in workplace air with high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometer

MARZENA BONCZAROWSKA

<https://orcid.org/0000-0003-3612-0656>

e-mail: marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl

WIOLETTA MYSUR

<https://orcid.org/0009-0009-3664-2279>

AGATA CIEMCIOCH

<https://orcid.org/0009-0004-4880-9180>

SŁAWOMIR BRZEŹNICKI

<https://orcid.org/0000-0002-0542-8538>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera w Łodzi
Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

Numer CAS: 335-67-1

Streszczenie

Kwas pentadekafluorooktanowy (PFOA) jest substancją stałą o białej barwie, charakteryzującą się drażniącym zapachem. PFOA należy do dużej grupy syntetycznych substancji per- i polifluoroalkilowych (PFAS). Jest związkiem o długim łańcuchu węglowym (osiem atomów węgla), w którym wszystkie atomy wodoru zostały zastąpione atomami fluoru. Podobnie jak inne związki z grupy PFAS, dzięki własnościom hydrofobowym i lipofobowym znalazł szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Między innymi był stosowany do produkcji preparatów służących do powlekania powierzchni odpornych na działanie tłuszczu i wody. PFOA, podobnie jak inne związki z grupy PFAS, może wnikać do organizmu drogą inhalacyjną i pokarmową, wraz ze spożywaną żywnością i wodą. Ze względu na zdolność do bioakumulacji PFOA może wywoływać liczne niekorzystne skutki zdrowotne, takie jak zaburzenia hormonalne, działanie immunotoksyczne lub działanie kancerogenne. Celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej i selektywnej metody oznaczania PFOA w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiar stężenia tego związku oraz ocenę narażenia zawodowego. Metoda polega na zatrzymaniu PFOA na filtrze z włókna szklanego, ekstrakcji zatrzymanego związku z filtra za pomocą acetonitrylu, a następnie jego oznaczeniu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas (LC-MS/MS). Zaproponowany sposób pobierania próbek i ekstrakcji PFOA z filtrów umożliwia wysoki odzysk ana-

¹ Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr III.PN.05 pt.: „Opracowanie metod oznaczania 12 szkodliwych substancji chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy do oceny narażenia zawodowego”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

litu. Średnia wartość wydajności ekstrakcji, wyznaczona dla trzech poziomów stężeń, wynosi 106,4%. Zależność wskazań spektrometru mas od stężenia PFOA ma charakter liniowy ($r = 0,9975$) w zakresie stężeń od 0,0036 µg/ml do 0,072 µg/ml. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością oraz spełnia wymagania normy PN-EN 482:2021-08 dotyczące procedur oznaczania czynników chemicznych. Została opisana w postaci procedury analitycznej zamieszczonej w załączniku. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy, będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: kwas pentadekafluorooktanowy, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, spektrometria mas, nauka o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

Pentadecafluorooctanoic acid (PFOA) is a white solid with an irritating odor. PFOA belongs to a large group of synthetic per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). PFOA is characterized by a carbon chain composed of eight carbon atoms, in which all hydrogen atoms have been replaced with fluorine atoms. Like other PFAS compounds, PFOA possesses hydrophobic and lipophobic properties, which have led to its widespread application across various industries. It is used, among other things, in the production of materials designed to coat surfaces that must be resistant to grease and water. PFOA, like other PFAS compounds, can enter the human body through inhalation or ingestion, via contaminated food and water. Due to its bioaccumulation potential, PFOA exhibits a range of harmful health effects, including hormonal disruptions, immunotoxicity, and potential carcinogenicity. The aim of the study was to develop a sufficiently sensitive and selective method for determining PFOA concentrations in workplace air, which would enable measurement of exposure levels and allow for occupational risk assessment. The method is based on collecting PFOA on a glass fibre filter, extracting the analyte from the filter with acetonitrile, and analysing the extracted compound using high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The proposed sampling and extraction method allows for high analyte recovery. The average extraction efficiency (calculated for three concentration levels) amounted to 106.4%. The mass spectrometer response to PFOA concentration is linear ($r = 0.9975$) in the range of 0.0036 µg/ml to 0.072 µg/ml. The method demonstrates good precision and accuracy, and it complies with the PN-EN 482:2021-08 standard for chemical agent determination procedures. The method developed for determining PFOA concentrations in workplace air has been documented as an analytical procedure, which is included in the appendix. The thematic scope of the article covers health, safety, and occupational hygiene issues and falls within the fields of health sciences and environmental engineering.

Keywords: pentadecafluorooctanoic acid, analytical method, liquid chromatography method, mass spectrometry, health sciences, environmental engineering.

Adres do korespondencji/Contact details: Marzena Bonczarowska, Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, 91-348 Łódź, ul. Świętej Teresy od Dzieciątka Jezus 8, e-mail: marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl

WPROWADZENIE

Kwas pentadekafluorooktanowy (PFOA) należy do dużej grupy syntetycznych substancji per- i poli-fluoroalkilowych (PFAS). Jest związkiem o długim łańcuchu węglowym (osiem atomów węgla), w którym wszystkie atomy wodoru zostały zastąpione atomami fluoru. Ze względu na rodzaj grupy funkcyjnej PFOA został zaklasyfikowany do grupy per-fluoroalkilowych kwasów karboksylowych.

Dzięki silnemu wiązaniu kowalencyjnemu między atomami węgla i fluoru PFOA jest związkiem bardzo stabilnym, odpornym na rozkład chemiczny,

termiczny i praktycznie nieulegającym biodegradacji. Podobnie jak inne związki z grupy PFAS, dzięki właściwościom hydrofobowym i lipofobowym znalazł szerokie zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Jest stosowany m.in. do produkcji preparatów służących do powlekania powierzchni odpornych na działanie tłuszczu i wody (np. kubków termicznych, papieru do pieczenia i papieru do pakowania żywności), powłok płamoodpornych oraz środków do pielęgnacji podłóg. W innych gałęziach przemysłu PFOA używany jest do produkcji różnego rodzaju uszczelnień, izolacji czy zaworów, a także pian gaśniczych. Jednym z najważniejszych zastosowań PFOA

było użycie go jako substancji pomocniczej w produkcji powłok nieprzywierających, takich jak teflon (PUBCHEM 2025; Szczęsna i in. 2024).

Do organizmu PFOA, podobnie jak inne związki z grupy PFAS, może dostawać się drogą inhalacyjną oraz pokarmową wraz ze spożywaną żywnością i wodą. Ze względu na zdolność do bioakumulacji PFOA wykazuje wiele negatywnych efektów zdrowotnych. Może zakłócać funkcjonowanie hormonów tarczycy, prowadząc do zaburzeń metabolicznych, a także wpływać na gospodarkę hormonalną, w tym poziom estrogenów i androgenów, co może mieć konsekwencje dla płodności i rozwoju. PFOA może również prowadzić do powiększenia wątroby i zaburzeń jej funkcji. Badania naukowe wskazują, że związek ten może osłabiać odpowiedź immunologiczną organizmu, obniżać skuteczność szczepień i zwiększać podatność na infekcje. PFOA może przenikać przez łożysko do płodu oraz do mleka matki. Wyniki badań wskazują na związek między niską masą urodzeniową dzieci a obecnością związków PFAS w organizmie matek (Yang i in. 2022). Istnieją również dowody wskazujące na związek PFOA z występowaniem niektórych nowotworów, takich jak rak nerki i rak jąder (IARC 2025; PUBCHEM 2025; Szczęsna i in. 2024).

Grupa robocza IARC uznała PFOA za substancję rakotwórczą dla ludzi (Grupa 1) na podstawie dowodów występowania raka u zwierząt doświadczalnych oraz wystarczających dowodów mechanistycznych wskazujących, że PFOA wykazuje kluczowe cechy substancji rakotwórczych (IARC 2025).

Narażenie zawodowe na PFOA dotyczy przede wszystkim osób pracujących z materiałami lub produktami zawierającymi tę substancję. Do grup podwyższonego ryzyka należą m.in. strażacy, pracownicy zajmujący się konserwacją odzieży i dywanów, osoby zatrudnione w sektorze segregacji odpadów oraz pracownicy punktów woskowania nart.

PFOA został wpisany na listę trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO/POP) na mocy rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1021.

Od 2020 r. w UE obowiązuje zakaz produkcji, stosowania i wprowadzania do obrotu PFOA oraz jego pochodnych, zgodnie z rozporządzeniem REACH (Rozporządzenie Nr 1907/2006).

W Unii Europejskiej PFOA posiada zharmonizowaną klasyfikację określoną w tabeli 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. L 353 z 31.12.2008 ze zm.). Klasyfikację i oznakowanie PFOA przedstawiono w tabeli 1.

Na posiedzeniu Zespołu Ekspertów ds. Czynników Chemicznych i Pyłowych Międzyresortowej Komisji ds. NDS i NDN, na podstawie dostępnych danych naukowych, zaproponowano wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla PFOA na poziomie 0,01 mg/m³. Zaproponowana wartość dotyczy frakcji wdychalnej tego związku

Tabela 1. Klasyfikacja i oznaczenie kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA) zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP)

Table 1. Classification and labelling of pentadecafluorooctanoic acid (PFOA) according to Regulation of the European Parliament and of the Council No. 1272/2008 (CLP)

Klasa zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Carc. 2 – rakotwórczość, kat. zagrożenia 2	H351: Podejrzewa się że powoduje raka
Repr. 1B – szkodliwy wpływ na funkcje rozrodcze	H360D: Może działać szkodliwie na dziecko w łonie matki
Acute Tox. 4 – toksyczność ostra, kat. zagrożenia 4	H302: Działa szkodliwie po połknięciu
Aquatic Chronic 2 – stwarzanie zagrożenia dla środowiska wodnego, kat. zagrożenia 2	H332: Działa szkodliwie w następstwie wdychania
Lact. – działanie szkodliwe na rozrodczość, wpływ na laktację lub szkodliwe działanie na dzieci karmione piersią	H362: Może działać szkodliwie na dzieci karmione piersią
STOT RE 1 – działanie toksyczne na narządy docelowe	H372: Powoduje uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie
Eye Dam. 1 – powoduje poważne uszkodzenie oczu, kat. zagrożenia 1	H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu

(Szczęsna i in. 2024). Jednocześnie nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh).

Celem pracy było opracowanie odpowiednio czułej i selektywnej metody oznaczania PFOS w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiar jego stężenia zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 482, a następnie dokonanie oceny narażenia zawodowego.

Założenia opracowanej metody

Niezależnie od rodzaju matrycy, w której oznaczane są związki z grupy PFAS (materiał biologiczny, powietrze, opakowania, żywność, tkaniny itp.), oznaczanie tych substancji, z uwagi na ich niskie stężenia, wymaga zastosowania metod chromatograficznych sprzężonych ze spektrometrią mas.

Najczęściej w analizach PFAS wykorzystywana jest wysokosprawna chromatografia cieczowa z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS), (Frigerio i in. 2022; Gonzalez i in. 2021; Heo i in. 2022; ITRC 2023; Nahar i in. 2023; Prakash i in. 2019; Rheman i in. 2023; US EPA 2021; Yang i in. 2018). Rzadziej, w przypadku bardziej lotnych związków PFAS (np. alkoholi fluorotelomerowych lub fluorooktanosulfonamidów), stosuje się chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC-MS), (ITRC 2023). Zastosowanie techniki GC-MS do oznaczania związków o niskiej lotności (PFOS, PFOA) jest możliwe, ale wymaga przeprowadzenia tych substancji w lotne pochodne (silylacja), (Schafique i in. 2017), a uzyskane po derywatyzacji próbki (z uwagi na niską trwałość) muszą zostać oznaczone w ciągu 2 dni od ich przygotowania (Gang i in. 2009).

W przypadku PFOA, należącego do grupy stosunkowo silnych kwasów, które w roztworach występują w postaci anionowej, najlepszą metodą oznaczania jest wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (Rehman i in. 2023).

Z uwagi na niską lotność i związane z tym występowanie PFOA w powietrzu w postaci pyłu lub aerozolu (Bossi, Ellermann 2023; Bradman i in. 2021; EFSA 2008; US EPA 2017) do pobierania próbek powietrza do oznaczeń można zastosować filtry z włókna szklanego (Awad i in. 2023), filtry kwarcowe (Chang i in. 2024; Moretti i in. 2024) lub filtry winylowe (Freberg i in. 2014).

Ze względu na proponowaną wartość NDS, właściwości fizyczne i chemiczne PFOA oraz dane

literaturowe dotyczące oznaczania związków z grupy PFAS, w opracowywanej metodzie zastosowano technikę LC-MS/MS, natomiast do pobierania próbek powietrza – filtry z włókna szklanego oraz głowice umożliwiające pobieranie frakcji wdychalnej powietrza.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Przy opracowaniu metody oznaczania PFOA w powietrzu na stanowiskach pracy przyjęto następujące założenia:

- pobieranie jednej próbki na zmianę roboczą
- objętość pobranego powietrza nie mniej niż 720 l
- zakres pomiarowy $0,72 \div 14,4 \mu\text{g}/\text{filtr}$ ($0,0036 \div 0,072 \mu\text{g}/\text{ml}$) co dla próbki powietrza 720 l odpowiada zakresowi $0,001 \div 0,02 \text{ mg}/\text{m}^3$.

Aparatura, materiały i odczynniki

Do pobierania próbek powietrza zastosowano aspiratory indywidualne GilAir 3 (Gilian), umożliwiające pobieranie próbek w strefie oddychania pracownika ze stałym strumieniem objętości 120 l/h oraz głowice do poboru frakcji wdychalnej typu IOM.

Analizy wykonano z zastosowaniem chromatografu cieczowego Waters ACQUITY I Class Plus, wyposażonego w binarny system pomp wysokociśnieniowych, dozownik automatyczny (autosampler), termostat oraz komputerową stację akwizycji i obróbki danych, sprzężonego z tandemowym spektrometrem mas Waters Xevo TQ-XS. Zastosowano kolumnę analityczną Waters ACQUITY UPLC BEH $100 \times 2,1 \text{ mm}$, wypełnioną złożem typu C18 o średnicy ziaren $1,7 \mu\text{m}$, oraz VanGuard pre-column ($2,1 \times 5 \text{ mm}$). W badaniach zastosowano również mieszadło mechaniczne i wagę analityczną (Sartorius).

Do przygotowania próbek i roztworów zastosowano naczynka szklane o pojemności 2 ml i 4 ml, kolby miarowe o pojemności 1 ml, 5 ml i 1000 ml oraz pipety automatyczne nastawne o zakresie pojemności $0,01 \div 0,1 \text{ ml}$, $0,1 \div 1 \text{ ml}$ i $0,5 \div 5 \text{ ml}$.

W badaniach zastosowano następujące odczynniki i roztwory: kwas pentafluorooktanowy (CRM), acetonitryl o czystości do LC-MS, metanol o czystości do LC-MS, octan amonu oraz wodę o czystości do LC-MS.

Dobór optymalnych warunków analizy chromatograficznej techniką LC-MS/MS

Prace związane z opracowaniem metody analizy instrumentalnej służącej oznaczaniu PFOA w powietrzu oparto na wcześniejszych doświadczeniach uzyskanych podczas prac związanych z opracowaniem metody oznaczania PFAS w materiale biologicznym pochodzącym od osób nienarażonych zawodowo na tę grupę związków. Badania te (dane niepublikowane) dotyczyły między innymi metody rozdzielania 21 związków z grupy PFAS, w tym PFOA.

Wszystkie badania związane z analizą PFOA przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu UPLC-MS/MS i kolumny analitycznej Waters ACQUITY UPLC BEH (100 x 2,1 mm), uzupełnionej złożem C18 poprzedzonej prekolumną. Kolumnę wymywano mieszaniną octanu amonu i metanolu o zmiennym w czasie składzie procentowym (elucja gradientowa).

Optymalizacji poddano parametry pracy tandemowego spektrometru mas, takie jak: napięcia kapilary sondy ESI, źródła jonów, ekstraktora i soczewek; temperatury desolwatacji i źródła jonów; przepływy gazów oraz parametry pracy komory kolizyjnej. Identyfikację i analizę ilościową przeprowadzano na podstawie analizy jego widma masowego.

Na rycinie 1 przedstawiono chromatogram wzorca PFOA w acetonitrylu (ACN), natomiast na rycinie 2 – widmo MRM (ang. *Multiple Reaction Monitoring*) tego związku.

Zastosowane w analizie parametry pracy chromatografu cieczowego (skład fazy ruchomej, stosowana kolumna chromatograficzna) umożliwiają rozdzielanie mieszaniny związków z grupy PFAS zawierającej PFOA. Zastosowanie tandemowego spektrometru mas w analizie PFOA zapewnia, w określonych warunkach analitycznych, selektywność oznaczeń tego związku w przypadku obecności innych związków z grupy PFAS.

Optymalne warunki pracy zestawu LC-MS/MS stosowanego podczas opracowywania metody przedstawiono w tabelach 2 i 3.

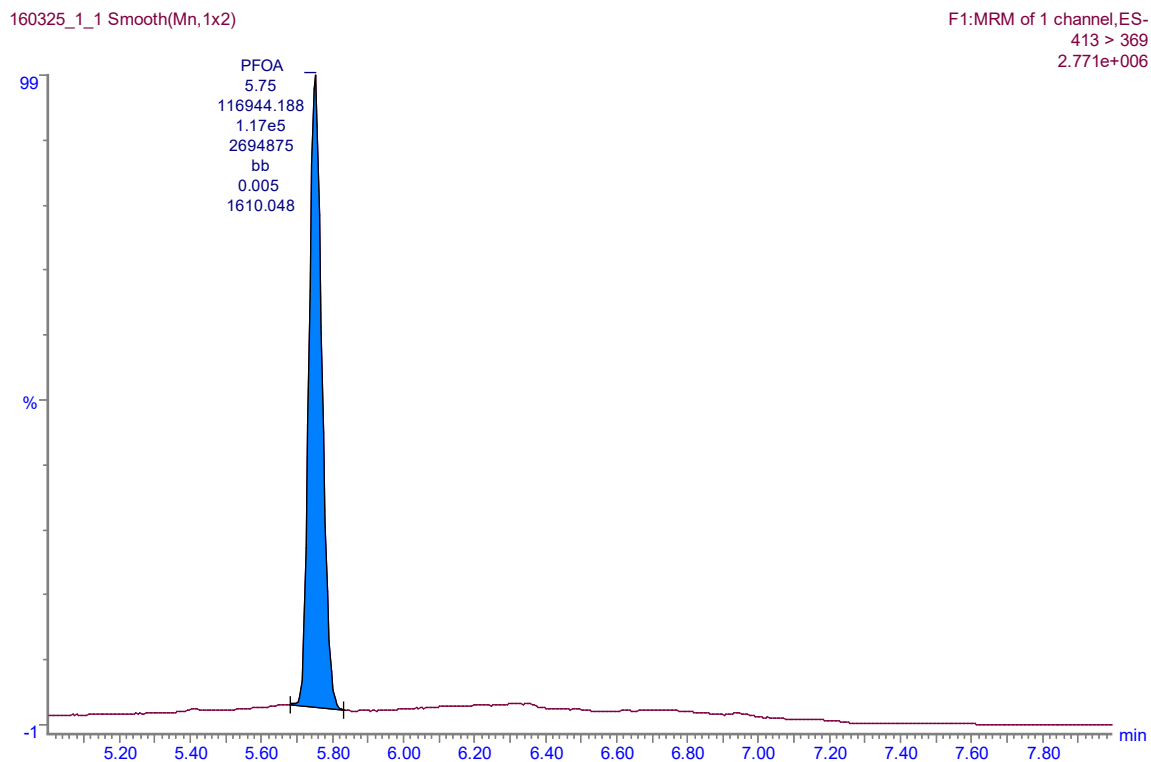
Badanie zakresu stosowania i liniowości metody analitycznej

W celu zbadania zakresu roboczego metody oznaczania PFOA ($1/10 \div 2$ NDS) przygotowano trzy serie po 8 filtrów z włókna szklanego, na które naniesiono po 0,1 ml roztworów wzorcowych PFOA w ACN o stężeniach: 7,2 µg/ml; 14,4 µg/ml; 36,0 µg/ml; 50,4 µg/ml; 72 µg/ml; 108 µg/ml i 144 µg/ml. Na ósmy filtr, stanowiący ślepą próbkę, naniesiono 0,1 ml acetonitrylu. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przeniesiono do naczynek o pojemności 4 ml, a następnie przeprowadzono 30-minutową ekstrakcję PFOA z filtrów za pomocą 2 ml acetonitrylu, przy użyciu mieszadła mechanicznego. Każdy ekstrakt rozcieńczono 100-krotnie, przenosząc do naczynek o pojemności 2 ml po 10 µl ekstraktu, a następnie dodając 990 µl acetonitrylu. Uzyskane roztwory poddano analizie chromatograficznej. Stężenia PFOA w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosiły, w mikrogramach: 0,0036; 0,0072; 0,018; 0,0252; 0,036; 0,054; 0,072 oraz 0 w ślepej próbce.

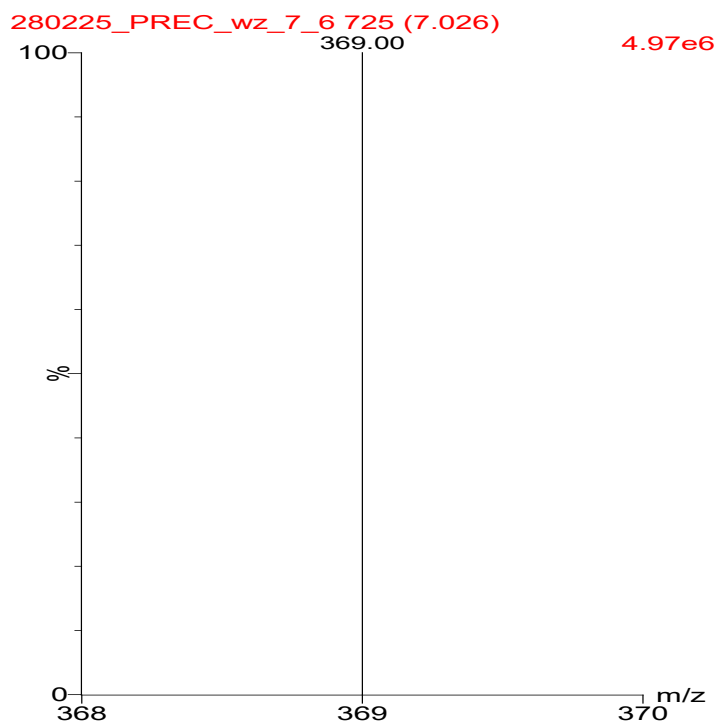
Wyniki badania liniowości metody w badanym zakresie stężeń przedstawiono w tabeli 4 i graficznie na rycinie 3. Z przedstawionych danych wynika, że zależność odpowiedzi spektrometru mas od stężenia PFOA w zakresie $0,0036 \div 0,072$ µg/ml, co dla próbki powietrza 720 l odpowiada zakresowi $0,001 \div 0,02$ mg/m³, ma charakter liniowy. Zależność tę opisuje równanie $y = 20782927,9x + 20953,7$. Wyrażony w procentach współczynnik zmienności (CV) dla trzech serii kalibracyjnych wynosi 4,7 %, a współczynnik regresji $r = 0,9975$.

Badanie warunków pobierania próbek powietrza

W celu zbadania wpływu założonych warunków pobierania próbek powietrza na retencję PFOA pobranego na filtr z włókna szklanego przygotowano trzy serie po sześć filtrów, na które naniesiono po 0,1 ml roztworów wzorcowych o stężeniach odpowiadających zakresowi badanej metody od $1/10$ do 2 wartości NDS (7,2 µg/ml; 50,4 µg/ml i 144 µg/ml). Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry umieszczono w głowicach umożliwiających pobieranie frakcji wdychalnej. Za pomocą aspiratorów indywidualnych przez filtry przepuszczono 720 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 2 l/h. Następnie filtry



Rycina 1. Chromatogram wzorca kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA) (RT-5,75). LC-MS/MS
Figure 1. Chromatogram of perfluorooctanoic acid (PFOA) standard (RT-5,75). LC-MS/MS



Rycina 2. Widmo MRM kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA)
Figure 2. MRM mass spectra of pentadecafluorooctanesulfonic acid (PFOA)

Tabela 2. Warunki pracy chromatografu cieczowego
Table 2. Working conditions of a liquid chromatograph

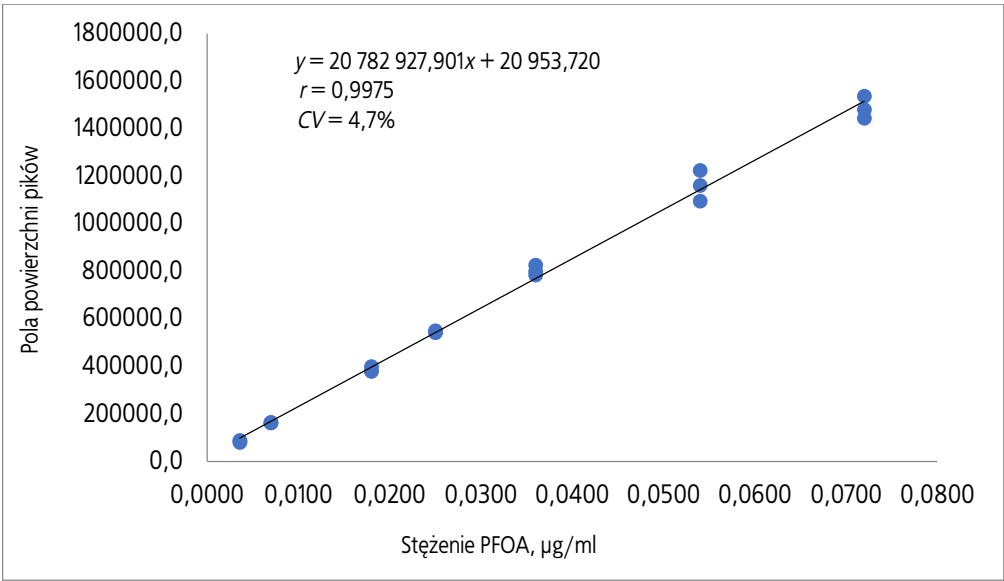
Kolumna analityczna Waters ACQUITY UPLC BEH 100 x 2, 1 mm, ziarno 1,7 µm			
Faza ruchoma	czas, min	octan amonu 2 mmol/l (%) A	metanol (%) B
Program – gradient (v: v)	0	97	3
	0,5	97	3
	6	5	95
	8,5	5	95
	8,51	97	3
	12	97	3
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,3 ml/min		
Temperatura kolumny	40°C		
Objętość próbki, µl	0,5		

Tabela 3. Warunki pracy tandemowego spektrometru mas
Table 3. Working conditions of tandem mass spectrometer

Analiza MS/MS	Parametr	Wartość
Tryb MRM (Multiple Reaction Monitoring)	Źródło jonów	
	jonizacja	ES -
	napięcie kapilary	1,5 kV
	napięcie źródła jonów	40 V
PFOA: jon macierzysty 413 m/z jon potomny 369 m/z:	temperatura źródła jonów	150 °C
	temperatura desolwatacji	500°C
	przepływ azotu w źródle jonów	150 l/h
	przepływ gazu desolwatacyjnego (azot)	800 l/h
	ciśnienie gazu nebulizacyjnego	7 bar
	Komora kolizyjna	
	przepływ gazu kolizyjnego (argon)	0,15 ml/min
	energia kolizji (tryb MS/MS)	20 eV
	Analizator	
	rozdzielczość niskich mas 1 (LMR-1)	2,83
	rozdzielczość wysokich mas 1 (HMR-1)	15,20
	energia jonów 1	-0,3
	rozdzielczość niskich mas 2 (LMR-2)	2,73
	rozdzielczość wysokich mas 2 (HMR-2)	14,86
	energia jonów 2	0,1
	wzmocnienie	1

przeniesiono do naczynek szklanych o pojemności 4 ml i przeprowadzono 30-minutową ekstrakcję z użyciem 2 ml acetonitrylu i mieszađła mechanicznego. Otrzymane ekstrakty rozcieńczono 100-krotnie, po czym poddano analizie chromatograficznej. Wartości pól powierzchni pików badanego związku uzyskane z analiz ekstraktów porównano z wynikami analiz ekstraktów z filtrów, na które naniesiono roztwory wzorcowe PFOA o takich samych stężeniach, ale przez które nie przepuszczano powietrza.

Wyniki badań dotyczących warunków pobierania próbek powietrza przedstawiono w tabeli 5. Przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje istotnych strat analitów. Średnie wartości współczynnika wydajności ekstrakcji PFOA z filtrów z włókna szklanego, przez który przepuszczono 720 l powietrza, dla trzech analizowanych zawartości PFOA na filtrze (0,72 µg; 5,04 µg; i 14,4 µg na filtrze) wynoszą odpowiednio: 106,2% (SD – 5,7); 95,6% (SD – 10,7) i 98,3% (SD – 2,6). Średnia



Rycina 3. Krzywa wzorcowa kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA) w zakresie stężeń 0,0036 ÷ 0,072 µg/ml
Figure 3. Pentadecafluorooctanesulfonic acid (PFOA) calibration curve in the range of 0,0036 ÷ 0,072 µg/ml

Tabela 4. Warunki wzorcowania kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA) na filtrach z włókna szklanego
Table 4. Linearity testing of pentadecafluorooctanesulfonic acid (PFOA) on glass fiber filters

Stężenie PFOA, µg/ml	0,0036	0,0072	0,018	0,0252	0,036	0,054	0,072
Pole powierzchni pików (PPP)	80 732,0 86 968,5 88 777,4	1 633 55,2 164 822,3 163 841,3	381 867,2 379 480,0 399 812,2	542 777,2 545 766,6 550 841,7	801 020,7 784 891,9 826 145,5	1 095 433,6 1 161 516,5 1 225 934,9	1 480 614,6 1 444 519,5 1 538 246,8
Średnia PPP	85 492,6	164 006,3	387 053,1	546 461,8	804 019,4	1 160 961,6	1 487 793,6
Odchylenie standardowe, SD	4220,9	747,3	11 113,9	4077,0	20 789,6	65 252,4	47 274,2
Współczynnik zmienności, CV, %	4,9	0,5	2,9	0,7	2,6	5,6	3,2

wartość współczynnika wydajności ekstrakcji dla trzech stężeń wynosi 100,1 % (*SD* – 8,2).

Wyznaczanie granic wykrywalności i oznaczalności metody

Badanie granicy wykrywalności i oznaczalności PFOA przeprowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w opracowaniu Dobeckiego (2000).

W celu wyznaczenia granic wykrywania i oznaczania metody przygotowano dwadzieścia roztworów PFOA o stężeniu 0,00072 µg/ml. Roztwory poddano analizie chromatograficznej w uprzednio ustalonych warunkach pracy układu LCMS/MS.

Wyniki analizy dotyczącej wyznaczania granicy wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ) PFOA z zastosowaniem techniki LC-MS/MS przedstawiono w tabeli 6. Obliczono wartość średnią

Tabela 5. Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA)
Table 5. Investigation of air sampling conditions for epntadecafluorooctanic acid (PFOA) PFOA determinations

Medium pochłaniające	Zawartość PFOA na filtrze, µg	Pole powierzchni pików		Współczynnik wydajności ekstrakcji, %	Średnia wartość współczynnika wydajności ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	roztwór po desorpcji		
Filtr z włókna szklanego	0,72	92 636,2 94 597,0 97 826,7	96 149,3	101,2	106,2
			99 403,3	104,6	
			99 958,8	105,2	
			111 681,3	117,5	
			99 399,0	104,6	
			99 091,4	104,3	
			SD	5,7	
			CV	5,4 %	
Filtr z włókna szklanego	5,04	567 823,1 576 141,9 555 629,7	549 236,4	96,9	95,6
			498 029,6	87,9	
			571 020,0	100,8	
			465 140,0	82,1	
			527 444,2	93,1	
			639 959,0	113,0	
			SD	10,7	
			CV	11,2 %	
Filtr z włókna szklanego	14,4	1507 049,6 1574 668,9 1538 124,6	1 433 569,3	93,1	98,3
			1 515 191,0	98,4	
			1 521 022,9	98,8	
			1 527 911,4	99,2	
			1 540 075,9	100,0	
			1 543 684,5	100,2	
			SD	2,6	
			CV	2,7 %	
Średni współczynnik odzysku, Śr, %			100,1		
Odchylenie standardowe, SD			8,2		
Współczynnik zmienności, CV, %			8,2		

oraz odchylenie standardowe pól powierzchni pików o czasie retencji PFOA. Na podstawie współczynnika nachylenia krzywej wzorcowej wyznaczono granicę wykrywalności (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) metody. Wartości te wynoszą odpowiednio 0,000046 µg/ml i 0,000154 µg/ml.

Badanie precyzji metody oznaczania kwasu pentadekafluorooktanowego w powietrzu

W celu zbadania zgodności wyników przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia przygotowano trzy serie po dziesięć filtrów, na które naniesiono po 0,1 ml roztworów wzorcowych o stężeniach odpowiadających zakresowi badanej metody od 1/10 do 2 wartości NDS, czyli 7,2 µg/ml; 50,4 µg/ml i 144 µg/ml. Po 30-minutowej ekstrakcji za pomocą 2 ml acetonitrylu i mieszała mechanicznego ekstrakty rozcieńczono i poddano analizie chromatograficznej.

Oznaczono stężenia PFOA w analizowanych próbkach, a następnie dla każdego stężenia obliczono wartość średnią, odchylenie standardowe oraz współczynnik zmienności na podstawie $n = 10$ wyników. Wyniki badań precyzji oznaczeń PFOA przedstawiono w tabeli 7.

Uzyskane wyniki wskazują, że przyjęte warunki wykonania analizy pozwalają na precyzyjne wykonanie oznaczeń stężeń PFOA w powietrzu. Wartości średnie oraz współczynniki zmienności (CV) uzyskane dla stężeń: 0,0036 µg/ml; 0,0252 µg/ml i 0,072 µg/ml wynoszą odpowiednio: 0,0040 µg/ml (CV = 2,7%); 0,0275 µg/ml (CV = 3,1%) i 0,077 µg/ml (CV = 2,7%).

Badanie trwałości próbek kwasu pentadekafluorooktanowego pobranych na filtry z włókna szklanego

W celu zbadania trwałości próbek powietrza zawierających PFOA, pobranych na filtry, przygotowano

Tabela 6. Wyznaczanie granic wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ)
Table 6. Determination of the detection (LOD) and quantification limit (LOQ)

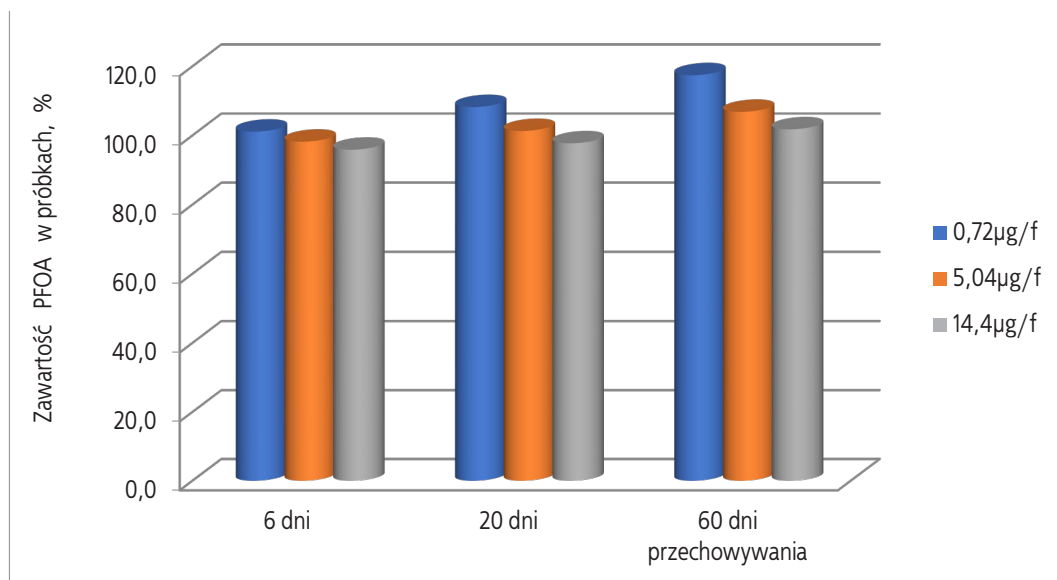
Wyznaczone parametry	Wartości sygnału	28 099,5 27 787,8 28 057,9 27 934,6 27 954,3 27 907,7 27 474,3 28 650,7 27 586,0 27 551,7	27 891,7 27 412,1 27 852,7 27 882,7 27 757,7 28 096,6 27 324,8 28 330,6 27 919,9 28 204,7
	Średnie pole powierzchni, $n = 20$	27 883,9	
	Odchylenie standardowe, S	320,4	
	Współczynnik zmienności, CV , %	1,1	
	Granica wykrywalności LOD, $\mu\text{g/ml}$	0,000046	
	Granica oznaczalności LOQ, $\mu\text{g/ml}$	0,000154	

Tabela 7. Wyniki badania precyzji metody oznaczania kwasu pentadekafluorooktanowego (PFOA)
Table 7. The results of the precision study of the pentadecafluorooctanesulfonic acid (PFOA) determination method

Nr analizy	Stężenie PFOA, $\mu\text{g/ml}$					
	zakładane	oznaczone	zakładane	oznaczone	zakładane	oznaczone
1	0,0036	0,0043	0,0252	0,0262	0,072	0,0750
2		0,0040		0,0279		0,0764
3		0,0040		0,0277		0,0780
4		0,0041		0,0278		0,0751
4		0,0039		0,0286		0,0770
6		0,0040		0,0258		0,0783
7		0,0040		0,0273		0,0781
8		0,0040		0,0273		0,0774
9		0,0041		0,0282		0,0737
10		0,0039		0,0276		0,0809
Średnia	0,004		0,0275		0,0770	
SD	0,0001		0,0009		0,0021	
CV , %	2,7		3,1		2,7	

trzy serie po 18 filtrów szklanych, na które naniesiono po 0,1 ml roztworów wzorcowych PFOA o stężeniach: 7,2 $\mu\text{g/ml}$; 50,4 $\mu\text{g/ml}$ i 144 $\mu\text{g/ml}$. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przeniesiono do naczynek szklanych o pojemności 4 ml, szczelnie zamknięto i przechowywano w chłodziarce. Po 6, 20 i 60 dniach przechowywania przeprowadzono analizę sześciu filtrów dla każdego poziomu stężenia. Do filtrów dodano 2 ml acetonitrylu, a następnie poddano je 30-minutowemu wymywaniu związku z filtra za pomocą mieszań mechanicznego. Otrzymane ekstrakty po 100-krotnym rozcieńczeniu poddano analizie chromatograficznej w ustalonych wcześniej warunkach. Wartości pól powierzchni pików badanego związku otrzymane z ekstraktów porównano z wynikami analiz ekstraktów wzorców PFOA o takich samych stężeniach, przygotowanych w dniu analizy.

Wyniki badań warunków przechowywania pobranych próbek PFOS przedstawiono na rycinie 4. Wskazują one, że próbki PFOA pobrane na filtry z włókna szklanego i przechowywane w chłodziarce są trwałe przez co najmniej 60 dni. Średnie wartości współczynnika odzysku PFOA, wyrażone w procentach, dla poszczególnych mas analitu naniesionych na filtry (0,72 $\mu\text{g/filtr}$; 5,04; 14,4 $\mu\text{g/filtr}$) po 60 dniach przechowywania wynoszą odpowiednio 95,9%; ($SD - 2,1$); 97,7% ($SD - 3,7$) i 101,8% ($SD - 3,5$). Średnia wartość współczynnika odzysku PFOA z filtrów po tym czasie przechowywania wynosi 98,5% ($SD - 9,1$).



Rycina 4. Trwałość próbek kwasu pentadecafluorooktanowego (PFOA) przechowywanych w chłodziarce
Figure 4. Stability of pentadecafluorooctanic acid (PFOA) samples stored in a refrigerator

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2021-08. Wyznaczono następujące parametry walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,0036 ÷ 0,072 µg/ml (0,001 ÷ 0,02 mg/m³ dla próbki powietrza 720 l)
- granica wykrywalności, LOD 0,000046 µg/ml
- granica oznaczalności, LOQ 0,000154 µg/ml
- współczynnik korelacji $r = 0,9975$
- niepewność rozszerzona metody 23,87%.

w badanym zakresie stężeń (0,0036 ÷ 0,072 µg/ml) mają charakter liniowy. Próbkę powietrza do oznaczania PFOA można pobierać na filtry z włókna szklanego. Zatrzymany na filtrze związek należy ekstrahować acetonitrylem. Probki pobrane na filtry i przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej 60 dni. Metoda, w wersji przedstawionej w załączniku, umożliwia oznaczanie PFOA w powietrzu na stanowiskach pracy w stężeniach od 0,001 mg/m³, czyli od 0,1 proponowanej wartości NDS.

Zaproponowana metoda umożliwia selektywne oznaczanie PFOA w obecności innych związków z tej grupy.

PODSUMOWANIE

Na podstawie przeprowadzonych badań opracowano metodę oznaczania kwasu pentadecafluorooktanowego (PFOA) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas. Wskazania spektrometru mas w funkcji stężenia PFOA

PIŚMIENNICTWO

- Awad R., Thorsén G., Nerentorp M. i in. (2023). Swedish Environmental Research Institute. Sampling of PFAS in air. <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:1775705/FULLTEXT01.pdf> [dostęp: 27.08.2025 r.].
- Bossi R., Ellermann T. (2023). Per- and polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in atmosphere and deposition Aarhus University. DCE https://dce.au.dk/fileadmin/dce.au.dk/Udgivelser/Notater_2023/N2023_20.pdf [dostęp: 27.08.2025 r.].
- Bradman A., Castorina R., Pattabhiraman T. i in. (2021). Assessment of Methods to Collect and Analyze Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) in Air, Dust and Soil. Final Report. Center for Environmental Research and Children's Health, University of California Berkeley. https://www.waterboards.ca.gov/pfas/ca_pfas_timeline.html [dostęp: 20.08.2026].
- Chang N.Y., Eichler C.M.A., Amparo D.E. i in. (2024). Indoor air concentrations of PM2.5 quartz fiber filter-collected ionic PFAS and emissions to outdoor air: findings from the IPA campaign. *Environ Sci Process Impacts* 3.
- Dobecki M. (2000). Walidacja metod badań chemicznych i pyłowych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy. *Podst. Metod. Oceny Środow. Pr.* 3(25), 5–14.
- EFSA, European Food Safety Authority (2008). Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *The EFSA Journal* 653, 1-131. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/per-and-polyfluoroalkyl-substances-pfas> [dostęp: 21.08.2026].
- Freberg B.I., Olsen R., Daae H.L. i in. (2014). Occupational Exposure Assessment of Airborne Chemical Contaminants Among Professional Ski Waxers. *Ann. Occup. Hyg.* 58, 5, 601–611.
- Frigerio G., Cafagna S., Polledri E. i in. (2022). Development and validation of an LC-MS/MS method for the quantitation of 30 legacy and emerging perand polyfluoroalkyl substances (PFASs) in human plasma, including HFPO-DA, DONA, and cC6O4. *Anal Bioanal Chem*; 414(3):1259-1278. DOI: 10.1007/s00216-021-03762-1.
- Gang L.V., Wang L., Liu S. i in. (2009). Determination of Perfluorinated Compounds in Packaging Materials and Textiles Using Pressurized Liquid Extraction with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Anal Sci.* 25, 3, 425–429.
- Gonzalez P.C., Sadia M., Baabish A. i in. (2021). Air monitoring with passive samplers for perfluoroalkane substances in developing countries (2017–2019). *Chemosphere* 282, 131069.
- Heo D-G., Lee D-C., Kwon Y-M. i in. (2022). Simultaneous determination of perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonic acid in Korean sera using LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1192, 123138.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (2025). Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS). IARC Monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. Volume 135.pdf <https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-monographs-volume-135-perfluorooctanoic-acid-pfoa-and-perfluorooctanesulfonic-acid-pfos/> [dostęp: 21.08.2026].
- ITRC, The Interstate Technology and Regulatory Council (2023). Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). <https://pfas-1.itrcweb.org/wp-content/uploads/2023/12/Full-PFAS-Guidance-12.11.2023.pdf> [dostęp: 10.09.2025 r.].
- Moretti S., Castellini S., Barola C. i in. (2024) Determination of Perfluorinated and Polyfluorinated Alkyl Substances (PFASs) in PM10 Samples: Analytical Method, Seasonal Trends, and Implications for Urban Air Quality in the City of Terni (Central Italy). *Separations*, 11, 42.
- Nahar K., Zulkarnain N.A., Niven R.K. (2023). A Review of Analytical Methods and Technologies for Monitoring Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Water. *Water* 15, 3577.
- Prakash B., Lee C., Byrne G. i in. (2019). Ultra-fast LC-MS/MS Analysis of PFAS in Environmental Samples. Shimadzu White Paper. https://lcms.cz/labrulez-bucket-strap-h3hsga3/jpz19007_6b00c4e388/jpz19007.pdf [dostęp: 27.08.2025 r.].
- PN-EN 482: 2021-08 Narażenie na stanowiskach pracy – Procedury oznaczania stężenia czynników chemicznych – Podstawowe wymagania dotyczące parametrów procedur.
- Rehman A.U., Crimi M., Andreescu S. (2023). Current and emerging analytical techniques for the determination of PFAS in environmental samples. *Trends Environ. Anal. Chem.* 37, e00198 (21.08.2026). DOI: 10.1016/j.tec.2023.e00198.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH) i utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/WE i dyrektywy Komisji 91/155/EEG, 93/67/EEG, 93/105/WE i 2000/21/WE.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EEG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1021 z dnia 20 czerwca 2019 r. dotyczące trwałych zanieczyszczeń organicznych (Dz. Urz. UE L 169 z 25.6.2019, s. 45, z późn. zm.), zwane rozporządzeniem (UE) 2019/1021.
- Shafique U., Schulze S., Sławik C. i in. (2017). Gas chromatographic determination of perfluorocarboxylic acids in aqueous samples - A tutorial review. *Anal Chim Acta.* 949, 8-22. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.026> [dostęp: 21.08.2026].

Szczęśna D., Klimecka A., Jurewicz J. (2024). Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. Kwas pentadekafluorooktanowy – frakcja wdychalna. IMP (dane niepublikowane).

United States Environmental Protection Agency (US EPA) (2017). Technical Fact Sheet – Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA) https://19january2021snapshot.epa.gov/sites/static/files/2017-12/documents/ffrrofactsheet_contaminants_pfos_pfoa_11-2017_508_0.pdf [dostęp: 10.09.2025 r.].

United States Environmental Protection Agency (US EPA) (2021). SW-846 Test Method 8327: Per-and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). <https://www.epa.gov/system/files/documents/2021-07/8327.pdf> [dostęp: 10.09.2025 r.].

Yang W., Guo J., Dong L. i in. (2018). LC/MS/MS Determination of PFOS and PFOA in Water and Soil Matrices, Application Note. Environmental. Agilent Technologies. https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-environmental-pfo-and-pfoa-ultivo-lctq-5994-0437en-agilent.pdf?srltid=AfmBOorjFDvP4rT_OMkMu6L9eeGZv2e-FEiIXXaVlnHYqi7ACrxHB8b5H [dostęp: 10.09.2025 r.].

Yang Z., Liu H., Yang Q. (2022). Associations between exposure to perfluoroalkyl substances and birth outcomes: A meta-analysis. *Chemosphere*. 291(Pt 2). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132909> [dostęp: 21.08.2026].

PROCEDURA ANALITYCZNA KWASU PENTADEKAFLUOROOKTANOWEGO NA STANOWISKACH PRACY METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ SPRZĘŻONEJ Z TANDEMOWYM SPEKTROMETREM MAS

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze przedstawiono metodę oznaczania kwasu pentadekafluorooktanowego (CAS: 335-67-1) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczonej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie PFOA, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w niniejszej procedurze, wynosi $0,001 \text{ mg/m}^3$.

2. Powołania normatywne

Do stosowania niniejszego dokumentu są niezbędne podane poniżej dokumenty, które w całości lub w części zostały w nim normatywnie powołane. W przypadku powołań datowanych ma zastosowanie wyłącznie wydanie cytowane. W przypadku powołań niedatowanych stosuje się ostatnie wydanie dokumentu powołanego (łącznie ze zmianami).

PN-Z-04008-7 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

3. Terminy i definicje

W niniejszym dokumencie nie wymieniono terminów i definicji.

4. Zasada metody

Zasada metody polega na zatrzymaniu PFOA obecnego w badanym powietrzu na filtrze z włókna szklanego, ekstrakcji zatrzymanego związku za pomocą acetonitrylu, a następnie przeprowadzeniu analizy chromatograficznej otrzymanego roztworu z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczonej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas.

5. Postanowienia ogólne

5.1. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z użyciem wagi analitycznej o działce elementarnej co najmniej $0,0002 \text{ g}$.

5.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej, pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

Pozostałe po analizie odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji uprawnionym instytucjom.

6. Odczynniki i materiały

Do analizy należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a., o ile nie zaznaczono inaczej, oraz wodę do wykonywania analiz i badań przy użyciu chromatografii cieczonej w połączeniu ze spektrometrią mas (LC-MS).

6.1. Acetonitryl

Acetonitryl o czystości do LC-MS.

6.2. Kwas pentadekafluorooktanowy (PFOA)

Certyfikowany materiał odniesienia (CRM).

6.3. Octan amonu

6.4. Roztwór octanu amonu

Do kolby pomiarowej o pojemności 1000 ml odważyć $154,16 \text{ mg}$ octanu amonu wg punktu 6.3, a następnie kolbę uzupełnić do kreski wodą. Zawartość kolby wymieszać. Stężenie tak sporządzonego roztworu wynosi 2 mmol/l .

6.5. Metanol

Metanol o czystości do LC-MS.

6.6 Roztwór wzorcowy podstawowy kwasu pentadekafluorooktanowego

Do kolby pomiarowej o pojemności 1 ml odważyć na wadze 25 mg wzorca kwasu pentadekafluorooktanowego wg punktu 6.2. Wzorec rozpuścić w 1 ml acetonitrylu. Stężenie tak przygotowanego roztworu kwasu pentadekafluorooktanowego wynosi 25 mg/ml .

6.7. Roztwór pośredni kwasu pentadekafluorooktanowego

Do kolby pomiarowej o pojemności 5 ml pobrać za pomocą pipety, zgodnie z punktem 7.7, taką ilość wzorca podstawowego kwasu pentadekafluorooktanowego, zgodnie z punktem 6.6, aby końcowe stężenie roztworu wynosiło 144 µg.

6.8. Roztwory wzorcowe robocze kwasu pentadekafluorooktanowego

Do ośmiu kolb pomiarowych o pojemności 1 ml wg punktu 7.5, odmierzyć za pomocą pipet wg punktu 7.7. następujące objętości roztworu wzorcowego pośredniego kwasu pentadekafluorooktanowego wg punktu 6.7, w mililitrach: 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,35; 0,5; 0,75 i 1. Kolby uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 6.1. Stężenia kwasu pentadekafluorooktanowego w tak przygotowanych roztworach wynoszą, w mikrogramach na mililitr, odpowiednio: 0; 7,2; 14,4; 36; 50,4 72; 208 i 144.

Roztwory wzorcowe przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej 60 dni.

7. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz następujący:

7.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy sprzężony z tandemowym spektrometrem mas.

7.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie kwasu pentadekafluorooktanowego w obecności innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumna analityczna wypełniona żelam krzemionkowym modyfikowanym grupą oktadecylową o średnicy ziaren 1,7 µm, długości 100 mm i średnicy wewnętrznej 2,1 mm.

7.3. Filtry

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 25 mm i średnicy porów 1,6 µm z oprawkami do pobierania frakcji wdychalnej.

7.4. Próbniki

Stosować, zgodnie z instrukcją producenta, dostępne w handlu próbники, dla których producent zadeklarował zgodność z PN-EN 481, umożliwiające wyodrębnienie z powietrza frakcji wdychalnej.

7.5. Kolby pomiarowe

Kolby pomiarowe o pojemności: 1 ml; 5 ml i 1000 ml.

7.6. Naczynka

Naczynka szklane zamykane, o pojemności 2 ml i 4 ml.

7.7. Pipety

Pipety automatyczne nastawne o zakresie pojemności: 0,010 ÷ 0,1 ml, 0,1 ÷ 1 ml i 0,5 ÷ 5 ml.

7.8. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca pobranie próbki powietrza ze stałym strumieniem objętości zgodnie z rozdziałem 8.

7.9. Mieszadło mechaniczne

8. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbki powietrza przepuścić przez filtr, wg punktu 7.3, 720 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 2 l/min.

Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej 60 dni.

9. Warunki pracy chromatografu cieczowego sprzężonego z tandemowym spektrometrem mas

Warunki pracy chromatografu należy dobrać tak, aby uzyskać oddzielenie kwasu pentadekafluorooktanowego od innych substancji występujących w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 7.2 optymalne warunki wykonania oznaczania są następujące:

- skład fazy ruchomej patrz tabela
- temperatura kolumny 40°C
- strumień objętości fazy ruchomej 0,3 ml/min
- objętość dozowanej próbki 0,5 µl.

Tabela. Faza ruchoma o składzie programowanym

Table. Moveable phase with programmable composition

Czas, min	Octan amonu, 2 mmol/l, %	Metanol, %
0	97	3
0,5	97	3
6	5	95
8,5	5	95
8,51	97	3
12	97	3

Dopuszcza się stosowanie innych kolumn chromatograficznych lub innego składu fazy ruchomej, zapewniających możliwość oznaczenia kwasu pentadekaflorooktanowego.

Tandemowy spektrometr mas:

- | | |
|---------------------------|-------------------|
| – źródło jonów | jonizacja ujemna. |
| Komora kolizyjna: | |
| – gaz kolizyjny | argon |
| – przejście monitorowania | |
| reakcji fragmentacji | m/z 413 |
| – jon kwantyfikujący | m/z 369. |

Pozostałe parametry pracy spektrometru mas, takie jak: napięcie kapilary, napięcie źródła jonów, temperatura źródła jonów, temperatura desolwatacji, przepływ gazu desolwatacyjnego, przepływ gazu kolizyjnego, energia kolizji itd., należy określić indywidualnie dla danego typu spektrometru mas.

10. Sporządzanie krzywej wzorcowania

Na osiem filtrów wg punktu 7.3, nanieść za pomocą pipet automatycznych wg punktu 7.7 po 0,1 ml roztworów wzorcowych roboczych kwasu pentadekafluorooktanowego wg punktu 6.8. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 7.6. Do każdego naczynka dodać 2 ml acetonitrylu wg punktu 6.1, przeprowadzić ekstrakcję przez 30 min przy użyciu mieszadła mechanicznego wg punktu 7.9. Z każdego roztworu przenieść do naczynek o pojemności 2 ml wg punktu 7.6 po 10 µl roztworu i dodać za pomocą pipety wg punktu 7.7 po 990 µl acetonitrylu, naczynka szczelnie zamknąć. Zawartość kwasu pentadekafluorooktanowego w 1 ml tak uzyskanych roztworów wynosi, w mikrogramach, odpowiednio: 0; 0,0036; 0,0072; 0,018; 0,0252; 0,036; 0,054 i 0,072. Wykonać analizę chromatograficzną w warunkach określonych w rozdziale 9. Sporządzić wykres krzywej wzorcowania, odkładając na osi odciętych zawartość kwasu pentadekafluorooktanowego, w mikrogramach, w 1 ml otrzymanych roztworów, a na osi rzędnych średnie wartości pola powierzchni piku badanego związku.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie wykresu krzywej wzorcowania.

11. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 7.6, dodać 2 ml acetonitrylu wg punktu 6.1 i przeprowadzić ekstrakcję przez 30 min przy użyciu mieszadła mechanicznego wg punktu 7.9. Z każdego roztworu przenieść do naczynek o pojemności 2 ml wg punktu 7.6 po 10 µl roztworu i dodać za pomocą pipety wg punktu 7.7 po 990 µl acetonitrylu. Naczynka szczelnie zamknąć i wymieszać ich zawartość. Wykonać analizę chromatograficzną w warunkach określonych w rozdziale 9. Z każdego roztworu wykonać dwukrotny pomiar. Zawartość kwasu penta-dekafluorooktanowego w mikrogramach w badanym roztworze odczytać z krzywej wzorcowej.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie kwasu pentadekafluorooktanowego (X) w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na metr sześcienny, według wzoru:

$$X = \frac{C}{V} \cdot 200$$

w którym:

- C – zawartość kwasu pentadekafluorooktanowego w 1 ml roztworu po ekstrakcji, odczytana z krzywej wzorcowania, w mikrogramach;
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach;
- 200 – współczynnik przeliczeniowy wynikający z objętości roztworu użytego do wymywania kwasu pentadekafluorooktanowego z filtra oraz rozcieńczenia próbki.