

Nadtlenek wodoru

Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego¹

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

NDS: 0,4 mg/m³
NDSCh: 0,8 mg/m³
NDSP: -
DSB: -
C substancja o działaniu żrącym

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 15.06.2011 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 29.10.2012 r.

Słowa kluczowe: nadtlenuk wodoru, narażenie zawodowe, najwyższe dopuszczalne stężenie, środowisko pracy.

Keywords: hydrogen peroxide, occupational exposure, maximum admissible concentration, working environment.

Streszczenie

Nadtlenek wodoru (H₂O₂) jest bezbarwną, klarowną cieczą o właściwościach wybuchowych i utleniających stosowaną jako: utleniacz paliwa raketowego, środek odkażający (w formie wody utlenionej) oraz silny utleniacz w wielu reakcjach chemicznych. Związek ten stanowi substrat w syntezie takich związków chemicznych, jak: nadboran sodu, nadwęglan sodu, hydrochinon, hydrazyna, organiczne nadtlenuki i wiele innych. W Europie nadtlenuk wodoru jest wykorzystywany

szczególnie w celu bielenia masy papierowej (48%).

Nadtlenek wodoru stosowany w medycynie i weterynarii występuje pod postacią wody utlenionej. Roztwory 3- ÷ 3,5-procentowe są stosowane do odkażania ran, natomiast roztwory 7- ÷ 15-procentowe są stosowane, jako tzw. „wybielacze na bazie aktywnego tlenu” w środkach chemii gospodarczej. Mniejsze ilości nadtlenuku wodoru są wykorzystywane w produkcji takich kosmetyków,

¹ Przyjęte przez Międzyresortową Komisję do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy wartości NDS i NDSCh nadtlenuku wodoru zostały w 2012 r. przedłożone (wniosek nr 86) ministrowi pracy i polityki społecznej w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 części A wykazu wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

jak: pasty do zębów, dezodoranty i płyny do rozjaśniania włosów.

Nadtlenek wodoru został zaklasyfikowany urzędowo jako substancja mogąca powodować pożar lub wybuch i silny utleniacz, a także jako substancja działająca szkodliwie w następstwie wdychania i po połknięciu oraz żrąca na skórę, powodująca poważne oparzenia skóry i uszkodzenia oczu.

Nadtlenek wodoru w warunkach narażenia zawodowego wchłania się do organizmu drogą inhalacyjną i przez skórę. Populację osób narażonych na ten związek stanowią pracownicy zatrudnieni przy jego produkcji oraz konsumenci.

Głównymi skutkami ostrego inhalacyjnego narażenia na mgły lub pary nadtlenku wodoru o dużych stężeniach u ludzi jest ostre działanie drażniące oraz stany zapalne nosa i gardła. U narażonych zawodowo obserwowano: odbarwienia włosów, krwawienia z nosa, drażniące działanie na oczy i błony śluzowe dróg oddechowych. U osób narażanych na związek o dużym stężeniu stwierdzano ponadto: bóle i zawroty głowy, nudności, wymioty, drgawki, niedowład, obrzęk płuc, utratę przytomności i wstrząs. Nawet krótkie okresy narażenia mogą powodować u ludzi poparzenie i łzawienie oczu.

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem zaliczyła nadtlenek wodoru do grupy 3., czyli do związków nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi, uznając za niewystarczające dowody działania rakotwórczego tego związku na zwierzęta doświadczalne.

Nadtlenek wodoru w warunkach *in vitro* wykazywał działanie genotoksyczne na komórkach ssaków (w tym ludzi), powodując: wzrost liczby aberracji chromosomowych, mutacji genowych oraz zmiany w strukturze chromosomów w teście

wymiany chromatyd siostrzanych. Nadtlenek wodoru testowany w warunkach *in vivo* na erytrocytach polichromatycznych szpiku kostnego myszy nie powodował ani wzrostu częstości tworzenia mikrojąder, ani nieplanowej syntezy DNA w hepatocytach szczura.

W badaniach doświadczalnych na zwierzętach nie stwierdzono istotnych zaburzeń funkcji rozrodczych w wyniku narażenia na nadtlenek wodoru.

Za skutek krytyczny działania nadtlenku wodoru przyjęto jego miejscowe działanie drażniące na: skórę, drogi oddechowe i oczy. Związek nie wykazuje działania układowego, ponieważ ulega szybkiemu rozkładowi przez katalazę zawartą: we krwi, w błonach śluzowych i w większości tkanek. Na podstawie wyników badań pochodzących z narażenia zawodowego wartość NOAEL dla objawu zaburzenia czynności płuc mieści się w przedziale $0,1 \div 0,6$ ppm. Skutki działania drażniącego u ludzi obserwowano już po narażeniu na związek o stężeniu $0,83 \text{ mg/m}^3$ ($0,6$ ppm). Stężenie to przyjęto za wartość LOAEL i wyliczono z niej wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) nadtlenku wodoru wynoszącą $0,4 \text{ mg/m}^3$. Zaproponowane wartości są mniejsze od dotychczas obowiązującej w Polsce wartości NDS związku, która wynosi $1,5 \text{ mg/m}^3$, a także od wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) – 4 mg/m^3 .

Proponuje się, ze względu na działanie drażniące nadtlenku wodoru, przyjęcie stężenia $0,8 \text{ mg/m}^3$ za wartość NDSCh i oznakowanie związku literą „C” – żrąca. Nadtlenek wodoru o stężeniu $0,4 \text{ mg/m}^3$ powinien zabezpieczyć pracowników przed szkodliwymi skutkami działania drażniącego na oczy, skórę i błonę śluzową dróg oddechowych.

Summary

Hydrogen peroxide is a colourless liquid that is normally handled as an aqueous solution. Hydrogen peroxide is commonly used in industry for disinfecting, bleaching and as a general oxidizing agent. The main use (48%) of hydrogen peroxide in the EU is for bleaching pulp. Other uses include manufacturing chemicals and using it as an intermediate in the synthesis of chemicals such as sodium perborate, sodium percarbonate, hydroquinone, hydrazine, organic peroxides and many others. It is used in bleaching textiles and other products, wastewater and waste gas treatment, disinfection, beverage packing, surface treatment, etching and cleaning. Small quantities are used in consumer products such as cosmetics, toothpaste and deodorants.

Hydrogen peroxide causes irritation of the respiratory tract and eyes. Inhalation of high concentrations of the vapour or mist of hydrogen peroxide may cause extreme irritation of the nose and throat. Even short periods of exposure may cause stinging and watering of the eye and exposure to 9.2 mg/m^3 has been reported to cause lung irritation in humans. Higher levels of exposure may cause headache, dizziness, vomiting, diarrhoea, tremors, numbness, convulsions, pulmonary oedema, unconsciousness, and shock. Contact of hydrogen peroxide with the skin can cause severe skin damage.

An irritant of the eyes, mucous membranes, lungs and skin is a critical effect of hydrogen peroxide. The MAC value for hydrogen peroxide was calcu-

lated on the basis of the LOAEL (0.83 mg/m³) value and uncertainty factor (Uf= 2). The MAC value of 0.4 mg/m³ is recommended and the

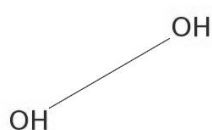
value of STEL of 0.8 mg/m³. An additional notation of hydrogen peroxide is C - corrosive compounds.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka nadtlenku wodoru (ACGIH 2001; HSDB 2010):

- wzór sumaryczny H₂O₂
- wzór strukturalny H—O—O—H



- nazwa chemiczna nadtlenek wodoru
- nazwa chemiczna CAS hydrogen peroxide
- nazwy IUPAC hydrogen peroxide, dioksydan
- numer CAS 7722-84-1
- numer WE 231-765-0
- numer indeksowy 008-003-00-9
- synonimy: dihydrogen dioxide, hydrogen dioxide, dioksydan, nadtlenek diwodoru, perhydrol (roztwory 30 ÷ 35-procentowe), woda utleniona (roztwory 3- ÷ 6-procentowe).

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne nadtlenku wodoru (ACGIH 2001; HSDB 2010):

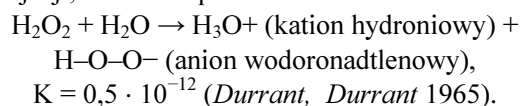
- postać bezwonna, bezbarwna, klarowna ciecz w temperaturze pokojowej (stężona przyjmuje kolor bladoniebieski)
- masa cząsteczkowa 34,02 g/mol
- temperatura wrzenia 150 ÷ 152 °C rozkład
- temperatura topnienia -0,40 ÷ -0,43 °C
- prężność pary 3 hPa (w temp. 25 °C)

- gęstość właściwa 1,463 g/cm³ (w temp. 0 °C)
- stała Henry'ego 7,5 · 10⁻⁴ Pa m³/ mol (w temp. 20 °C)
- pKa 11,62 (w temp. 25 °C)
- stabilność i reaktywność:

nadtlenek wodoru jest klasyfikowany jako jedna z reaktywnych form tlenu (Bartosz 2008); czysty nadtlenek wodoru jest bardzo nietrwały i ulega egzotermicznemu rozkładowi (często wybuchowemu) na wodę i tlen pod wpływem ciepła, kontaktu z niektórymi metalami (np. manganem), tlenkami metali czy światła UV

- rozpuszczalność w wodzie miesza się we wszystkich proporcjach
- rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach: rozpuszcza się w eterze, rozkłada się w większości rozpuszczalników organicznych; nie rozpuszcza się w eterze naftowym
- współczynniki przeliczeniowe (w temp. 25 °C, ciśn. 1013 hPa): 1 ppm ≈ 1,39 mg/m³; 1 mg/m³ ≈ 0,719 ppm.

Nadtlenek wodoru wykazuje słabe właściwości kwasowe. W roztworach wodnych ulega dysocjacji, co można przedstawić równaniem:



Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12. 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 (tzw. rozporządzenie CLP)

nadtlenek wodoru ma zharmonizowaną na poziomie unijnym klasyfikację i oznakowanie zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI rozporządzenia.

Zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie nadtlenku wodoru przedstawiono w tabeli 1. i na rysunku 1.

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja i oznakowanie nadtlenku wodoru (H₂O₂)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
	klasa zagrożenia kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasel ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Hydrogen peroxide	Ox. Liq. 1 Acute Tox. 4 * Acute Tox. 4 * Skin Corr. 1A	H271 H302 H332 H314	GHS03 GHS07 GHS05 Dgr	H271 H302 H332 H314

Objaśnienia:

- Ox. Liq. 1 – utleniacz ciecz kat. 1.
- H271 – może powodować pożar lub wybuch; silny utleniacz
- Acute Tox. 4* – toksyczność ostra kat. 4*.
- H33 – działa szkodliwie w następstwie wdychania
- Acute Tox. 4* – toksyczność ostra kat. 4*.
- H302 – działa szkodliwie po połknięciu
- Skin Corr. 1A – działanie żrące na skórę kat. 1.A
- H314 – powoduje poważne oparzenia skóry i uszkodzenia oczu.



Rys. 1. Kod hasła ostrzegawczego (Niebezpieczeństwo). Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Ponieważ do dnia 1.06.2015 r. istnieje prawny obowiązek jednoczesnego podawania klasyfikacji substancji wg dotychczasowych zasad i kryteriów – poniżej podano klasyfikację nadtlenku wodoru zamieszczoną w tabeli 3.2. załącznika VI do ww. rozporządzenia CLP:

- w roztworze wodnym – 100- ÷ 70-procentowym:
 - ogrzanie grozi wybuchem (R5)
 - O – produkt utleniający z przypisanym zwrotem zagrożenia: kontakt z materiałami zapalnymi może spowodować pożar (R8)
 - C – produkt żrący z przypisanym zwrotem zagrożenia: powoduje poważne oparzenia (R35)
 - Xn – produkt szkodliwy z przypisanym zwrotem zagrożenia: działa szkodliwie

przez drogi oddechowe i po połknięciu (R20/22).

Zastosowanie, produkcja, narażenie zawodowe (ACGIH 2001; EU-RAR 2003)

Nadtlenek wodoru – nieorganiczny związek chemiczny z grupy nadtlenków został otrzymany po raz pierwszy przez *L. Thénarda* w 1818 r. przez zakwaszenie roztworu nadtlenku baru kwasem azotowym(V), (*Thénard* 1818). Główną metodą otrzymywania nadtlenku wodoru w przemyśle jest metoda autooksydacji antrachinonu przez utlenianie 2-etylo-9,10-antracenodiolu gazowym tlenem przepuszczanym przez roztwór tego związku w mieszaninie odpowiednio dobranych rozpuszczalników. Nadtlenek oddziela się przez ekstrakcję z wodą, zaś pozostały w roztworze 2-ety-

loantrachinon poddaje się regeneracji przez redukcję gazowym wodorem do 2-etylo-9,10-antracenodiolu. Reakcja jest katalizowana palladem osadzonym na odpowiednim nośniku lub związkami niklu. W przemysłowych metodach produkcji cykl obu reakcji (utleniania i redukcji) zachodzi naprzemiennie. Rozcieńczony roztwór wodny nadtlenku otrzymany w tym procesie zatęża się przez ostrożne odparowywanie wody pod zmniejszonym ciśnieniem, uzyskując w ten sposób roztwór o stężeniu maksymalnie 70-procentowym. Dalsze zatężanie roztworu prowadzi do wybuchu. Bardziej stężone roztwory oraz całkowicie czysty nadtlenek uzyskuje się prawdopodobnie przez wymrażanie go z wodnego, stężonego roztworu (Galecki 1964).

Dawniej otrzymywano nadtlenek wodoru metodą elektrolityczną. Poddawano elektrolizie wodny roztwór siarczanu amonu lub wodny roztwór kwasu siarkowego. W wyniku procesu powstawał nadtlenek wodoru i wyjściowe siarczany.

Według danych UE około 750 000 t nadtlenku wodoru wyprodukowano w Europie w 1995 r. Z tego 670 000 t stosowano w Europie. W latach 90. XX w. produkcja nadtlenku wodoru gwałtownie rosła ze względu na wykorzystanie go w wielu procesach związanych z wybielaniem. Czysty nadtlenek wodoru jest niedostępny handlowo, gdyż prawo większości państw Europy oraz USA zabrania jego sprzedaży ze względów bezpieczeństwa. W handlu są dostępne maksymalnie 70-procentowe roztwory tego związku. Najczęstszą handlową postacią nadtlenku jest tzw. perhydrol (30-procentowy wodny roztwór) oraz 3- ÷ 5-procentowe roztwory do użytku domowego o nazwie woda utleniona.

Nadtlenek wodoru jest stosowany jako utleniacz paliwa raketowego („T-Stoff”: 80-pro-

centowy nadtlenek wodoru), środek odkażający (w formie wody utlenionej) oraz silny utleniacz w wielu reakcjach chemicznych. Nadtlenek wodoru stanowi substrat w syntezie takich związków chemicznych, jak: nadboran sodu, nadwęglan sodu, hydrochinon, hydrazyna, organiczne nadtlenki i wiele innych. W Europie nadtlenek wodoru jest wykorzystywany szczególnie w celu blelenia masy papierowej (48-procentowy).

Nadtlenek wodoru stosowany w medycynie oraz weterynarii występuje pod postacią wody utlenionej. Roztwory 3- ÷ 3,5-procentowe są stosowane do odkażania ran, natomiast roztwory 7- ÷ 15-procentowe są stosowane jako, tzw. „wybielacze na bazie aktywnego tlenu” w środkach chemii gospodarczej. Mniejsze ilości nadtlenku wodoru wykorzystuje się w produkcji takich kosmetyków, jak: pasty do zębów, dezodoranty i płyny do rozjaśniania włosów.

Nadtlenek wodoru w warunkach narażenia zawodowego wchłania się do organizmu drogą inhalacyjną i przez skórę. Populację osób narażonych na ten związek stanowią pracownicy zatrudnieni przy jego produkcji oraz konsumenci. Praktycznie każdy może ulec narażeniu drogą pośrednią, spożywając pokarm lub przez wpływ środowiska naturalnego. Największe notowane stężenia nadtlenku wodoru w zakładach fryzjerskich wynosiły 0,2 mg/m³, a w zakładach produkujących nadboran sodu czy nadwęglan sodu poniżej 0,07 mg/m³ (Degussa-Hülls 1999). W tabelach 2. ÷ 5. zamieszczono dane o stężeniu nadtlenku wodoru w różnych zakładach pracy i na różnych stanowiskach (CEFIC 1996; RAR 2010).

Według danych Stacji Sanitarnej-Epidemiologicznej w Bydgoszczy w 2007 r. i w 2010 r. nie notowano przekroczeń obowiązujących wartości NDS (GIS 2007; 2010).

Tabela 2.

Narażenie zawodowe podczas produkcji nadtlenku wodoru (H₂O₂) wg raportu CEFIC (CEFIC 1996)

Narażenie zawodowe, zakłady pracy	Pomiar w strefie oddychania pracownika średnia ± SD, mg/m ³ (n)	Pomiar w środowisku pracy średnia ± SD, mg/m ³ (n)	Krótkotrwałe narażenie średnia ± SD, mg/m ³ (n)	Maksymalne oznaczone wartości H ₂ O ₂ , mg/m ³
Produkcja H ₂ O ₂ :				
– synteza	0,24 (1)	–		
– destylacja	0,4 (1)	–		
– stabilizacja	0,52 ± 0,22 0,2 6 ÷ 0,79 (3)	0,24 ± 0,14 0,10 ÷ 0,37 (2)		5,66
– rozrozcieżczalnia	–	–		6,34 (środowisko pracy)
– laboratorium	0,32 ± 0,22 0,02 ÷ 0,5 (3)	–	0,92 ± 0,66 (6) 0,11 ÷ 1,85	3,6

cd. tab. 2.

Narażenie zawodowe, zakłady pracy	Pomiar w strefie oddychania pracownika średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Pomiar w środowisku pracy średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Krótkotrwałe narażenie średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Maksymalne oznaczone wartości H ₂ O ₂ , mg/m ³
– inne zawody – magazyny – pakowanie	– – –	– – –	0,18 \pm 0,26 < 0,01 \div 0,85 (8)	10,2 (wyciek)

Objaśnienia:

n – liczba pomiarów lub próbek.

Tabela 3.**Narażenie zawodowe podczas przeladunku nadtlenu wodoru (H₂O₂), (CEFIC 1996; RAR 2010)**

Stanowiska w zakładzie pracy	Pomiar w strefie oddychania pracownika; średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Pomiar w środowisku pracy; średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Krótkotrwałe narażenie; średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Maksymalne oznaczone wartości H ₂ O ₂ , mg/m ³
Napełnianie małych bębnow	0,44 \pm 0,13 0,25 \div 0,56 (3)	1,21 \pm 0,44 0,5 \div 1,75 (9)	1,58 \pm 0,91 (15 środowisko pracy) 0,5 \div 3,5, 1,80 \pm 1,18 (3. strefa oddychania pracownika)	3,50 (środowisko pracy) 2,83 (strefa oddychania pracownika)
Napełnianie zbiorników	0,50 \pm 0,32 0,18 \div 1,05 (5)	0,37 \pm 0,48 0,03 \div 1,05 (3)	0,57 \pm 0,50 < 0,2 \div 1,3 (7)	^d 15 (środowisko pracy)

Objaśnienia:

^d15 – nieodpowiednia ochrona układu oddechowego.

n – liczba pomiarów lub próbek.

Tabela 4.**Narażenie zawodowe na nadtlenek wodoru (H₂O₂) w krematoriach (RAR 2010)**

Czynności dezynfekcyjne	Pomiar w strefie oddychania pracownika; średnia \pm sem [M], mg/m ³	Pomiar w środowisku pracy; średnia \pm sem [M], mg/m ³	Krótkotrwałe narażenie; średnia \pm sem [M], mg/m ³	Maksymalne oznaczone wartości H ₂ O ₂ , mg/m ³
Immersion metoda x \pm sem, [M], range	0,81 \pm 0,21 [4] 0,34 \div 1,5	0,50 \pm 0,14 [3] 0,20 \div 0,70	2,74 \pm 0,58 [5] 1,06 \div 4,5	4,5 (^e 41, 12) 6 \div 7
Spray-metoda x \pm sem, (M)	0,73 \pm 0,20 [5] 0,1 \div 1,19	0,20 \pm 0,12 < 0,14 \div 0,57 [1] (sd, n = 9)	1,40 \pm 0,31 [2] 0,96 \div 1,83	3,08

Objaśnienia:

– ^e41 – liczba mechanicznych wentylacji.

– M – liczba krematoriów.

– sem – błąd standardowy średniej.

– x – średnia arytmetyczna.

Tabela 5.**Narażenie zawodowe na nadtlenek wodoru (H₂O₂) podczas produkcji pulpy papierowej (RAR 2010)**

Produkcja pulpy papierowej, proces ciągły	Pomiar w środowisku pracy; średnia \pm SD, mg/m ³ (n), [M]	Krótkotrwałe narażenie; średnia \pm SD, mg/m ³ (n)	Maksymalne oznaczone wartości H ₂ O ₂ , mg/m ³
Chemiczne/mechaniczne procesy	0,18 \pm 0,13 (5) < 0,07 \div 0,3 [1]	–	0,3
Chemiczny proces	< 0,07 (10) [1]	–	^e –9
Laboratorium	> 0,02 (5) [1]	–	–

Objaśnienia:

n – liczba pomiarów lub próbek.

M – liczba młynów.

SD – odchylenie standardowe.

^e – wyciek w pomieszczeniu z pompami bez załogi.

Tabela 6.

Zestawienie zbiorcze danych dotyczących narażenia pracowników na nadtlenek wodoru (H₂O₂) w latach 2010-2011 (GIS 2007; 2010)

Nazwa substancji	Klasyfikacje PKD	Liczba pracowników zatrudnionych w 2010 r. w warunkach:			Liczba pracowników zatrudnionych w 2011 r. w warunkach:		
		> 0,1 NDS – 0,5NDS	> 0,5 NDS – NDS	> NDS	> 0,1 NDS – 0,5 NDS	> 0,5 NDS – NDS	> NDS
Nadtlenek wodoru [7722-84-1]	10 – produkcja artykułów spożywczych 13 – produkcja tekstyliów 14 – produkcja odzieży 20 – produkcja chemikaliów i wyrobów chemicznych 22 – produkcja wyrobów z gumy i tworzyw sztucznych 25 – produkcja metalowych wyrobów gotowych 56 – działalność usługowa związana z wyżywieniem 72 – badania naukowe i prace rozwojowe 73 – reklama, badanie rynku 85 – edukacja 86 – działalność szpitali	322	–	–	192	–	–

Obserwacje kliniczne. Toksyczność ostra

Głównymi skutkami ostrego inhalacyjnego narażenia ludzi na mgły lub pary nadtlenku wodoru o dużych stężeniach jest ostre działanie drażniące oraz stany zapalne nosa i gardła (Hathaway i in. 1996). Ponadto u osób narażanych na związek o dużych stężeniach stwierdzano takie objawy, jak: bóle i zawroty głowy, nudności, wymioty, drgawki, niedowład, obrzęk płuc, utratę przytomności i wstrząs (Stellman 1998). Nawet krótkie okresy narażenia na pary mogą powodować u ludzi poparzenie i łzawienie oczu. Narażenie na nadtlenek wodoru o stężeniu 9,2 mg/m³ powodowało działanie drażniące na błony śluzowe płuc.

Narażano ochotników (18 mężczyzn i 14 kobiet w wieku 23 ÷ 37 lat) na pary nadtlenku wodoru o zróżnicowanych stężeniach w czasie od 5 min do 4 h. Wyznaczony próg działania drażniącego na błony śluzowe dróg oddechowych i spojówki oczu wynosił 10 mg/m³ (LOAEL). Związek o stężeniu 20 mg/m³ powodował również podrażnienie skóry, a o stężeniu 5 mg/m³ nie powodował objawów działania drażniącego na błony śluzowe dróg oddechowych i oczy. Próg działania drażniącego na skórę zależał od wielkości

stężenia oraz czasu kontaktu ze związkiem i wynosił: 20 mg/m³ (4 h), 80 mg/m³ (1 h), 110 mg/m³ (30 min), 140 mg/m³ (15 min) lub 180 mg/m³ (5 min), (LOAEL), (Kondrashov 1977).

Działanie drażniące na oczy i gardło obserwowali również Kaelin i in. (1988) u siedmiu pracowników mleczarni narażanych na nadtlenek wodoru o stężeniu 12 mg/m³ (czasami przez bardzo krótki czas stężenie wynosiło 41 mg/m³).

Niewielkiego stopnia działanie drażniące na nos i odbarwienie skóry w przypadku kontaktu z nadtlenkiem wodoru stwierdzono u pracowników zakładów, którzy byli zatrudnieni przy napełnianiu pojemników tym związkiem. Maksymalne średnie stężenia, na które byli narażeni pracownicy przez 1 h, wynosiły 3,5 mg/m³ (CEFIC 1996).

U 40-letniej kobiety po przypadkowym wypiciu około 60 ml 35-procentowego roztworu nadtlenku wodoru (dawka przybliżona 21 g albo 350 mg/kg m.c.) wystąpiło poparzenie błon śluzowych przełyku i śluzówki żołądka oraz wymioty. Badaniem radiograficznym stwierdzono u tej kobiety duże ilości gazu w żołądku i naczyniach układu wątrobowego. Gaz występował również w części pozaozowej i w mięśniach lędźwiowo-udowych (Luu i in. 1992).

W piśmiennictwie opisano przykład ostrego zatrucia nadtlenkiem wodoru 54-letniego mężczyzny – 3-procentowy roztwór nadtlenu wodoru został wprowadzony mężczyźnie drogą doodbityniczą w pięciu wlewach po 20 ml. Pierwszy wlew spowodował: zatrzymanie akcji serca, utratę przytomności i śpiączkę, która trwała 15 min. Obserwowane objawy były następstwem gwałtownie wydzielającego się tlenu z rozkładu nadtlenu wodoru. Tlen wchłaniał się do układu naczyniowego i powodował zatory powietrzne w tętnicach mózgowych i wieńcowych. Po trzech dniach nastąpiło cofnięcie się wszystkich obserwowanych objawów (*Bassan i in.* 1982).

Objawy neurologiczne obserwowano u 84-letniego mężczyzny bezpośrednio po spożyciu 30 ml 35-procentowego roztworu nadtlenu wodoru (dawka około 10 g lub 150 mg/kg m.c.). Za pomocą rezonansu magnetycznego stwierdzono zatory powietrzne w mózgu mężczyzny (*Sherman i in.* 1994).

Ciężkie uszkodzenia układowe, w tym żołądka i pozostałych odcinków układu pokarmowego, obserwowano u szesnastomiesięcznego dziecka, które spożyło przypadkowo około 230 g 3-procentowego roztworu nadtlenu wodoru (dawka około 600 mg/kg m.c.). Po spożyciu z ust i nosa dziecka wypływała biała piana. Zgon nastąpił po 10 h od spożycia. Badaniem pośmiertnym stwierdzono zaczerwienienie błony śluzowej żołądka, obrzęk mózgu, a także wyraźny obrzęk płuc i jelit. Pęcherzyki gazu znajdowały się w naczyniach płuc i w naczyniach limfatycznych układu żołądkowo-jelitowego oraz w: śledzionie, nerkach i w mięśniu sercowym (*Cina i in.* 1994).

Reasumując, nadtlenek wodoru u osób narażonych powodował podrażnienie: skóry (20 mg/m³ 4 h), błon śluzowych dróg oddechowych i oczu (LOAEL 10 mg/m³), natomiast o stężeniu 5 mg/m³ (NOAEL) i mniejszych nie powodował objawów działania drażniącego na błony śluzowe dróg oddechowych i oczu. Jednak w niektórych badaniach stwierdzono niewielkiego stopnia działanie drażniące na błony śluzowe nosa już po narażeniu na nadtlenek wodoru o stężeniu 3,5 mg/m³. Związek w przypadku spożycia powodował poparzenia odcinków układu pokarmowego i krwawienie. Nawet roztwory 3-procentowe nadtlenu wodoru były przyczyną zgonu, jeżeli związek spożyto w dużych dawkach (dawka około 600 mg/kg m.c.). Uwalniający się tlen powodował rozerwanie jelit, a po wchłonięciu się do układu naczyniowego prowadził do powstania zatorów powietrznych.

Obserwacje kliniczne. Toksyczność przewlekła

U osób zatrudnionych przy produkcji nadtlenu wodoru w okresie od trzech do pięciu lat badano stan czynnościowy układu oddechowego. U osób zawodowo narażonych nie stwierdzono ujemnych skutków zdrowotnych, które by się wiązały z narażeniem na ten związek (CEPIC 1996). Pomiar: natężonej pojemności życiowej (FVC), natężonej objętości wydechowej (FEV) oraz szczytowego przepływu wydechowego (PEF), nie wskazywały na zaburzenia w obrębie układu oddechowego. Badania przeprowadzone w przeszłości w tym samym zakładzie wykazały występowanie u zatrudnionych: odbarwienia włosów, krwawienie z nosa oraz działanie drażniące na oczy i błony śluzowe dróg oddechowych. W zakładach stwierdzono stężenia nadtlenu wodoru od niewykrywalnych do 0,83 mg/m³.

Stan czynnościowy układu oddechowego oceniano również w innych badaniach u osób zatrudnionych w zakładach produkujących wody mineralne w latach 1995-2001. Oznaczone wartości stężeń nadtlenu wodoru nie przekraczały 1,4 mg/m³. U osób narażonych, w porównaniu do osób z grupy kontrolnej, stwierdzono wzrost wskaźnika FVC, obniżenie wskaźnika FEV₁/FVC i niezmienny FEV₁ (natężona objętość wydechowa pierwszosekundowa), (*Mastrangelo* 2005).

Ci sami autorzy (*Mastrangelo i in.* 2009) ponownie przeprowadzili analizę statystyczną wyników uzyskanych z badań przekrojowych na 69 pracownikach wytwórni wód mineralnych. Badano związek między narażeniem na nadtlenek wodoru i objawami działania drażniącego (badanie w 2005 r.) oraz po zastosowaniu ochrony układu oddechowego (badanie w 2006 r.). Objawy związane z narażeniem pracowników oceniano na podstawie kwestionariuszy. U osób narażonych, w porównaniu do osób z grupy kontrolnej, wystąpiło istotne statystycznie podrażnienie: oczu, nosa i gardła ($p < 0,001$). Oznaczone wartości stężeń nadtlenu wodoru w sterylnych komorach były poniżej 1,4 mg/m³. Zależność między wystąpieniem ostrych objawów a liczbą wejść do sterylnej komory była istotna statystycznie ($p < 0,0001$) w 2005 r., ale nie w 2006 r., kiedy to używano aparatów oddechowych z niezależnym źródłem powietrza podczas wejść do komór sterylnych. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że zastosowanie respiratorów

było wystarczające do zapobiegnięcia działaniu drażniącemu nadtlenu wodoru.

Nadtlenek wodoru stosowany przewlekłe do płukania ust może spowodować odwracalne zmiany typu przerost brodawek języka, tzw. język włochaty (Goodman i in. 1980).

W Degussa-Hüls (1999) dokonano przeglądu stanu zdrowia pracowników zatrudnionych w pięciu zakładach produkujących nadtlenek wodoru. Badaniem objęto stu dziesięciu pracowników, wśród których osiemdziesięciu było zatrudnionych powyżej 10 lat (maksymalnie 40 lat). Osoby zatrudnione miały kontakt ze związkiem podczas czynności: przeładunkowych, napełniania, pakowania i formowania preparatów zawierających nadtlenu wodoru o różnym stężeniu. Średnie poziomy nadtlenu wodoru podczas zmiany roboczej były poniżej $1,4 \text{ mg/m}^3$, czasami wynosiły 5 mg/m^3 , a w sytuacjach awaryjnych wynosiły 10 mg/m^3 . Za pomocą testów spirometrycznych nie stwierdzono u badanych istotnych zaburzeń funkcji płuc. Sporadycznie wystąpiło podrażnienie i odbarwienie skóry oraz odbarwienie włosów w wyniku przypadkowego kontaktu z nadtlenukiem wodoru. Zaobserwowano jeden przypadek ostrego podrażnienia przetyku.

Objawy długotrwałego narażenia inhalacyjnego (3 lata, 2 dni/tydzień, a ostatnie 6 miesięcy codziennie) na nadtlenek wodoru opisano u 41-letniego mężczyzny zatrudnionego na stanowisku operatora maszyny pakującej mleko. We wnętrzu maszyny stężenie nadtlenu wodoru wynosiło 41 mg/m^3 , a przy podłodze 12 mg/m^3 . U badanego, który wypalał dwie paczki papierosów dziennie przez 25 lat, stwierdzono: postępującą duszność i obustronne zmiany guzkowate w płucach, podrażnienie oczu, przetyku, odbarwienie włosów oraz zaburzenie funkcji płuc. Poziom katalazy erytrocytów był w normie. Pacjenta poddano hospitalizacji. Uważa się, że palenie papierosów miało również wpływ na obserwowane objawy, które ustąpiły po okresie hospitalizacji i przerwaniu narażenia (po okresie 1,5 miesiąca), (Kaelin i in. 1988).

Skutki narażenia zawodowego na nadtlenek wodoru przedstawiono w rozdziale: Zależność skutku toksycznego od wielkości narażenia.

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji o badaniach epidemiologicznych dotyczących narażenia na nadtlenek wodoru.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Wartości dawek i stężeń śmiertelnych (DL_{50} , CL_{50}) nadtlenu wodoru dla zwierząt laboratoryjnych przedstawiono w tabelach 7 ÷ 10.

Dla szczura wartość DL_{50} nadtlenu wodoru po podaniu drogą dożołądkową jest zróżnicowana w zależności od zastosowanego stężenia procentowego tego związku i wynosi 800 mg/kg m.c. w przypadku 70-procentowego roztworu (Du Pont 1996) lub ponad 5000 mg/kg m.c. dla 10-procentowego roztworu (FMC 1990). Ito i in. (1976) wyznaczyli dla 9,6-procentowego nadtlenu wodoru wartość DL_{50} wynoszącą około 1500 mg/kg m.c. dla samców szczura i 1600 mg/kg m.c. dla samic. W przypadku zastosowania 70-procentowego nadtlenu wodoru padnięcia zwierząt następowały w pierwszym dniu narażenia. Wśród objawów ostrego zatrucia występowały: śpiączka, bezruch, nieregularny oddech i skulona pozycja ciała. Badaniem makroskopowym stwierdzono u obu płci zmiany w wyglądzie: języka, przetyku,

żołądka i jelita oraz zrosty w jamie otrzewnej. Wszystkie dawki nadtlenu wodoru powodowały wystąpienie wrzodów, a następnie rozrost jamy odźwiernikowej żołądka. Martwica wywołana wrzodami obejmowała nabłonek żołądka i była rozległa (Du Pont 1996). W badaniach z użyciem 10-procentowego nadtlenu wodoru jedna samica szczura padła pierwszego dnia badania, a u pozostałych zwierząt obserwowano: zmniejszenie albo zahamowanie wypróżnienia, zmniejszenie aktywności ruchowej, przyjmowanie pozycji leżącej, nadwrażliwość na dotyk, krwimocz, łzawienie, niezdolność ruchową, sinicę, barwną wydzielinę z jamy nosowej oraz plamienie z dróg rodnych. Badaniem sekcyjnym stwierdzano: przekrwienia, wewnętrzne krwotoki w żołądku, jelitach i płucach.

Wartości ostrej toksyczności dermalnej dla stężonego roztworu nadtlenu wodoru (90-procentowego) mieszczą się w przedziale $700 \div 5000 \text{ mg/kg m.c.}$ w zależności od gatunku zwierzęcia. Szczur i królik są wrażliwymi gatunkami,

jeśli chodzi o reakcję skóry na ten związek (*Hrubetz* i in. 1951). W przypadku 70-procentowego roztworu nadtlenu wodoru wartość dermalna LD_{50} dla królika wynosi 9200 mg/kg m.c. (FMC 1979b).

Naniesienie na skórę królika na okres 24 h dawki 2000 mg/kg m.c. 35-procentowego roztworu nadtlenu wodoru spowodowało: wystąpienie rumienia, obrzęku i odbarwienia skóry powyżej miejsc testowanych u wszystkich narażanych królików. W czwartym dniu badania w miejscu aplikacji powstała martwica. U dwóch z trzech zwierząt wystąpiło łzawienie i wydzielina z nosa czwartego i piątego dnia od narażenia. Masa ciała trzech królików uległa zmniejszeniu, a masa siedmiu królików miała tendencję wzrostową. Wśród zwierząt narażanych nie stwierdzono padnięć (FMC 1983a).

U myszy, którym naniesiono na skórę 10-procentowy roztwór nadtlenu wodoru, wystąpiły takie objawy zatrucia układowego, jak: pobudzenie, nieborność ruchowa, drżenie ciała, porażenie kończyn oraz wzrost częstotliwości oddechów. Objawy te rozwijały się między 5. a 10. minutą po naniesieniu dawki 1400 mg/kg m.c. związku. Padnięcie zwierząt wystąpiło po naniesieniu dawki 8000 mg/kg m.c. 28-procentowego roztworu związku (*Liarskii* i in. 1983).

Badania toksyczności ostrej inhalacyjnej przeprowadzono na myszach (samcach) narażanych na aerozole nadtlenu wodoru (aerozol 70-procentowy) o stężeniach 880 ÷ 4960 mg/m³ w czasie od 5 min do 2 h. W badaniu tym nie wyznaczono wartości LC_{50} . U zwierząt, które padły, na podstawie wyników badania makroskopowego stwierdzono: obrzęk i/albo odbarwienie skóry głowy, języka, szyi, przednich łap i nosa oraz obecność gazu pod skórą i krwotoki w płucach (Solvay... 1995a; 1995b).

Działanie drażniące na układ oddechowy badano u samców myszy Swiss. Wyznaczona doświadczalnie u myszy wartość RD_{50} (zmniejszona częstość oddechów o 50%; 30-minutowe narażenie) wynosi 665 mg/m³ (aerozol 70-procentowy H₂O₂), (Solvay ... 1995b).

Punte i in. (1953) w badaniach na myszach narażanych na 90-procentowy nadtlenek wodoru o stężeniach 3600 ÷ 5200 mg/m³ nie stwierdzili przypadków padnięć zwierząt. U zwierząt narażanych na związek o powyższych stężeniach wystąpiło: średniego stopnia działanie drażniące na błony śluzowe nosa, mrużenie oczu, oddech

Kussmaula (*slight gasping*) oraz zaburzenia koordynacji mięśniowej. Objawy najczęściej zanikały w ciągu 30 min od zaprzestania narażenia. Badaniem patomorfologicznym u myszy stwierdzano przekrwienie płuc i martwicę nabłonka oskrzeli. Nadtlenek wodoru o stężeniu 9400 mg/m³ spowodował padnięcie zwierząt w szóstym dniu po narażeniu, natomiast o stężeniach 12 000 ÷ 19 000 mg/m³ podawany przez 10 ÷ 15 min spowodował padnięcie większości zwierząt w czasie krótszym niż 1 h. Badaniem mikroskopowym stwierdzono: uszkodzenie oczu myszy narażanych na związek o stężeniu 9400 mg/m³, a następnie zabitych po 8 tygodniach od narażenia. Kiedy badanie to przeprowadzono po pięciu tygodniach od narażenia nie stwierdzono istotnych zmian. Wynik tego badania wskazuje, że uszkodzenie rogówki rozwija się wolniej w przypadku narażenia na nadtlenek wodoru o dużym stężeniu.

Szczury narażano całą powierzchnią ciała na pary 90-procentowego nadtlenu wodoru o stężeniach 338 ÷ 427 mg/m³ podawanego przez 4 lub 8 h. Podczas narażenia nie stwierdzono padnięć zwierząt ani wystąpienia objawów zatrucia nadtlakiem wodoru. U narażanych zwierząt nie obserwowano żadnych sygnałów zatrucia, z wyjątkiem odruchów drapania się i lizania. Na podstawie badania patomorfologicznego stwierdzono przekrwienie oskrzeli i płuc. Na niewielkim obszarze płuc wystąpił obrzęk bez krwotoków oraz miejsca z rozedmą pęcherzykową. Większość płuc wykazywała rozedmę pęcherzykową z ostrym przekrwieniem. Wszystkie pozostałe badane narządy były w normie (*Comstock* i in. 1954; *Oberst* i in. 1954).

W innych badaniach szczury narażano na pary nadtlenu wodoru (całą powierzchnią ciała) o stężeniach: 1690 ÷ 2360 mg/m³ (nie podano wielkości stężenia procentowego par) przez 4 h. Wartość LC_{50} wyznaczona w tym badaniu wynosiła 2000 mg/m³. Padnięcia zwierząt były wywołane głównie przez uwalniany się tlen z rozkładu nadtlenu wodoru, który wchłaniany do układu naczyniowego powodował zatory powietrzne w różnych częściach ciała (*Kondrashov* 1977).

U szczurów narażanych całą powierzchnią ciała na nadtlenek wodoru o stężeniu 170 mg/m³ przez 4 h (pary 50-procentowego roztworu) wystąpiły takie objawy zatrucia, jak: niewielka wydzielina z nosa i przejściowe zmniejszenie masy ciała. Wśród zwierząt nie stwierdzono padnięć (FMC 1990).

W badaniach przeprowadzonych przez *Svirbe-lyego* i in. (1961) myszy były wrażliwsze na pary nadtlenku wodoru niż szczury. Narażenie 4-godzinne na związek o stężeniu 110 mg/m³ (78 ppm) nie spowodowało padnięć wśród zwierząt. Narażenie na nadtlenek wodoru o stężeniu 160 mg/m³ (113 ppm) spowodowało padnięcie jednej na dzie-

sięć narażanych myszy w ciągu 24 h od narażenia, a cztery myszy z dziesięciu padły podczas 2 tygodni obserwacji. Padnięcia myszy po narażeniu na związek o stężeniu 321 mg/m³ (227 ppm) wynosiły 5/25 podczas 24 h, a w okresie 2 tygodni – 22/25 zwierząt.

Tabela 7.

Wartości DL₅₀ nadtlenku wodoru (H₂O₂) po narażeniu drogą pokarmową zwierząt doświadczalnych

Gatunek/szczep/ pleć	Substancja/dawki/uwagi	Wartość DL ₅₀ przy zastosowanym stężeniu, procent	Piśmiennictwo
Szczur szczep nieznan, samce	70-procentowy H ₂ O ₂ dawki: 50; 75 albo 100 mg/kg	LD ₅₀ samce: 75 mg/kg	FMC 1979
Szczur CRL:CD®BR	70-procentowy H ₂ O ₂ dawki: – samce: 500; 1000 albo 5000 mg/kg – samice: 500; 750 albo 1000 mg/kg	LD ₅₀ 805 mg/kg (634 ÷ 1018 mg/kg 95-procentowy CI) samce: 1026 mg/kg (95-procentowy CI niezdefiniowane) samice: 694 mg/kg (427 ÷ 960 mg/kg 95-procentowy CI)	Du Pont 1996
Szczur Wistar	60-procentowy H ₂ O ₂ dawki: – samce: 0; 0,351; 0,535; 0,734; 1,019 lub 1,296 ml/kg – samice: 0; 0,213; 0,323; 0,426; 0,659; 0,879; 1,236 lub 1,647 ml/kg	LD ₅₀ samce: 872 mg/kg (744 ÷ 1013 mg/kg 95-procentowy CI) samice: 801 mg/kg (635 ÷ 1010 mg/kg 95-procentowy CI)	Mitsubishi 1981
Szczur Sprague-Dawley	50-procentowy H ₂ O ₂ dawki: – nierozcieńczona substancja 225 mg/kg – samice bez padnięć – samce 1/5 padnięć w 1. dniu	LD ₅₀ nie oznaczono	FMC 1986
Szczur Sprague-Dawley	35-procentowy H ₂ O ₂ dawki: – samce: 630; 797; 1000; 1260; 1588 lub 2000 mg/kg – samice: 794; 1000; 1260 lub 1588 mg/kg	LD ₅₀ – samce: 1193 mg/kg (773 ÷ 1612 mg/kg 95-procentowy CI) – samice 1270 mg/kg (1088 ÷ 1453 mg/kg 95-procentowy CI)	FMC 1983
Szczur Wistar-JCL	9,6-procentowy H ₂ O ₂ dawki: – samce: 0,88 ÷ 2,63 ml/100g – samice: 0,92 ÷ 2,75 ml/100g	LD ₅₀ – samce: 1518 mg/kg (1358 ÷ 1696 mg/kg 95-procentowy CI) – samice: 1617 mg/kg (1432 ÷ 1826 mg/kg 95-procentowy CI)	Ito i in. 1976

Tabela 8.

Wartości CL_{50} nadtlenu wodoru (H_2O_2) po narażeniu drogą inhalacyjną (aerozol) zwierząt doświadczalnych

Gatunek/szczep	Substancja/stężenie/uwagi	Wartości CL_{50} przy zastosowanym stężeniu, procent	Piśmiennictwo
Mysz, szczep nieznany	90-procentowy H_2O_2 , 5 ÷ 15 min I badanie: 3 600 ÷ 5 200 mg/m^3 II badanie: 9 400 ÷ 19 000 mg/m^3	wartości LC_{50} nie oznaczono 3600 ÷ 5200 mg/m^3 : brak padnięć zwierząt, średniego stopnia działanie drażniące na błony śluzowe nosa, mrużenie oczu, oddech Kussmaula, zaburzenia koordynacji mięśniowej. Objawy zasadniczo zanikały w ciągu 30 min od zaprzestania narażenia. W badaniu patomorfologicznym stwierdzano przekrwienie płuc i martwicę nabłonka oskrzeli; stężenie 9 400 mg/m^3 – padnięcie zwierząt w 6. dniu po narażeniu: – 10 min 13 200 mg/m^3 – padnięcie 5 z 10 zwierząt – 15 min 11 800 mg/m^3 – padnięcie 5 z 10 zwierząt – 15 min 16 700 mg/m^3 – padnięcie 9 z 10 zwierząt; stężenie 9400 mg/m^3 – uszkodzenie oczu myszy zabitych po 8 tyg. od narażenia (badanie przeprowadzone po 5 tyg. od narażenia nie wykazało istotnych zmian)	Punte i in. 1953
Mysz, samce	70-procentowy H_2O_2 , 75 ÷ 120 min 880 ÷ 4960 mg/m^3	wartości LC_{50} nie oznaczono padnięcia zwierząt: – 60 min < 2170 mg/m^3 – padło 0 zwierząt z 10 – 60 min 3013 mg/m^3 – padły 4 zwierzęta z 4 – 120 min 920 mg/m^3 – padły 3 zwierzęta z 4 – 120 min 2000 mg/m^3 – padły 2 zwierzęta z 4 – 120 min 1450 mg/m^3 – padło 1 zwierzę z 4	Solvay ... 1995a
Mysz Swiss, samce	70-procentowy H_2O_2 , 30 min (oddychanie tylko przez nos); stężenia: 300; 616; 1135; 1856 mg/m^3	RD_{50} : 665 mg/m^3 , (95-procentowy CI: 280 ÷ 1139 mg/m^3) RD_{50} : 696 mg/m^3 (95-procentowy CI: 360 ÷ 1137 mg/m^3)	Solvay... 1995b

Tabela 9.

Ostra toksyczność nadtlenu wodoru (H_2O_2) po narażeniu drogą inhalacyjną (pary) zwierząt doświadczalnych

Gatunek/szczep/płeć	Substancja/stężenie/uwagi	Objawy	Piśmiennictwo
Szczur Sprague-Dawley, samce i samice	50-procentowy H_2O_2 , 4 h narażenie całą powierzchnią ciała 170 mg/m^3	przemijające zmniejszenie masy ciała, nie stwierdzono padnięć zwierząt, niewielka wydzielina z nosa	FMC 1990
Szczur, szczep nieznany	90-procentowy H_2O_2 , 4 h lub 8 h (narażenie całą powierzchnią ciała) 338 ÷ 427 mg/m^3 ; trzy grupy szczurów po 10 zwierząt w grupie; jedna grupa narażana przez 4 h a druga przez 8 h	bez padnięć zwierząt, stwierdzono wzmożone drapanie się i lizanie, u 3 szczurów zabitych 3. dnia stwierdzono przekrwienie oskrzeli i płuc, obrzęk płuc, rozedmę pęcherzykową	Comstock i in. 1954; Oberst i in. 1954
Mysz Swiss, samce	90-procentowy H_2O_2 , 4 h (narażenie całą powierzchnią ciała); stężenia: 54,6; 126,8; 264,8; 383; 657,7; 769,5 mg/m^3 (16,1; 37,4; 78,1; 113; 194 lub 227 ppm)	bez padnięć po narażeniu na związek o stężeniu 264,8 mg/m^3 i mniejszym; w czasie 2 tygodni obserwacji po narażeniu na związek o stężeniu 383 mg/m^3 padły 4 myszy z 10, po narażeniu na związek o stężeniu 657,7 mg/m^3 padły 22 myszy z 25, a po narażeniu na związek o stężeniu 769,5 mg/m^3 padło 5 myszy z 10	Solvay... 1995b
Szczur, szczep nieznany	pary H_2O_2 , 4 h (narażenie całą powierzchnią ciała)	LC_{50} 2000 (1690 ÷ 2360) mg/m^3 , padnięcia zwierząt wywołane przez uwalniany się tlen z rozkładu H_2O_2 , który wchłaniany do układu naczyniowego powodował zatory powietrzne	Kondrashov 1977
Mysz, szczep nieznany	pary H_2O_2 , 4 h (narażenie całą powierzchnią ciała) stężenia:	110 mg/m^3 – bez padnięć zwierząt 160 mg/m^3 – 1 mysz padła na 10 mysz w 24 h – 4 myszy padły na 10 podczas 2-tygo-	Svirbely i in. 1961

cd. tab. 9.

Gatunek/szczep/pleć	Substancja/stężenie/uwagi	Objawy	Piśmiennictwo
	110 mg/m ³ (78 ppm); 160 mg/m ³ (113 ppm); 321 mg/m ³ (227 ppm)	dniowego okresu obserwacji; 321 mg/m ³ – 5 myszy padło na 25 podczas 24 h, a w okresie 2 tygodni padły 22 myszy na 25	

Tabela 10.**Toksyczność ostra nadtlenku wodoru (H₂O₂) u zwierząt po narażeniu drogą dermalną**

Gatunek/szczep	Typ badań/Stężenie	Wynik, mg/kg	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczur biały	dermalne LD ₅₀ 90-procentowy H ₂ O ₂	około 5000	nie opisano dokładnie metody badań; stężenia: 5000 mg/kg – padły 4 szczury na 12; 5900 mg/kg – 9 szczurów padło na 12;	<i>Hrubetz i in.</i> 1951
Królik	dermalne LD ₅₀ 90-procentowy H ₂ O ₂	około 700	6 królików padło na 12	<i>Hrubetz i in.</i> 1951
Kot	dermalne LD ₅₀ 90-procentowy H ₂ O ₂	nie wyznaczono wartości LD ₅₀	nie było padnięć zwierząt – ok. 2800 ÷ 3200 mg/kg	<i>Hrubetz i in.</i> 1951
Świnka morska	dermalne LD ₅₀ 90-procentowy H ₂ O ₂	około 2800	2 świnki padły na 5	<i>Hrubetz i in.</i> 1951
Królik	dermalne LD ₅₀ 70-procentowy H ₂ O ₂	9200	nie opisano dokładnie metody badań	FMC 1979b
Królik	dermalne LD ₅₀ 35-procentowy H ₂ O ₂	> 2000	24 h opatrunek z substancją, nie było padnięć zwierząt	FMC 1983b
Mysz	toksyczność dermalna 10-procentowy H ₂ O ₂	1400	nie opisano dokładnie metody badań, objawy toksyczności układowej	<i>Liarskii i in.</i> 1983
Szczur	dermalne LD ₅₀ H ₂ O ₂ (nie podano stężenia)	4060	nie opisano dokładnie metody badań, jednorazowa aplikacja na 1 dm ² skóry grzbietu – 3000 ÷ 5480 mg/kg; padnięcia zwierząt w wyniku zatopień gazu	<i>Kondrashov</i> 1977

Toksyczność podprzewlekła

W latach pięćdziesiątych przeprowadzono badania toksyczności przewlekłej inhalacyjnej na: myszach, szczurach i psach. Myszy i szczury narażano całą powierzchnią ciała na pary nadtlenku wodoru przez siedem tygodni, a psy przez sześć miesięcy (*Comstock i in.* 1954; *Oberst i in.* 1954). Pomimo że raport z tych badań jest niekompletny, a metoda oznaczania związku nieprecyzyjna, to jednak wyniki badania dostarczają istotnych informacji.

Na nadtlenek wodoru o stężeniu 93 mg/m³ (67 ppm) narażono 23 szczury, a 10 myszy na nadtlenek wodoru o stężeniu 79 mg/m³ (57 ppm) lub 107 mg/m³ (77 ppm). U zwierząt narażanych obserwowano głównie: wydzielinę z nosa, obrzęk stóp, działanie drażniące na skórę w okolicy pachwiny i ubytki sierści. Zaobserwowano również

nieistotne statystycznie zmniejszenie masy ciała szczurów. Na podstawie wyników badania histopatologicznego nie stwierdzono istotnych zmian w badanych narządach: płucach, oskrzelach, wątrobie, nerkach, śledzionie i w rogówce oka.

Dwa psy narażano na nadtlenek wodoru o stężeniu 10 mg/m³ (7 ppm), 6 h dziennie, 5 dni w tygodniu przez sześć miesięcy (łącznie 126 narażeń). Jeden pies stanowił grupę kontrolną. U obu zwierząt narażanych wystąpiły zmiany w układzie oddechowym. Obserwowano także działanie drażniące związku na skórę, której rozległe obszary były pozbawione sierści w wyniku intensywnego drapania się zwierząt. Sierść była odbarwiona, a mieszki włosowe były uszkodzone. W dwudziestym czwartym tygodniu narażania u psów obserwowano sporadycznie łzawienie i kichanie. Wyniki badania patomorfologicznego wykazały zmiany tylko w skórze (skóra była pogru-

biona) i w układzie oddechowym. W płucach występowały ogniska rozedmy oraz niedodmy. W oskrzelikach końcowych i oddechowych obserwowano pogrubienie warstwy mięśniowej. W płucach były widoczne rozproszone zmiany w postaci zwłóknienia (Comstock i in. 1954; Oberst i in. 1954).

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że psy były bardziej wrażliwym gatunkiem na działanie nadtlenu wodoru niż myszy i szczury. Jednak na podstawie reakcji zwierząt po narażeniu na związek tylko o jednym zastosowanym stężeniu nie można ustalić wartości NOAEL. Porównując skutki działania nadtlenu wodoru obserwowane u myszy i szczurów ze skutkami występującymi u psów, można zaproponować przyjęcie stężenia 10 mg/m^3 za wartość LOAEL.

Kondrashov (1977) przeprowadził badania podchroniczne na szczurach narażanych na parę nadtlenu wodoru (całą powierzchnią ciała – sierść była ostrzyżona) o stężeniach $0,1 \div 10,1 \text{ mg/m}^3$, 5 h dziennie, pięć dni w tygodniu przez cztery miesiące. Elementy układu oddechowego i skórę badano histopatologicznie. Aktywność enzymów oznaczano w: tkankach układu oddechowego, skórze i krwi. Progowe stężenie dla skutków par nadtlenu wodoru na układ oddechowy wynosiło 10 mg/m^3 , natomiast stężenie nieefektywne wynosiło 1 mg/m^3 . Narażenie na nadtlenek wodoru o stężeniu 10 mg/m^3 przez dwa lub trzy miesiące powodowało wzrost aktywności epoksydazy osocza (2,50 i 2,63, a u zwierząt kontrolnych – 2,16 i 2,20). Po czterech miesiącach w płucach obserwowano zmniejszenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej (SDH), (0,26 u narażanych zwierząt, a 0,34 u zwierząt z grupy kontrolnej), monoaminooksydazy (MAO) i fosfatazy kwasowej oraz wzrost aktywności fosfatazy zasadowej.

Po dwóch miesiącach narażania na nadtlenek wodoru o stężeniu 1 mg/m^3 w wycinkach naskórka pobranego z grzbietu zwierząt stwierdzono wzrost aktywności MAO i NAD-diaforazy (dwunukleotyd nikotynoamidoadeninowy – diaforeza). Po czterech miesiącach nadal utrzymywał się wzrost aktywności: MAO, NAD-diaforezy oraz wzrost SDH i dehydrogenazy mleczanowej. Ponadto stwierdzono po czterech miesiącach istotne zmiany w warstwie rogowej skóry. Wyniki tych badań są trudne do zinterpretowania ze względu na ograniczone i niekonwencjonalne metody badań oraz ubogi raport z badań. Wartość

10 mg/m^3 nadtlenu wodoru przyjęto za wartość LOEL dla zmian aktywności enzymów w tkankach. Progowe stężenie dla skutków par nadtlenu wodoru na skórę wynosiło 1 mg/m^3 , natomiast stężenie nieefektywne (NOAEL) wynosiło $0,1 \text{ mg/m}^3$. Autorzy badań stwierdzili, że skóra jest wrażliwsza na działanie nadtlenu wodoru niż układ oddechowy, co potwierdziły wyniki wcześniejszych badań, którym poddano: szczury, myszy i psy.

W badaniu Kawasakiego i in. (1969) roztwory $0,06 \div 0,6$ -procentowe nadtlenu wodoru podawano szczurom sondą dożołądkowo w dawkach $6 \div 60 \text{ mg/kg m.c.}$ Wśród obserwowanych skutków u wszystkich zwierząt narażanych występowała zależność od wielkości dawki. U zwierząt stwierdzono: istotne zmniejszenie masy ciała po dwudziestu dniach narażania na dawkę 60 mg/kg m.c. nadtlenu wodoru, niewielki wzrost masy śledziony w czterdziestym dniu narażania (nie obserwowano wzrostu w setnym dniu narażania) oraz zmniejszenie hematokrytu i białek osocza w setnym dniu doświadczenia. Katalaza osocza była istotnie zmniejszona pod koniec setnego dnia narażania u zwierząt narażanych na dawki 30 i $60 \text{ mg/kg m.c./dzień}$ nadtlenu wodoru. Wartość NOAEL w tym doświadczeniu autorzy zaproponowali na poziomie $20 \text{ mg/kg m.c./dzień}$, a wartość LOAEL – 60 mg/kg m.c.

Szczury szczepu Wistar narażano drogą pokarmową (sondą do żołądka) na nadtlenek wodoru od 40 do 100 dni. Roztwór 5-procentowego nadtlenu wodoru podawano w dawkach $56,2 \div 506 \text{ mg/kg m.c./dzień}$ (Ito i in. 1976). U zwierząt narażanych na dawkę 506 mg/kg m.c. nadtlenu wodoru obserwowano zmniejszenie masy ciała związane ze zmniejszeniem: spożycia pokarmu, liczby erytrocytów, stężeniem hemoglobiny i hematokrytu. Wzrost zawartości neutrofilii w stadium podziału i monocytów oraz zmniejszenie liczby limfocytów występowało u zwierząt narażanych na dużą i średnią dawkę ($168,7 \text{ mg/kg m.c.}$) związku. Transaminaza glutaminianowo-szczawiooctowa (S-GOT), transaminaza glutaminianowopirogronowa (S-GPT), alkaliczna fosfataza i poziom azotu mocznikowego we krwi były również zmniejszone. S-GOT był zmniejszony nawet po małej dawce ($56,2 \text{ mg/kg m.c.}$) związku. U zwierząt narażanych na dużą dawkę związku obserwowano wzrost względnej masy: płuc, śledziony, nadnerczy i jąder. Na podstawie wyników badania histopatologicznego nie stwierdzono u tych zwierząt istotnych zmian. Nadżerkę śluzówki

żołądka oraz strupy obserwowano tak samo sporadycznie jak nacieki z małych komórek okrągłych (*small round komórek cells*) do warstwy mięśniowej (*into the muscular layer*) u zwierząt narażanych na dużą dawkę związku. Istotne jest to, że kilka obserwowanych skutków narażenia (zmniejszenie aktywności enzymów wątroby, odchylenia od normy kilku parametrów krwi) wykazywało zależność od wielkości dawki. Autorzy badań przypisali zauważone skutki tworzącemu się tlenowi.

Najczęściej obserwowanymi skutkami u myszy i szczurów pojonnych 0,3-procentowym nadtlenkiem wodoru przez kilka tygodni było zmniejszenie masy ciała i opóźnienie wzrostu (*Shapiro* i in. 1960; *Kihlström* i in. 1986; *Hankin* 1958; *Romanowski* i in. 1960; *Du Pont* 1995; *FMC* 1997). Pojenie szczurów szczepu F344 0,15-procentowym (0,08 g/kg m.c./d) nadtlenkiem wodoru przez 10 tygodni spowodowało niewielkie zmniejszenie masy ciała zarówno u samic, jak i samców (*Takayama* 1980).

U szczurów *Holzman* pojonnych 1- i 1,5-procentowym nadtlenkiem wodoru powstawały rozległe zmiany próchniczne zębów i zmiany patologiczne przyzębia (*Shapiro* i in. 1960).

Szczury pojone 2,5-; 5- lub 10-procentowym nadtlenkiem wodoru padły w ciągu czterdziestu trzech dni doświadczenia (*Romanowski* i in. 1960).

Podanie szczurom szczepu F344 (10 samic i 10 samców): 0-; 0,15-; 0,3-; 0,6-; 1,2- lub 2,4-procentowego nadtlenku wodoru w wodzie pitnej przez dziesięć tygodni spowodowało zmniejszenie masy ciała i powstanie wydzieliny w nosie u zwierząt narażanych na związek o stężeniu 2,4-procentowym (*Takayama* 1980). Nadtlenek wodoru 1,2- i 0,6-procentowy również wpływał na zmniejszenie masy ciała. Szybkość wzrostu zwierząt z grupy kontrolnej (samców) wynosiła 66,1%, podczas gdy u zwierząt narażanych (samców) wynosiła 53,3% (grupa 0,6%) lub 45,9% (grupa 2,4%). Podobnie obserwowano u samic zmniejszenie szybkości wzrostu. Szybkość wzrostu samic z grup kontrolnych wynosiła 37,2%, podczas gdy u samic narażanych wynosiła 29,7% (grupa 0,15%) lub 30,4% (grupa 2,4%). W grupie samców narażanych na 2,4-procentowy roztwór nadtlenku wodoru przeżyło 9 szczurów, podczas 10-tygodniowego okresu narażania, a w pozostałych grupach przeżyły wszystkie zwierzęta. Badania histopatologiczne przeprowadzono u pięciu zwierząt z każdej grupy. Zmiany patologiczne

występowały wyłącznie u zwierząt narażanych na duże dawki nadtlenku wodoru. U wszystkich samic i samców występowały wieloogniskowe uszkodzenia żołądka. U samic obserwowano zmiany w macicy, a u dwóch samców zanik jąder (u pozostałych samców zmniejszenie masy jąder o 60% w porównaniu do zwierząt z grup kontrolnych). U jednego szczura wystąpiło przekrwienie wątroby i zwierzę padło po siedmiu tygodniach narażania. Zmniejszenie masy narządów, z wyjątkiem mózgu, występowało łącznie ze zmniejszoną masą ciała zarówno u samic, jak i samców. Wpływ nadtlenku na przyrost masy ciała obserwowano nawet u szczurów po małych dawkach, dlatego nie jest możliwe wyznaczenie wartości NOAEL na podstawie tego doświadczenia.

W 90-dniowych badaniach pojono myszy szczepu C57BL/6NCrlBR (15 zwierząt/grupę/płeć) 35-procentowym roztworem nadtlenku wodoru, który podawano w dawkach: 100; 300; 1000 i 3000 ppm (*FMC* 1997). Zwierzętom z grup kontrolnych podawano wodę destylowaną. Obserwowano zmniejszenie aktywności katalazy. Pod koniec doświadczenia usypiano dziesięć samic i dziesięć samców z każdej grupy i przeprowadzono badania histopatologiczne, a wcześniej pobierano od zwierząt próbki krwi. Pięcioro zwierząt każdej płci z każdej grupy badano przez następne sześć tygodni. Zwierzętom z grupy kontrolnej nie podawano już wody destylowanej.

Podczas 90-dniowego okresu narażania obserwowano zależność dawka-odpowiedź u zwierząt narażanych na dawki: 300; 1000 lub 3000 ppm nadtlenku wodoru. Masa ciała zwierząt była istotnie zmniejszona tylko u samców i samic narażanych na dawkę 3000 ppm nadtlenku wodoru. Zależność dawka-odpowiedź obserwowano również w przypadku spożycia pokarmu i wody. U wszystkich samic narażanych na dawki 300 ppm i większe nadtlenku wodoru występowało zmniejszenie ilości przyjmowanej wody i pokarmu. Skutek ten obserwowano również u samców, lecz tylko wówczas, gdy zastosowano duże dawki związku.

Wyznaczona doświadczalnie wartość LOAEL nadtlenku wodoru dla samic wynosi 300 ppm (103 mg/kg/dzień) i jest związana ze zmniejszeniem ilości przyjmowanej wody. W okresie zaprzestania narażania (między 91. a 134. dniem) wystąpił wzrost spożycia wody u samców narażanych wcześniej na dawkę 3000 ppm i samic otrzymujących dawki: 300; 1000 lub 3000 ppm nadtlenku wodoru.

Badaniom histologicznym poddano: język, przełyk, żołądek, dwunastnicę, krętnicę, jelito czcze, jelito ślepe, okrężnicę i odbytnicę. Badania dotyczyły także narządów płciowych zwierząt narażanych i z grupy kontrolnej. Zmiany związane z narażeniem na nadtlenek wodoru wystąpiły tylko w dwunastnicy pod koniec okresu narażania na dawki 1000 i 3000 ppm związku zarówno u samic, jak i samców oraz u jednego samca z grupy narażanej na dawkę 300 ppm nadtlenu wodoru. Zmiany w dwunastnicy polegały na rozroście jej śluzówki. Rozrostu śluzówki nie stwierdzono u myszy narażonych na dawkę 100 ppm nadtlenu wodoru. Nie obserwowano związku między zastosowaną dawką a padnięciem zwierząt. Jeden samiec myszy z grupy kontrolnej padł i padł również jeden samiec z grupy narażanej na dawkę 3000 ppm w czterdziestym trzecim dniu badania (nie stwierdzono zmian badaniem histopatologicznym). Po okresie przerwania narażania nie stwierdzono rozrostu śluzówki u zwierząt w żadnej z grup. Wartość NOAEL wyznaczono na poziomie 100 ppm (26 i 37 mg/kg/dzień) dla samców i samic, biorąc za skutek działania zmniejszenie spożycia pokarmu i wody oraz rozrost błony śluzowej dwunastnicy.

Skutki działania toksycznego nadtlenu wodoru podanego drogą pokarmową, w przeciwieństwie do narażenia inhalacyjnego, zostały dobrze udokumentowane w badaniach na zwierzętach. Toksyczność inhalacyjna nadtlenu wodoru wyznaczona w badaniu powtarzanego narażenia nie jest wyjaśniona, a wyniki badania pojedynczego

przeprowadzonego na: psach, myszach i szczurach sugerują miejscowe działanie związku o stężeniu około 10 mg/m³ (LOAEL) na: skórę, oczy i górne drogi oddechowe, a u psów również na płuca (Comstock i in. 1954; Oberst i in. 1954). Stężenie 10 mg/m³ nadtlenu wodoru przyjęto za wartość LOEL również dla zmian aktywności enzymów w tkankach szczura. Progowe stężenie dla skutków par nadtlenu wodoru na skórę wynosiło 1 mg/m³, natomiast stężenie nieefektywne (NOAEL) działania na skórę oraz aktywność enzymów w tkankach i krwi wynosiło 0,1 mg/m³ (Kondrashov 1977).

Toksyczność nadtlenu wodoru wyznaczona w badaniach chronicznych pokarmowych była najczęściej związana ze zmniejszeniem masy ciała oraz ilości przyjmowanego pokarmu i wody. Rzadziej spotykanymi objawami było zmniejszenie: liczby erytrocytów, hematokrytu, stężenia białek w osoczu i katalazy osocza. Wyznaczona na podstawie obniżenia poziomu katalazy wartość NOAEL nadtlenu wodoru wynosiła 26 mg/kg m.c. dla samców i 37 mg/kg m.c. dla samic. Wartość LOAEL ustalono na poziomie 76 mg/kg m.c. dla samców i 103 mg/kg m.c. dla samic. Wartość ta opiera się na zależnym od wielkości dawki skutku zmniejszenia spożycia pokarmu i wody oraz pojawieniu się rozrostu błony śluzowej dwunastnicy u jednego samca.

Skutki toksyczne obserwowane u zwierząt doświadczalnych po podchronicznym i chronicznym narażeniu na nadtlenek wodoru zamieszczono w tabeli 11.

Tabela 11.

Powtarzane narażenie zwierząt drogą inhalacyjną na nadtlenek wodoru (H₂O₂)

Gatunek, szczep, płeć, liczebność	Droga narażenia	Dawki/stężenia H ₂ O ₂	Wartość NOAEL lub LOAEL H ₂ O ₂	Skutki	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczur, grupa narażana 23 szczury, grupa kontrolna 10 szczurów	inhalacyjna (całą powierzchnią ciała), pary	93 mg/m ³ (67 ppm) 7 tyg., 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	NOAEL-LOAEL 93 mg/m ³	po 2 tygodniach narażenia: wyciek z nosa, obrzęk stóp i działanie drażniące na skórę w okolicy pachwiny, po 5 tygodniach – wypadanie sierści	niekompletny raport danych i ograniczenia metody	Comstock i in. 1954; Oberst i in. 1954
Myszy, 2 grupy po 10 zwierząt, grupa kontrolna 10 myszy	inhalacyjna (całą powierzchnią ciała), pary	79 mg/m ³ (57 ppm) albo 107 mg/m ³ (77 ppm), 7 tyg., 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	NOAEL-LOAEL 79 mg/m ³	po 2 tygodniach narażenia: wyciek z nosa, obrzęk stóp i działanie drażniące na skórę w okolicy pachwiny, po 5 tygodniach – wypadanie sierści	niekompletny raport danych i ograniczenia metody	Comstock i in. 1954; Oberst i in. 1954

cd. tab. 11.

Gatunek, szczepek, płeć, liczebność	Droga narażenia	Dawki/ stężenia H ₂ O ₂	Wartość NOAEL lub LOAEL H ₂ O ₂	Skutki	Uwagi	Piśmiennictwo
Psy, 2 narażane 1 z grupy kontrolnej	inhalacyjna (całą powierzchnią ciała), pary	10 mg/m ³ (7 ppm), 6 miesięcy, 6 h dziennie, 5 d/tydz. (całkowita liczba narażeń 126)	NOAEL-LOAEL 10 mg/m ³	kichanie, łzawienie, działanie drażniące na skórę, odbarwienie sierści, wypadanie sierści, znaczne pogrubienie skóry; w płucach ogniska rozedmy oraz niedodmy	niekompletny raport danych i ograniczenia metody	<i>Comstock</i> i in. 1954; <i>Oberst</i> i in. 1954
Szczur	inhalacyjna (całą powierzchnią ciała), pary	0,1 ÷ 10,1 mg/m ³ do 4 miesięcy, 5 h/dzień, 5 dni/tydz.	układ oddechowyy: NOAEL 1 mg/m ³ LOAEL 10 mg/m ³	10 mg/m ³ po 2 ÷ 3 miesiącach powodowało wzrost aktywności epoksydazy osocza; po 4 miesiącach w płucach występowało zmniejszenie aktywności SDH, MAO i fosfatazy kwasowej oraz wzrost aktywności fosfatazy zasadowej	niekompletny raport danych i ograniczenia metody	<i>Kondrashov</i> 1977
Szczur, brak grupy kontrolnej	narażenie na pary przez ogoloną skórę	0,1 ÷ 10,1 mg/m ³ narażenie na pary do 4 miesięcy	skóra: NOAEL – 0,1 mg/m ³ LOAEL – 1 mg/m ³	po 2 ÷ 4 miesiącach obserwowano: zmniejszenie aktywności: MAO, NAD-diaforazy, SDH, LDH, wzrost aktywności peroksydazy	niekompletny raport danych i ograniczenia metody	<i>Kondrashov</i> 1977
Szczur Wistar-JCL, samce, 12 w grupie, 12 z grupy kontrolnej	pokarmowa, sondą dożołądkowo od 40 do 100 dni	0 (roztwór soli fizjologicznej), 56,2 mg/kg m.c./d (0; 112 ml/100g) 168,7 mg/kg m.c./d (0,34 ml/ 100g) 506,0 mg/kg m.c./d (1,01 ml/ 100g) (5-procentowy roztwór) 6 d/tydz., 12 tygodni	NOEL-LOEL 56,2 mg/kg	duża dawka: zmniejszenie przyrostu masy ciała, spożycia pokarmu, liczby erytrocytów, stężenia hemoglobiny; średnia i duża dawka: wzrost segmentowanych neutrofilii i monocytów, zmniejszenie liczby limfocytów, poziomu S-GOT, S-GPT, alkalicznej fosfatazy; mała dawka: zmniejszenie poziomu S-GOT; histologia: uszkodzenie śluzówki żołądka, nadżerkę, nacieki z małych okrągłych komórek do warstwy mięśniowej stwierdzono u zwierząt narażanych na dużą dawkę; nie stwierdzono przypadków padnięć zwierząt	obserwowano zależność dawka – odpowiedź w przypadku badanych kilku parametrów	<i>Ito</i> i in. 1976
Szczur Wistar, samce, 9 ÷ 12 w grupie, w grupie kontrolnej 9 ÷ 12	pokarmowa, sondą dożołądkowo	0 (woda); 0; 6; 10; 20; 30 lub 60 mg/kg m.c./d (0,6; 1; 2; 3 lub 6 mg/100g m.c./d), (30-procentowy roztwór 0,6 ÷ 6 mg/ml = 0,06 ÷ 0,6-procentowy roztwór) 40 d (połowa szczurów) codziennie, 100 d (połowa szczurów) codziennie	NOEL – 20 mg/kg LOEL – 60 mg/kg	60 mg/kg m.c./d (100 dni narażenia); istotne zmniejszenie przyrostu masy ciała po 20 dniach narażenia; niewielkie powiększenie śledziony po 40 dniach narażenia; niewidoczne powiększenie po 100 dniach; zmniejszenie hematokrytu, liczby białek osocza i aktywności katalazy osocza ($p < 0,05$); aktywność katalazy również zmniejszona u zwierząt w grupie otrzymującej dawkę 30 mg/kg m.c.; nie stwierdzono padnięć zwierząt	nie obserwowano wyraźnej zależności dawka-odpowiedź w przypadku badanych kilku parametrów	<i>Kawasaki</i> i in. 1969

cd. tab. 11.

Gatunek, szczep, płeć, liczebność	Droga narażenia	Dawki/ stężenia H ₂ O ₂	Wartość NOAEL lub LOAEL H ₂ O ₂	Skutki	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczur, samce, samice	pokarmowa sondą dożołądkowo	0,005 ÷ 50 mg/kg m.c./d 6 miesięcy 85 ÷ 90-procentowy rozcieńczano do: 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01 lub 0,1-procentowy roztwór	0,1 mg/l (0,005 mg/kg m.c./d) (NOEL) LOEL -	50 mg/kg m.c./d: zmniejszenie przyrostu masy ciała, liczby limfocytów w krwi oraz wzrost liczby retikulocytów i hemolizy, zmniejszenie aktywności katalazy w hepatocytach, wzrost aktywności SDH w hepatocytach, zmiany aktywności enzymu w żołądku, dwunastnicy i mózgu oraz białkomocz; zmiany strukturalne w śluzówce żołądkowo-jelitowej; 5 mg /kg m.c./d: skutki takie jw., z wyjątkiem zmniejszenia przyrostu masy ciała i zmniejszenia aktywności katalazy w wątrobie oraz zmian histologicznych w żołądku	niekompletny raport z badań i ograniczenia metody	<i>Antonova</i> i in. 1974
Szczur Holzman, samce	pokarmowa z wodą do picia, (<i>ad libitum</i>): eksperyment I: 24 szczury/dawkę; grupa kontrolna: 24 szczury; eksperyment II: 5 grup po 10 szczurów	eksperyment I: 0-; 0,5-; 1- lub 1,5-procentowy 8 tygodni; eksperyment II: 1- lub 1,5-procentowy standardowa dieta	NOEL- LOEL – 0,5-procentowy roztwór (0,26 g/kg m.c./d)	eksperyment I: opóźniony wzrost we wszystkich grupach, 7/24 szczurów padło po dawce największej 1,5-procentowy (0,78 g/kg m.c./d); rozległe zmiany próchnicze i zmiany patologiczne przyzębia (1- i 1,5-procentowy) eksperyment II: opóźniony wzrost we wszystkich grupach, rozległe zmiany próchnicze i zmiany patologiczne przyzębia (1- i 1,5-procentowy)	niekompletny raport z badań i ograniczenia metody	<i>Shapiro</i> i in. 1960
Szczur Wistar, samce	pokarmowa z wodą do picia, (<i>ad libitum</i>): 8 szczurów grupa kontrolna: 8 szczurów	0- (woda); 0,5-procentowy 56 dni	NOEL- LOEL – 0,5-procentowy roztwór (0,26 g/kg m.c./d)	zmniejszenie przyjmowanie wody i zmniejszony przyrost masy ciała; zmniejszona aktywność peroksydazy glutationowej Se-zależnej w: mięśniach szkieletowych, nerkach i wątrobie; zmniejszenie katalazy w mięśniach; nie stwierdzono przypadków padnięć zwierząt	niekompletny raport z badań i ograniczenia metody	<i>Kihlström</i> i in. 1986
Myszy NMR1, samce	pokarmowa z wodą do picia: 8 myszy narażanych; 8 myszy z grupy kontrolnej	0- (woda); 0,5-procentowy 40 dni (<i>ad libitum</i>)	NOEL- LOEL – 0,5-procentowy roztwór (1 g/kg m.c./d)	zmniejszone przyjmowanie wody, zmniejszony przyrost masy ciała; nie stwierdzono zmian aktywności peroksydazy w badanych narządach; nie stwierdzono przypadków padnięć zwierząt	niekompletny raport z badań i ograniczenia metody	<i>Kihlström</i> i in. 1986
Szczur Osborne-Mendel, samce	pokarmowa z wodą do picia; brak danych o liczebności zwierząt	0,45-procentowy roztwór 3 tygodnie (<i>ad libitum</i>); zwierzęta z grupy kontrolnej	NOEL- LOEL – 0,45-procentowy roztwór (0,24 g/kg m.c./d)	zmniejszone przyjmowanie wody, zmniejszony przyrost masy ciała	niekompletny raport z badań i ograniczenia metody	

cd. tab. 11.

Gatunek, szczep, płeć, liczebność	Droga narażenia	Dawki/stężenia H ₂ O ₂	Wartość NOAEL lub LOAEL H ₂ O ₂	Skutki	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczur F344, samce, samice	pokarmowa z wodą do picia, (<i>ad libitum</i>); 10 szczurów w grupie	0-; 0,15-; 0,3-; 0,6-; 1,2- lub 2,4-procentowe przez 10 tygodni	NOEL-LOEL – 0,15-procentowy roztwór (samce i samice) (0,15 g/kg m.c./d)	przyrost masy ciała u samców z grupy kontrolnej wynosił 66,1%, u samców narażanych na 0,6-procentowy roztwór – 53,3%; przyrost masy ciała u samic z grupy kontrolnej wynosił 37,2%; największy przyrost masy ciała u samic narażanych wynosił 29,7% (grupa otrzymująca roztwór 0,15-procentowy), padł 1 samiec i padła 1 samica w grupach narażanych na największą dawkę; badania histologiczne przeprowadzono na 5 szczurach z każdej grupy; zmiany w tkankach występowały u samic i samców narażanych na największe dawki; uszkodzenie i owrzodzenie żołądka, a u 2 samców wystąpił zanik jąder	Niekompletny raport z badań i ograniczenia metody.	<i>Takayama</i> 1980
Szczur, samce	pokarmowa z wodą do picia	szczury normalne: 0- (woda), 0,25-; 0,5-; 2,5-; 5- lub 10-procentowy roztwór; szczury ze sztucznie wywołanym wzrostem ciśnienia krwi: 1% sól, 0,25-; 0,5- lub 2,5-procentowy roztwór w soli, 290 d	NOEL-LOEL – 0,5-procentowy roztwór (0,26 g/kg m.c./d)	szczury normalne: wszystkie zwierzęta padły po 43 dniach w grupach otrzymujących: 2,5-; 5- lub 10-procentowy roztwór; stężenie 0,25-procentowe, 146 dni: masa ciała w normie, brak padnięć; stężenie 0,5-procentowe, 290 dni: masa ciała obniżona, niewielki wzrost ciśnienia krwi; 8 przypadków padnięć zwierząt; szczury ze sztucznie wywołanym wzrostem ciśnienia krwi: 0,25- i 0,5-procentowy roztwór: wyraźne zmniejszenie ciśnienia krwi przedłużające życie szczurów ze sztucznie wywołanym wzrostem ciśnienia krwi, padł 1 szczur po stężeniu 0,25-procentowy, a 2 szczury po stężeniu 0,5-procentowym	niekompletny raport z badań i ograniczenia metody	<i>Romanowski</i> i in. 1960
Myszy, samce	pokarmowa z wodą do picia (<i>ad libitum</i>) wstępne badanie: brak danych; główne badanie: 4 grupy po 4 myszy 2 grupy po 4 myszy jako grupa kontrola	wstępne badanie: 0-; 0,15-; 0,3-; 0,6-; 1,0-; 2,0-; 4,5- lub 9-procentowy roztwór; brak danych na temat trwania doświadczenia; główne badanie: 0 lub 0,15-procentowy roztwór przez 35 tygodni	wstępne badanie: NOEL – 0,15-procentowy roztwór (0,30 g/kg m.c./d); główne badanie: NOEL-LOEL – 0,15-procentowy roztwór (0,30 g/kg m.c./d)	wstępne badanie: wartość NOAEL wybrano do głównego badania; główne badanie: - w 13. tygodniu (4 myszy): nie stwierdzono zmian w badanych tkankach (wątroba, nerki, śledziona, jelito małe, żołądek); - w 16. tygodniu (2 myszy): sporadycznie występujące miejscowe ogniska martwicze w wątrobie, zmiany hiperplastyczne w śluzówce żołądka; - w 22. tygodniu (1 mysz): wyraźne zmiany we wszystkich narządach; - w 28. tygodniu (1 mysz): degeneracja tkanek wątroby i nabłonka kanalików nerkowych wywołana		<i>Aoki, Tani</i> 1972

cd. tab. 11.

Gatunek, szczep, płeć, liczebność	Droga narażenia	Dawki/ stężenia H ₂ O ₂	Wartość NOAEL lub LOAEL H ₂ O ₂	Skutki	Uwagi	Piśmiennictwo
Myszy C57BL/6NCr 1BR, samce, samice	pokarmowa z wodą do picia (<i>ad libitum</i>); 5 grup po 10 myszy każdej płci; grupa kontrolna	0; 200; 1000; 3000 lub 6000 ppm - samce: 0; 42,4; 164; 415 lub 536 mg/kg m.c./d; - samice: 0; 48,5; 198; 485 lub 774 mg/kg m.c./d 14 dni	NOEL – LOEL = 1000 ppm	obrzękiem; niewielka martwica, stan zapalny i nieprawidłowa struktura tkanek w ściankach żołądka, znaczna sedimentacja hemosyderyny w śledzionie; - w 35. tygodniu (2 myszy): rozrost tkanki limfatycznej w ścianach małego jelita; nie stwierdzono przypadków padnięć zwierząt dawki 3000 lub 6000 ppm: zmniejszone spożycia wody i paszy, zmniejszony przyrost masy ciała; zmiany degeneracyjne w śluzówce żołądka i dwunastnicy	padła 1 samica z grupy otrzymującej dawkę 200 ppm	Du Pont 1995
Myszy Charles River Catalase deficient C57BL/6NCr 1BR, samce, samice	pokarmowa z wodą do picia (<i>ad libitum</i>); 5 grup po 15 myszy każdej płci; grupa kontrolna 15 zwierząt	okres narażenia: (0 ÷ 90 dni) 0; 100; 300; 1000 lub 3000 ppm, - samce: 26; 76; 239 lub 547 mg/kg m.c./d; - samice: 37; 103; 328 lub 785 mg/kg m.c./d; okres regeneracji (91 ÷ 134 dni) 5 zwierząt/ płeć/grupę, podawano destylowaną wodę przez dodatkowe 6 tygodni	NOEL – 100 ppm; samce: 26 mg/kg/d samice: 37 mg/kg/d LOEL – 300 ppm; - samce: 76 mg/kg/d - samice: 103 mg/kg/d	dawki 3000 ppm podczas i po narażeniu: zmniejszenie przyrostu masy ciała: - samce: istotne obniżenie ilości protein i globulin we krwi; 3000 ppm, okres regeneracji: istotne zmniejszenie masy ciała (105. dnia, powrót po 2 tyg.), nie stwierdzono różnic w przyroście masy ciała pod koniec badań; 3000 ppm i większe dawki: zależne od dawki zmniejszenie spożycia wody i paszy wartość LOAEL wyznaczona u samic; samce otrzymujące dawkę 3000 ppm i samice otrzymujące dawkę 1000 ppm lub większą: rozrost śluzówki dwunastnicy po narażeniu; nie stwierdzono rozrostu po okresie regeneracji w żadnej z narażonych grup	badanie histologiczne poszczególnych odcinków układu pokarmowego przeprowadzono u wszystkich zwierząt	FMC 1997

Objaśnienia:

NOAEL – poziom bez obserwowanego działania szkodliwego. Poziom dawkowania, przy którym nie obserwuje się szkodliwych zmian to największa badana dawka lub poziom narażenia, nie powodująca wystąpienia statystycznie znaczącego wzrostu częstotliwości lub intensywności szkodliwych skutków u narażonej populacji względem odpowiedniej grupy kontrolnej; po takiej dawce lub przy takim poziomie mogą występować pewne skutki, lecz nie są one uważane za szkodliwe ani będące prekursorami szkodliwych skutków.

NOEL – poziom, przy którym nie obserwuje się szkodliwych zmian, to największa badana dawka lub poziom narażenia, przy których w badaniu nie zaobserwowano statystycznie znaczących skutków u narażonej populacji w porównaniu z odpowiednią grupą kontrolną.

LOAEL – najniższy poziom, przy którym obserwuje się szkodliwe zmiany jest najmniejszą badaną dawką lub poziomem narażenia, przy których występują statystycznie znaczące wzrosty częstotliwości lub intensywności szkodliwych skutków u narażonej populacji względem odpowiedniej grupy kontrolnej.

LOEL – najmniejsza badana dawka lub poziom narażenia, przy których obserwuje się w badaniu statystycznie znaczący skutek działania na narażoną populację w porównaniu z odpowiednią grupą kontrolną.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne

Zestawienie badań oceniających działanie mutagenne i genotoksyczne nadtlenku wodoru zamieszczono w tabeli 12.

W badaniach wykonywanych w warunkach in vitro aktywność mutagenną nadtlenku wodoru oznaczano na kilku szczepach testowych *Salmonella* Typhimurium z dodatkiem i bez dodatku aktywatora – frakcji S9 wątroby szczura lub myszy. Wyniki uzyskane w tych samych testach z aktywacją metaboliczną nie są jednoznaczne, lecz w większości przypadków są negatywne (Glatt 1989; Ishidate i in. 1984; Prival i in. 1991).

Stwierdzono mutacje: postępowe u *Bacillus subtilis* (Sacks, MacGregor 1982), powrotne u *Escherichia coli* (Wilcox i in. 1990), genowe drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (Thacker, Parker 1976). Nadtlenek wodoru wykazywał również aktywność mutagenną w SOS chromotest przeprowadzonym na *Escherichia coli* (von der Hude i in. 1988).

W komórkach ssaków hodowanych w warunkach in vitro nadtlenek wodoru powodował tworzenie mikrojąder i aberracje chromosomowe oraz wywoływał wzrost częstości wymiany chromatyd siostrzanych. Nadtlenek wodoru testowany na ludzkich fibroblastach i komórkach ludzkich D98/AH2 (wariant Hela) w warunkach in vitro wywołał wzrost częstości aberracji chromosomowych (Estervig, Wang 1984; Oya i in. 1986).

Nadtlenek wodoru testowany w warunkach in vivo na erytrocytach polichromatycznych szpiku kostnego myszy nie powodował ani wzrostu częstości tworzenia mikrojąder (Du Pont 1995; Keck i in. 1980; Liarskii i in. 1983; CEFIC 1997b), ani nieplanowej syntezy DNA w hepatocytach szczura (CEFIC 1995).

Nadtlenek wodoru w warunkach in vitro wykazywał działanie genotoksyczne na komórkach ssaków (w tym ludzi), powodując: wzrost liczby aberracji chromosomowych i mutacji genowych, a także zmiany w strukturze chromosomów w teście wymiany chromatyd siostrzanych.

Tabela 12.

Zestawienie wyników badań mutagennego i genotoksycznego działania nadtlenku wodoru (H₂O₂)

Rodzaj testu	Układ badany	Dawka/stężenie H ₂ O ₂	Wyniki: aktywacja metaboliczna		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją	
Testy bakteryjne					
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA97 TA102 TA104 SB1111 SB1106 SB1106p	dawki: 1, 2 lub 4 µM/płytkę dawki: 0,3; 0,6 lub 1,2 µM/płytkę	* TA97 + TA102 + TA104 * SB1111 * SB1106 + SB1106p	NT	<i>Abu-Shakra, Zeiger 1990</i>
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA1535	stężenia: nieznanne	*	*	<i>De Flora i in. 1984</i>
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA92 TA97 TA100 TA102 TA104 TA1535 TA1537	dawki: 0; 0,15; 0,30; 0,60; 1,20 lub 2,40 µM/płytkę	- TA92 - TA97 - TA100 + TA102 + TA104 - TA1535 - TA1537	NT	<i>Glatt 1989</i>

cd. tab. 12.

Rodzaj testu	Układ badany	Dawka/stężenie H ₂ O ₂	Wyniki: aktywacja metaboliczna		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją	
Test Ames`a - preinkubacja	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA92 TA97 TA100 TA102 TA104 TA1535 TA1537	dawki: 0,2 mg/plytkę (maks.)	- TA92 - TA94 - TA98 + TA100 - TA1535 - TA1537	NT	Ishidate i in. 1984
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA97 TA98 TA100 TA102 TA1537 TA1538	stężenia: > 6 mM stężenia: > 340 µM stężenia: > 4,5 µM	+ TA97 + TA98 - TA100 + TA102 + TA1537 - TA1538	- TA97 - TA98 - TA100 - TA102 - TA1537 - TA1538	Kensese, Smith 1989
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98 TA100 TA1535 TA1537 TA1538	dawki (-S9): 0,0033 ÷ 0,67 mg/ plytkę (TA98, TA1535, TA1538), 0,001 ÷ 0,33 mg/ plytkę (TA100, TA1537) dawki (+S9): 0,010 ÷ 3,3 mg/ plytkę (wszystkie 5 TA szczepów)	- TA98 + TA100 - TA1535 - TA1537 - TA1538	- TA98 + TA100 - TA1535 - TA1537 - TA1538	Prival i in. 1991
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA100	dawki: 0,5; 1,0; 1,5; 3,0; 4,5 lub 7,5 µM/plytkę	*	NT	Winqvist i in. 1985
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA102 TA2638	dawka: 100 µM/plytkę	+TA102 +TA2638	NT	Levin i in. 1982
Test Ames`a	<i>Salmonella</i> Typhimurium: TA98 TA100	stężenia nieznanne, z lub bez Cu ²⁺ (10 ⁻⁵ M)	*TA98 *TA100	NT	Stich i in. 1978
Test Ames`a	<i>Escherichia coli</i> WP2 (uvrA)	dawki: 1,0 ÷ 3333,3 µg/ plytkę (-S9 & +S9)	-	-	SRI 1980
Mutacje powrotne	<i>Escherichia coli</i> WP2 uvrA (pKM101) WP2 (pKM101)	dawki: 0; 50; 75; 100; 150; 175; 200 lub 300 µg/plytkę	+	NT	Wilcox i in. 1990
Mutacje powrotne	<i>Escherichia coli</i> WP2	dawki (-S9): 0,033 ÷ 3,3 mg/ plytkę dawki (+S9): 0,0010 ÷ 30 mg/ plytkę	-	-	Prival i in. 1991
Mutacje postępowe	<i>Bacillus subtilis</i>	stężenia: 0,0005-; 0,001-; 0,002- lub 0,003-procentowy	+	NT	Sacks, MacGregor 1982

cd. tab. 12.

Rodzaj testu	Układ badany	Dawka/stężenie H ₂ O ₂	Wyniki: aktywacja metaboliczna		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją	
Mutacje genowe drożdży	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Ade2</i> (indukcja mutacji układu oddechowego)	stężenie: 2 mg/ml	+	NT	<i>Thacker, Parker</i> 1976
DNA uszkodzenie i naprawa	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA1535/pS K1002	stężenie: 45 µg/ml	+	NT	<i>Nakamura</i> i in. 1987
DNA uszkodzenie i naprawa (SOS chromotest)	<i>Escherichia coli</i> PQ37	stężenia: 0; 5; 10; 20; 50; 100; 200 lub 500 µM	+	NT	<i>Zhou</i> i in. 1991
DNA uszkodzenie i naprawa	<i>Escherichia coli</i> WP2 WP67 CM871	stężenia: brak danych	+WP2 +WP67 +CM871	+WP2 +WP67 +CM871	<i>De Flora</i> i in. 1984
DNA uszkodzenie i naprawa (SOS chromotest)	<i>Escherichia coli</i> PQ37	stężenia: 0; 0,1; 0,3 lub 1,0 mM	+	NT	<i>von der Hude</i> i in. 1988
Testy na hodowlach komórkowych w warunkach in vitro					
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki V-79 i CHO chomika chińskiego	stężenia: 0; 10; 20; 40; 60 lub 80 µM	+	NT	<i>Speit</i> i in. 1982
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki V-79 chomika chińskiego	stężenia: 10 ÷ 20 µM	+	NT	<i>Tachon</i> 1990
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki CHO chomika chińskiego	stężenia: 0,31 ÷ 130 µM (24 h narażenia) 5 ÷ 100 µM (3 h narażenia)	+	NT	<i>MacRae, Stich</i> 1979
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki CHO-AUXB1 chomika chińskiego	stężenia: 0; 40; 80; 120; 160; 200 lub 240 µM	+	NT	<i>Tucker</i> i in. 1989
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki V-79 chomika chińskiego	stężenie: 353 µM	+	NT	<i>Bradley</i> i in. 1979
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki CHO (Don-6) chomika chińskiego	stężenia: 0; 0,5; 1 lub 2 mM (0; 0,017; 0,034 lub 0,068 mg/ml)	+	NT	<i>Sasaki</i> i in. 1980
Aberracje chromosomowe	komórki macierzyste CHL (R-8) chomika chińskiego	stężenia: 56 µg/ml (R-8), 6 µg/ml (macierzyste)	+	NT	<i>Sawada</i> i in. 1988
Aberracje chromosomowe	komórki CHO chomika chińskiego	stężenia: nie podano	+	NT	<i>Stich</i> i in. 1978
Aberracje chromosomowe	komórki CHO chomika chińskiego	stężenia: bez S9: 25, 31; 33, 75 lub 45,00 nl/ml z S9: 10, 50 lub 100 µl/ml	+	+	<i>Procter, Gamble</i> 1985
Aberracje chromosomowe	fibroblasty chomika chińskiego	stężenia: 0,25 mg/ml	+	NT	<i>Ishidate</i> i in. 1984
Tworzenie mikrojąder	komórki V-79 chomika chińskiego	stężenia: 10 ÷ 20 µM	+	NT	<i>Tachon</i> 1990

cd. tab. 12.

Rodzaj testu	Układ badany	Dawka/stężenie H ₂ O ₂	Wyniki: aktywacja metaboliczna		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją	
Aberracje chromosomowe	D98/AH2 komórki ludzkie (wariant HeLa)	0 ÷ 3 µg/ml	- (H ₂ O ₂ tylko) + (H ₂ O ₂ generowany jako fotoprodukt)	NT	<i>Estervig, Wang 1984</i>
Aberracje chromosomowe	fibroblasty embrionów ludzkich	stężenia: 10 ÷ 1000 µM	+	NT	<i>Oya i in. 1986</i>
Testy in vivo					
Test mikrojądrowy	erythrocyty polichromatyczne szpiku kostnego myszy C57BL/6NCr1BR		- P/N stosunek niezmieniony	droga pokarmowa	<i>Du Pont 1995</i>
Test mikrojądrowy	erythrocyty polichromatyczne szpiku kostnego myszy Swiss HIM/OF ₁	dawki: 0,003; 0,3; lub 3,0% H ₂ O ₂ w mleku przez 32 h (również w wodzie, procent nie podano)	-	droga pokarmowa, raport niekompletny	<i>Keck i in. 1980</i>
Test mikrojądrowy	erythrocyty polichromatyczne szpiku kostnego myszy (szczep nieznany)	jednorazowa, dootrzewnowa iniekcja: ½; 1/5; 1/25 lub 1/100 LD ₅₀ dawki	-	nie podano	<i>Liarskii i in. 1983</i>
Test mikrojądrowy	erythrocyty polichromatyczne szpiku kostnego myszy Swiss OF1/ICO:OF1 (IOPS Caw)	dawki: 0; 250; 500 lub 1000 mg/kg <i>i.p.</i> (25 ml/kg: 0-; 1-; 2- lub 4-procentowy odpowiednio); czas pobierania próbek 24 lub 48 h	- P/N był niższy 24 h, i 48 h po 250 i 1000 mg/kg	jednorazowa iniekcja dootrzewnowa	CEFIC 1995
Nieplanowa synteza DNA	in vivo – in vitro hepatocyty szczura Wistar, samce	dawki: 0; 25 lub 50 mg/kg dożylnie 0-; 0,1- lub 0,2-procentowy roztwór wody, 0,2 ml/min w czasie około 30 min (= MTD)	-	narażenie do 30 min	CEFIC 1997
Test Drosophila SLRL	<i>Drosophila melanogaster</i>	jednorazowa dawka 3-procentowego H ₂ O ₂ iniekcje do larw samców	-		<i>Di Paolo 1952</i>

Objaśnienia:

+ wynik pozytywny; - wynik negatywny; * wynik niejednoznaczny; NT nie testowano.

Działanie rakotwórcze

Na podstawie wyników badań rakotwórczości nadtlenu wodoru (H₂O₂) podanego z wodą do picia myszom z deficytem katalazy wykazano, zależne od wielkości dawki, powstawanie raków dwunastnicy (mała częstość występowania) oraz zmian typu rozrostowego błony śluzowej dwunastnicy (duża częstość występowania), (*Ito i in. 1981a; 1981b*). Zmiany typu rozrostowego miały

tendencję zanikową i zanikały po zaprzestaniu narażenia. Stosowanie nadtlenu wodoru o najmniejszym zastosowanym stężeniu w wodzie pitnej powodowało powstanie nowotworów.

U szczurów pojonych wodą zawierającą 1-procentowy nadtlenek wodoru przez 32 tygodnie stwierdzono brodawczaki płaskonabłonkowe przedżołądka (*Takahashi i in. 1986*).

W podobnych badaniach u szczurów szczepu F344 (50 sztuk zwierząt) pojonych 0,6-procent-

towym lub 0,3-procentowym nadtlenkiem wodoru przez 18 miesięcy nie stwierdzono nowotworów żołądkowo-jelitowych. Dzienna dawka nadtlenku wodoru dla samców szczura wynosiła 433 mg/kg (0,6-procentowy H₂O₂) i 195 mg/kg (0,3-procentowy H₂O₂), a dla samic odpowiednio: 677 i 306 mg/kg (*Takayama* 1980 – niepublikowane badania).

Kolejne badania przeprowadzono na czterech szczepach myszy różniących się aktywnością katalazy w: błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy oraz we krwi i w wątrobie. U zwierząt szczepu C3H występowała duża aktywność katalazy, a u szczepu C57BL – mała. Samce i samice pocono przez 6 ÷ 7 miesięcy wodą zawierającą 0,4-procentowy nadtlenek wodoru. Po siedmiu miesiącach u zabitych zwierząt stwierdzono ogniska rozrostowe o charakterze: zmian rozrostowych, gruczolaków i raków. Nowotwory dwunastnicy (zmiany rozrostowe czy neoplazja) oraz średnia liczba nowotworów przypadających na mysz wynosiły 11,1 i 0,11% u myszy szczepu C3H; 31,8 i 0,36% u myszy szczepu B6C3F1; 100 i 3,91% u myszy szczepu C57BL; 91,7 i 2,63% u myszy szczepu C3H/Cs. Wyniki badań potwierdziły ujemną korelację między przypadkami nowotworów dwunastnicy a aktywnością katalazy w błonie śluzowej. Większa częstotliwość występowania nowotworów dwunastnicy była związana z mniejszą aktywnością katalazy (*Ito* i in. 1984).

W celu określenia zróżnicowanej wrażliwości gatunkowej na nadtlenek wodoru, myszy trzech różnych szczepów: C57BL/6N, DBA/2N, BALB/cAnN (obojska płci) pocono wodą zawierającą: 0-, 0,1- lub 0,4-procentowy nadtlenek wodoru przez około 740 dni (*Ito* i in. 1982).

U myszy szczepu C57BL pojonych przez 60 dni występowały uszkodzenia przedżołądka (> 67%) i uszkodzenia dwunastnicy (> 80%). Po zaprzestaniu narażenia uszkodzenia się cofały. Wśród myszy otrzymujących 0,4- lub 0,1-procentowy nadtlenek wodoru od 420 dni do 740 dni stwierdzono odpowiednio 5 i 1% przypadków raka dwunastnicy. W równoległych grupach kontrolnych nie notowano tego typu raka. Najwięcej przypadków raka o charakterze gruczolaka lub raka występowało w żołądku (12/34) i dwunastnicy (22/34) myszy szczepu C57BL, które okazały się być bardziej wrażliwe na działanie rakotwórcze nadtlenku wodoru niż pozostałe szczepy. U pozostałych szczepów myszy DBA/2N, BALB/cAnN

wartości te wynosiły odpowiednio: w żołądku (2/22; 1/39) i w dwunastnicy (14/22; 7/39).

W trzech modelach doświadczalnych badano kancerogenne działanie nadtlenku wodoru na skórę myszy. W badaniach tych związek był stosowany jako: promotor, induktor lub kompletny kancerogen.

W pierwszym modelu doświadczalnym myszom, samicom (30 sztuk) szczepu ICR Swiss naniesiono jednorazowo na skórę 125 µg 9,10-dimetylo-1,2-benz[*a*]antracenu (DMBA), (inicjator) o objętości 0,25 ml acetonu. Po trzech tygodniach aplikowano na skórę tych myszy 3-procentowy nadtlenek wodoru o objętości 0,2 ml, pięć dni w tygodniu przez pięćdziesiąt sześć tygodni. U żadnego zwierzęcia nie stwierdzono nowotworów skóry po zakończeniu doświadczenia (*Bock* i in. 1975).

W drugim modelu doświadczalnym myszom Sencar (samicom 60 sztuk) nakładano na skórę w okolicy grzbietu:

- jednorazowo DMBA (inicjator) w 0,2 ml 10 nmol roztworu acetonu i następnie po tygodniu rozcieńczony w acetonie 30-procentowy nadtlenek wodoru (jako promotor) o objętości 1: 1 raz w tygodniu, o objętości: 1: 1, 1: 2 i 1: 5, dwa razy w tygodniu przez dwadzieścia sześć tygodni. Zwierzętom z grupy kontrolnej aplikowano na skórę sam aceton. Po dwudziestu pięciu tygodniach stwierdzono brodawczaki skóry odpowiednio u: 0/60 (grupa kontrolna), 3/58, 5/59, 6/59 i 6/60 myszy
- jednorazowo 30-procentowy nadtlenek wodoru (jako inicjator) rozcieńczony w ilości 1:1 w 0,2 ml acetonu lub sam aceton (grupa kontrolna) i następnie po tygodniu 2 µg 13-octan 12-*o*-tetradekanolforbolu (TPAO) jako promotor dwa razy w tygodniu przez dwadzieścia pięć tygodni. Brodawczaki skóry stwierdzono u 3/58 myszy z grupy kontrolnej oraz u 6/58 myszy narażanych wstępnie na nadtlenek wodoru
- 30-procentowy nadtlenek wodoru rozcieńczony w ilości 1:1 w 0,2 ml acetonu, dwa razy w tygodniu przez okres pięćdziesięciu tygodni. Po pięćdziesięciu tygodniach obserwacji nie wykryto raków w skórze zwierząt narażanych.

Nadtlenek wodoru był nieefektywny jako inicjator czy kompletny kancerogen. Według autorów

badan wykazywał słabe działanie promotora (*Klein-Szanto, Slaga* 1982).

W trzecim modelu doświadczalnym myszom szczepu Sencar (samicom 20 sztuk) naniesiono na skórę w okolicy grzbietu DMBA, a następnie 0,2 ml 5-procentowego nadtlenu wodoru w acetonie dwa razy w tygodniu albo 0,2 ml 5-procentowego nadtlenu wodoru w acetonie dwa razy w tygodniu przez pięćdziesiąt jeden tygodni. W badaniach tych nadtlenek wodoru nie wykazywał aktywności promotora ani kompletnego kancerogena. Zmiany rozrostowe naskórka wystąpiły u 45% myszy w teście z użyciem promotora, natomiast w teście z kompletnym kancerogenem tylko u 5% myszy (*Kurokawa* i in. 1984).

W Raporcie Risk Assessment (RAR) stwierdzono, że istniejące dane w piśmiennictwie są niewystarczające do uznania nadtlenu wodoru za kancerogen (Final RAR 2001).

Organizacje międzynarodowe klasyfikują nadtlenek wodoru pod względem działania rakotwórczego w następujący sposób:

- ACGIH (Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych) zaliczyła w Stanach Zjednoczonych nadtlenek wodoru do grupy A3., czyli czynników o potwierdzonym działaniu rakotwórczym na zwierzęta i nieznanym działaniu na ludzi
- UE nie klasyfikuje nadtlenu wodoru pod względem działania rakotwórczego
- w Niemczech zaliczono nadtlenek wodoru do grupy 4., czyli substancji o potencjalnych właściwościach rakotwórczych, w przypadku których genotoksyczność nie odgrywa żadnej lub odgrywa marginalną rolę. Nie oczekuje się w ich przypadku znacznego wpływu na ryzyko wystąpienia raka u człowieka przy przestrzeganiu ustalonej wartości MAK. Klasyfikacja opiera się głównie na dowodach potwierdzających, że wzrost proliferacji komórek i zmiany w sposobie ich różnicowania mają istotny związek z mechanizmami działania substancji. W celu scharakteryzowania ryzyka wystąpienia raka, rozważa się różnorodne mechanizmy prowadzące do procesu kancerogenezy i charakterystyczne zależności dawka-czas-odpowiedź
- IARC (Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem) zaliczyła nadtlenek wodoru do grupy 3., czyli do związków nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi,

uznając za niewystarczające dowody działania rakotwórczego tego związku na zwierzęta doświadczalne.

Działanie embriotoksyczne, teratogenne, wpływ na rozrodczość

W dostępnym piśmiennictwie nie podano informacji o badaniach dotyczących działania embriotoksycznego oraz wpływu na rozrodczość nadtlenu wodoru (H_2O_2) u ludzi.

Opis badań dotyczących toksyczności rozwojowej i wpływu na rozrodczość nadtlenu wodoru u zwierząt doświadczalnych jest niekompletny. Wyniki z dwóch badań przeprowadzonych na myszach i szczurach narażanych na nadtlenek wodoru podawany w wodzie do picia sugerują brak istotnych zaburzeń funkcji rozrodczych, zarówno u samic, jak i samców (*Wales* i in. 1959; *Hankin* 1958). Na podstawie wyników badań 90-dniowych, w których nadtlenek wodoru podawano z wodą do picia myszom z deficytem katalazy (FMC 1997) oraz wyników badań rakotwórczości przeprowadzonych także u myszy z deficytem katalazy (*Ito* i in. 1981a; 1981b) oraz szczurów F344 (*Takayama* 1980) nie wykazano aby jądra i jajniki były narządami docelowego działania nadtlenu wodoru.

Moriyama i in. (1982) nie zaobserwowali toksycznego działania nadtlenu wodoru podawanego z paszą szczurom Wistar. Opis tych badań zawierał jednak wiele wątpliwości, m.in. nie podano, czy związek nie był rozłożony w momencie spożycia, dlatego wyniki tych badań nie zostały uwzględnione w ocenie wpływu nadtlenu wodoru na rozrodczość.

Samcom i samicom szczura podawano sondą do żołądka nadtlenek wodoru w dawkach $1/10 \div 1/5 LD_{50}$ codziennie przez czterdzieści pięć dni. Największa dawka nadtlenu wodoru u samic zaburzała przebieg cyklu rujowego (miesiączkowego), a u samców redukowała ruchliwość plemników, niewpływając na masę jąder. W innym doświadczeniu samce i samice szczura otrzymywały sondą do żołądka codziennie dawki: 0,005; 0,05; 0,5; 5 lub 50 mg/kg m.c. nadtlenu wodoru przez sześć miesięcy, a następnie były kojarzone. Samice obserwowano w różnych fazach rui (cyklu) podczas narażania na dawkę 50 lub 0,5 mg/kg, ale nie w przypadku dawki 5 mg/kg. Zmniejszoną ruchliwość plemników obserwowano u samców po dawce 50 mg/kg nadtlenu wodoru. Nie

stwierdzono zmian w morfologii i masie jąder. Wielkość miotu samic narażanych na największą dawkę nadtlenu wodoru była zmniejszona; 3/9 w porównaniu do miotu samic z grupy kontrolnej (7/9). Wielkość potomstwa i przyrost ich masy

ciała były zmniejszone w stosunku do potomstwa samic z grupy kontrolnej (Antonova i in. 1974). Raport z tych badań nie może być oceniany ze względu na niekompletność danych.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Nadtlenek wodoru (H_2O_2) wchłania się do organizmu drogą: oddechową, przez skórę i po spożyciu (RAR 2010). W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych ilościowych na temat wchłaniania i rozmieszczenia nadtlenu wodoru, ponieważ związek ten zanim ulegnie wchłonięciu w jelitach ulega rozkładowi przez katalazę, a uwalniający się tlen powoduje rozerwanie jelit. Po wchłonięciu nadtlenu wodoru do układu naczyniowego powstawały zatory powietrzne.

Wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach i skrawkach ludzkiej skóry świadczą o szybkim przenikaniu nadtlenu wodoru przez skórę i błony śluzowe (Hrubetz i in. 1951; Ludewig 1964).

Metabolizm i wydalanie

Nadtlenek wodoru (H_2O_2) jest normalnym metabolitem komórek powstającym w wyniku procesów katalityczno-oksydacyjnych przebiegających przy udziale: oksydazy moczanowej, oksydazy D-amino kwasów, oksydazy glicerolowej, dehydrogenazy CoA kwasów tłuszczowych (Boveris 1977). Nadtlenek wodoru może się również wytwarzać pod wpływem takich czynników egzogennych, jak: promieniowanie jonizujące, peroksydacja lipidów czy rozkład nadtlenu. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących metabolizmu egzogenego nadtlenu

ku wodoru, dlatego zamieszczone informacje dotyczą losów endogenego nadtlenu.

W procesie metabolizmu nadtlenu wodoru biorą udział głównie dwa enzymy: katalaza i peroksydaza glutationowa. Katalaza uczestniczy w procesie rozkładu dużych ilości nadtlenu wodoru i może powstawać w peroksysomach, natomiast peroksydaza glutationowa metabolizuje związek zarówno w cytosolu, jak i w mitochondriach (Chance i in. 1979). Aktywność katalazy wzrasta ze wzrostem stężenia nadtlenu wodoru (Makino i in. 1994). Aktywność tych enzymów jest zróżnicowana w zależności od narządu, w którym występują. W mózgu, płucach i sercu aktywność katalazy jest mała. Duża aktywność peroksydazy glutationowej znajduje się w mięśniach (Chance i in. 1979). Na podstawie pomiaru aktywności enzymów w układzie żołądkowo-jelitowym wykazano, że największa aktywność peroksydazy glutationowej występuje w żołądku, a aktywność katalazy jest podobna w pozostałych odcinkach układu pokarmowego. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych zależy również od gatunku zwierzęcia. Pomiar aktywności enzymów w homogenatach płuc szczura, chomika, małp i ludzi wykazał, że aktywność peroksydazy glutationowej jest większa w płucach szczura w porównaniu do aktywności tego enzymu w płucach małp i chomika. Aktywność katalazy była zróżnicowana – 10-krotnie większa u małp niż u szczurów. U chomików aktywność enzymów antyoksydacyjnych była podobna do aktywności enzymów u ludzi (Bryan, Jenkinson 1987).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Nadtlenek wodoru (H_2O_2) po wchłonięciu do organizmu ulega natychmiastowemu rozkładowi pod wpływem katalazy występującej we krwi i w większości tkanek oraz pod wpływem peroksydazy glutationowej. Mechanizm działania toksycz-

nego nadtlenu wodoru – reaktywnej formy tlenu, który może przechodzić przez błony cytoplazmatyczne, sprowadza się do inicjowania procesu peroksydacji lipidów. Peroksydacja lipidów błonowych prowadzi do utraty płynności błony ko-

mórkowej (Zabłocka, Janusz 2008; Piotrowski i in. 1998). Toksyczne produkty reakcji utleniania lipidów działają cytostatycznie na komórkę, uszkadzają błony komórkowe, prowadząc w konsekwencji komórkę do śmierci na drodze apoptozy lub martwicy. Stan równowagi komórek utrzymuje się przez enzymy antyoksydacyjne, np. katalazę.

Peroksydację lipidów wywołaną nadtlenkiem wodoru wykazano w: mikrosomach wątroby (Ursini i in. 1981), erytrocytach (Clements i in. 1986) oraz w rogówce i tęczówce królika (Artola i in. 1993a; 1993b). Proces peroksydacji lipidów erytrocytów jest katalizowany przez jony miedzi Cu^{2+} (Chen i in. 1982).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie opisano badań dotyczących działania łącznego nadtlenu wodo-

ru (H_2O_2) z innymi związkami chemicznymi.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależności skutków toksycznych obserwowanych u narażanych zwierząt od wielkości narażenia na

nadtlenek wodoru (H_2O_2) zamieszczono w tabeli 11., a u narażanych zawodowo ludzi w tabeli 13.

Tabela 13.

Skutki narażenia zawodowego na nadtlenek wodoru (H_2O_2)

Typ badań	Badana populacja	Narażenie	Obserwowany skutek, uwagi	Piśmiennictwo
Opis przypadku	operator maszyny pakującej mleko	3 lata, 2 dni/tydzień, a ostatnie 6 miesięcy codziennie) narażenie na 12 mg H_2O_2/m^3 , a krótkotrwałe nażarczenie na 41 mg H_2O_2/m^3	podrażnienie oczu i przelyku, zaburzenia funkcji płuc oraz odbarwienie włosów; postępująca duszność, zmiany guzkowate w płucach; objawy minęły po 1,5 miesiąca od przerwania narażenia; pracownik wypalał 2 paczki papierosów dziennie przez 25 lat	Kaelin i in. (1988)
Testy czynnościowe płuc	wszyscy zatrudnieni przy produkcji H_2O_2 od 2 do 3 lat	narażenie na H_2O_2 od stężeń niewykrywalnych do 0,83 mg H_2O_2/m^3 (0,6 ppm) LOAEL: 0,83 mg/ m^3	przeprowadzone wielokrotnie testy oceniające stan czynnościowy płuc osób pracujących w narażeniu na H_2O_2 nie wykazały żadnych zaburzeń kojarzonych z narażeniem zawodowym; w raporcie z tego zakładu opisano u narażonych: odbarwienie włosów, wydzielinę z nosa, podrażnienie oczu i błony śluzowej dróg oddechowych	CEFIC 1996
Nadzór zdrowotny	110 osób zatrudnionych przy produkcji H_2O_2 , w tym ponad 80 osób powyżej 10 lat	średnie poziomy narażenie poniżej 1,4 mg H_2O_2/m^3 , a krótkotrwałe do 5 mg H_2O_2/m^3 , w przypadku awarii wynosiły do 10 mg H_2O_2/m^3	nie stwierdzono wpływu narażenia na stan czynnościowy płuc, sporadycznie obserwowano podrażnienie skóry i bielactwo w następstwie przypadkowego (podczas awarii) narażenia na H_2O_2 w dwóch zakładach; w raporcie z jednego zakładu opisano u narażonych odbarwienie włosów oraz 1 przypadek ostrego podrażnienia przelyku	Degussa-Hüls 1999

cd. tab. 13.

Typ badań	Badana populacja	Narażenie	Obserwowany skutek, uwagi	Piśmiennictwo
Nadzór zdrowotny	niewielka grupa pracowników narażanych na H ₂ O ₂ podczas pakowania soków owocowych	zatrudnieni pracowali poniżej 3 lat; maks. stężenia wynosiły 11 mg H ₂ O ₂ /m ³ , a 8 h 2 ÷ 3 mg H ₂ O ₂ /m ³	działanie drażniące na oczy, drogi oddechowe i skórę, bóle głowy, tymczasowy zanik powonienia, odbarwienie włosów; w kontakcie ze skórą powstawały oparzenia i odczucie klucia w palcach dłoni, wysuszenie skóry dłoni i twarzy, zmniejszenie elastyczności skóry i suchość skóry; stopniowemu zmniejszaniu stężeń towarzyszyło zmniejszenie objawów narażenia	Riihimäki i in. 2002
Testy czynnościowe płuc	43 osoby zatrudnione w narażeniu na H ₂ O ₂ podczas produkcji napojów, 31 osób z grupy kontrolnej	średnie stężenia wynosiły 0,15 ÷ 0,48 mg H ₂ O ₂ /m ³ lub 0,1 ÷ 1,0 mg H ₂ O ₂ /m ³ , a (pomiaru stacjonarne 1997-2001)	FVC wzrost, FEV ₁ niezmienny i FEV ₁ /FVC zmniejszony wraz ze wzrostem narażenia; FVC i FEV ₁ zmniejszony i FEV ₁ /FVC niezmienny przez cały czas u osób narażanych; FEV ₁ istotnie mniejszy u palaczy niż u osób niepalących	Mastrangelo i in. 2005
Wywiad kwestionariuszowy	63 osoby zatrudnione w narażeniu na H ₂ O ₂ podczas produkcji napojów, 69 osób z grupy kontrolnej	sterylne pomieszczenia: geometryczne średnie 0,82 mg/m ³ (0,6 ppm), powyżej 95-procentowy CI limit 2,3 (1,8 ppm) (indywidualne próby, 30-min TWA); butelkowanie: geometryczne średnie 0,13 mg/m ³ (0,1 ppm), powyżej 95-procentowy CI limit 0,6 (0,5 ppm), (stacjonarne próby, 5,5-h TWA) LOAEL: 0,83mg/m ³	istotne objawy działania drażniącego (podrażnienie oczu, nosa i gardła) ($p < 0,001$) wśród narażonych pracowników; ostre objawy skorelowane z liczbą wejść do sterylnych pomieszczeń; nie stwierdzono istotnych różnic w objawach między osobami z grupy kontrolnej i pracownikami narażonymi podczas czynności butelkowania napojów	Mastrangelo i in. 2009

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

Istniejące wartości NDS i DSB

Zestawienie istniejących wartości normatywów higienicznych nadtlenu wodoru (H₂O₂) w poszczególnych państwach przedstawiono w tabeli 14. Wartości te ustalono na podobnym poziomie i wynoszą 1,4 mg/m³ (1,0 ppm). W Polsce obowiązująca wartość NDS tego związku wynosi 1,5 mg/m³, a wartość NDSch – 4 mg/m³.

Eksperti Amerykańskiej Konferencji Rządowych Higienistów Przemysłowych (ACGIH 2001) zalecili wartość TLV-TWA nadtlenu wodoru równą 1,4 mg/m³ (1,0 ppm). Wartość ta (zalecana od 1956 r.) została ustalona na podstawie działania drażniącego nadtlenu wodoru na: skórę, oczy i błony śluzowe górnych i dolnych dróg oddechowych. U psów narażanych na 90-procentowy nad-

tlenu wodoru o stężeniu 10 mg/m³ (7,0 ppm) obserwowano: podrażnienie skóry, oczu oraz błon śluzowych górnych i dolnych dróg oddechowych. Zdaniem ekspertów amerykańskich nadtlenu wodoru o stężeniu 1,4 mg/m³ powinien zabezpieczyć pracowników przed skutkami działania drażniącego na oczy, skórę i błonę śluzową dróg oddechowych.

Dla nadtlenu wodoru w SCOEL w 2009 r. zaproponowano wartość OEL 1 ppm (1,4 mg/m³) oraz wartość STEL 2 ppm (2,8 mg/m³). W odpowiedzi na uwagi zgłaszane do propozycji SCOEL dla nadtlenu wodoru przez państwa członkowskie SCOEL w 2011 r. zmniejszono wartość OEL z 1 ppm (1,4 mg/m³) do 0,2 ppm (0,28 mg/m³) oraz wartość STEL z 2 ppm (2,8 mg/m³) do 0,5 ppm (0,7 mg/m³), (SCOEL/SUM/134/2010).

Eksperti SCOEL propozycję OEL ustalili na podstawie wyników badań osób narażanych zawodowo na nadtlenek wodoru. Narażenie na pary nadtlenu wodoru u osób narażanych powodowało podrażnienie błony: śluzowej nosa, oczu i dróg oddechowych. Wyniki tych badań (tab. 13.) przedstawiono w: raporcie CEFIC (1996), pracy Degussa-Hüls (1999) oraz pracach *Mastrangelo* i in. (2005; 2009).

Zgodnie z raportem CEFIC (1996) opisanym w EU-RAR (2003), badanie funkcji płuc pracowników zatrudnionych w narażeniu na nadtlenek wodoru w ciągu 3 ÷ 5 lat nie ujawniło ewidentnych odwracalnych skutków przypisanych zawodowemu narażeniu. Oznaczone stężenia nadtlenu wodoru wynosiły od niewykrywalnych do 0,83 mg/m³ (0,6 ppm). W dwóch zakładach pracy nie stwierdzono wpływu nadtlenu wodoru o stężeniach poniżej 1,53 mg/m³ (1,1 ppm) na czynność płuc (Degussa-Hüls 1999). Nie stwierdzono zaburzenia czynności płuc u pracowników zakładów produkujących napoje, w którym średnie stężenia nadtlenu wodoru wynosiły między 0,14 a 0,56 mg/m³ (0,1 ÷ 0,4 ppm), (*Mastrangelo*

i in. 2005). Wyniki późniejszych badań przeprowadzonych w tym samym zakładzie pracy ujawniły istotne statystycznie ($p < 0,001$) ostre objawy działania drażniącego skorelowane z liczbą wejść do pomieszczenia sterylnego, gdzie średnie wartości stężeń nadtlenu wodoru wynosiły 0,83 mg/m³ (0,6 ppm). W zamkniętym pomieszczeniu, gdzie przebiegało butelkowanie napojów, średnie stężenia nadtlenu wodoru wynosiły 0,14 mg/m³ (0,1 ppm), (*Mastrangelo* i in. 2009).

Wyniki tych czterech opisanych wcześniej badań wskazują, że wartość NOAEL mieści się w przedziale od 0,1 do 0,6 ppm. W SCOEL zaproponowano przyjęcie wartości OEL nadtlenu wodoru na poziomie 0,28 mg/m³ (0,2 ppm), a wartości STEL – 0,69 mg/m³ (0,5 ppm). Za podstawę wartości OEL przyjęto działanie drażniące nadtlenu wodoru o stężeniu 0,83 mg/m³. Zaproponowane wartości są uzupełnione wartością NOAEL – 3,06 mg/m³ dla działania drażniącego wyznaczoną w 28-dniowym badaniu inhalacyjnym przeprowadzonym na szczurach (dane niepublikowane, cytowane przez CEFIC 1996).

Tabela 14.

Wartości normatywów higienicznych nadtlenu wodoru (H₂O₂) zamieszczone w światowych wykazach normatywów higienicznych (ACGIH 2010; GESTIS... 2009; DFG 2010)

Państwo/organizacja/rok wydania	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSCh, mg/m ³
Austria (2006)	1,4	2,8
Belgia (2002)	1,4	–
Dania (2007)	1,4	2,8
Finlandia (2009)	1,4	4,2
Francja (2007)	1,5	–
Niemcy (2011)	0,71	I (1)
Polska (2002)	1,5	4,0
Szwajcaria (2009)	0,71	0,71
Szwecja (2005)	1,4	(3) wartość pułapowa
Wielka Brytania (2007)	1,4	2,8
USA:		
– NIOSH, OSHA	1,4	–
– ACGIH (2001)	1,4 TLV-A3	–
UE SCOEL/SUM/134, 2010	0,28	0,7
Wartości proponowane		

Objaśnienia:

I (1) – substancje o działaniu miejscowym drażniącym i/lub uczulającym na układ oddechowy; dopuszczalna jest jednokrotna wartość MAK przez 15 min 4 razy w ciągu dnia przy 1-godzinnych odstępach czasowych.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Za skutek krytyczny działania nadtlenu wodoru (H₂O₂) przyjęto jego miejscowe działanie drażniące na: skórę, drogi oddechowe i oczy. Związek nie wykazuje działania układowego, ponieważ

ulega szybkiemu rozkładowi przez katalazę zawartą: we krwi, błonach śluzowych i w większości tkanek.

Na podstawie wyników badań pochodzących z narażenia zawodowego wartość NOAEL dla objawów zaburzenia czynności płuc spowodowa-

nych narażeniem na nadtlenek wodoru mieści się w przedziale $0,14 \div 0,83 \text{ mg/m}^3$ ($0,1 \div 0,6 \text{ ppm}$). Skutki działania drażniącego nadtlenku u ludzi obserwowano już wówczas, gdy stężenie związku wynosiło $0,83 \text{ mg/m}^3$ ($0,6 \text{ ppm}$), (CEFIC 1996; *Mastrangelo* i in. 2009), (tab. 14.). Stężenie to przyjęto za wartość LOAEL i wyliczono z niej wartość NDS nadtlenku wodoru na podstawie wzoru:

$$\text{NDS} = \text{LOAEL}/Uf,$$

w którym:

Uf jest iloczynem następujących współczynników niepewności:

A = 1, związany z różnicami wrażliwości osobniczej ludzi (w przypadku reakcji ludzi na nadtlenek wodoru nie ma różnic we wrażliwości osobniczej, związek podlega szybkiemu rozkładowi przy udziale katalazy obecnej w wielu tkankach organizmu),

B = 1, związany z różnicami międzygatunkowymi,

C = 1, narażenie przewlekłe,

D = 2, zastosowanie wartości LOAEL zamiast wartości NOAEL,

E = 1, współczynnik modyfikacyjny.

Podstawiając wartości współczynników do wzoru, otrzymujemy:

$$\text{NDS} = 0,83 \text{ mg/m}^3 / 2 = 0,4 \text{ mg/m}^3.$$

Na podstawie przeprowadzonych wyliczeń zaproponowano przyjęcie wartości NDS nadtlenku wodoru na poziomie $0,4 \text{ mg/m}^3$. Zaproponowana wartość jest mniejsza od dotychczas obowiązującej w Polsce wartości NDS tego związku, która wynosi $1,5 \text{ mg/m}^3$, a wartość NDSCh – 4 mg/m^3 . Ze względu na działanie drażniące nadtlenku wodoru zaproponowano także ustalenie wartości NDSCh na poziomie $0,8 \text{ mg/m}^3$ oraz oznakowanie substancji literą „C” – substancja żrąca. Nadtlenek wodoru o stężeniu $0,4 \text{ mg/m}^3$ powinien zabezpieczyć pracowników przed skutkami jego działania drażniącego na: oczy, skórę i błonę śluzową dróg oddechowych.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na spojówkę, skórę, górne drogi oddechowe.

Zakres badań okresowych

Ogólne badania lekarskie ze zwróceniem uwagi na spojówkę, skórę i górne drogi oddechowe.

Częstotliwość badań okresowych

Jeżeli wartości NDS nadtlenku wodoru na stanowisku pracy utrzymują się w granicach normatywu higienicznego, to lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną nad pracownikiem ustala częstotliwość badań okresowych według własnego uznania.

Przy przekroczeniach wartości NDS nadtlenku wodoru na stanowisku pracy badania okresowe przeprowadza się co trzy lata lub częściej w zależności od wskazań lekarskich.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: spojówkę, skórę i górne drogi oddechowe.

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 pracownika lub osoby przyjmowanej do pracy.

Narządy (układy) krytyczne

Skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Stany zapalne spojówek znacznego stopnia, stany zapalne skóry oraz zanikowe i przerostowe nieżyty górnych dróg oddechowych.

U w a g a

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

PIŚMIENNICTWO

- Abu-Shakra A., Zeiger E.* (1990) Effects of Salmonella genotypes and testing protocols on H₂O₂ – induced mutation. *Mutagenesis* 5, 469–473.
- ACGIH (2001) Documentation of the threshold limit values for chemical substances and biological exposure indices. Hydrogen peroxide. Cincinnati.
- Antonova V.I., Salmina Z.A., Latkina L.L., Bukina A.P., Mishina N.E.* (1974) Argumentation hygienique de la concentration limite admissible en peroxyde dehydrogene dans les reservoirs d'eau [Russian, French translation]. *Gig. i Sanit.* 10, 20–22.
- Aoki M., Tani Y.* (1972) Growth and histopathological changes in mice fed with hydrogen peroxide solution instead of water. [Japanese, English translation]. *Icaku to Seibutsugaku (Medicine and Biology)* 84, 159–162.
- Artola A., Alió J.L., Bellot J.L., Ruiz J.M.* (1993a) Lipid Peroxidation in the Iris and Its Protection by Means of Viscoelastic Substances (Sodium Hyaluronate and Hydroxypropylmethylcellulose). *Ophthalmic Res.* 25, 172–176.
- Artola A., Alió J.L., Bellot J.L., Ruiz J.M.* (1993b) Protective Properties of Viscoelastic Substances (Sodium Hyaluronate and 2% Hydroxymethylcellulose) Against Experimental Free Radical Damage to the Corneal Endothelium. *Cornea* 12, 109–114.
- Bartosz W.G.* (2008) *Nadtlenek wodoru. Druga twarz tlenu.* Wyd. 2. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN 28, 46.
- Bassan M. M., Dudai M., Shalev O.* (1982) Near-fatal systemic oxygen embolism due to wound irrigation with hydrogen peroxide. *Postgrad. Med. J.* 58, 448–450.
- Bock F.G., Myers H.K., Fox H.W.* (1975) Cocarcinogenic activity of peroxy compounds. *J. Natl Cancer Inst.* 55, 1359–1361.
- Boveris A.* (1977) Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. [W:] M. Reivich, R. Coburn, S. Lahiri, B. Chance: Tissue hyperoxia and ischemia. New York, Plenum 67–82.
- Bradley M.O., Hsu I.C., Harris C.C.* (1979) Relationships between sister chromatid exchange and mutagenicity, toxicity and DNA damage. *Nature* 282, 318–320.
- Bryan C.L., Jenkinson S.G.* (1987) Species variation in lung antioxidant enzyme activities. *J. Appl. Physiol.* 63, 597–602.
- Cattley R.C., Smith-Oliver T.* (1988) Failure of the peroxisome proliferator WY-14,643 to induce unscheduled DNA synthesis in rat hepatocytes following in vivo treatment. *Carcinogenesis* 9, 1179–1183.
- Chen P.C., Peller O.G., Kesner R.* (1982) Copper (II) – catalysed lipid peroxidation in liposomes and erythrocyte membranes. *Lipids* 17, 331–337.
- Chance B., Sies H., Boveris A.* (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews* 59, 527–605.
- Cina S.J., Downs J.C.U., Conradi S.E.* (1994) Hydrogen peroxide: a source of lethal oxygen embolism. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 15, 44–50.
- CEFIC J.C. (1995) Hydrogen peroxide consumption. [W:] ECETOC (1996).
- CEFIC Peroxygen Sector Group (1997a) Hydrogen peroxide: determination of toxic effects following intravenous dosing of the rat. Covance Laboratories Limited Report nr 514/23-1052. Covance Laboratories Limited, Bruxelles.
- CEFIC Peroxygen Sector Group (1997b) Hydrogen peroxide: measurement of unscheduled DNA synthesis in rat liver using in vitro and in vivo/in vitro procedures. Final report nr 514/24-1052. Covance Laboratories Limited, Harrogate.
- CEFIC Peroxygen Sector Group (1996) Determination of hydrogen peroxide concentration in the expired air of healthy human volunteers. Solvay Duphar B.V. Environmental Research Department, Weesp.
- Clemens M.R., Schied H.W., Daiss W., Waller H.D.* (1986) Lipid abnormalities in plasma and red cell membranes of chronic alcoholics. *Journal of Molecular Medicine*, vol. 64, 4, 181–185.
- Comstock C.C., Hackley E.B., Oberst F.W.* (1954) The inhalation toxicity of 90% hydrogen peroxide vapor for acute, subacute, and chronic exposures to laboratory animals. Chemical Corps Medical Laboratories Research Report 243. Army Chemical Center, Edgewood, MD.
- De Flora S., Camoirano C., Zancchi P., Bennicelli C.* (1984) Mutagenicity testing with TA97 and TA102 of 30 DNA damaging compounds, negative with other Salmonella strains. *Mutat Res.* 134, 159–165.
- Degussa-Hüls AG. (1999) Draft report of hydrogen peroxide production workers health survey. Summary of workers' health data of 4 production sites for hydrogen peroxide of Degussa-Hüls AG. Hanau, Degussa-Hüls AG.
- Di Paolo J.A.* (1952) Studies on chemical mutagenesis utilizing nucleic acid components, urethane and hydrogen peroxide. *The American Naturalist* 826, 49–56.

- Durrant P.J., Durrant B.D. (1965) Zarys współczesnej chemii nieorganicznej. Warszawa, PWN, 914–917.
- Du Pont E.J. (1995) An evaluation of the stability and palatability of hydrogen peroxide in water and its potential genotoxicity in bone marrow when administered to mice in drinking water. Haskell Laboratory Report nr 723-94 (Sponsor: CEFIC Peroxygen Toxicity Group). E.I. Du Pont de Nemours and Company, Newark, DE.
- Du Pont (1996) Acute oral toxicity study with hydrogen peroxide (70%) in male and female rats. Haskell Laboratory Report s. 323–95. Du Pont Specialty Chemicals, E.I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.
- Estervig D., Wang R.J. (1984) Sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in human cells induced by H₂O₂ and other photoproducts generated in fluorescent light-exposed medium. *Photochemistry and Photobiology* 40, 333–336.
- Exposure to Hydrogen Peroxide and Eye and Nose Symptoms Among Workers in a Beverage Processing Plant (2009) *Ann. Occup. Hyg.* 53(2), 161–165.
- EU-RAR (2003) Hydrogen Peroxide. European Risk Assessment Report, 2nd Priority List, volume 38. European Chemicals Bureau.
- Final RAR. Risk Assessment hydrogen peroxide. R022_0104_env_hh. Draft: 24 April 2001 Environment and human health sections and related Appendices.
- FMC Corporation (1979) Acute dermal toxicity of 70% hydrogen peroxide in rabbits. Study No. ICG/T79027-02. FMC Corporation, Princeton, NJ.
- FMC Corporation (1983) Acute dermal toxicity of 35% hydrogen peroxide in rats. Study number I83-746. FMC Toxicology Laboratory, Somerville, NJ.
- FMC Corporation (1986) Acute oral toxicity of hydrogen peroxide, 50% in rats. Study number I86-914. FMC Toxicology Laboratory, Princeton, NJ.
- FMC Corporation (1990) Hydrogen peroxide 10% standard grade. Acute oral toxicity study in rats. Study number I89-1077. FMC Corporation Toxicology Laboratory, Princeton, NJ.
- FMC Corporation (1997) Hydrogen peroxide 13-week drinking water study with 6-week recovery period in C57BL/6NCrLBR mice. FMC study number: 195-2039. FMC Corporation Toxicology Laboratory, Princeton, NJ.
- Gatecki J. (1964) Preparatyka nieorganiczna: czyste odczynniki chemiczne. Warszawa, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, 903–904.
- GIS (2007; 2010) Dane Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Bydgoszczy. Główny Inspektor Sanitarny [materiał niepublikowany].
- Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics (1980) [Red.] A.G. Gilman, L.S. Goodman, A. Gilman. 6th ed. New York, Macmillan Publishing Co., Inc. 974.
- Glatt H. (1989) Mutagenicity spectra in *Salmonella typhimurium* strains of glutathione, L-cysteine and active oxygen species. *Mutagenesis* 4, 221–227.
- GIS (2007; 2010) Dane Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Bydgoszczy. Warszawa, Główny Inspektor Sanitarny [materiał niepublikowany].
- Hankin L. (1958) Hydrogen peroxide, ingestion and the growth of rats. *Nature* 181, 1453.
- Hathaway G.J., Proctor N.H., Hughes J.P. (1996) Hydrogen Peroxide. [W:] Proctor and Hughes' Chemical Hazards of the Workplace. 4th ed. New York, Van Nostrand Reinhold.
- Hrubetz M.C., Conn L.W., Gittes H.R., MacNamee J.K. (1951) The cause of the increasing intravenous toxicity of 90% hydrogen peroxide with progressive dilutions. Chemical Corps Medical Laboratories Research Report nr 75. Army Chemical Center, Maryland.
- HSDB (2010) [komputerowa baza danych].
- Hydrogen peroxide (1998) [W:] Encyclopedia of occupational health and safety. [Red.] J.M. Stellman 4th ed., Chap. 104, 349. Geneva, International Labour Office.
- Ishidate Jr. M., Sofuni T., Yoshikawa K., Hayashi M., Nohmi T., Sawada M., Matsuoka A. (1984) Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Fd Chem Toxic.* 22, 623–636.
- Ito R., Kawamura H., Chang H. S., Toida S., Matsuura S., Hidano T., Nakai S., Inayoshi Y., Matsuura M., Akuzawa K. (1976) Oral safety on hydrogen peroxide, acute and subacute toxicity. *J. Med. Soc. Toho.* 23, 531–537 [Japanese, English translation].
- Ito A., Watanabe H., Naito M. (1981b) Prevalence of gastric erosions and duodenal tumors with a continuous oral administration of hydrogen peroxide in C57BL/6J mice. Study report. Research Institute for Nuclear Medicine and Biology, Department of Cancer Research, Hiroshima.
- Ito A., Naito M., Watanabe H. (1981a) Implication of chemical carcinogenesis in the experimental animal. *Ann. Rep. of Hiroshima Univ. Res. Inst. Nuclear Medicine and Biology* 22, 147–158 [Japanese, English translation].
- Ito A., Naito M., Naito Y., Watanabe H. (1982) Induction and characterization of gastro-duodenal lesions in mice given continuous oral administration of hydrogen peroxide. *Gann* 73, 315–322.
- Ito A., Watanabe H.M., Naito Y., Kawashima K. (1984) Correlation between induction of duodenal tumor by hydrogen peroxide and catalase activity in mice. *Gann* 75, 17–21.
- Kaelin R.M., Kapanci Y., Tchopp J.M. (1988a) Diffuse interstitial lung disease associated with hydrogen peroxide inhalation in a dairy worker. *Ann. Rev. Respiratory Disease* 137, 1233–1235.
- Keck M., S.G., Binder W. (1980) Mutagenitätsuntersuchungen von Wasserstoffperoxid-bzw. Wasserstoffperoxid-Katalase behandelte Milch. *Osterreichische Milchwirtschaft* 2, 7–14.
- Kensese S.M., Smith L.L. (1989) Hydrogen peroxide mutagenicity towards *Salmonella typhimurium*. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 9, 211–218.
- Kihlström M., Salminen A., Vihko V. (1986) Chronic hydrogen peroxide intake and peroxide metabolizing enzyme activities in some tissues of mice and rats. *Experientia* 42, 1018–1020.
- Klein Szanto A.J.P., Slaga T.J. (1982) Effects of peroxides on rodent skin: Epidermal hyperplasia and tumor promotion. *J. Invest. Dermatol.* 79, 30–34.
- Kurokawa Y., Takamura N., Matsushima Y., Imazawa T., Hayashi Y. (1984) Studies on the promoting and complete

- carcinogenic activities of some oxidizing chemicals in skin carcinogenesis. *Cancer Lett.* 24, 299–304.
- Kondrashov V. A. (1977) Evaluation of the toxicity of hydrogen peroxide vapors for inhalation and percutaneous exposures. *Gig.Truda Prof. Zabol.* 21, 22–25 [Russian, English translation].
- Kawasaki C., Kondo M., Nagayama T., Takeuchi Y., Nagano H. (1969) Effect of hydrogen peroxide on the growth of rats. *J. Jap. Food Hygiene Soc.* 10, 68–72 [Japanese, English translation].
- Levin D.E., Hollstein M., Christman M.F., Schwiers E.A., Ames B.N. (1982) A new *Salmonella* tester strain (TA102) with A T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 79, 7445–7449.
- Liarskii P.P., Gleiberman S.E., Pankratova G.P., Iaroslavskaja L.A., Iurchenko V.V. (1983) Toxicological and hygienic characterization of disinfectants based on hydrogen peroxide and its derivatives. *Gig. Sanit.* 48, 28–31 [Russian, English translation].
- Louise Jacques Thénard. *Annales de chimie et de physique.* 8 (1818). S. 308.
- Ludewig R. (1964) Hydroperoxidase-Verteilung in der Haut und transepidermale Penetration von Wasserstoffperoxid nach epikutaner Applikation. *Acta Histochem.* 19, 303–315.
- Luu T.A., Kelley M.T., Strauch J. A., Avradopoulos K. (1992) Portal vein gas embolism from hydrogen peroxide ingestion. *Ann. Emerg. Med.* 21, 1391–1393.
- MacRae W.D., Stich H.F. (1979) Induction of sister-chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells by thiol and hydrazine compounds. *Mutat Res.* 68, 351–365.
- Mastrangelo G., Zanibellato R., Fedeli U. i in. (2005) Exposure to hydrogen peroxide at TLV level does not induce lung function changes: a longitudinal study. *Int. J. Environ. Health Res.* 15, 313–7.
- Mastrangelo G., Zanibellato R., Fadda E., Lange J.H., Scozzato L., Rylander R. (2009) Exposure to Hydrogen peroxide and eye and nose symptoms among workers in a beverage processing plant. *Ann. Occup. Hyg.* 53(2), 161–165.
- McNally J.J. (1990) Clinical aspects of topical application of dilute hydrogen peroxide solutions. *The CLAO Journal* 16, S46–S51.
- Mitsubishi Gas Chemical Company Inc. (1981) Acute toxicity test on 60 per cent aqueous hydrogen peroxide solution. Appendix I.
- Moriyama I., Hiraoka K., Fujita M., Ichijo M., Ioka H. (1982) Effects of food additive hydrogen peroxide studied in fetal development. *Acta Obst. Gynaec Jpn.* 34, 2149–2154 [Japanese, English translation].
- Nakamura S., Oda Y., Shimada T., Oki I., Sugimoto K. (1987) SOS-inducing activity of chemical carcinogens and mutagens in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002: examination with 151 chemicals. *Mutat. Res.* 192, 239–246.
- Oya Y., Yamamoto K., Tonomura A. (1986) The biological activity of hydrogen peroxide. Induction of chromosome-type aberrations susceptible to inhibition by scavengers of hydroxyl radicals in human embryonic fibroblasts. *Mutat. Res.* 172,245–253.
- Oberst F.W., Comstock C.C., Hackley E. B. (1954) Inhalation toxicity of ninety per cent hydrogen peroxide vapor. *AMA Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 10, 319–327.
- Piotrowski W., Marczak J., Kurmanowska Z. (1998) Production of hydrogen peroxide by cells of alveolar epithelium. *Current Pneumology* vol. 2, 49–52.
- Prival M., Simmon V.F., Mortelmans K.E. (1991) Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. *Mutat. Pres.* 260, 321–329.
- Procter & Gamble Co. (1985) Sitek Research Laboratories. Hydrogen peroxide. Cytogenicity study – Chinese hamster ovary (CHO) cells in vitro. Procter & Gamble Co, Cincinnati, OH.
- Punte C.L., Saunders L.Z., Krackow E.H. (1953) The inhalation toxicity of aerosols of 90% hydrogen peroxide. Chemical Corps Medical Laboratories Research Report nr 189. Maryland, Army Chemical Center.
- RAR (2010) Risk Assessment hydrogen peroxide. Draft 24 April 2001.
- Romanowski A., Murray J.R., Huston M.J. (1960) Effects of hydrogen peroxide on normal and hypertensive rats. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 35, 354–357.
- RTECS, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (2009) [komputerowa baza danych].
- Sacks L.E., MacGregor J.T. (1982) The *B. subtilis* multi-gene sporulation test for mutagens: detection of mutagens inactive in the *Salmonella* his reversion test. *Mutat. Res.* 95, 191–202.
- Sasaki M., Sugimura K., Yoshida M.A., Abe S. (1980) Cytogenetic effects of 60 chemicals on cultured human and Chinese hamster cells. *La Chromosoma* II-20, 574–584.
- Sawada M., Sofuni T., Ishidate Jr. M. (1988) Induction of chromosomal aberrations in active oxygen generating systems. II. A study with hydrogen peroxide-resistant cells in culture. *Mutat Res.* 197, 133–140.
- Shapiro M., Brat V., Ershoff B.H. (1960) Induction of dental caries and pathological changes in periodontium of rat with hydrogen peroxide and other oxidizing agents. *J. Dental Res.* 39, 332–343.
- Sherman S.J., Boyer L.V., Sibley W.A. (1994) Cerebral infarction immediately after ingestion of hydrogen peroxide solution. *Stroke* 25, 1065–1067.
- Solvay Duphar BV. 1995a. An acute inhalation study of hydrogen peroxide aerosols in male mice. Department of Drug Safety Report No. S. 9403. Solvay Duphar B.V., Weesp.
- Solvay Duphar BV. 1995b. An evaluation of the respiratory irritating properties of hydrogen peroxide aerosols in male Swiss mice. Department of Drug Safety Report No. S. 9404. Solvay Duphar B.V., Weesp.
- Speit G., Vogel W., Wolf M. (1982) Characterization of sister chromatid exchange induction by hydrogen peroxide. *Environ Mutag.* 4, 135–142.
- SRI International (1980) Hydrogen peroxide. Microbial mutagenesis testing of substances compound report: F76-017, Hydrogen peroxide. Project LSU-6909. Dept. of Health, Education and Welfare FDA. SRI International.
- Stich H.F., Wei L., Lam P. (1978) The need for a mammalian test system for mutagens action of some reducing agents. *Cancer. Lett.* 5, 199–204.

- Svirbely J. L., Dobrogorski O.J., Stokinger H.E.* (1961) Enhanced toxicity of ozone-hydrogen peroxide mixtures. *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 21–26.
- Tachon P.* (1990) Intracellular iron mediates the enhancing effect of histidine on the cellular killing and clastogenicity induced by H₂O₂. *Mutat Res.* 228, 221–228.
- Takahashi M., Hasegawa R., Furukawa F., Toyoda K., Sato H., Hayashi Y.* (1986) Effects of ethanol, potassium metabisulphite, formaldehyde and hydrogen peroxide on gastric carcinogenesis in rats after initiation with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*.
- Takayama S.* (1980) Report on a carcinogenicity study. Research Group, Ministry of Health and Welfare, Japan. Tokyo, Cancer Institute of Japan, Foundation for Cancer Research.
- Thacker J., Parker W.F.* (1976) The induction of mutation in yeast by hydrogen peroxide. *Mutat. Res.* 38, 43–52.
- Thénard L.J.* (1818) *Annales de chimie et de physique*. 8(1818), 308.
- Tucker J. D., Taylor R.T., Christensen M.L., Strout C.L., Hanna M.L., Carrano A.V.* (1989) Cytogenetic response to 1,2-dicarbonyls and hydrogen peroxide in Chinese hamster ovary AUXB1 cells and human peripheral lymphocytes. *Mutat Res.* 224, 269–279.
- Ursini M., Maiorino L., Ferri M., Valente M., Gregolin C.* (1981) Hydrogen peroxide and hematin in microsomal lipid peroxidation. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Vol. 15, Issue 2, 163–169.
- Wales R.G., White I.G., Lamond D.R.* (1959) The spermicidal activity of hydrogen peroxide *in vitro* and *in vivo*. *J. Endocrin.* 18, 236–244.
- Wilcox P., Naidoo A., Wedd D.J., Gatehouse D.G.* (1990) Comparison of *Salmonella typhimurium* TA102 *Escherichia coli* WP2 tester strains. *Mutagenesis* 5, 285–291.
- Winqvist L., Rannung U., Rannung A., Ramel C.* (1984) Protection from toxic and mutagenic effects of H₂O₂ by catalase induction in *Mutat. Res.* 141, 145–147.
- von der Hude W., Behm C., Gürtler R., Basler A.* (1988) Evaluation of the SOS chromotest. *Mutat Res.* 203, 81–94.
- Zabłocka A., Janusz M.* (2008) Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online) 62, 118–124.
- Zhou R., Sun X., Tang D.* (1991) Iron-mediated induction of the SOS responses by hydrogen peroxide. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 46, 613–617.