

But-2-enal – mieszanina izomerów – *E*-but-2-enal i *Z*-but-2-enal

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

But-2-enal – mixture of *Z* (*cis*) and *E* (*trans*) isomers
Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

dr hab. ANNA KILANOWICZ prof. nadzw. UM
e-mail: anna.kilanowicz@umed.lodz.pl
prof. dr hab. ANDRZEJ SAPOTA
e-mail: andrzej.sapota@umed.lodz.pl
dr ADAM DARAGÓ
e-mail: adam.darago@umed.lodz.pl
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź
ul. J. Muszyńskiego 1

NDS	1 mg/m ³
NDSch	2 mg/m ³
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową
I -	substancja o działaniu drażniącym

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 30.06.2015 r.

Data zatwierdzenia przez Międzynarodową Komisję ds. NDS i NDN: 28.06.2016 r.

Słowa kluczowe: but-2-enal, aldehyd krotonowy, toksyczność, narażenie zawodowe, NDS.

Keywords: but-2-enal, crotonaldehyde, toxicity, occupational exposure, MAC.

¹ Wartości NDS i NDSCh but-2-enalu zostały w dniu 28.06.2016 r. przyjęte na 83. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i przedłożone ministrowi właściwemu do spraw pracy (wniosek nr 99) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Naukowego Centrum Badań i Rozwoju.
Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Streszczenie

But-2-enal (aldehid krotonowy) jest bezbarwną cieczą o ostrym, nieprzyjemnym zapachu. W handlu jest dostępny zazwyczaj jako mieszanina izomerów – *Z* (*cis*) i *E* (*trans*), o przewadze izomeru *E* $\geq 90\%$. Ze względu na łatwo wyczuwalny i charakterystyczny ostry zapach, but-2-enal był dodawany do gazów opałowych jako środek ostrzegawczy (marker) do wykrywania wycieków i nieuszczelności linii przesyłowych. Obecnie but-2-enal stosuje się głównie do wytwarzania kwasu sorbowego (kwas *trans*-heksa-2,4-dienowy), środka konserwującego żywność. Według danych Głównego Inspektoratu Sanitarnego w latach 2013-2014 w Polsce nie było pracowników zatrudnionych na stanowiskach pracy, gdzie występowało przekroczenie obowiązującej wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS = 6 mg/m³, tj. 0,6 mg/m³) dla but-2-enalu.

But-2-enal wchłania się dobrze do organizmu przez: drogi oddechowe, przewód pokarmowy oraz przez skórę. Ze względu na bardzo ostry, drażniący zapach but-2-enalu nie opisano przypadków ostrego zatrucia ludzi tym związkem. U ochotników oraz pracowników narażonych na but-2-enal obserwowano działanie drażniące związku na oczy i błonę śluzową nosa. Nie ma w dostępnym piśmiennictwie danych dotyczących przewlekłego działania but-2-enalu na ludzi.

Wyrażona medianami dawek letalnych ostra toksyczność but-2-enalu, którego działaniu poddano zwierzęta doświadczalne, pozwala zaklasyfikować związek jako toksyczny. Związek wykazuje silne działanie drażniące na: oczy, błonę śluzową nosa oraz drogi oddechowe. Nie ma w dostępnym piśmiennictwie danych dotyczących działania drażniącego oraz uczulającego związku na skórę zwierząt. W badaniach krótkoterminowych i podprzewlekłych na myszach i szczurach narażonych przez 13 tygodni na związek drogą dożołądkową wykazano głównie zmiany w przedżołądku, które obejmowały pogrubienie błony śluzowej przedżołądka ze zmianami grudkowatymi (tylko u szczurów) oraz cechy ostrego zapalenia. Natomiast

w badaniu przewlekłym (113 tygodni) u szczurów, którym but-2-enal podawano w wodzie do picia, stwierdzono, niezależnie od wielkości dawki, zmiany nowotworowe w wątrobie i zmiany ogniskowe w komórkach wątroby. Skutków takich nie stwierdzono u szczurów narażonych na dwie większe dawki.

But-2-enal nie wykazywał działania mutagennego w testach Ames. Związek działał genotoksycznie, np. tworzył addukty z DNA. Na podstawie nielicznych danych wykazano, że but-2-enal działa szkodliwie na komórki rozrodcze. Związek nie jest klasyfikowany przez IARC ze względu na działanie rakotwórcze.

Z przedstawionych w dokumentacji danych wynika, że głównym skutkiem działania toksycznego but-2-enalu o dużych stężeniach na ludzi i zwierzęta było silne działanie drażniące na oczy i błonę śluzową nosa, natomiast w przypadku zwierząt doświadczalnych także na drogi oddechowe.

Za podstawę obliczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) but-2-enalu (mieszaniny izomerów) oraz izomerów *Z*(*cis*) i *E*(*trans*) przyjęto niski próg detekcji zapachu (wartość OT₅₀ $\approx 0,20$ mg/m³), a także wyniki badania, w którym oceniano częstość oddechów u dwóch szczerpów myszy. Uzyskane wartości RD₅₀ różniły się nieznacznie. Do ustalenia wartości NDS przyjęto 1/10 wartości RD₅₀ wynoszącej 10,05 mg/m³ (3,5 ppm), tj. 1 mg/m³. But-2-enal jest substancją o silnym działaniu drażniącym, więc wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSch) zaproponowano na poziomie 2 mg/m³. Zmniejszenie obowiązujących wartości dla but-2-enalu (mieszaniny izomerów) jest także uzasadnione działaniem genotoksycznym związku oraz prawdopodobnie rakotwórczym na zwierzęta doświadczalne, co było przyczyną nieustalenia wartości normatywnej przez SCOEL i MAK. Normatyw oznakowano „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową oraz literą „I” – substancja o działaniu drażniącym.

Summary

But-2-enal (crotonaldehyde) is a colourless liquid with a sharp odour. In commerce it is usually available as a mixture of *Z* (*cis*) and *E* (*trans*) isomers (with a predominance of an *E* isomer over 90%). Due to its easily recognizable and distinctive odour, but-2-enal was added to fuel gases as

a marker to detect leakage and leakiness in transmission lines. Currently, but-2-enal is mainly used in the production of sorbic acid (*trans*, *trans*-2,4-hexadienoic acid), a food preservative.

According to the data of the Chief Sanitary Inspectorate, in Poland in the years 2013-2014, there were

no workers exposed to but-2-enal in concentrations exceeding 0.1 TLV (Threshold Limit Value, TLV = 6 mg/m³), i.e. 0.6 mg/m³.

But-2-enal is well absorbed into the body by inhalation, through the skin and by ingestion. Because of the very sharp, irritating scent of but-2-enal, no cases of acute poisoning have been reported in humans. Volunteers and workers exposed to but-2-enal suffered from irritating effects on eyes and nasal mucosa. There are no available data on chronic exposure of but-2-enal in humans.

Acute toxicity of but-2-enal in experimental animals expressed in lethal dose mediators enable to classify this compound as toxic. It exhibits strong irritating effects on eyes, nasal mucous membranes and respiratory tract. There are no data on skin irritation and sensitization. In short-term and subchronic studies in mice and rats exposed intragastrically to but-2-enal for 13 weeks, predominant changes associated with the administration route were noted in the forestomach, including thickening of gastric mucosa with rickets (only in rats) and acute inflammation. Subchronic study (113 weeks) in rats, where but-2-enal was administered in drinking water (only at the lowest dose) resulted in tumours in liver and focal lesions in the liver cells. These effects have not been reported in rats exposed to two higher doses.

But-2-enal was not mutagenic in Ames tests, but was genotoxic, e.g., caused DNA adducts. Few data indicate that but-2-enal has harmful effects on germ cells. The compound is not classified by IARC in terms of carcinogenicity.

The major toxic effect of but-2-enal toxicity in humans and animals was a strong irritation to eyes and nasal mucosa. Irritation of respiratory tract in animals was also observed.

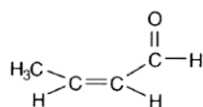
As a basis for calculating TLV for but-2-enal (mixture of isomers), and Z (*cis*) and E (*trans*) isomers, the low odour detection threshold (OT₅₀ ≈ 0.20 mg/m³) was adopted. Moreover, results of study assessing respiratory rate in two mouse strains, where only slight differences in RD₅₀ was noted, was taken into account. One tenth of the value of 10.05 mg/m³ (3.5 ppm), i.e., 1 mg/m³, was used to determine the TLV. But-2-enal is strongly irritant, so the STEL (Short-Term Exposure Limit) value was proposed at 2 mg/m³. The reduction of valid values for but-2-enal (mixture of isomers) is also justified by the genotoxicity of the compound and possible carcinogenicity in experimental animals (which was due to the non-normative value of SCOEL and MAK). Norms are labelled with "skin" (absorption of the substance through the skin can be as important as exposure to the respiratory tract) and the letter "I" (irritant).

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka but-2-enalu:

- wzór sumaryczny C₄H₆O
- wzór strukturalny

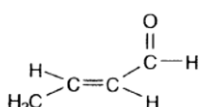


cis

(Z)-but-2 enal

– nazwy CAS:

– numery CAS:



trans

(E)-but-2-enal

but-2-enal – mieszanina izomerów; (Z)-but-2-enal – *cis* izomer; (E)-but-2-enal – *trans* izomer

4170-30-3 (but-2-enal, mieszanina izomerów);

– numery RTECS:

– numery WE:

– numer indeksowy

– synonimy:

– but-2-enal:

15798-64-8 (Z)-but-2-enal); 123-73-9 (E)-but-2-enal); (E)-but-2-enal – *trans* izomer

P9499000 (but-2-enal, mieszanina izomerów); GP9625000 (E)-but-2-enal); (E)-but-2-enal – *trans* izomer

224-030-0 (2-but-2-enal, mieszanina izomerów); 204-647-1 (E)-but-2-enal)

605-009-00-9

2-butenal; 2-butenaldehyde; aldehyd krotonowy; krotonaldehyd; crotonaldehyde;

	crotonic aldehyde; β-methylacrolein; 1-formylpropene	Obecnie nazwę „aldehyd krotonowy” stosuje się zarówno do mieszaniny izomerów (Z) i (E), jak również do izomeru (E).
– (Z)-but-2-enal:	(Z)-crotonaldehyde; cis-2-butenal; cis-crotonalaldehyde; aldehyde izokrotonowy	Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu 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 (Dz. Urz. UE z L353 dnia 31.12.2008 r. ze zm.) but-2-enal ma zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie zgodnie z tabelą 3.1. załącznika IV do ww. rozporządzenia (tab. 1. i rys. 1.).
– (E)-but-2-enal(E):	crotonaldehyde; 2(E)-butenal; trans-2-butenal; trans-buten-1-al; trans-crotonal; trans-crotonaldehyde.	

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie but-2-enalu zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie	
		klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Crotonaldehyde; 2-butenal [1] (E)-2-butenal; (E)-crotonaldehyde [2]	4170-30-3 [1] 123-73-9 [2]	Flam. Liq. 2 Muta. 2 Acute Tox. 2 (*) Acute Tox. 3 (*) Acute Tox. 3 (*) STOT RE 2 (*) STOT SE 3 Skin Irrit. 2 Eye Dam. 1 Aquatic Acute 1	H225 H341 H330 H311 H301 H373 (**) H335 H315 H318 H400	GHS02 GHS06 GHS08 GHS05 GHS09 Dgr	H225 H341 H330 H311 H301 H373 (**) H335 H315 H318 H400

Objaśnienia:

Flam. Liq. 2 – substancje ciekłe łatwopalne, kategoria zagrożenia 2.

H225 – wysoce łatwopalna ciecz i pary.

Acute Tox. 3 – toksyczność ostra (droga pokarmowa), kategoria zagrożenia 3.

H301 – działa toksycznie po połknięciu.

Acute Tox. 3 – toksyczność ostra (po naniesieniu na skórę), kategoria zagrożenia 3.

H311 – działa toksycznie w kontakcie ze skórą.

Skin Irrit. 2 – działanie żrące/drażniące na skórę, kategoria zagrożenia 2.

H315 – działa drażniąco na skórę.

Eye Dam. 1 – poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy, kategoria zagrożenia 1.

H318 – powoduje poważne uszkodzenie oczu.

Acute Tox. 2 – toksyczność ostra (po narażeniu inhalacyjnym), kategoria 2.

H330 – wdychanie grozi śmiercią.

STOT SE 3 – działa toksycznie na narządy docelowe po narażeniu jednorazowym, kategoria zagrożenia 3., działanie drażniące na drogi oddechowe

H335 – może powodować podrażnienie dróg oddechowych.

Muta. 2 – działanie mutagenne na komórki rozrodcze, kategoria zagrożenia 2.

H341 – podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.

STOT RE 2 – działa toksycznie na narządy docelowe po narażeniu powtarzanym, kategoria zagrożenia 2.

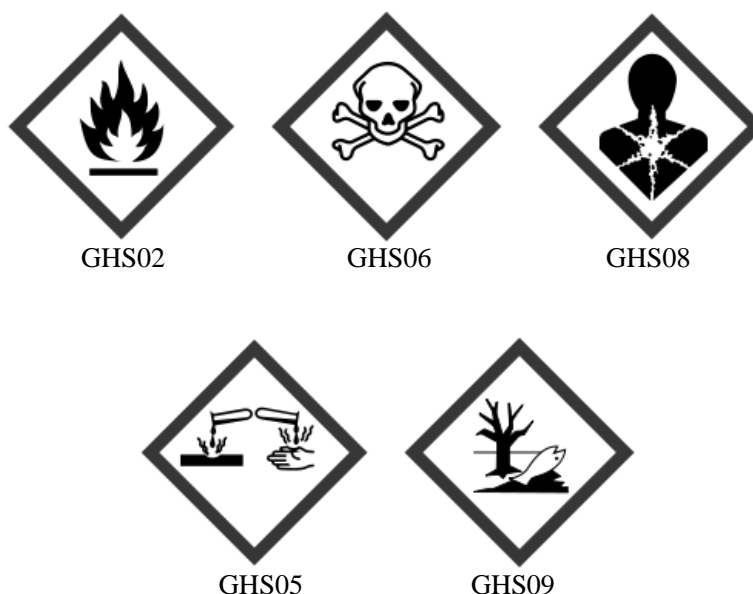
H373 – może powodować uszkodzenie narządów przez długotrwałe lub wielokrotne narażenie.

Aquatic acute 1 – stwarza zagrożenie dla środowiska wodnego, zagrożenie ostre, kategoria 1.

H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

(*) – minimum klasyfikacji.

(**) – klasyfikacja zgodna z rozporządzeniem nr 1272/2008 bez zwrotu wskazującego rodzaj zagrożenia określającego drogę narażenia.



Rys. 1. Kody hasła ostrzegawczego Dgr („Danger” – „Niebezpieczeństwo”). Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne but-2-enalu (IARC 1995; Crotonaldehyde 1996; Budavari i in. 1996; NIOSH 2002):

- wygląd i zapach bezbarwna ciecz (po kontakcie z powietrzem – żółta) o nieprzyjemnym zapachu
- masa cząsteczkowa 70,09
- temperatura wrzenia w temp. 104,0 °C i ciśn. 1013 hPa
- temperatura krzepnięcia -76,5 °C
- gęstość cieczy 0,853 g/cm³ w temp. 20 °C (woda = 1)
- gęstość par 2,41 (powietrze = 1)
- prężność par 19 mmHg w temp. 20 °C i ciśn. 1013 hPa
- granice stężeń wybuchowych w powietrzu: 2,1% – dolna; 15,5% – górna
- punkt zapłonu (metoda tygła otwartego) 12,8 °C
- log P_{ow} 0,63
- rozpuszczalność w wodzie: 18,1 g/100 g; w temp. 20 °C miesza się w dowolnych

proporcjach z:

- współczynniki przeliczeniowe w temp. 25 °C i ciśn. 1013 hPa:

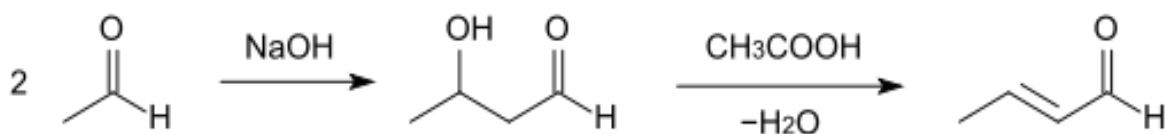
większością węglowodorów aromatycznych, ketonami, estrami, eterami i niższymi kwasami karboksylowymi

1 ppm \approx 2,87 mg/m³;
 1 mg/m³ \approx 0,349 ppm
 (Crotonaldehyde 1996; IARC 1995).

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

But-2-enal (aldehyd krotonowy, β -metakroleina, CH₃CH=CHCHO) to organiczny związek chemiczny z grupy aldehydów nienasyconych. W handlu jest dostępny zazwyczaj jako mieszanina izomerów Z (*cis*) i E (*trans*), o przewadze izomeru E \geq 90%.

Najczęściej stosowaną metodą otrzymywania but-2-enalu jest dwuetapowy proces (rys. 2.), który rozpoczyna się kondensacją aldolową aldehydu octowego pod wpływem zasad (np. NaOH) do aldolu (Schulz i in. 2005). Związek ten jako β -hydroksyaldehyd łatwo ulega dehydratacji w środowisku kwaśnym, np. but-2-enalu (Morrison i in. 1985; Schulz i in. 2005).



Rys. 2. Synteza but-2-enalu (Morrison i in. 1985; Schulz i in. 2005)

But-2-enal był stosowany m.in. jako środek przyspieszający wulkanizację gumy oraz przy garbowaniu skóry.

Ze względu na łatwo wyczuwalny i charakterystyczny ostry zapach, but-2-enal był dodawany do gazów opałowych jako środek ostrzegawczy (marker zapachowy) do wykrywania wycieków gazu świetlnego i nieszczelności linii przesyłowych (Fairhall 1957). Obecnie but-2-enal stosuje się głównie do wytwarzania kwasu sorbowego (kwas *trans*-heksa-2,4-dienowy), środka konserwującego żywność.

Według danych Głównego Inspektoratu Sanitarnego w latach 2013- 2014 w Polsce nie było pracowników narażonych na but-2-enal o stężeniach przekraczających 0,1 wartości obowiązującego NDS, tj. 0,6 mg/m³.

Większość producentów stosuje but-2-enal głównie jako produkt pośredni (Blau i in. 1987; ATSDR 2002). W Niemczech but-2-enal jest stosowany do produkcji: kwasu sorbowego \approx 50%-procentowego; trimetylohydrochinonu \approx 30%-procentowego; 3-metoksybutanolu \approx 20%-procentowego oraz innych produktów chemicznych (około 1%, głównie pochodnych chinoliny i związków aromatycznych), (BUA 1993). W 1990 r. w Niemczech wielkość produkcji but-2-enalu wynosiła ponad 10 000 t. Światowa produkcja kwasu sorbowego (do którego syntezy głównie używa się but-2-enalu) jest szacowana na około 38 000 t. Większość związku jest produkowana w: Europie, Chinach oraz Japonii. Jedyny producent kwasu sorbowego w USA zamknął fabrykę w 2000 r. (Anonymous 2002).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre u ludzi

Ze względu na bardzo ostry, drażniący zapach but-2-enalu nie opisano przypadków ostrego zatrucia ludzi tym związkiem.

W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć bardzo duży zakres stężeń progowych wyczuwania zapachu oraz działania drażniącego but-2-enalu. Próg wyczuwalności zapachu dla but-2-enalu mieści się w przedziale 0,1 ÷ 3,01 mg/m³ (0,035 ÷ 1,05 ppm), natomiast za próg działania drażniącego przyjęto stężenie 22,96 mg/m³ (8,0 ppm), (Ruth 1986; Crotonaldehyde 1996).

Amoore i Hautal (1983) określili próg wyczuwalności zapachu dla but-2-enalu – (*E*)-but-2-enalu) na poziomie 0,34 mg/m³ (0,12 ppm), natomiast skutki działania drażniącego but-2-enalu na

błony śluzowe nosa i oczu obserwowano po narażeniu na związek o stężeniach 40,18 i 54,53 mg/m³ (odpowiednio 14 i 19 ppm).

W badaniu przeprowadzonym na 25 ochotnikach, których narażano na but-2-enal o stężeniach 0,02 ÷ 2,3 mg/m³ (0,007 ÷ 0,8 ppm), kilka osób próg wyczuwania zapachu but-2-enalu zgłosiło już przy najmniejszym stężeniu. Połowa osób biorących udział w eksperymencie zapach but-2-enalu wyczuła dopiero, gdy stężenie związku wynosiło 0,11 mg/m³ (0,038 ppm). Uczestnicy eksperymentu byli narażani wielokrotnie (około 2 ÷ 4 razy) na każde stężenie but-2-enalu, a dodatkowo, w celu uniknięcia „fałszywych” wyników, u osób badanych zastosowano „czyste powietrze” jako punkt odniesienia (Tepikina i in. 1997).

Za próg detekcji zapachu van Doorn i in. (2002) przyjęły wartości OT₅₀ wynoszące odpowiednio:

³ OT₅₀ – stężenie, przy którym 50% osób narażonych wyczuwa i rozpoznaje zapach.

0,20 mg/m³ (0,069 ppm) dla izoformy (*E*)-but-2-enalu oraz 0,18 ÷ 0,57 mg/m³ (0,063 ÷ 0,2 ppm) dla izoformy (*Z*).

Sim i Pattle (1957) przeprowadzili badania, podczas których oceniano działanie drażniące but-2-enalu. Na but-2-enal o stężeniu około 12 mg/m³ narażano 12 zdrowych mężczyzn w wieku 18 ÷ 45 lat przez 10 lub 15 min w komorze inhalacyjnej (100 m³), w temperaturze pokojowej (20 ÷ 25 C°) przy cyrkulacji liniowej powietrza 0,45 m/s (1 mph). U wszystkich mężczyzn but-2-enal o stężeniu około 12 mg/m³ działał bardzo silnie drażniąco na błony śluzowe górnych dróg oddechowych, zwłaszcza nosa. Pierwsze objawy działania drażniącego związku, tj. łzawienie, stwierdzano bardzo szybko, najczęściej po 30 s od rozpoczęcia narażenia, przy czym skutki działania drażniącego na oczy nie nasilały się wraz z czasem trwania eksperymentu.

W badaniach na ochotnikach wyznaczono próg działania drażniącego but-2-enalu na poziomie 0,5 mg/m³ (0,17 ppm), (*Trofimov* 1962). Ochotnicy przez 1 min wdychali pary but-2-enalu przez maskę, przy czym w dostępnych materiałach nie ma informacji, w jaki sposób zostały wygenerowane pary badanego związku oraz w jaki sposób mierzono i kontrolowano stężenia but-2-enalu, na które byli narażeni ochotnicy. Autor tego badania wnioskuje, aby maksymalne, dopuszczalne stężenie but-2-enalu w powietrzu było ograniczone do stężenia mieszczącego się w przedziale 0,5 ÷ 0,7 mg/m³ (0,17 ÷ 0,24 ppm), co zabezpieczy narażonych przed wystąpieniem objawów działania drażniącego związku (*Trofimov* 1962).

U pracowników laboratorium (2 ÷ 3 osoby) obsługujących komory inhalacyjne (podczas doświadczeń na zwierzętach) krótkotrwałe (trwające

mniej niż 30 s) narażenie na pary but-2-enalu o stężeniu 43,05 mg/m³ (15 ppm) nie wywoływało objawów działania drażniącego związku na błony śluzowe oczu i nosa, mimo iż pracownicy zwrócili uwagę na bardzo silny i drażniący zapach (*Rinehart* 1967).

Z kolei, podczas obsługi komór inhalacyjnych u pracowników narażonych na but-2-enal o znacznie większych stężeniach, tj. w zakresie: 129,15 ÷ 143,5 mg/m³ (45 ÷ 50 ppm), obserwowano skutki działania drażniącego związku na oczy, tj. pieczenie spojówek i szybkie mruganie powiekami, przy czym nie stwierdzano łzawienia oraz objawów działania drażniącego na błony śluzowe nosa lub górnych dróg oddechowych (*Rinehart* 1967).

W innym badaniu *Fieldner* i in. (1954) wykazali, że narażenie na but-2-enal o stężeniach 10,05 ÷ 40,18 mg/m³ (3,5 ÷ 14 ppm) wywołuje działanie drażniące (nie sprecyzowano, jakich skutków to działanie dotyczyło).

Dalla Vale i Dudley (1939) utworzyli listę, tzw. „wartości progowych”, dla związków, które mają wyczuwalny zapach w powietrzu. Lista zawiera m.in. but-2-enal, dla którego za wartość progową przyjęto stężenie 20,95 mg/m³ (7,3 ppm). Autorzy scharakteryzowali but-2-enal jako związek drażniący dla oczu i nosa.

Opisane wcześniej skutki działania drażniącego but-2-enalu na ludzi należy traktować ostrożnie, ponieważ wg interpretacji *Steinhagena i Barrowa* (1984) mogą być one obarczone błędnym pomiarem analitycznym.

Podsumowanie opisanych badań dotyczących narażenia inhalacyjnego ludzi na but-2-enal przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.
Skutki ostrego narażenia ludzi na but-2-enal

Stężenie, mg/m ³	Czas narażenia	Skutki narażenia i czynniki zakłócające	Piśmiennictwo
0,1 ÷ 0,57 0,11 ÷ 3,01 0,34	nieokreślony (kilka sekund)	progi wyczuwalności zapachu podano ze źródeł wtórnych; opisy badań były niedostępne	<i>Crotonaldehyde</i> 1996; <i>Ruth</i> 1986; <i>Amoore,</i> <i>Hautala</i> 1983
0,11	nieokreślony (kilka sekund)	ochotnicy byli narażeni wielokrotnie; połowa badanych wyczuła zapach	<i>Tepikina</i> i in. 1997
0,49	1 min	wykrywanie zapachu i/lub działanie drażniące; narażenie przez maskę; niezdefiniowana metoda analityczna oznaczania związku	<i>Trofimov</i> 1962

cd. tab. 2.

Stężenie, mg/m ³	Czas narażenia	Skutki narażenia i czynniki zakłócające	Piśmiennictwo
1,61 ÷ 3,16	< 8 h	sporadyczne podrażnienie oczu; narażenie na inne związki	<i>Fannick</i> 1982
11,77	15 min (10 min)	podrażnienie dróg oddechowych; łzawienie w ciągu 30 s; za czynnik zakłócający uznano palenie papierosów w trakcie trwania badania	<i>Sim, Pattle</i> 1957
10,04 ÷ 40,18 10,91	nieokreślony 10 s	podrażnienie wystarczające, aby obudzić śpiącego; działanie drażniące w ciągu 10 s; brak szczegółów badania	<i>Fieldner</i> i in. 1954
20,95	nieokreślony (kilka sekund)	bardzo ostry zapach, silne podrażnienie oczu oraz nosa; brak szczegółów eksperymentu	<i>Dalla Vale, Dudley</i> 1939
22,96 40,18 (nos) 54,53 (oczy)	nieokreślony (kilka sekund)	próg podrażnienia; nie podano metody stosowanej do określenia działania drażniącego	<i>Ruth</i> 1986; <i>Amoore, Hautala</i> 1983
43,05	< 30 s	zapach silnie drażniący, ale do zniesienia; nie powodował dyskomfortu dla oczu	<i>Rinehart</i> 1967
129,15 ÷ 143,5	< 30 s	zapach silnie drażniący, ostry i nieprzyjemny; uczucie pieczenia oczu, bez łzawienia	<i>Rinehart</i> 1967

Obserwacje kliniczne. Zatrucia przewlekłe Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji na temat zatruć przewlekłych but-2-enalem u ludzi.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat wyników badań epidemiologicznych narażenia na but-2-enal.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Wartości median dawek i stężeń letalnych but-2-enalu dla różnych gatunków zwierząt przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

Wartości median dawek i stężeń letalnych but-2-enalu na zwierzęta doświadczalne

Gatunek zwierząt	Droga podania	Wartości DL ₅₀ i CL ₅₀	Piśmiennictwo
Szczer	dożołądkowa	300 mg/kg mc. 206 mg/kg mc.	<i>Smyth, Carpenter</i> 1944 <i>Voronin</i> i in. 1982
	dootrzewnowa podskórna	70 mg/kg mc. 140 mg/kg mc.	<i>Brabec</i> 1993 <i>Skog</i> 1950
Mysz	dożołądkowa	104 mg/kg mc. 98 mg/kg mc.	<i>Voronin</i> i in. 1982 <i>Zhen</i> i in. 1985
	podskórna	160 mg/kg mc.	<i>Skog</i> 1950
Świnka morska	dermalna	25 mg/kg mc. 426 ÷ 852 mg/kg mc.	<i>Smyth, Carpenter</i> 1944 <i>Brabec</i> 1993

cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt	Droga podania	Wartości DL ₅₀ i CL ₅₀	Piśmiennictwo
Królik	dermalna	128 ÷ 170 mg/kg mc. 324 mg/kg mc.	<i>Brabec</i> 1993 <i>Brabec</i> 1993
Kot	dożylna	30 ÷ 40 mg/kg mc. (śmier- telna)	<i>Skog</i> 1952
Szczur	inhalacja 4 h	200 mg/m ³ 247 mg/m ³ 290 mg/m ³	<i>Voronin</i> i in. 1982 <i>Rinehart</i> 1967 <i>Kennedy, Graepel</i> 1991
	inhalacja 0,5 h	4000 mg/m ³	<i>Skog</i> 1950
Mysz	inhalacja 2 h	1510 mg/m ³ 580 mg/m ³	<i>Trofimov</i> 1962 <i>Voronin</i> i in. 1982

Wartości median dawek letalnych but-2-enalu dla szczurów w zależności od drogi narażenia są zbliżone i wynoszą 206 ÷ 300 mg/kg mc. po podaniu dożołądkowym oraz 200 ÷ 290 mg/m³ po narażeniu inhalacyjnym (4 h). Natomiast dla myszy wyznaczona wartość LC₅₀ wynosi 580 ÷ 1510 mg/m³. Zgodnie z kryteriami ostrej toksyczności, but-2-enal można zaliczyć do grupy związków toksycznych.

Z doświadczenia przeprowadzonego przez *Skog* (1950) na 48 szczurach narażanych inhalacyjnie na pary but-2-enalu o stężeniach w zakresie 100 ÷ 7000 mg/m³ (35 ÷ 2450 ppm) wynika, że najmniejsze stężenie, po którym po 30 min narażenia obserwowano padnięcie połowy badanych szczurów (LC₅₀), wynosiło około 4000 mg/m³ (1400 ppm). Stężenia but-2-enalu w powietrzu nie były kontrolowane analitycznie, a jedynie wyliczone teoretycznie na podstawie ilości powietrza użytego do ogrzania odmierzonej ilości cieczy w celu uzyskania stężenia docelowego. Podczas narażenia zwierząt na but-2-enal o wszystkich zastosowanych stężeniach szczury: ciężko dyszały, potrzasały w tył głowami, przy każdym oddechu, zamykały powieki, obserwowano u nich obfitą wydzielinę z nosa oraz łzawienie. Padnięcia zwierząt odnotowywano do 2. dnia po zakończonym narażeniu. Szczury, które przeżyły do 4. ÷ 5. dnia obserwacji, miały świszczący oddech (*snuffling*). Badania histologiczne: płuc, serca, nerek, wątroby, śledziony i mózgu, u co najmniej 4 szczurów wykazały cechy przekrwienia i krwawe wylewy w: płucach, sercu, wątrobie oraz nerkach. W płucach nie stwierdzono zmian o charakterze obrzęku.

Rinehart (1967) przeprowadził serie eksperymentów na samcach szczurów Wistar, których celem była ocena toksyczności but-2-enalu po narażeniu drogą inhalacyjną. Szczury narażano 5 min ÷

4 h, po czym zwierzęta obserwowano przez 2 tygodnie. Pary aldehydu wytwarzano przez przepuszczanie gazowego azotu przez ciecz but-2-enalu (o 90-procentowej czystości) i następnie mieszano z powietrzem. Stężenie tlenu utrzymywano na poziomie ≥ 17,8%.

Narażanie zwierząt laboratoryjnych wykonywano w komorze szklanej o objętości 20 l. Stężenia but-2-enalu były mierzone dwa do pięciu razy w ciągu wykonywania badań. Uzyskane wyniki stężeń but-2-enalu stanowiły 42% stężenia nominalnego (29 ÷ 61%). Autor badania sugerował, że różnica między uzyskaną wartością rzeczywistą i nominalną wynikała z absorpcji związku na ścianach komory oraz była wynikiem reakcji utleniania i/lub polimeryzacji. Wyznaczona przez *Rineharta* wartość LC₅₀ dla narażenia trwającego 30 min wynosiła 1722 mg/m³ (600 ppm) i była około 2-krotnie mniejsza niż wyznaczona przez *Skog* (1950) na poziomie 4018 mg/m³ (1400 ppm). *Rinehart* (1967) zwrócił ponadto uwagę, że w trakcie narażenia na związek o stężeniu 2870 mg/m³ (1000 ppm) lub większym, but-2-enal wywoływał u szczurów najpierw objawy pobudzenia, a następnie niewydolności oddechowej (szczury dyszały i miały zmniejszoną częstość oddechów), która w niektórych przypadkach utrzymywała się przez kilka kolejnych dni. U narażanych zwierząt w ciągu pierwszych 3 dni stwierdzono znaczące zmniejszenie masy ciała (do 25% masy ciała), proporcjonalnie do stężeń zastosowanych w badaniu. Większość padnięć zwierząt stwierdzono w ciągu 4 dni po zakończonym narażeniu. Padnięcia szczurów poprzedzały drgawki już pierwszego dnia narażenia. Z kolei za przyczynę padnięcia zwierząt w okresie między 5. a 14. dniem obserwacji uznano wtórne infekcje. Na podstawie wyników badania sekcyjnego narządów wewnętrznych wykazano

u kilku zwierząt zatępiły płucne. *Rinehart* (1967) wartość LC_{50} oszacował na podstawie estymacji wykresu log-probit.

Salem i *Cullumbine* (1960) narażali myszy ($n = 50$) w szklanej komorze o objętości 1 m^3 na but-2-enal o stężeniu odpowiednio: 2925 mg/m^3 (1021 ppm) dla par lub 2663 mg/m^3 dla aerozolu. Średnicę cząstek aerozolu oszacowano na $0,7 \mu\text{m}$. Zaraz po rozpoczęciu narażenia obserwowano pierwsze skutki działania drażniącego but-2-enalu (myszy mrugały i zamykały powieki oraz intensywnie przecierały pyszczki łapkami), które następnie prowadziły do niewydolności oddechowej (powolne i głębokie oddechy, wyraźne skrócenie czasu oddechu), bezruchu i konwulsji tuż przed padnięciem. Myszy padały po około 38 min narażenia na pary but-2-enalu oraz po 64 min narażenia na aerozol. U wszystkich narażonych zwierząt stwierdzono płyn w jamie opłucnej i rozszerzone, krwotoczne płuca z rozdętymi pęcherzykami, wykazano także liczne przypadki obrzęku płuc oraz rozerwane przegrody pęcherzyków płucnych spowodowane zwężeniem światła oskrzeli. U badanych myszy stwierdzono ponadto powiększenie wątroby i obecność płynu w jamie otrzewnej (*Salem, Cullumbine* 1960).

Średnie stężenia letalne LC_{50} dla myszy narażonych przez 2 h na działanie but-2-enalu mieszczą się w zakresie 580 mg/m^3 (200 ppm), (*Voronin* i in. 1982) ÷ 1510 mg/m^3 (530 ppm), (*Trofimov* 1962). W badaniu przeprowadzonym przez *Trofimov* (1962) stwierdzono, że zwierzęta w trakcie trwania narażenia intensywnie przecierały pyszczki łapkami oraz obserwowano u nich objawy duszności. Natomiast w badaniu patomorfologicznym narządów zwierząt, które padły, stwierdzono: krwotoki płucne, obrzęki w płucach oraz mózgu, a także uszkodzenia kłębuszków nerkowych (*Trofimov* 1962).

W eksperymencie przeprowadzonym przez *Smyth* i *Carpenter* (1944) 3/6 świnek morskich padło po narażeniu na pary but-2-enalu o stężeniu 5740 mg/m^3 (2000 ppm) przez 15 min i o stężeniu 2870 mg/m^3 (1000 ppm) przez 30 min.

W badaniu przeprowadzonym przez *Salem* i *Cullumbine* (1960) wszystkie świnki morskie (20/20) padły po narażeniu na pary but-2-enalu o stężeniu 2925 mg/m^3 (1021 ppm) średnio przez 68 min lub po narażeniu na aerozol o stężeniu 2663 mg/m^3 ($0,7 \mu\text{m}$ średnicy) przez 86 min. Narażone zwierzęta początkowo szybko mrugały

i zamykały oczy oraz intensywnie przecierały pyszczki łapkami, następnie pozostawały w bezruchu, oddychając powoli i głęboko, aż do momentu padnięcia poprzedzonego konwulsjami. Na podstawie wyników badań patomorfologicznych wykazano, że wszystkie myszy miały: płyn w jamie opłucnej i rozszerzone, krwotoczne płuca z rozdętymi pęcherzykami płucnymi oraz popękane przegrody między pęcherzykami płucnymi, co świadczyło o zwężeniu oskrzeli. U większości myszy stwierdzono także obrzęk płuc. Ponadto, u narażonych zwierząt stwierdzono pojawienie się płynu w jamie otrzewnej oraz powiększenie wątroby (*Salem, Cullumbine* 1960).

Narażenie 5 królików na pary but-2-enalu o stężeniu 2925 mg/m^3 (1021 ppm) przez 65 min lub na aerozol o stężeniu 2663 mg/m^3 przez 79 min ($0,7 \mu\text{m}$ średnicy) spowodowało padnięcie zwierząt (*Salem, Cullumbine* 1960). Narażane zwierzęta początkowo: mrugały, zamykały oczy i przecierały pyszczki łapkami, a następnie przysiadły i oddychały bardzo głęboko i powoli, aż do wystąpienia konwulsji tuż przed padnięciem. W badaniu sekcyjnym u wszystkich zwierząt stwierdzono: obecność płynu w jamie opłucnej, obrzęknięte, rozszerzone i krwotoczne płuca z rozdętymi pęcherzykami płucnymi, z rozerwanymi przegrodami między pęcherzykowymi wskazującymi na zwężenie oskrzeli. Wszystkie narażane króliki miały ponadto powiększone wątroby, a w jamie otrzewnej – płyn (*Salem, Cullumbine* 1960).

Próg działania drażniącego but-2-enalu na błony śluzowe dróg oddechowych królika określono na poziomie 50 mg/m^3 ($0,05 \text{ mg/l}$; 17,5 ppm), (*Trofimov* 1962). W innym eksperymencie na samcach królika narażanych na badany związek o stężeniu $14,35 \text{ mg/m}^3$ (5 ppm) przez okres do 10 min obserwowano znaczne obniżenie tętna i liczby oddechów (*Ikeda* i in. 1980).

Zmiany wydolności układu oddechowego w wyniku narażenia inhalacyjnego na but-2-enal potwierdził także w badaniu na szczurach *Rinehart* (1967). Szczury Wistar były narażane na but-2-enal od 5 min do 4 h w zakresie stężeń $28,7 \div 1665 \text{ mg/m}^3$ ($10 \div 580 \text{ ppm}$), (*Rinehart* 1967). Autor tego badania uznał, że zarówno stężenie badanego związku, jak i czas jego działania były równie istotne w określeniu siły toksyczności but-2-enalu. Na podstawie uzyskanych wyników *Rinehart* (1967) stwierdził, że but-2-enal wykazuje typowe działanie drażniące na układ oddechowy,

a docelowym miejscem działania tego aldehydu są oskrzeliki, a nie pęcherzyki płucne.

Babiuk i in. (1985) wyznaczyli dla samców szczurów F344 wartość RD_{50} (stężenie substancji powodujące zmniejszenie o 50% częstości oddychania) na poziomie $66,58 \text{ mg/m}^3$ ($23,2 \text{ ppm}$) dla 10 min narażenia na but-2-enal.

Wartość RD_{50} dla par but-2-enalu u samców myszy Swiss-Webster oraz myszy B6C3F1 na poziomie odpowiednio – $10,13 \text{ mg/m}^3$ ($3,53 \text{ ppm}$) i $14,01 \text{ mg/m}^3$ ($4,88 \text{ ppm}$), wyznaczyli także Steinhagen i Barrow (1984). Myszy narażano na but-2-enal przez 10 min w komorze, w której narażeniu poddano tylko głowy zwierząt i monitorowano częstość oddechów. Stężenie but-2-enalu w komorze było monitorowane w sposób ciągły za pomocą spektrofotometru IR fazy gazowej.

W innym badaniu szczury (rasy i płci nie podano) narażano przez 30 min na pary but-2-enalu o stężeniach: 0,02; 0,14; 0,28, 1,3 lub $12,7 \text{ mg/m}^3$ (Tepikina i in. 1997). Po 72 h wybrane zwierzęta poddano autopsji. U szczurów narażanych na but-2-enal o dwu największych stężeniach, tj. 1,3 lub $12,7 \text{ mg/m}^3$, stwierdzono zmiany morfologiczne w płucach i wątrobie. Charakter tych zmian nie został opisany (Tepikina i in. 1997).

Najmniejsze stężenie but-2-enalu działające drażniąco na błony śluzowe górnych dróg oddechowych królików wynosiło około 50 mg/m^3 , a dla kotów – 9 mg/m^3 (Trofimov 1962).

Wśród α - i β -nienasyconych aldehydów, but-2-enal znajduje się wśród grupy związków o silnym działaniu drażniącym na drogi oddechowe u myszy, a siła jego działania była tylko nieznacznie mniejsza niż akroleiny i formaldehydu.

Wyznaczona doświadczalnie wartość RD_{50} but-2-enalu wynosiła $10,05 \text{ mg/m}^3$ u myszy, a akroleiny i formaldehydu odpowiednio – 2,3 i $3,6 \text{ mg/m}^3$ (Steinhagen, Barrow 1984) oraz $66,6 \text{ mg/m}^3$ u szczurów (Babiuk i in. 1985). Wielu autorów podkreśla znacznie większą siłę działania drażniącego nienasyconych aldehydów w porównaniu do ich nasyconych analogów (Schaper 1993; Alarie i in. 1998).

Działanie drażniące na zwierzęta

Działanie na skórę

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że nie prowadzono badań oceniających działanie drażniące but-2-enalu na skórę zwierząt doświadczalnych.

Działanie na oczy

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że nie prowadzono badań oceniających działanie drażniące but-2-enalu na oczy.

But-2-enal wykazywał natomiast działanie drażniące na oczy w trakcie narażenia inhalacyjnego zwierząt na związek o dużym stężeniu. Działanie drażniące na oczy obserwowano u szczurów narażanych na związek o stężeniach około $100 \div 7000 \text{ mg/m}^3$ ($35 \div 2450 \text{ ppm}$) przez 30 min (Skog 1950), u myszy narażanych na związek o stężeniach około $100 \div 7000 \text{ mg/m}^3$ ($200 \div 530 \text{ ppm}$) przez 2 h (Trofimov 1962) oraz u świnek morskich i królików narażanych na but-2-enal o stężeniu około 2925 mg/m^3 (1021 ppm) przez 65 min (Salem, Cullumbine 1960).

Działanie uczulające na zwierzęta

W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych na temat badań dotyczących działania uczulającego but-2-enalu na zwierzęta doświadczalne.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że jest niewiele danych dotyczących badań toksyczności podprzewlekłej lub przewlekłej but-2-enalu u zwierząt doświadczalnych.

Narażenie inhalacyjne

W piśmiennictwie opisano tylko jeden eksperyment (praca opublikowana w języku rosyjskim i niedostępna w oryginale) dotyczący działania toksycznego but-2-enalu po narażeniu drogą inhalacyjną. Voronin i in. (1982) narażali szczury i myszy drogą inhalacyjną na but-2-enal o stężeniu $1,2 \text{ mg/m}^3$ przez 3 miesiące i stwierdzili, że związek powoduje u zwierząt zmiany w aktywności ruchowej, jak również wpływa na zmianę stężenia hemoglobiny (dane niedostępne).

Droga pokarmowa

Wolfe i in. (1987) podawali przez 13 tygodni drogą dożołądkową samcom i samicom szczura F344 (po 10 zwierząt w grupie) but-2-enal w oleju kukurzydzianym w dawkach: 2,5; 5; 10; 20 lub 40 mg/kg

mc./dzień. Padnięcia szczurów obu płci stwierdzono po narażeniu na dawkę 5 mg/kg mc./dzień but-2-enalu i po dawkach większych. U samców narażonych na największą dawkę (40 mg/kg mc./dzień) związku stwierdzono również znaczące zmniejszenie masy ciała zwierząt w stosunku do zwierząt w grupie kontrolnej. W badaniu autopsyjnym w grupach zwierząt, którym podawano but-2-enal w dawce 20 lub 40 mg/kg mc./dzień, obserwowano zarówno u samic, jak i samców pogrubienie błony śluzowej przedzwołodka ze zmianami grudkowatymi, co miało związek z drogą podania. Pogrubienie błony śluzowej przedzwołodka stwierdzono również u szczurów, którym podawano badany związek w dawce 10 mg/kg mc./dzień. Na podstawie wyników badań histopatologicznych wykazano ponadto, że u zwierząt otrzymujących największą dawkę but-2-enalu (40 mg/kg mc./dzień) stwierdzono: nadmierne rogowacenie, owrzodzenia, umiarkowaną martwicę oraz cechy

ostrego zapalenia w przedzwołodka. Autorzy tego badania stwierdzili także ostry stan zapalny w jamie nosowej zarówno u samców, jak i samic szczurów, którym podawano dawkę 20 lub 40 mg/kg mc./dzień but-2-enalu, przy czym u samic skutek ten obserwowano także po podaniu dawki 5 mg/kg mc./dzień.

Samcom i samicom myszy B6C3F1 (po 10 w grupie) podawano but-2-enal dozwołdkowo w oleju kukurydzianym w dawkach: 2,5; 5; 10; 20 lub 40 mg/kg mc./dzień przez 13 tygodni (Wolfe i in. 1987). W przeciwieństwie do szczurów, wszystkie myszy przeżyły do końca eksperymentu. Autorzy nie odnotowali również zmian makroskopowych podczas autopsji zwierząt, natomiast zmiany histopatologiczne, które obejmowały pogrubienie błony śluzowej przedzwołodka, obserwowano jedynie w grupie otrzymującej badany związek w dawce 40 mg/kg mc./dzień. Wyniki opisanych powyżej doświadczeń zebrano w tabeli 4.

Tabela 4.
Skutki podprzewlekłego i przewlekłego narażenia zwierząt doświadczalnych na but- 2-enal

Gatunek zwierząt, liczba zwierząt w grupie	Droga podania, czas narażenia	Stężenie/dawka	Skutki działania toksycznego	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczur, mysz	inhalacyjnie, 3 miesiące	1,2 mg/m ³	zmiany w aktywności ruchowej i stężeniu hemoglobiny	dane eksperymentalne niedostępne	Voronin i in. 1982
Szczury F344, samce i samice, 10 /grupę	dozwołdkowo, 13 tygodni	2,5; 5; 10; 20 lub 40 mg/kg mc./dzień	po podaniu dawki 5 mg/kg mc./dzień padnięcia zwierząt obu płci; po podaniu dawki 20 lub 40 mg/kg mc./dzień obserwowano pogrubienie błony śluzowej przedzwołodka ze zmianami grudkowatymi; po podaniu największej dawki (40 mg/kg mc./dzień) obserwowano: nadmierne rogowacenie, owrzodzenia, umiarkowaną martwicę oraz cechy ostrego zapalenia w przedzwołodka; po podaniu dawki 20 mg/kg mc./dzień obserwowano ostry stan zapalny w jamie nosowej u samców, a u samic po podaniu dawki 5 mg/kg mc./dzień		Wolfe i in. 1987
Myszy B6C3F1, samce i samice, 10/grupę	dozwołdkowo, 13 tygodni	2,5; 5; 10; 20 lub 40 mg/kg mc./dzień	po podaniu dawki 40 mg/kg mc./dzień obserwowano pogrubienie błony śluzowej przedzwołodka		Wolfe i in. 1987

cd. tab. 4.

Gatunek zwierząt, liczba zwierząt w grupie	Droga podania, czas narażenia	Stężenie/dawka	Skutki działania toksycznego	Uwagi	Piśmiennictwo
Szczury F344, samce, 23 ÷ 27 w grupie	w wodzie do picia, 113 tygodni	0; 2,1 lub 15,75 mg/kg mc./dzień	w grupie narażonej na najmniejszą dawkę obserwowano zmiany nowotworowe w wątrobie u 9/27 szczurów, w tym: rak wątrobowokomórkowy u 2/27 szczurów, zmiany ogniskowe komórek wątroby u 23/27 szczurów; w grupie narażonej na największą dawkę nie zanotowano zmian przed- i nowotworowych (poza jednym przypadkiem ogniskowych zmian komórek wątroby o charakterze nowotworowym), ponadto obserwowano: ograniczenie przyrostu masy ciała, uszkodzenie wątroby (10/23) obejmujące: stłuszczenie, martwicę ogniskową, zwłóknienie, cholestazę oraz nacieki komórek jednojądrzastych	brak zależności skutków działania nowotworowego od wielkości dawki	<i>Chung</i> i in. 1986
Myszy B6C3F1, oseski po 24 w grupie	dootrzewnowo, w 8. i 15. dniu życia	0; 21 lub 42 mg/kg mc.	brak różnic w występowaniu nowotworów wątroby u zwierząt w grupach	obserwacja 12 miesięcy	<i>von Tungeln</i> i in. 2002

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności but-2-enalu przedstawiono w tabeli 5. i 6.

Tabela 5.
Wyniki badań mutagenności but-2-enalu w warunkach in vitro

Rodzaj testu	Układ badawczy	Najmniejsza dawka skuteczna lub największa dawka nieefektywna	Wynik testu		Uwagi	Piśmiennictwo
			- S9	+ S9		
Mutacje powrotne	TA98 TA100 TA1535 TA1538	0,03; 0,3; 3; 30 µmol/ płytkę	-	-		<i>Florin</i> i in. 1980
Mutacje powrotne	TA98 TA100 TA1535 TA1537 TA1538	0,004 ÷ 0,75 µl/ płytkę	-	-		Hoechst AG 1979a; 1979b; 1980a
Mutacje powrotne	TA100	0,2 ÷ 0,8 µl/płytkę	+	nt	test ze wstępną inkubacją	Hoechst AG 1980a

cd. tab. 5.

Rodzaj testu	Układ badawczy	Najmniejsza dawka skuteczna lub największa dawka nieefektywna	Wynik testu		Uwagi	Piśmiennictwo
			- S9	+ S9		
Mutacje powrotne	TA100	0,075 ÷ 0,5 µl/płytkę; 0,015 ÷ 0,35 µl/płytkę	+	nt	test ze wstępną inkubacją, 30 min; test ze wstępną inkubacją, 90 min	<i>Eder</i> i in. 1992
Mutacje powrotne	TA100 TA100 TA100 TA98 TA1535 TA1537 TA1538	0,05 ÷ 0,4 µl/płytkę	- + + - - -	- + + - - -	test ze wstępną inkubacją, pH 7,4.; test ze wstępną inkubacją, pH 6,6	<i>Neudecker</i> i in. 1981
Mutacje powrotne	TA98 TA100 TA1535 TA1537 TA1538	≤ 1µg/płytkę	- + - - -	- + - - -	test ze wstępną inkubacją	<i>Lijinsky</i> , <i>Andrews</i> 1980
Mutacje powrotne	TA100	612 ÷ 1224 nmol/ płytkę; 306 ÷ 1224 nmol/ płytkę	- +	nt nt	test ze wstępną inkubacją	<i>Ruiz-Rubio</i> i in. 1984
Mutacje powrotne	TA100	33,0 ÷ 450 mg/płytkę	+	nt	test ze wstępną inkubacją	<i>Haworth</i> i in. 1983
Mutacje powrotne	TA100	0,25 ÷ 1,06 mM	-	nt	wstępna inkubacja 30 min	<i>Cooper</i> i in. 1987
Mutacje powrotne	TA100	0,04 ÷ 0,3 µl/płytkę	+	nt nt	wstępna inkubacja 30 min; wstępna inkubacja 90 min	<i>Neudecker</i> i in. 1989
Mutacje powrotne	TA104 TA102	0,075 ÷ 1,4 µl/płytkę	+	nt -	test ze wstępną inkubacją	<i>Marnett</i> i in. 1985
Mutacje genowe w plazmidach	plazmidy pMS2 z ludzkich komórek COS-7 w komórkach DH10B <i>E. coli</i>	-	+	nt		<i>Fernandes</i> i in. 2005
Analiza adduktów DNA (³² P-postlabelling)	CHO AS52	0; 1; 4; 7; 10 mM; 1 h	+	nt		<i>Foiles</i> i in. 1990
Analiza adduktów DNA (³² P-postlabelling)	fibroblasty ludzkie	0; 1; 10; 100 µM	+	nt		<i>Wilson</i> i in. 1991
Analiza adduktów DNA (³² P-postlabelling)	DNA z grasicy cielęcej (10 mg/ml)	0; 0,6 mM; 16 h	+	nt		<i>Chung</i> i in. 1986; 1989

cd. tab. 5.

Rodzaj testu	Układ badawczy	Najmniejsza dawka skuteczna lub największa dawka nieefektywna	Wynik testu		Uwagi	Piśmiennictwo
Analiza adduktów DNA (³² P-postlabelling)	DNA z grasicy cielęcej (100 µg/250 µl)	0; 0;2; 2 mM; 5 h	+	nt		<i>Gölzer i in.1996</i>
Analiza adduktów DNA (UV, LC-APCI-MS; MS/MS)	DNA z grasicy cielęcej (10 mg/ml)	0,4 mM; 96 h	+	nt		<i>Hecht i in. 2001a; 2001b; Wang i in. 2001</i>
Analiza adduktów DNA (³² P-postlabelling)	DNA z grasicy cielęcej (20 mg/5 ml)	0; 18 mM; 8 lub 48 h; 37 lub 60 °C	+	nt		<i>Budiawan, Eder 2000</i>
Pęknięcia nici DNA (elucje alkaliczne)	komórki L1210 cells	0; 500; 800 µmol	+	nt		<i>Eder i in. 1993</i>
Pęknięcia nici DNA (elucje alkaliczne)	komórki Namalwa	0,1 ÷ 0,8 mM	+	nt		<i>Eisenbrand i in. 1995</i>
Pęknięcia nici DNA (elucje alkaliczne)	pierwotne hepatocyty szczura	0,5 ÷ 1,5 mM	+	nt		<i>Eisenbrand i in. 1995</i>
Pęknięcia nici DNA(sekwencjonowanie)	gen 488 bp supF z plazmidu pZ189	0; 200 mM; 2 h	+	nt		<i>Czerny i in. 1998</i>
Sieciovanie histonów z DNA DNA – histone crosslinks	DNA z grasicy cielęcej z plazmidami pUC13	0 ÷ 10 mM	+	nt		<i>Kuykendall, Bogdanffy 1992</i>
Kometowy	hepatocyty szczura	0; 2; 5 mg/ml	+	nt	do momentu powstania ogona	<i>Kuchenmeister i in. 1998</i>
Kometowy; uszkodzenia DNA	pierwotne komórki nabłonka żołądka i jelita grubego szczura	0; 0,4; 0,8 mM; 30 min	+	nt		<i>Gölzer i in. 1996</i>
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki CHO	0,16 ÷ 1,6 µg/ml 1,6 ÷ 160 µg/ml	+	+		<i>Galloway i in. 1987</i>
Wymiany chromatyd siostrzanych	komórki Namalwa, limfocyty ludzkie	5 ÷ 250 µM 5 ÷ 250 µM	+	nt		<i>Dittberner i in. 1995</i>

cd. tab. 5.

Rodzaj testu	Układ badawczy	Najmniejsza dawka skuteczna lub największa dawka nieefektywna	Wynik testu		Uwagi	Piśmiennictwo
Nieplanowana synteza DNA	hepatocyty szczurze	$1 \cdot 10 \div 4$ M	-			Williams i in. 1989
Aneuploidii	limfocyty ludzkie	$5 \div 250$ μ M	-	nt		Dittberner i in. 1995
Aberacji chromosomowych	komórki CHO	$0,5 \div 5$ μ g/ml $1,6 \div 16$ μ g/ml	+	+		Galloway i in. 1987
Aberacji chromosomowych	komórki Namalwa	$5 \div 250$ μ M	+	nt		Dittberner i in. 1995
Aberacji chromosomowych	limfocyty ludzkie	$5 \div 250$ μ M	+	nt		Dittberner i in. 1995
Mikrojądrowy z analizą centromeru	komórki Namalwa, limfocyty ludzkie	$5 \div 250$ μ M $5 \div 250$ μ M	+	nt nt		Dittberner i in. 1995
Odporności na 6-tioguaninę	komórki CHO	≤ 1 mM	-	nt		Foiles i in. 1990

Objaśnienia:

Wyniki: (+) dodatni; (-) ujemny; nt – nie badano.

W badaniu mutagenności (tab. 5.) wykonanym na bakteriiach *Salmonella* (szczepy: TA98, TA100, TA1535, TA1537 i TA1538) but-2-enal nie powodował żadnych mutacji zarówno w obecności, jak i bez czynnika aktywacji metabolicznej (*Florin* i in. 1980; Hoechst AG 1979a; 1979b; 1980a; *Neudecker* i in. 1981; *Ruiz-Rubio* i in. 1984).

W badaniu mutagenności but-2-enalu przy użyciu SOS (chromotest) na bakteriiach *Escherichia coli* PQ37 i PQ243 również nie wykazano działania mutagennego w przypadku braku układu aktywacji metabolicznej (*Eder* i in. 1992). Natomiast w teście SOS (umu) na szczepach *Escherichia coli* TA1535/pSK100 stwierdzono słabą indukcję naprawy DNA (*Benamira, Marnett* 1992).

W badaniu, podczas którego fibroblasty transfekowano do plazmidu pMY189 w obecności but-2-enalu o stężeniach $0 \div 1,8$ M, w którym wykrywanie mutacji w plazmidzie analizowano za pomocą liczby i barwy kolonii bakteryjnych *Escherichia coli*, stwierdzono zależny od dawki wzrost liczby mutacji oraz zmniejszenie żywotności komórek bakteryjnych. Stwierdzono ponadto, że w genie supF 85% z podstawowych substytucji polegało na transwersji G \rightarrow T (*Kawanishi* i in. 1998).

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań stwierdzono, że but-2-enal wywołuje działanie genotoksyczne (tab. 5.). *Czerny* i in. (1998) dokonali transfekcji z limfoblastoidalnych komórek GM0621 do plazmidu pZ189 w środowisku zawierającym but-2-enal o stężeniach $10 \div 500$ mM przez okres 2 h, a następnie inkubacją trwającą 2,5 dnia. Mutacje w plazmidzie określono przez barwy kolonii bakteryjnych, a działanie genotoksyczne – przez liczbę kolonii bakteryjnych. Autorzy odnotowali zależne od wielkości dawki zmniejszenie liczby kolonii bakterii oraz liczbę mutacji w plazmidzie. Dla genu supF plazmidu: mutacje punktowe stanowiły 39% (głównie G \rightarrow C), delecje – 46%, insercje – 12%, a inwersje – 3%.

But-2-enal wywoływał pęknięcia nici DNA w komórkach: L1210, Namalwa, pierwotnych hepatocytach szczurzych oraz w genie supF z plazmidów pZ189 (*Czerny* i in. 1998; *Eder* i in. 1993; *Eisenbrand* i in. 1995).

W teście kometowym na pierwotnych hepatocytach szczura narażanych na but-2-enal o stężeniu 2 lub 5 mg/ml wywołano powstanie niewielkich, okrągłych, bardzo skondensowanych obszarów DNA uwidocznionych odpowiednio w 89 i 94%

zdjęć, nie obserwowano natomiast powstania ogona, co potwierdza brak uszkodzeń DNA w narażonych komórkach. W teście kometowym wykonanym na pierwotnych komórkach nabłonka żołądka i jelita grubego szczura, po narażeniu trwającym 30 min na but-2-enal o stężeniach: 0; 0,4 lub 0,8 mM, wykryto uszkodzenia DNA zależne od wielkości stężenia. Po narażeniu na but-2-enal o największym stężeniu (0,8 mM), odpowiednio: 16 i 20% komórek zostało poważnie uszkodzone; 56 i 44% komórek było umiarkowanie uszkodzone oraz 28 i 36% komórek nie wykazywało uszkodzeń. Wskaźnik przeżycia komórek wyniósł 80% (Golzer i in. 1996).

But-2-enal nie powodował indukcji nieplanowej syntezy DNA w hepatocytach szczura, nie wpływał także na naprawę DNA (Williams i in. 1989).

Galloway i in. (1987) wykazali, że but-2-enal w zakresie stężeń 0,16 ÷ 1,6 µg/ml (bez aktywacji metabolicznej) oraz 1,6 ÷ 160 µg/ml (z aktywacją metaboliczną) wywoływał na liniach komórek CHO aberracje chromosomowe. Podobne wyniki bez aktywacji metabolicznej uzyskali Dittberner i in. (1995) – but-2-enal o stężeniach 100 ÷ 250 µM

wywoływał aberracje chromosomów w komórkach Namalwa oraz o stężeniach 10 ÷ 250 µM w komórkach ludzkich limfocytów. Wyniki badań wymiany chromatyd siostrzanych na liniach komórek CHO dały dodatni wynik zarówno z aktywacją metaboliczną, jak i bez aktywacji metabolicznej (Galloway i in. 1987), natomiast w ludzkich limfocytach oraz komórkach Namalwa wynik dodatni dla but-2-enalu uzyskano bez obecności aktywacji metabolicznej (Dittberner i in. 1995).

W teście mikrojądrowym uzyskano dodatnie wyniki w badaniu zarówno na komórkach Namalwa, jak i ludzkich limfocytach bez aktywacji metabolicznej, co wskazuje na działanie klastogenne badanego związku (Dittberner i in. 1995).

Wykazano także, że but-2-enal w ludzkich fibroblastach (bez aktywacji) wywoływał powstanie adduktów z DNA (Wilson i in. 1991). Hecht i in. (2001b) stwierdzili, że deoksyguanozyny i zasady Schiffa, które powstały jako addukty po narażeniu na badany aldehyd były niestabilne na poziomie nukleozydów, ale stabilne w DNA.

W tabeli 6. zebrano i opisano wyniki działania genotoksycznego but-2-enalu w warunkach in vivo.

Tabela 6.

Wyniki badań genotoksyczności but-2-enalu w warunkach in vivo

Rodzaj testu	Układ badawczy	Dawka/stężenie	Wynik	Piśmiennictwo
Recesywnych mutacji letalnych	<i>Drosophila</i>	3,5 µg/ml; iniekcja	+	Woodruff i in. 1985
Recesywnych mutacji letalnych	<i>Drosophila</i>	4,0 µg/ml; w pożywce	-	Woodruff i in. 1985
Z zastosowaniem pośredniego gospodarza	myszy CD-1	0; 7,6; 27,2; 80 mg/kg mc. TA100 dootrzewnowo na 1 h	+	Hoechst AG 1981
Addukty DNA (³² P-postlabelling)	myszy, Sencar	0; 6,7 mg (5 razy w tygodniu, przez 3 tygodnie)	+	Chung i in. 1989
Addukty DNA (³² P-postlabelling)	szczur, Fischer F344, wątroba, płuca, nerki, nabłonek jelita	0; 200; 300 mg/kg dożołądkowo, po 12, 20 h od zakończenia podawania	+	Eder i in. 1999; Budiawan, Eder 2000
Addukty DNA (³² P-postlabelling)	szczur, Fischer F344 wątroba	0; 1; 10 mg/kg mc. (5 razy tygodniowo, 6 tygodni) po 12, 20 h od zakończenia podawania	+	Eder i in. 1999; Budiawan, Eder 2000
Mikrojądrowy	myszy, NMRI, szpik kostny	0; 0,8; 8,0; 80,0 mg/kg mc. (2 razy co 24 h), po 6 h od zakończenia podawania	-	Hoechst AG 1980b

Objaśnienia:

Wyniki: (+) dodatni; (-) ujemny.

Uzyskano sprzeczne wyniki dla but-2-enalu w teście recesywnych mutacji letalnych u *Drosophila* w zależności od sposobu narażenia. Po iniekcji but-2-enalu o stężeniu 3,5 ng/ml, związek wywołał recesywne mutacje letalne i wzajemne translokacje (*reciprocal translocations*), natomiast skutków takich nie stwierdzono, gdy związek o stężeniu 4 ng/ml był aplikowany w pożywce (*nutrient solution*), (Woodruff i in. 1985).

But-2-enal powodował natomiast mutacje powrotne w teście pośredniego gospodarza. Pojedyncze dawki but-2-enalu podawano myszom CD-1 drogą dożołądkową w dawkach 0; 7,65; 27,2 lub 80 mg/kg mc., a następnie dootrzewnowo podawano bakterie *Salmonella* Typhimurium TA100. Liczba powstałych mutacji powrotnych była statystycznie znamienna już po podaniu najmniejszej dawki, tj. 7,65 mg/kg mc. oraz większych. Jedynie w grupie otrzymującej największą dawkę związku (80 mg/kg mc.) liczba mutacji spadła do poziomu w grupie kontrolnej, co według autorów było skutkiem działania toksycznego but-2-enalu (padły 2 zwierzęta z 6 zwierząt w tej grupie), (Hoechst AG 1981).

But-2-enal podawany myszom dożołądkowo (*per os*) nie powodował tworzenia mikrojąder w komórkach szpiku kostnego myszy oraz w erytrocytach krwi obwodowej myszy (Hoechst AG 1980b; NTP 1985), natomiast podawany gryzoniom (myszom Sencar lub szczurom Fischer F344) różnymi drogami (aplikowany na skórę lub *per os*) powodował tworzenie adduktów DNA w naskórku (Chung i in. 1989) oraz w wątrobie (Eder i in. 1999; Budiawan, Eder 2000).

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

Jedyny dostępny w piśmiennictwie opis badań epidemiologicznych nie daje podstaw do oceny rakotwórczego działania but-2-enalu na ludzi.

W badaniach epidemiologicznych, przeprowadzonych przez Bittersohla (1974) u 150 pracowników narażonych m.in. na but-2-enal o stężeniach $1 \div 7 \text{ mg/m}^3$ przez 20 lat pracy, opisano przypadki 9 nowotworów złośliwych, w tym: 2 raki jamy ustnej, 1 gruczolakorak żołądka, 1 gruczolakorak jelita oraz 5 płaskonabłonkowych nowotworów płuc. Wszystkie przypadki nowotworów wystąpiły jednak u osób będących nałogowymi palaczami (co

stanowi czynnik zakłócający). Ważny jest również fakt, iż osoby te były również narażone na działanie innych związków: aldehydu octowego, butanalu i wyższych aldehydów, n-butanolu i wyższych alkoholi oraz prawdopodobnie butadienu. Według Bittersohla (1974) za działanie kancerogene stwierdzone w badanej populacji pracowników był najprawdopodobniej odpowiedzialny acetaldoł (aldehyd β -hydroksymasłowy) powstały z aldehydu octowego oraz skutek synergistycznego działania aldehydów alifatycznych.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Działanie rakotwórcze but-2-enalu na zwierzęta (szczury, myszy) badano jedynie po podaniu związku drogą pokarmową lub dootrzewnową.

Szczury

Chung i in. (1986) samcom szczura F344 (liczebność grup $n = 23 \div 27$) podawali w wodzie do picia (113 tygodni) but-2-enal o stężeniach: 0; 42 lub 420 mg/l, co odpowiadało dawkom, odpowiednio: 0; 2,1 lub 15,75 mg/kg mc./dzień. U szczurów narażonych na dawkę 2,1 mg/kg mc./dzień but-2-enalu stwierdzono zmiany nowotworowe w wątrobie u 9/27 szczurów, w tym przypadki raka wątrobowokomórkowego u 2/27 szczurów. Stwierdzono ponadto zmiany ogniskowe w komórkach wątroby (u 23/27 szczurów).

Natomiast zmian o charakterze przednowotworowym lub nowotworowym nie stwierdzono u szczurów (22/23) narażonych na but-2-enal w większej dawce: 15,75 mg/kg mc./dzień, z wyjątkiem pojedynczego przypadku ogniskowych zmian w komórkach wątroby o charakterze nowotworowym (1/23). Dla porównania, w grupie kontrolnej ($n = 23$) nie stwierdzono żadnych zmian o charakterze nowotworowym, w tym raka wątrobowokomórkowego, aczkolwiek stwierdzono zmiany ogniskowe w komórkach wątroby (1/23). Częstość występowania nowotworów innych narządów w grupach narażonych także nie była statystycznie znamienna w porównaniu do zwierząt w grupie kontrolnej. Natomiast u 10/23 samców szczurów stwierdzono zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz działanie hepatotoksyczne but-2-enalu (w stopniu od umiarkowanego do dużego), które objawiało się: stłuszczeniem, martwicą ogniskową, zwłóknieniem, cholestazą oraz naciekami komórek jednojądrzastych.

Myszy

Działanie kancerogenne but-2-enalu badali *von Tungeln* i in. (*von Tungeln* i in. 2002)) na oseskach myszy B6C3F1 (liczebność w grupie $n = 24$), którym związek podawano dwukrotnie drogą dootrzewnową w 8. i 15. dniu życia. Łączna dawka podanego but-2-enalu wynosiła: 0; 1500 lub 3000 nmol, tj. około: 0; 21 lub 42 mg/kg mc. (przy założeniu, że masa zwierząt wynosiła około 5 g). Po 12 miesiącach obserwacji nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w występowaniu nowotworów wątroby między zwierzętami w grupach narażanych na but-2-enal a zwierzętami w grupie kontrolnej.

Wyniki uzyskane przez *Chunga* i in. (1986) zostały w 1991 r. uznane przez Amerykańską Agencję Ochrony Środowiska (EPA 1999) za podstawę do zaklasyfikowania but-2-enalu do grupy C – możliwy czynnik rakotwórczy dla ludzi, na podstawie ograniczonych danych dla zwierząt.

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała, że nie ma wystarczających dowodów dla ludzi i zwierząt doświadczalnych na działanie rakotwórcze but-2-enalu i umieściła związek w grupie 3. – związki niesklasyfikowane jako działające rakotwórczo u ludzi (IARC 1995).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

W dostępnym piśmiennictwie nie ma badań dotyczących wpływu but-2-enalu na rozrodczość ludzi. Z przeglądu piśmiennictwa wynika także, że nie ma wyników badań oceniających działanie: embriotoksyczne, teratogenne lub mające wpływ na rozrodczość zwierząt doświadczalnych but-2-enalu.

Jha i *Kumar* (2006) przeprowadzili morfologiczne badania plemników pobranych od samców

myszy Swiss, którym but-2-enal podano drogą dootrzewnową w jednorazowych dawkach: 0; 6,8; 13,7 lub 27,2 mg/kg mc. Zwierzęta uśmiercano po 1., 3. i 5. tygodniu po narażeniu (pięć zwierząt dla każdej dawki i punktu czasowego). Statystycznie znamieny wzrost odsetka nieprawidłowych plemników odnotowano tylko po podaniu dwóch największych dawek związku (13,7 lub 27,2 mg/kg mc.) po 1. i 3. tygodniu od podania oraz w przypadku największej dawki (27,2 mg/kg mc.) także po 5. tygodniu od podania.

Jha i *Kumar* (2006) sugerują, że but-2-enal jest związkiem wywierającym wpływ na komórki rozrodcze, jednak nie ma dokładnych danych (np. brak liczby komórek plemników), które by pozwoliły na pełną i jednoznaczną ocenę cytotoksyczności but-2-enalu (MAK 2007).

W innym eksperymencie przeprowadzonym na myszach szczepu Q, którym but-2-enal podawano drogą dootrzewnową w jednorazowej dawce 30 mg/kg mc. oraz pokarmową (w wodzie do picia) przez 50 dni o stężeniu wynoszącym 2000 mg/l (co odpowiadało dawce 300 mg/kg mc.). Wykazano toksyczny wpływ związku na komórki rozrodcze (*Moutschen-Dahmen* i in. 1975; 1976). W obu badaniach przeprowadzonych u samców myszy wykazano obecność uszkodzeń chromosomalnych na wszystkich etapach: spermatogenezy, anomalii mejotycznych oraz zmienionej morfologii plemników (*Moutschen-Dahmen* i in. 1975; 1976).

Ze względu na fakt, iż autorzy tego badania nie zastosowali w eksperymencie grup kontrolnych (pozytywnych i negatywnych), trudno o jednoznaczną interpretację uzyskanych wyników, chociaż fakt oddziaływania but-2-enalu na komórki rozrodcze narażanych myszy wydaje się być oczywisty (MAK 2007).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i dystrybucja

W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych dotyczących wchłaniania but-2-enalu u ludzi.

Z doświadczeń przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych (toksyczność ostra oraz dawki powtarzanej) wynika, że but-2-enal wchłania się: drogą inhalacyjną, z przewodu pokarmowego oraz prawdopodobnie przez skórę.

Na podstawie modelowania komputerowego (modele predykcyjne) *Wilschut* i in. (1995) oraz *Guy* i *Potts* (1993) oszacowali, że szybkość wchłaniania but-2-enalu przez skórę może wynosić $0,326 \div 0,627 \text{ mg/cm}^2/\text{h}$.

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych przez NTP (1985) można stwierdzić, że większość (ok. 78%) but-2-enalu znakowanego izotopem ^{14}C podanego samcom szczurów F344 drogą

dożołądkową w pojedynczych dawkach: 0,7; 3 lub 35 mg/kg mc. ulegało wchłonięciu z przewodu pokarmowego (NTP 1985). Związek nie ulegał kumulacji w organizmie, o czym świadczył fakt braku znaczącej radioaktywności w tkankach po 72 h od podania (NTP 1985).

Metabolizm

Uważa się, że aldehydy są łatwo metabolizowane w wyniku trzech głównych przemian: 1) utleniania do kwasu karboksylowego, 2) redukcji do alkoholi, 3) sprzęgania z grupami sulfhydrylowymi, np. z glutationem (Brabec 1993). Sprzęganie aldehydów alkenowych z glutationem prowadzi do powstania koniugatów glutationu w reakcji addycji Michaela uważanej za główny szlak detoksykacji. W warunkach in vivo, podskórne podanie but-2-enalu prowadziło do obniżenia poziomu zredukowanego glutationu w wątrobie (Oguro i in. 1990). W warunkach in vitro but-2-enal szybko reaguje z grupami tiolowymi komórkowego glutationu w reakcji bezpośredniej oraz w niewielkim stopniu w reakcji katalizowanej enzymatycznie (Boylard, Chasseaud 1967; Gray, Barnsley 1971; Witz i in. 1987; 1988). But-2-enal nie jest łatwo utleniany przez dehydrogenazę aldehydową (Cederbaum, Dicker 1982; Dicker, Cederbaum 1984; Mitchell, Petersen 1993). W badaniach in vitro wykazano, że S-transferaza glutationu katalizuje sprzęganie glutationu z but-2-enalem (Pal i in. 2000).

W wyniku metabolizmu but-2-enalu, w moczu narażanych szczurów stwierdza się obecność kwasu 3-hydroksy-1-metylopropylomerkapturowego ($6 \div 15\%$ podanej dawki) oraz niewielkich ilości kwasu 2-karboksy-1-metyloetylomerkapturowego (Gray, Barnsley 1971).

Wydalenie

Po podaniu dożylnym samcom szczurów F344 but-2-enalu- ^{14}C w dawce 2,8 mg/kg mc. stwierdzono, że główne drogi wydalania to układ oddechowy (powietrze wydychane, z którym w czasie 6 h po podaniu wydzieliło się 31% podanej dawki w postaci $^{14}\text{CO}_2$) oraz nerki (mocz). Z moczem wydzieliło się 37% podanej dawki (NTP 1985). Po 72 h od podania wydalanie z powietrzem wydychanym but-2-enalu w postaci $^{14}\text{CO}_2$ wzrosło do 30%, natomiast z moczem wzrosło do 50%. Obecność radioaktywnego but-2-enalu w moczu po 72 h od podania wynosiła poniżej 1% podanej dawki (NTP 1985). Natomiast po jednorazowym podaniu samcom szczurów but-2-enalu drogą dożołądkową w dawkach: 0,7; 3 lub 35 mg/kg mc. główną drogą wydalania było powietrze wydychane, z którym w postaci $^{14}\text{CO}_2$ w czasie 12 h po podaniu wydzieliło się $60 \div 78\%$ podanej dawki. W ciągu 72 h od podania wydzieliło się tą drogą $82 \div 86\%$ podanego but-2-enalu- ^{14}C . Wydalanie z kałem miało drugorzędne znaczenie i po 72 h od podania dożołądkowego stanowiło u szczurów około 7% podanej dawki (NTP 1985).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

But-2-enal jest związkiem drażniącym na błony śluzowe: oczu, nosa i dróg oddechowych.

Wydaje się, że kluczową rolę ogrywa miejscowe działanie drażniące, a skutki tego działania były widoczne głównie przy narażeniu na związek o takich bardzo dużych stężeniach/dawkach, które spowodowały padnięcie badanych zwierząt w ciągu 2 h. Skutki wynikające z działania drażniącego związku na układ oddechowy są prawdopodobnie związane z działaniem na poziomie oskrzeli (Rinehart 1967).

Pettersson i in. (1982) sugerują, że toksyczność but-2-enalu na układ oddechowy może być częściowo spowodowana także przez zahamowanie ruchu rzęsek w układzie oddechowym.

Mechanizm działania toksycznego but-2-enalu (w tym genotoksycznego) nie został dotąd poznany, ale istotną rolę mogą odgrywać powstające addukty z DNA.

But-2-enal jest związkiem silnie reaktywnym, ze względu na posiadanie funkcyjnej grupy aldehydowej. But-2-enal jest oksydacyjnie przekształcany do epoksydu (2,3-epoksybutanolu), który modyfikuje zasady w DNA (Kurtz, Lloyd 2003). Związkiem pośrednim w reakcji utleniania aldehydu krotonowego jest 3-hydroksybutanol, który reagując z DNA, tworzy addukty typu zasad Schiffa z guanozyną.

Tworzenie adduktów but-2-enalu z białkami oraz z DNA zostało potwierdzone w licznych badaniach zarówno w warunkach in vivo, jak

i in vitro. U szczurów i myszy addukty but-2-enalu z DNA stwierdzono prawie we wszystkich badanych narządach, np. w: skórze, wątrobie, płucach, nerkach, mózgu, komórkach nabłonka jelit oraz leukocytach, co wskazuje na dystrybucję but-2-enalu w organizmie zwierząt (Nath, Chung 1994; Eder i in. 1996; 1999; Nath i in. 1996).

W piśmiennictwie istnieją wyniki badań wskazujące na cytotoksyczność but-2-enalu, podobną jak innych alkenów, które mogą indukować śmierć komórkową po ostrym narażeniu komórek na stres

oksydacyjny, w wyniku wyczerpania puli glutationu. Tylko komórki metabolicznie bogate w glutation i S-transferazę glutationową mogą być efektywnie chronione przed skutkami działania genotoksycznego takich alkenów, jak but-2-enal. Każde zmniejszenie poziomu glutationu może powodować znaczące ukarboxylowanie białek komórkowych i wywoływać w dużym zakresie chroniczne uszkodzenie DNA (Cooper i in. 1987; Eisenbrand i in. 1995).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono wyników badań dotyczących łącznego narażenia na but-2-enal i inne związki chemiczne, przeprowadzonych w warunkach doświadczalnych.

W NIOSH przeprowadzono ocenę ryzyka zdrowotnego w zakładach chemicznych (Sandoz Colors and Chemicals) w East Hanover (New Jersey) na wniosek pracowników, którzy skarżyli się na podrażnienie oczu (Fannick 1982). Osoby zatrudnione w tym zakładzie były jednocześnie narażone na działanie: but-2-enalu, kwasu octowego, aldehydu octowego, 3-hydroksybutanalu oraz 6-ace-toksy-2,4-dimetylo-1,3-dioksanu (dimetoksanu).

Eksperti NIOSH wykonali pomiary stężenia but-2-enalu i innych obecnych w powietrzu związków metodą chromatografii gazowej z detekcją

plamieniowo-jonizacyjną. Pobrano 10 prób (w tym 8 stacjonarnych) powietrza z miejsc, w pobliżu zbiorników z chemikaliami. Średnie stężenie aldehydu w stacjonarnych próbkach powietrza wynosiło 1,6 mg/m³ (0,56 ppm); w zakresie od < 1 do 3,16 mg/m³ (0,35 ÷ 1,1 ppm), (przy stężeniu 1 mg/m³ wyznaczonym jako granica oznaczalności). Natomiast w dwóch pozostałych próbkach stężenie aldehydu wynosiło 2,1 mg/m³ (0,73 ppm) oraz 1,89 mg/m³ (0,66 ppm). W raporcie końcowym stwierdzono, że osoby zatrudnione w zakładzie były równocześnie narażane na działanie wielu czynników drażniących, spośród których wg NIOSH but-2-enal był prawdopodobnie najsilniej działającym drażniącym związkiem (Schaper 1993; Fannick 1982).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Badania prowadzone na kilku gatunkach zwierząt doświadczalnych dostarczyły dowodów, że but-2-enal powoduje głównie działanie drażniące na: oczy oraz błony śluzowe nosa i dróg oddechowych. Podsumowanie skutków działania but-2-enalu, podawanego zwierzętom różnymi drogami w zależności od stosowanej wielkości narażenia, przedstawiono w rozdziale: „Działanie toksyczne na zwierzęta”.

Steinhagen i Barrow (1984) oceniali skutki sensoryczne działania drażniącego różnych aldehydów u myszy B6C3F1 i Swiss-Webster narażanych inhalacyjnie. Autorzy porównywali stężenia, przy których następowało zmniejszenie liczby oddechów o 50% (RD₅₀). Nienasycone aldehydy alifa-

tyczne: formaldehyd, akroleina i but-2-enal (aldehyd krotonowy), okazały się związkami o najsilniejszym działaniu drażniącym, a wyznaczona doświadczalnie wartość RD₅₀ wynosiła odpowiednio u myszy Swiss-Webster: 3,94 mg/m³ (3,2 ppm) dla formaldehydu; 3,24 mg/m³ (1,41 ppm) dla akroleiny; 10,13 mg/m³ (3,53 ppm) dla but-2-enalu oraz u myszy B6C3F1: 6,03 mg/m³ (4,90 ppm) dla formaldehydu; 2,37 mg/m³ (1,03 ppm) dla akroleiny oraz 14 mg/m³ (4,88 ppm) dla but-2-enalu.

Skog (1950) wykonał badania porównawcze działania letalnego (LC₅₀) wybranych aldehydów, w tym: formaldehydu, aldehydu octowego, aldehydu propionowego, aldehydu masłowego, akroleiny oraz but-2-enalu po narażeniu drogą

inhalacyjną. Na podstawie wyników przeprowadzonego badania stwierdził, że w przypadku nasyconych aldehydów alifatycznych siła działania toksycznego tych związków maleje wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej (podobne wyniki uzyskano przy podawaniu tych związków przez iniekcję). Nienasycone aldehydy (akroleina – najbardziej toksyczna oraz but-2-enal) były bardziej toksyczne niż ich nasycone analogi (aldehid propionowy i masłowy). But-2-enal, podobnie jak formaldehyd i akroleina, powodował przede wszystkim skutki związane z działaniem na układ oddechowy (Skog 1950).

Podobne badania przeprowadzili Salem i Culumbine (1960), którzy grupę składającą się z:

50 myszy, 20 świnek morskich i 5 królikach, podali narażeniu na pary i/lub aerozole: akroleiny, but-2-enalu, aldehydu octowego, formaldehydu, aldehydu propionowego i masłowego, do momentu padnięcia zwierząt lub narażanych maksymalnie do 10 h. Na podstawie uzyskanych wyników, stwierdzono, że nienasycone aldehydy: akroleina i but-2-enal działały silniej (w przeliczeniu na średnią dawkę śmiertelną) niż inne nasycone aldehydy. Autopsja u wszystkich narażanych zwierząt wykazała poważne uszkodzenia płuc, które objawiało się: krwotokiem, rozdęciem pęcherzyków płucnych, popękaniem przegród między pęcherzykowych oraz obrzękiem i wydzieliną w płucach.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU ŚRODOWISKA PRACY

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Obowiązujące w Polsce normatywy higieniczne dla but-2-enalu (aldehidu krotonowego z numerem CAS: 4170-30-3 zamieszczonym w rozporządzeniu) dotyczą mieszaniny izomerów i wynoszą odpowiednio: NDS – 6 mg/m³ oraz NDSC – 12 mg/m³, a nie jednego z izomerów, tj. (E)-but-2-enalu, dlatego jest konieczne opracowanie nowej dokumentacji (DzU 2014, poz. 817).

Istniejące wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla mieszaniny izomerów but-2-enalu w Polsce i innych państwach przedstawiono w tabeli 7. W większości państw wartość dopuszczalną dla tego związku ustalono na poziomie 6 mg/m³ (2,1 ppm).

Tabela 7.

Wartości normatywów higienicznych dla mieszaniny izomerów but-2-enalu oraz (E)-but-2-enalu przyjęte w różnych państwach (ACGIH 2001; GESTIS 2014; Rozporządzenie... 2014; RTECS 2014)

Państwo/instytucja/organizacja	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSC, mg/m ³	Wartość NDSP, mg/m ³	Uwagi
Mieszanina izomerów but-2-enalu, numer CAS: 4170-30-3				
Australia	5,7	–	–	
Belgia	–	0,87	–	
Dania	6	12	–	
Finlandia	0,29	0,87 (15 min)	–	
Irlandia	–	0,87 (15min)	–	
Polska	6	12 mg/m ³	–	
USA:				
– ACGIH	–	–	0,86	skin
– NIOSH	6	–	–	
– OSHA	6	–	–	

cd. tab. 7.

Państwo/institucja/organizacja	Wartość NDS, mg/m ³	Wartość NDSP, mg/m ³	Wartość NDSP, mg/m ³	Uwagi
Izomer (E)-but-2-enal, numer CAS: 123-73-9				
Austria	1	4	–	Skin
Dania	6	12	–	Skin
Finlandia	0,29	0,87 (15 min)	–	
Francja	6	–	–	
Hiszpania	–	0,87	–	Skin
Holandia	6	–	–	
Irlandia	6	18 (15 min)	–	
Irlandia	6	18	–	
Islandia	6	–	–	Skin
Szwajcaria	1	–	–	Skin

Objaśnienia:

Grupa A3 (ACGIH) – potwierdzone działanie rakotwórcze związku u zwierząt z nieznanym działaniem u ludzi.

Grupa 3B (Niemcy) – substancje, które w badaniach w warunkach in vitro lub na zwierzętach dostarczyły dowodów na działanie rakotwórcze, które nie są wystarczające do klasyfikacji substancji w jednej z pozostałych kategorii. Konieczne są dalsze badania zanim zostanie podjęta ostateczna decyzja.

Skin – substancja wchłania się przez skórę.

Skóra – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową.

W ACGIH (2001) dla mieszaniny izomerów but-2-enalu ustalono, ze względu na silne działanie drażniące, wartość TLV-C (odpowiednik polskiej wartości pułapowej, NDSP). W uzasadnieniu podano, iż but-2-enal u ochotników działał silnie drażniąco, wywołując łzawienie w ciągu 30 s po narażeniu na związek o stężeniu 11,77 mg/m³ (4,1 ppm), (*Sim, Pattle 1957*). Dla związku wartość RD₅₀ ustalona w badaniach na myszach jest porównywalna z wartością RD₅₀ ustaloną dla formaldehydu (*Steinhagen, Barrow 1984*), dlatego w ACGIH ustalono wartość pułapową TLV-C dla mieszaniny izomerów but-2-enalu na poziomie 0,86 mg/m³ (0,3 ppm) przez analogię do normatywu ustalonego dla formaldehydu, dla którego istnieją obszernie dane na temat działania drażniącego na oczy i górne drogi oddechowe. W ACGIH but-2-enal zaliczono, ze względu na działanie genotoksyczne i kancerogenne na zwierzęta, do grupy A3 (potwierdzona kancerogenność u zwierząt z nieznanym działaniem u ludzi). Dodatkowo, na podstawie wartości LD₅₀ po aplikacji związku na skórę świnkom morskim (*Smyth, Carpenter 1944*), uznano za odpowiednie dodanie oznaczenia „Skin” (substancja wchłania się przez skórę), natomiast brak jest wystarczających danych na oznakowanie „SEN” (działanie uczulające).

W podsumowaniu dokonany przez SCOEL (SUM 180/2013) stwierdzono natomiast, że przy obecnym stanie wiedzy nie można ustalić normatywów higienicznych dla but-2-enalu (w dokumentacji wymieniono nr CAS dla mieszaniny izomerów oraz dla dwóch izomerów). Za mało jest również danych dotyczących potencjalnego działania uczulającego związku. Zaproponowano natomiast oznaczenie „skin” na podstawie małych wartości LD₅₀ but-2-enalu, wyznaczonych dla królików i świnek morskich po narażeniu drogą dermalną, podobnych lub nawet mniejszych niż wartości uzyskane dla szczurów i myszy po podaniu drogą dożołądkową. Również dane dotyczące działania rakotwórczego but-2-enalu dla zwierząt doświadczalnych nie są przekonujące, jednak ze względu na właściwości genotoksyczne związku nie można takiego działania wykluczyć.

Podobne wnioski dotyczące działania rakotwórczego but-2-enalu na zwierzęta znajdują się w uzasadnieniu MAK-Commission. Również z powodu braku wiarygodnych danych nie jest możliwe potwierdzenie potencjalnego działania kancerogennego, dlatego but-2-enal został zaliczony do kategorii rakotwórczości 3.B, czyli związków, dla których badania w warunkach in vitro lub na zwierzętach dostarczyły dowodów dotyczących działa-

nia rakotwórczego, lecz niewystarczających do zakwalifikowania związku do innej grupy rakotwórczości. But-2-enal zakwalifikowano do kategorii 3.B jako mutagen dla komórek rozrodczych (*germ cell mutagen*). Ze względu na właściwości genotoksyczne but-2-enalu nie ustalono wartości MAK.

Małe wartości LD₅₀ but-2-enalu po podaniu dermalnym dwóm gatunkom zwierząt oraz wyniki modeli predykcyjnych wskazują na wchłanianie związku przez skórę i znaczące ryzyko przy narażeniu tą drogą, dlatego też związek został oznaczony symbolem „H” (wchłania się przez skórę). Natomiast z powodu braku wiarygodnych dowodów na działanie uczulające zarówno kontaktowe, jak i na drogi oddechowe, nie oznaczono but-2-enalu żadnym symbolem związanym z działaniem alergizującym.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Z przedstawionych w niniejszej dokumentacji danych wynika, że głównym skutkiem działania but-2-enalu zarówno na ludzi, jak i na zwierzęta doświadczalne było działanie drażniące na oczy i błonę śluzową dróg oddechowych, a szczególnie nosa.

Za skutek krytyczny przyjęto działanie drażniące but-2-enalu (aldehydu krotonowego) na błony śluzowe oczu i drogi oddechowe.

Za podstawę wyliczenia wartości NDS but-2-enalu (mieszaniny izomerów) przyjęto niski próg detekcji zapachu związku (wartość OT₅₀ ≈ 0,20 mg/m³) oraz wyniki badania *Steinhagen* i *Barrow* (1984), w którym oceniano częstość oddechów u dwóch szczepów myszy. Uzyskane wartości RD₅₀ różniły się nieznacznie i wynosiły dla szczepu Swiss Webster 3,5 ppm, natomiast dla szczepu B6C3F1 – 4,9 ppm. W celu ustalenia wartości NDS przyjęto 1/10 wartości RD₅₀, tj. 10,05 mg/m³ (3,5 ppm). Uznano, że wartość NDS dla substancji o działaniu drażniącym stanowi 1/10 ÷ 1/100 wartości RD₅₀. Ponieważ but-2-enal jest związkiem działającym drażniąco, za wartość NDS przyjęto 1/10 wartości RD₅₀, stąd obliczona na podstawie wzoru wartość NDS wynosi:

$$\text{NDS} = 1/10 \cdot 10,05 \text{ mg/m}^3 = 1,005 \text{ mg/m}^3 \approx 1 \text{ mg/m}^3.$$

Do wyprowadzenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh), wartości niezbędnej ze względu na silne działanie drażniące but-2-enalu oraz możliwość występowania stężeń pikowych w środowisku pracy, przyjęto równanie:

$$\log \text{NDSCh} = \log \text{NDS} + u(P) \cdot \log S_g,$$

w którym:

$u(P) = 1,53$, współczynnik związany z prawdopodobieństwem przekroczenia wartości krótkoterminowej,

S_g – standardowe geometryczne odchylenie w granicach 1,5 ÷ 2,0,

$\log S$ – w granicach 0,18 ÷ 0,30.

Podstawiając wartości przyjętych współczynników do wzoru, otrzymujemy:

$$\text{NDSCh} = 1,859 \cdot 1,0 \div 2,888 \cdot 1,0$$

$$\text{NDSCh} = 1,859 \div 2,888$$

$$\text{NDSCh} = 2 \text{ mg/m}^3.$$

Ze względu na fakt, że but-2-enal działał genotoksycznie oraz rakotwórczo na zwierzęta doświadczalne, co było przyczyną, dla której nie ustalono wartości normatywu w SCOEL i w Niemczech – zaproponowano przyjęcie wartości NDS dla but-2-enalu (mieszaniny izomerów) na poziomie 1,0 mg/m³ oraz wartości NDSCh na poziomie 2 mg/m³. Takie same wartości zaproponowano dla dwóch izomerów związku – *E(trans)* i *Z(cis)*.

Na podstawie zharmonizowanej klasyfikacji but-2-enalu, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP), (tab. 1.) oraz wartości DL₅₀ wyznaczonych dla świnki morskiej i królika przy narażeniu drogą dermalną (tab. 3.), a także na podstawie wchłaniania but-2-enalu przez skórę w modelach predykcyjnych (*Wilschut* i in. 1995; *Guy, Potts* 1993) normatyw oznakowano „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak obserwowane przy narażeniu drogą oddechową, a także literą „I” – substancja o działaniu drażniącym.

PIŚMIENNICTWO

- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001). Crotonaldehyde. In Documentation of the threshold limit values and biological 26 Exposure Indices, 7th ed. Cincinnati, OH.
- Alarie Y., Schaper M., Nielsen G., Abraham M. (1998). Structure-activity relationships of volatile organic chemicals as sensory irritants. Archives of Toxicology 72(3), 125–140.
- Amoore J.E., Hautala E. (1983). Odor as an aid to chemical safety: odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial in air and water dilution. Journal of Applied Toxicology 3(6), 272–290.
- Anonymous (2002). Conceptual design of a sorbates facility in southern Africa. Dowerglen, South Africa. GradChem Solutions [http://www.gradchem.com/projects/sorbic.html].
- ATSDR (2002). ToxFAQs™ for crotonaldehyde. Atlanta, GA, Agency for Toxic Substances and Disease Registry [http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts180.html].
- Babiuk C., Steinhagen W.H., Barrow C.S. (1985). Sensory irritation response to inhaled aldehydes after formaldehyde pretreatment. Toxicol. Appl. Pharmacol. 79(1), 143–149.
- Benamira M., Marnett L.J. (1992). The lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal is a potent inducer of the SOS response. Mutat. Res. 293(1), 1–10.
- Bittersohl G. (1974). Epidemiologische Untersuchungen über Krebserkrankungen bei Arbeiter mit Aldol und aliphatischen Aldehyden (Epidemiologic investigations on cancer incidence in workers in contact with acetaldol and other aliphatic aldehydes). German. Arch. Geschwulstforsch 43, 172–176.
- Blau W., Baltés H., Mayer D. (1987). Crotonaldehyde and crotonic acid. [Red.] W. Gerhartz, Y.S. Yamamoto, L. Kaudy, R. Pfefferkorn, J.F. Rounsaville. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 5th ed. VCH Verlag 83–90.
- Boyland E., Chasseaud L. (1967). Enzyme-catalysed conjugations of glutathione with unsaturated compounds. Biochemical Journal 104, 95–101.
- Brabec M.J. (1993). Aldehydes and acetals. [Red.] G.D. Clayton, F.E. Clayton. Patty's industrial hygiene and toxicology. 4th ed. Vol. 2A. New York, NY, John Wiley and Sons, 283–327.
- BUA (1993). Crotonaldehyde. GDCh-Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance (BUA), Weinheim, VCH, 1–1132 [BUA Report 98], [English translation published in 1994].
- Budavari S., O'Neil M.J., Smith A., Heckelman P.E., Kinneary J.F. (1996). [W:] The Merck index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 12th ed. Whitehouse Station, NJ, Merck 439.
- Budiawan H., Eder E. (2000). Detection of 1,N²-propanodeoxyguanosine adducts in DNA of Fischer 344 rats by an adapted 32P-postlabeling technique after *per os* application of crotonaldehyde. Carcinogenesis 21, 1191–1196.
- Cederbaum A., Dicker E. (1982). Evaluation of the role of acetaldehyde in the actions of ethanol on gluconeogenesis by comparison with the effects of crotonol and crotonaldehyde. Alcoholism, Clinical and Experimental Research 6(1), 100–109.
- Chung F.L., Young R., Hecht S.S. (1989). Detection of cyclic 1,N²-propanodeoxyguanosine adducts in DNA of rats treated with N-nitrosopyrrolidine and mice treated with crotonaldehyde. Carcinogenesis 10, 1291–1297.
- Chung F.L., Tanaka T., Hecht S.S. (1986). Induction of liver tumors in F344 rats by crotonaldehyde. Cancer Res. 46(3), 1285–1289.
- Cooper K.O., Witz G., Witmer C.M. (1987). Mutagenicity and toxicity studies of several α,β -unsaturated aldehydes in the Salmonella typhimurium mutagenicity assay. Environ. Mutagen 9, 289–295.
- Crotonaldehyde (1996). [W:] Handbook of environmental data on organic chemicals. [Red.] K. Verschueren. New York, Van Nostrand Reinhold, 3rd ed. 552–553.
- Czerny C., Eder E., Rüniger T.M. (1998). Genotoxicity and mutagenicity of the α,β -unsaturated carbonyl compound crotonaldehyde (butenal) on a plasmid shuttle vector. Mutat. Res. 407, 125–134.
- Dalla Vale J.M., Dudley H.C. (1939). Evaluation of odor nuisance in the manufacture of kraft paper. Public. Health Rep. 54, 35–43.
- Dicker E., Cederbaum A. (1984). Inhibition of the oxidation of acetaldehyde and formaldehyde by hepatocytes and mitochondria by crotonaldehyde. Archives of Biochemistry and Biophysics 234(1), 187–196.
- Dittberner U., Eisenbrand G., Zankl H. (1995) Genotoxic effects of the α,β -unsaturated aldehydes 2-trans-butenal, 2-trans-hexenal and 2-trans-, 6-cis-nonadienal. Mutat. Res. 335, 259–265.
- Rozporządzenie 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 dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (ze zm.). Dz. Urz. UE 2008 (L 353).

- Eder E., Budiawan H., Schuler D. (1996). Crotonaldehyde: a carcinogenic and mutagenic air, water and food pollutant. *Central European Journal of Public Health* 4(suppl.) 21–22.
- Eder E., Deininger C., Neudecker T., Deininger D. (1992). Mutagenicity of alkyl substituted acrolein congeners in the *Salmonella typhimurium* strain TA100 and genotoxicity testing in the SOS chromotest. *Environ. Mol. Mutagen* 19, 338–345.
- Eder E., Scheckenbach S., Deininger C., Hoffman C. (1993). The possible role of α,β -unsaturated carbonyl compounds in mutagenesis and carcinogenesis. *Toxicol. Lett* 67, 87–103.
- Eder E., Schuler D., Budiawan (1999). Cancer risk assessment for crotonaldehyde and 2-hexenal: an approach. [W:] Exocyclic DNA adducts in mutagenesis and carcinogenesis. [Red.] B. Singer, H. Bartsch. Lyon, International Agency for Research on Cancer 219–232 (IARC Scientific Publications nr 150).
- Eisenbrand G., Schuhmacher J., Golzer P. (1995). The influence of glutathione and detoxifying enzymes on DNA damage induced by 2-alkenals in primary rat hepatocytes and human lymphoblastoid cells. *Chemical Research in Toxicology* 8(1), 40–46.
- EPA, Environmental Protection Agency (1999). Guidelines for carcinogen risk assessment. Review draft. NCEA-F-0644. Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC. July 1999 [online]. Available.
- Fairhall L.T. Crotonaldehyde (1957). [W:] Industrial toxicology. Williams and Wilkins, 2nd ed. Baltimore, MD, USA.
- Fannick N. (1982). Health hazard evaluation report: sandoz colors and chemicals. East Hanover, New Jersey, HETA-81-102-1244. National Institute for Occupational Safety and Health. Cincinnati, OH.
- Fernandes P.H., Kanuri M., Nechev L.V., Harris T.M., Lloyd R.S. (2005). Mammalian cell mutagenesis of the DNA adducts of vinyl chloride and crotonaldehyde. *Environ. Mol. Mutagen* 45, 455–459.
- Fieldner A.C., Sayers W.P., Yant B.G.H. (1954). [W:] Vrednye vetchestva v promyshlennosti [as cited in Trofimov 1962] 393.
- Florin I., Rutberg L., Curvall M., Enzell C.R. (1980). Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames test. *Toxicology* 18, 219–232.
- Foiles P.G., Akerkar S.A., Miglietta L.M., Chung F.L. (1990). Formation of cyclic deoxyguanosine adducts in Chinese hamster ovary cells by acrolein and crotonaldehyde. *Carcinogenesis* 11, 2059–2061.
- Galloway S.M., Armstrong M.J., Reuben C., Colman S., Brown B., Cannon C., Bloom A.D., Nakamura F., Ahmed M., Resnik M.A., Anderson B., Zeiger E. (1987). Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluations of 108 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen* 10, suppl. 10, 1–175.
- Gölzer P., Jankowski C., Pool-Zobel B., Eisenbrand G. (1996). (E)-2-Hexenal-induced DNA damage and formation of cyclic 1,N²-(1,3-propano)-2'-deoxyguanosine adducts in mammalian cells. *Chem. Res. Toxicol.* 9, 1207–1213.
- Gray J., Barnsley E. (1971) The metabolism of crotyl phosphate, crotyl alcohol and crotonaldehyde. *Xenobiotica* 1(1), 55–67.
- Guy R.H., Potts R.O. (1993). Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am. J. Ind. Med.* 23, 711–719.
- Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K., Speck W., Zeiger E. (1983). Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ. Mutagen.* 1, 3–142.
- Hecht S.S., McIntee E.J., Wang M. (2001a). New DNA adducts of crotonaldehyde and acetaldehyde. *Toxicology* 166, 31–36.
- Hecht S.S., McIntee E.J., Cheng G., Shi Y., Villata P.W., Wang M. (2001b). New aspects of DNA adduct formation by the carcinogens crotonaldehyde and acetaldehyde. Biological reactive intermediates VI. [W:] Advances in experimental medicine and biology 500, 63–71.
- Hoechst AG (1979a). Ames-Test Crotonaldehyd Code 280/78 (Ames test crotonaldehyde), (German). Report nr 41/79 A. Hoechst AG, Frankfurt [unpublished].
- Hoechst AG (1979b). Ames-Test Crotonaldehyd (Ames test crotonaldehyde), (German). Report nr 766/79 A. Hoechst AG, Frankfurt [unpublished].
- Hoechst AG (1980a). Ames-Test Crotonaldehyd (Ames test crotonaldehyde), (German). Report nr 141/80 A. Hoechst AG, Frankfurt [unpublished].
- Hoechst AG (1980b). Bericht über die Prüfung von Crotonaldehyd auf mutagene Wirkung im Mikronukleus-Test an NMRI-Mäusen nach oraler Verabreichung (Report on the testing of crotonaldehyde in the micronucleus test for mutagenic effect on NMR-1 mice after oral administration) [German]. Report nr 53/80. Hoechst AG, Frankfurt [unpublished].
- Hoechst AG (1981). Intravascular mouse host-mediated-assay of crotonaldehyde. Litton Bionetics, Inc, LBI Project nr 20998. Sponsor Hoechst AG. Report nr 06/81. Hoechst AG, Frankfurt [unpublished].
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1995). Crotonaldehyde. [W:] Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Lyon, International Agency for Research on Cancer 63, 373–391.

- Ikeda A., Horiguchi U., Koyoshi K.* (1980). Research of the effect of air pollution. 2. Studies on biological effects of carbohydrates (on aldehydes) [in Japanese]. *Kanagawaken Taiki Osen Chosa Kenkyu Hokoku* 22, 193–196.
- Jha A.M., Kumar M.* (2006). In vivo evaluation of induction of abnormal sperm morphology in mice by an unsaturated aldehyde crotonaldehyde. *Mutation Research* 603(2), 159–163.
- Kawanishi M., Matsuda T., Sasaki G., Yagi T., Matsui S., Takebe H.* (1998). A spectrum of mutations induced by crotonaldehyde in shuttle vector plasmids propagated in human cells. *Carcinogenesis* 19, 69–72.
- Kennedy G., Graepel G.* (1991). Acute toxicity in the rat following either oral or inhalation exposure. *Toxicology Letters* 56, 317–326.
- Kuchenmeister F., Schmezer P., Engelhardt G.* (1998). Genotoxic bifunctional aldehydes produce specific images in the comet assay. *Mutat. Res.* 419, 69–78.
- Kurtz A.J., Lloyd R.S.* (2003). 1,N-Deoxyguanosine adducts of acrolein, crotonaldehyde, and trans-4-hydroxynonenal cross-link to peptides via schiff base linkage. *Journal of Biological Chemistry* 278, 5970–5976.
- Kuykendall J.R., Bogdanffy M.S.* (1992). Efficiency of DNA – histone crosslinking induced by saturated and unsaturated aldehydes in vitro. *Mutat. Res.* 283, 131–136.
- Lijinsky W., Andrews A.W.* (1980). Mutagenicity of vinyl compounds in *Salmonella typhimurium*. *Terto Carcino. Mutagen* 1, 259–267.
- MAK Commission (2007). 2-Butenal (crotonaldehyd). [W:] Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung vom MAK-Werten. Weinheim, Wiley-VCH Verlag.
- Marnett L., Hurd H.K., Hollstein M.C., Levin D.E., Esterbauer H., Ames B.N.* (1985). Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in the *Salmonella* tester strain TA104. *Mutat. Res.* 148, 25–34.
- Mitchell D.Y., Petersen D.R.* (1993). Inhibition of rat liver mitochondrial and cytosolic aldehyde dehydrogenases by crotonaldehyde. *Drug. Metabolism and Disposition* 21(2), 396–399.
- Morrison R.T., Robert N., Boyd R.N.* (1985). *Chemia organiczna*. Warszawa, PWN, T. 1, 806–807.
- Moutschen-Dahmen J., Moutschen-Dahmen M., Degraeve N., Houbrechts N., Collizzi A.* (1975). Proceedings: Genetical hazards of aldehydes from mouse experiments. *Mutation Research* 29, 58–72.
- Moutschen-Dahmen J., Moutschen-Dahmen M., Houbrechts N., Colizzi A.* (1976). Cyto-toxicité et mutagenicité de deux aldéhydes: crotonaldéhyde et butylaldéhyde chez la souris. *Bull. Soc. Roy. Sci. Liège* 45, 58–72.
- Nath R.G., Ocando J.E., Chung F.L.* (1996). Detection of 1-N²-propanodeoxyguanosine adducts as potential endogenous DNA lesions in rodent and human tissues. *Cancer Research* 56, 452–456.
- Nath R.G., Chung F.* (1994). Detection of exocyclic 1,N²-propanodeoxyguanosine adducts as common DNA lesions in rodents and humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91(16), 7491–7495.
- Neudecker T., Eder E., Deininger C., Henschler D.* (1989). Crotonaldehyde is mutagenic in *Salmonella typhimurium* TA100. *Environ. Mol. Mutagen.* 14, 146–148.
- Neudecker T., Lutz D., Eder E., Henschler D.* (1981). Crotonaldehyde is mutagenic in a modified *Salmonella typhimurium* mutagenicity testing system. *Mutat. Res.* 91, 27–31.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (2002). Ethylenediamine. [W:] NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards. NIOSH 2002-140. National Institute for Occupational Safety and Health, Public Health Service. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Cincinnati, OH.
- NTP, National Toxicology Program (1985). Adsorption, disposition, metabolism and excretion of crotonaldehyde. Prepared by A.R. Jeffcoat. Chemistry and Life Sciences, for National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC.
- Oguro T., Yoshida T., Numazawa S., Kuroiwa Y.* (1990). Possible role of glutathione depletion in the induction of rate-limiting enzymes involved in heme degradation and polyamine biosynthesis in the liver of rats. *Journal of Pharmacobio-Dynamics* 13, 628–636.
- Pal A., Hu X., Zimniak P., Singh S.* (2000). Catalytic efficiencies of allelic variants of human glutathione S-transferase Pi in the glutathione conjugation of α,β -unsaturated aldehydes. *Cancer Letters* 154(1), 39–43.
- Pettersson B.M., Curvall M., Enzell C.R.* (1982). Effects of tobacco smoke compounds on the ciliary activity of the embryo chicken trachea in vitro. *Toxicology* 23(1), 41–55.
- Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for 2-butenal, SCOEL/SUM/180/2013.
- Rinehart W.E.* (1967). The effect on rats of single exposures to crotonaldehyde vapor. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 28(6), 561–566.
- RTECS, Registry of Toxic Effects on Chemical Substances (2014). 2-Butenal.
- Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 6.06.2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2014, poz. 817.

- Ruiz-Rubio M., Hera C., Pueyo C. (1984). Comparison of a forward and a reverse mutation assay in *Salmonella typhimurium* measuring L-arabinose resistance and histidine prototrophy. *EMBO J* 3, 1435–1440.
- Ruth J.H. (1986). Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances. A review. *Am. Ind. Hyg. Assoc.* 47(3), 142–151.
- Salem H., Cullumbine H. (1960). Inhalation toxicities of some aldehydes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2, 183–187.
- Schaper M. (1993). Development of a database for sensory irritants and its use in establishing occupational exposure limits. *American Industrial Hygiene Association Journal* 54(9), 488–544.
- Schulz R.P., Blumenstein J., Kohlpaintner C. (2005). Crotonaldehyde and crotonic acid. [W:] *Ullmann's Encyclopedia of chemical technology*. Weinheim, Wiley.
- Sim V.M., Pattle R.E. (1957). Effect of possible smog irritants on human subjects. *JAMA* 165(15), 1908–1913.
- Skog E. (1950). A toxicological investigation of lower aliphatic aldehydes. *Acta Pharmacologica et Toxicologica* 6, 299–318.
- Skog E. (1952). Anaesthetic and haemolytic action of lower aliphatic aldehydes and their effect on respiration and blood pressure. *Acta Pharmacologica et Toxicologica* 8, 275–289.
- Smyth H., Carpenter C. (1944). The place of the range finding test in the industrial toxicology laboratory. *Journal of Industrial Hygiene and Toxicology* 26(8), 269–273.
- Steinhagen W.H., Barrow C.S. (1984). Sensory irritation structure-activity study of inhaled aldehydes in B6C3F1 and Swiss-Webster mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 72, 495–503.
- Tepikina L.A., Skvortsova E.L., Shipulina Z.V., Kartashova A.V., Mol'kov I.U.N., Sizova N.N. (1997). Substantiation of MAC for crotonaldehyde in environmental air [in Russian]. *Gig. Sanit.* 3, 3–5.
- Trofimov L.V. (1962). Comparative toxic action of crotonaldehyde and butyraldehyde [in Russian]. *Gig. Tr. Prof. Zabol.* 6, 34–40.
- van Doorn R., Ruijten M., van Harreveld T. (2002). Guidance for the application of odor in 22 chemical emergency response. Version 2.1., August 29.
- von Tungeln L., Yi P., Bucci T., Samokyszyn V., Chou M., Kadlubar F., Fu P. (2002). Tumorigenicity of chloral hydrate, trichloroacetic acid, trichloroethanol, malondialdehyde, 4-hydroxy-2-nonenal, crotonaldehyde, and acrolein in the B6C3F1 neonatal mouse. *Cancer Letters* 185(1), 13–19.
- Voronin V., Bel'gova I., Voronkova L., Grigor'ev O., Zhdanov V., Nezhentsev M., Antelava N., Gusel V., Roleder A. (1982). Korrektur der Toxizitätsbefunde über Crotonaldehyde (CA; Technische Vorschriften TU 6-09-3667-74). *Gigiena truda i professional'nye zabolovaniia* 26(8), 53–54 [abstract].
- Wang M., McIntee E.J., Cheng G., Shi Y., Villata P.W., Hecht S.S. (2001). A Schiff base is major DNA adduct of crotonaldehyde. *Chem. Res. Toxicol.* 14, 423–430.
- Williams G.M., Mori H., McQueen C.A. (1989). Structure-activity relationships in the rat hepatocyte DNA-repair test for 300 chemicals. *Mutat. Res.* 221, 263–286.
- Wilschut A., ten Berge W.F., Robinson P.J., McKone T.E. (1995). Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30, 1275–1296.
- Wilson V., Foiles P.G., Chung F.L., Povey A.C., Frank A.A., Harris C.C. (1991). Detection of acrolein and crotonaldehyde DNA adducts in cultured human cells and canine peripheral blood lymphocytes by 32P-postlabeling and nucleotide chromatography. *Carcinogenesis* 12, 1483–1490.
- Witz G., Lawrie N., Amoruso M., Goldstein B. (1987). Inhibition by reactive aldehydes of superoxide anion radical production from stimulated polymorphonuclear leukocytes and pulmonary alveolar macrophages. *Biochemical Pharmacology* 36(5), 721–726.
- Witz G., Lawrie N., Goldstein B., Ryer-Powder J., Amoruso M. (1988). Effects of α,β -unsaturated aldehydes on macrophage and neutrophil membrane function, fluidity and sulfhydryl status. *Basic Life Sciences* 49, 849–851.
- Wolfe G., Rodwin M., French J., Parker G. (1987). Thirteen week subchronic toxicity study of crotonaldehyde (CA) in F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicologist* 7, 209.
- Woodruff R.C., Mason J.M., Valencia R., Zimmering S. (1985). Chemical mutagenesis testing in *Drosophila* V. Results of 53 coded compounds tested for the National Toxicology Program. *Environ. Mutagen.* 7, 677–702.
- Zhen X., Guo J., Sun M., Wu D. (1985). The toxic interaction between acetaldehyde and crotonaldehyde. *Chinese Journal of Preventive Medicine* 19(5), 278–280.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA BUT-2-ENAL - MIESZANINĘ IZOMERÓW

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

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy i błony śluzowe oczu.
Badania pomocnicze: spirometria.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy i błony śluzowe oczu.
Badania pomocnicze: spirometria, a w zależności od wskazań badanie okulistyczne i laryngologiczne.
Częstotliwość badań okresowych: co roku lub co 2 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badania 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.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy i błony śluzowe oczu.
Badania pomocnicze: spirometria, a w zależności od wskazań badanie okulistyczne i laryngologiczne.

Narządy (układy) krytyczne

Narządami krytycznymi podczas pracy w narażeniu na but-2-enal są:

- układ oddechowy
- narząd wzroku.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na but-2-enal są:

- astma oskrzelowa
- przewlekła obturacyjna choroba płuc
- przewlekłe przerostowe i zanikowe zapalenie błon śluzowych górnych dróg oddechowych
- przewlekłe stany zapalne błon śluzowych oczu.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

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

Ze względu na działanie drażniące na układ oddechowy, w badaniu podmiotowym należy uwzględnić wywiad w kierunku nałogu palenia papierosów.