

Toxicita anilin hydrochloridu a persulfátu amonného

Jana Hrušková

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana HRUŠKOVÁ**

Osobní číslo: **T10849**

Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**

Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**

Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Toxicita anilin hydrochloridu a persulfátu amonného**

Zásady pro vypracování:

Studentka se seznámí s dosud publikovanými informacemi o biologických vlastnostech prekurzorů polyanilinu. V teoretické části práce zpracuje informace o možném působení látek na lidský organismus. Prakticky se seznámí s prací v laboratoři buněčných kultur a osvojí si základní praktiky práce v laboratoři. V praktické části bude provedena série testů vlivu anilin hydrochloridu a persulfátu amonného na lidské buňky za využití in vitro technik buněčné kultivace.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Molecular Cell Biology (6th edition) ISBN-10: 0716776014

Cell Biology (Third Edition) ISBN: 978-0-12-164730-8

Farmakologie a toxikologie ISBN: 80-247-0836-1

Culture of Animal Cells ISBN: 978-0-471-45329-1

Bioactive Surfaces ISBN: 978-3-642-20154-7

Biological and Biomedical Coatings Handbook ISBN: 978-1-4398-4996-5

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 28. 5. 2013

Jana Hrušková

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá toxicitou dvou látek, konkrétně anilin hydrochloridu a amonium persulfátu, které tvoří základ pro výrobu vodivého polymeru polyanilinu. Teoretická část je zaměřena vedle toxicity těchto látek i na toxikologii samotnou. V praktické části je vyhodnocován vliv anilin hydrochloridu a amonium persulfátu na viabilitu buněčné linie keratinocitů HaCaT.

Klíčová slova: toxicita, amonium persulfát, anilin hydrochlorid, polyanilin, buněčná linie HaCaT

ABSTRACT

This bachelor's thesis deals with toxicity of two chemical substances, namely aniline hydrochloride and ammonium persulfate, which forms the basis of polyaniline production. The theoretic part is focused on toxicity of these chemical substaces and toxikology itself. In the practical part the influence of aniline hydrochloride and ammonium persulfate on the viability of the keratinocyte cell line HaCaT is evaluated.

Keywords: toxicity, ammonium persulphate, aniline hydrochloride, polyaniline, cell line HaCaT

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především vedoucímu mé bakalářské práce, panu Ing. Petru Humpolíčkovi, Ph.D., za ochotu, trpělivost, cenné rady a odborné vedení při vzniku této práce. Mé poděkování patří také Ing. Zdence Kucekové za vstřícný přístup a ochotu při předávání zkušeností z práce v laboratoři buněčných kultur.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 POLYANILIN	12
1.1 FORMY	12
1.2 PŘÍPRAVA.....	13
2 ANILIN HYDROCHLORID	14
2.1 STRUKTURA	14
2.2 FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI (PŘI 20 °C).....	14
2.3 TOXICITA ANILINHYDROCHLORIDU	14
3 AMONIUM PERSULFÁT	15
3.1 STRUKTURA	15
3.2 FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI (PŘI 20 °C).....	15
3.3 POUŽITÍ	15
3.4 TOXICITA AMONIUM PERSULFÁTU	16
4 TOXIKOLOGIE	17
4.1 DEFINICE OBORU	17
4.2 VYMEZENÍ ZÁKLADNÍCH POJMŮ	17
4.3 HISTORIE TOXIKOLOGIE	18
4.4 TOXICKÉ ÚČINKY	19
4.4.1 Podráždění kůže a sliznic, místní účinek	19
4.4.2 Narkotický účinek, celkové působení	21
4.4.3 Inhibice přenosu kyslíku	21
4.4.4 Inhibice funkce enzymů	21
4.4.5 Indukce činnosti enzymů.....	22
4.4.6 Imunotoxicita	23
4.4.7 Teratogenita.....	24
4.4.8 Genotoxicita	25
4.4.9 Karcinogenita	26
4.5 OSUD CIZORODÝCH LÁTEK V ORGANISMU.....	27
4.5.1 Absorpce.....	27
4.5.2 Distribuce	29
4.5.3 Biotransformace	30
4.5.4 Vylučování	31
4.5.5 Interakce s místem účinku.....	31
4.6 PŮSOBENÍ JEDŮ	32
4.6.1 Působení na úrovni molekul, receptory, cílové molekuly	32
4.6.2 Působení na subcelulární úrovni	33
4.6.3 Působení na úrovni buněk	35
5 TOXICITA ANILIN HYDROCHLORIDU	36

5.1	SUBCHRONICKÁ TOXICITA.....	36
5.2	KARCINOGENITA	36
5.3	TERATOGENITA	37
6	TOXICITA AMONIUM PERSULFÁTU	38
6.1	AKUTNÍ TOXICITA	38
6.2	TOXICITA PŘI OPAKOVANÉM PODÁNÍ APS (REPEATED DOSE TOXICITY).....	38
6.3	PODRÁŽDĚNÍ KŮŽE A SLIZNIC	39
6.4	GENOTOXICITA.....	39
6.5	KARCINOGENITA	40
7	TOXICITA OLIGOMERŮ ANILINU.....	41
II	PRAKTICKÁ ČÁST	42
8	MATERIÁL A METODIKA	43
8.1	ANILIN HYDROCHLORID A AMONIUM PERSULFÁT	43
8.2	POUŽITÉ BUNĚČNÉ LINIE	43
8.3	POUŽITÉ PŘÍSTROJE	43
8.4	EXPERIMENTÁLNÍ USPOŘÁDÁNÍ.....	43
8.4.1	Příprava roztoků AH, APS	43
8.4.2	Prekultivace buněk	44
8.4.3	Přidávání roztoků	44
8.4.4	MTT test.....	44
8.4.5	Fluorescenční mikroskopie	45
9	VÝSLEDKY	46
9.1	PH JEDNOTLIVÝCH ROZTOKŮ.....	46
9.2	CYTOTOXICITA AMONIUM PERSULFÁTU	47
9.3	CYTOTOXICITA ANILIN HYDROCHLORIDU.....	51
	CYTOTOXICITA ANILIN HYDROCHLORIDU S UPRAVENÝM PH.....	55
9.4	SROVNÁNÍ CYTOTOXICITY AMONIUM PERSULFÁTU A ANILIN HYDROCHLORIDU	56
10	DISKUZE	57
	ZÁVĚR	60
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	61
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	70
	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
	SEZNAM TABULEK.....	72
	SEZNAM GRAFŮ	73
	SEZNAM PŘÍLOH.....	74

ÚVOD

Hlavním cílem této bakalářské práce je stanovení cytotoxicity dvou látek, a sice amonium persulfátu a anilin hydrochloridu. Jedná se o výchozí látky pro výrobu polyanilinu, vodivého polymeru, který má aktuálně velký potenciál pro využití v medicínských aplikacích. Jako jeho výchozí složky se tyto chemické látky v malém množství vyskytují i v hotovém polyanilinu a ovlivňují tak jeho biokompatibilitu.

Z tohoto důvodu byly tyto látky zvoleny pro výzkum praktické části mé práce. Smyslem zkoumání tedy bude zejména zjištění koncentrací, které by již ve výsledném polymeru nepůsobily toxicky, čehož bude dosaženo pomocí testu MTT a pozorováním fluorescenční mikroskopii. Metoda MTT využívá absorbance stejnojmenné látky (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazolium bromid) k vyhodnocení počtu živých buněk, které byly dříve vystaveny působení potenciálně toxické látky. Výsledky získané tímto postupem budou doplněny o názorné grafy, statisticko-matematické vyhodnocení a mikrofotografie buněk vystavených jednotlivým koncentracím testované látky. V testu MTT bude použito buněčné linie lidských keratinocytů HaCaT, při pozorování pomocí fluorescenční mikroskopie myšších fibroblastů NIH/3T3.

V teoretické části budou, na základě výsledků jednotlivých toxikologických studií prováděných v minulosti, objasněny již známé toxické vlivy amonium persulfátu a anilin hydrochloridu, které doplní výsledky praktické části. Pro pochopení působení těchto látek zde budou vysvětleny jednotlivé typy toxických účinků a mechanismy, jakými se cizorodé látky do organismu dostávají a kterými v něm působí.

I. TEORETICKÁ ČÁST

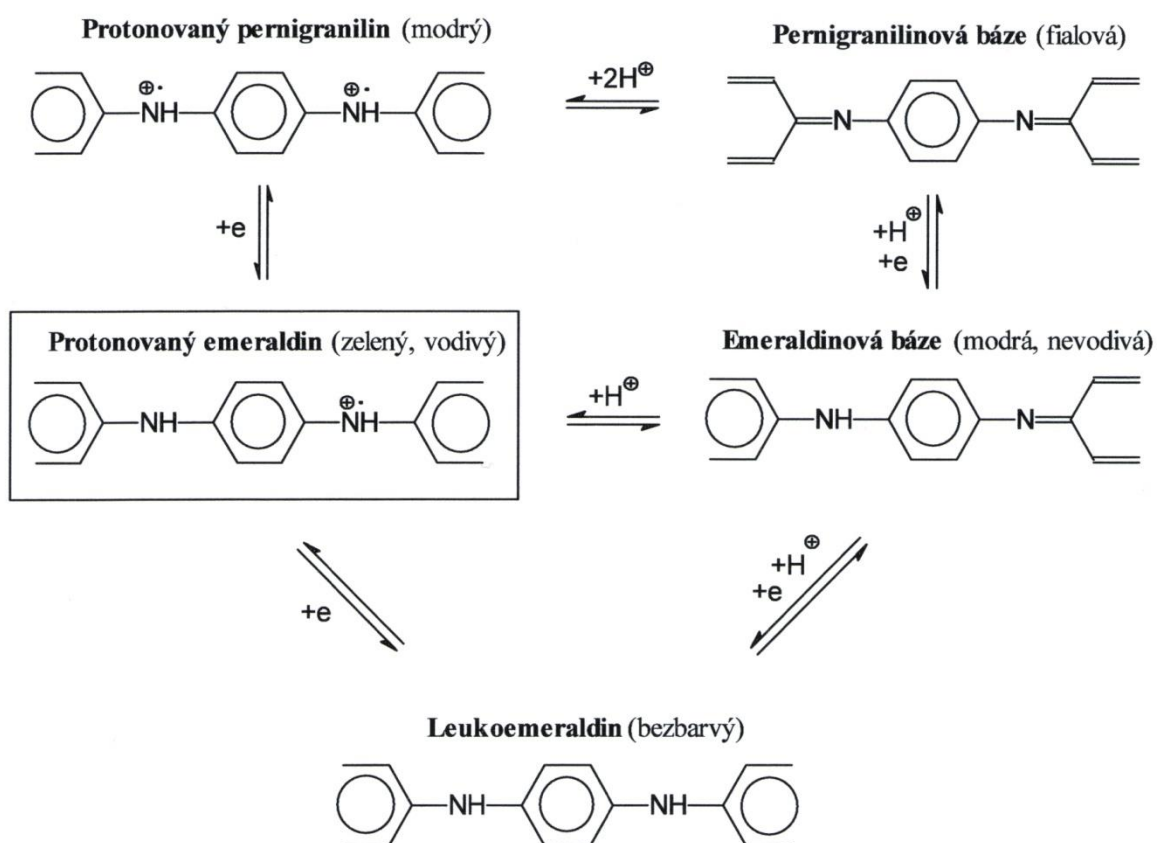
1 POLYANILIN

Polyanili (PANI) je vodivý polymer, jehož vodivost je ve srovnání s kovy mnohonásobně nižší, ovšem o mnoho řádů vyšší než u obvyklých polymerů. Vodivost PANI je dána systémem konjugovaných dvojných vazeb, tedy strukturou, ve které se pravidelně střídají jednoduché a dvojně vazby, a v druhé řadě pak přítomností nositelů náboje, kteří zprostředkovávají jeho transport po řetězci (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

1.1 Formy

PANI existuje v řadě forem, které se navzájem liší stupněm oxidace či protonace. Chemickou nebo elektrochemickou oxidací a redukcí lze dodat či odebrat elektrony a tak získat formy s rozdílnou chemickou strukturou, stabilitou, zbarvením a elektrickými vlastnostmi (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

Obrázek 1 - polyanilinové formy (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001)



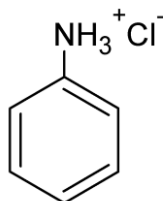
1.2 Příprava

Standartní způsob přípravy PANI spočívá v oxidaci 0,2 M anilin hydrochloridu (AH) s 0,25 M amonium persulfátem (APS) v kyselém vodném prostředí za vzniku PANI ve formě emeraldinu. Při praktickém provedení se připraví odděleně roztoky AH a APS. Rozpustí se 2,59 g (20 mmol) AH v 50 ml vody a odděleně 5,71 g (25 mmol) APS taktéž v 50 ml vody (IUPAC, 2002). Po smísení roztoků lze pozorovat barevné změny. Reakční směs postupně modrá, po skončení polymerace zezelená. Reakce probíhá při pokojové teplotě asi 10 minut (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001). Následující den se vzniklá sraženina odfiltruje, promývá se třemi 100 ml dávkami 0,2 M kyseliny chlorovodíkové a stejným způsobem acetonem. Produkt se suší na vzduchu, dále se dosušuje při 60 °C ve vakuu (IUPAC, 2002). Stejným způsobem lze připravit filmy PANI na předmětech stálých v kyselém prostředí a to jejich ponořením do reakční směsi. Přidáním ve vodném prostředí rozpustného polymeru do reakční směsi lze získat místo sraženiny koloidní polyanilinovou disperzi (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001).

2 ANILIN HYDROCHLORID

2.1 Struktura

Obrázek 2 - strukturní vzorec anilin hydrochloridu
(vytvořeno v programu ChemSketch)



2.2 Fyzikální a chemické vlastnosti (při 20 °C)

Anilin hydrochlorid (AH) je bílá až slabě naředlá nebo šedozelená látka pevného skupenství (při 20 °C), téměř bez zápachu. Je to hořlavá látka, rozpustná ve vodě a ethanolu. Molární hmotnost AH je 129,59 g/mol, hustota je 1,2 g/cm³, sypaná hustota 500 kg/m³. Teplota tání je 197 – 200 °C, teplota varu 245 °C (Lach-Ner, 2005).

2.3 Toxicita anilinhydrochloridu

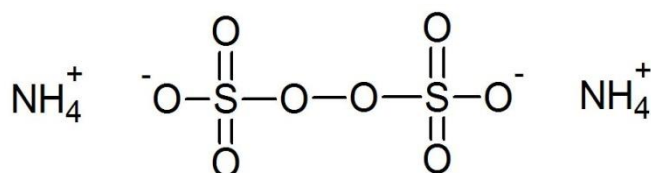
Toxicita AH je dále rozebrána v samostatné kapitole 5 toxicita anilin hydrochloridu.

3 AMONIUM PERSULFÁT

3.1 Struktura

Amonium persulfát (APS) je anorganická sůl (Cosmetic Ingredient Review Expert, 2001) se strukturním vzorcem:

Obrázek 3 - strukturní vzorec amonium persulfátu
(vytvořeno v programu ChemSketch)



3.2 Fyzikální a chemické vlastnosti (při 20 °C)

APS je bílá, slabě zapáchající látka pevného skupenství. Je to nehořlavá látka rozpustná ve vodě, má silně oxidační vlastnosti. Molární hmotnost APS je 228,20 g/mol, hustota je 1,982 g/cm³, sypná hustota 950 – 1050 kg/m³, hodnota pH = 3 (pro 100g/l). Teplota tání je 160 °C (Lach-Ner, 2011).

3.3 Použití

APS má v současnosti bohaté využití, kam patří, jak již bylo řečeno, příprava PANI (IUPAC, 2002). Dále se používá pro výrobu kadeřnických výrobků jako jsou zesvětlující přípravky a barvy na vlasy. Využití nalézá také jako iniciátor při polymeraci latexu, syntetické gumy a při emulzních polymeracích. Dále také v elektronickém průmyslu, kde se využívá jeho čistících i leptacích účinků. Lze jej využít i při syntéze organických chemikálií či antibiotik (Signorin et al., 2001). Mezi další aplikace patří například iniciace syntézy kvartérních amonných sloučenin, které jsou jedny z nejčastěji užívaných antimikrobiálních systémů pro různé lékařské aplikace (Abid, 2010) a spolu s kyselinou askorbovou tvoří iniciační systém tvorby hydrogelů na bázi polyvinylalkoholu (PVA). Ty jsou pak částou součástí medicínských aplikací (Martens, 2008). Používá se též při výrobě lipozomů na bázi vinylpyrolidonu a oxikology metakrylátu, ve formě váčků sloužících pro dopravu léků proti rakovině na určené místo, kde APS slouží opět k iniciaci, tentokrát v kombinaci s disiričitanem sodným (Sivakumar, Rao, 2002). APS lze také použít při zjišťování obsahu berilia ve tkáních užitím urychlovačové hmotnostní analýzy (AMS). Před analýzou zkou-

mané tkáně je vzorek orgánu vystaven účinku kyseliny dusičné a poté oxidován peroxidem vodíku a právě APS (Chiarappa-Zucca et al., 2004).

3.4 Toxicita amonium persulfátu

Na základě využití APS bylo vypracováno mnoho studií zabývajících se toxicitou a dráždivostí této látky. Podrobně se touto problematikou zabývá kapitola 6 toxicita amonium persulfátu.

4 TOXIKOLOGIE

4.1 Definice oboru

Toxikologie je nauka o škodlivém působení látek na živé organismy. V moderním smyslu není toxikologie jen sumou poznatků o jedech a jejich účincích. Zabývá se také vzájemným působením chemických látek a živého organismu. U většiny látek totiž dochází po vstupu do organismu k jejich přeměnám – biotransformacím (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). Toxikologie se tedy vyvinula ve vědecký obor, který studuje účinky chemických látek na biologické organismy kvantitativně i kvalitativně. Chemická sloučenina totiž nemá pouze škodlivé nebo příznivé vlastnosti. Účinek, který chemikálie vyvolá, závisí na okolnostech, za kterých působí; např. na způsobu podání, na množství látky, které organismus musí zpracovat či na stáří a druhu organismu (Tichý, 2004).

4.2 Vymezení základních pojmů

Jed, neboli toxická látka, je v nejširším smyslu látka, která může vyvolat škodlivý účinek. Je zjevné, že nepříznivý účinek mohou za určitých podmínek vyvolávat všechny látky. Rozhodující je proto dávka, která reakci vyvolá (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). Za jedy proto považujeme pouze takové látky, které již v malém množství mohou po vniknutí do organismu vyvolat jeho poškození nebo smrt. Dále rozlišujeme toxiny, což jsou jedy pocházející z živé přírody, mají tedy živočišný, rostlinný či mikrobiální původ (Linhart, 2012). Poslední pojem, který bych ráda vysvětlila je xenobiotikum. Jedná se o organismu cizí látku, která se v něm za normálních okolností nevyskytuje (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). Ne všechna xenobiotika je možné označit za jedy.

Jak již bylo uvedeno, o tom, jestli určitá látka působí jako jed, rozhoduje její dávka. Proto existují tzv. toxické indexy, které používáme pro vyjádření závislosti účinku na dávce. Efektivní (účinná) dávka (ED) je množství látky, které způsobuje reakci u určité části jedinců v souboru. Např. ED50 je dávka, při které reaguje 50 % jedinců ze souboru, ED100 je dávka, při které reagují právě všichni jedinci. Dávka letální (LD) je dávka, při které zahyne daná část jedinců ze souboru. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) je nejnižší koncentrace, při které se projevuje bakteriostatický účinek, tzn. koncentrace, která viditelně inhibuje růst mikroorganismů (Tichý, 2004). „No Observable Adverse Effect Level“ (NOAEL) vyjadřuje nejvyšší koncentraci, při které ještě není pozorovatelný žádný

nepříznivý účinek. „Lowest Observable Adverse Effect Level“ (LOAEL) je pak nejnížší testovaná dávka s již pozorovatelným, nepříznivým účinkem (Klaassen, 2008).

Působení cizorodých látek na lidský organismus se může navenek projevit celou škálou rozmanitých účinků – od lehké nevolnosti, přes poruchy zažívání, poškození nervové soustavy, až po smrt (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). Změny, které jsou důsledkem vniknutí jedů do organismu, při níž dochází k poškození jeho životních funkcí, se označují pojmem otrava. Projeví-li se bezprostředně již po podání jedné dávky cizorodé látky, mluvíme o otravě akutní. Účinek opakovaných dávek či dlouhodobé kontinuální expozice nazýváme chronický (Linhart, 2012). Akutní a chronické účinky vyvolané toutéž látkou se mohou navzájem značně lišit. Stejně látky mohou zpravidla způsobit jak akutní, tak chronickou otravu (Horák, Linhart, Klusoň, 2004).

4.3 Historie toxikologie

Otravy doprovázejí dějiny lidského rodu od samého počátku. S úmyslným trávením neboli travičstvím se můžeme setkat v antice, ve středověku, v období renesance i baroka a ani doba moderní a postmoderní nebyla, a není, tohoto fenoménu ušetřena. (Horák, Linhart, Klusoň, 2004) Již primitivní lidé znali účinky toxinů z živočichů a rostlin a používali je jako zbraně. Studium jedů zřejmě existovalo už před rokem 1500 př.K., odkud pochází dosud nejstarší známý soubor lékařských záznamů, Ebersův papyrus, který zahrnoval popisy přípravy jedů (Tichý, 2004). Staří Egypťané používali destilovaný kyanovodík z jader broskvových pecek k výkonům soudní moci (Linhart, 2012). Jedy jako je otrušík, akonit nebo opium se objevovaly v medicíně starých Hindů, jak se lze dočíst ve Védách. Dávní Číňané pak užívali akonit jako šípový jed. Z prací Hippokrata (400 př.K.) je zřejmé, že Řekové nashromáždili téměř profesionální vědomosti o jedech a principech toxikologie, dokonce o léčení otrav pozměněním jejich absorpce v organismu. První z významných toxikologů, nikoliv travičů, je Paracelus (vlastním jménem Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, narozen 1492 v Einsiedeln ve Švýcarsku). Mnoho jeho názorů zůstává součástí toxikologie dodnes. Paracelus prováděl skutečné pokusy a položil tak vědecký základ toxikologie. (Tichý, 2004) Na prahu novověku, v roce 1527, Paracelus zformuloval základní definici jedovaté substance: „Pouze dávka rozhoduje, je-li látka jedem“ (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). Další významnou postavou tohoto oboru je španělský lékař M.J.B. Orfila (1787-1853), lékař a analytický chemik, který absolvoval univerzitu v Paříži, kde se stal i profesorem. Své studium soustředil na analytické důkazy jedů

v organismu, tento fakt aplikoval při experimentech na psech (Linhart, 2012). Zavedl kvantitativní metodologii do studií účinků chemikálií na zvířata, a proto je pokládán za otce moderní toxikologie (Tichý, 2004).

Společně s vývojem průmyslové společnosti docházelo také k výraznému zvýšení kontaktů mezi člověkem a chemickými látkami. To vedlo k rozvoji řady nových metod sloužících ke studiu toxikologického efektu různých látek (Leist, Hartung, Nicotera, 2008). S ohledem na rozsah práce není možné celou problematiku podrobně popsat, proto odkazují čtenáře na informace obsažené v práci *Toxicity testing in the 21st Century: Defining New Risk Assessment Approaches Based on Perturbation of Intracellular Toxicity Pathways* (2011). O významu toxikologie v moderní době svědčí také rozvoj podoborů a oborů nově vzniklých na jejím základě. V poslední době tak došlo k rozvoji například „Computational Toxicology“, což je podobor toxikologie zabývající se využitím matematiky, statistiky, modelování a obecně *in situ* technik k hlubšímu porozumění mechanismů toxikologických efektů včetně jejich předvídání (Rusyn, Daston, 2010). Dalším příkladem může být „toxicogenomika“, která se zabývá sběrem a interpretací informací o genové a proteinové aktivitě v konkrétních buňkách či tkáních jako odezvy na působení toxických látek (North, Vulpe, 2010). V posledních desetiletích je také možné pozorovat výrazný rozvoj alternativních metod studia. Ty jsou založeny především na *in vitro* metodách a minimalizují tak použití zvířat v laboratorních testech (Hartung, 2010).

4.4 Toxické účinky

Existuje celá řada toxických účinků, níže jsou uvedeny pouze jejich nejčastější formy:

4.4.1 Podráždění kůže a sliznic, místní účinek

Kůže je hlavní cílovou tkání pro exogenní škodlivé látky, chrání nás před škodlivými vlivy životního prostředí, UV-zářením a endogenními ztrátami vody. Skládá se ze tří vrstev, pokožky (epidermis), škáry (dermis) a podkožního vaziva (subcutis), přičemž vnější epidermis tvoří rohovějící vrstevnatý dlaždicový epitel, který se skládá hlavně z keratinocytů (Martínek, Vacek, 2009). Svrchní rohová vrstva pokožky je účinná bariéra proti obrovskému množství látek. Kromě toho, keratinocyty hrají klíčovou roli v imunitním dohledu, zahájení, modulaci a regulaci zánětu v epidermis (Wells, Basketter, Schroder, 2004). Podráždění kůže, dýchacího ústrojí i sliznic vyvolávají zejména žíraviny.

Mohou vyvolat až poleptání. Patří sem silné kyseliny, zásady a silná oxidační činidla. Stupeň podráždění závisí na schopnosti chemikálie prostupovat do kůže a sliznic. Ke změnám dochází v místě kontaktu a u kyselin a zásad jde o změnu pH (Tichý, 2004). Existuje také závislost kontaktní dráždivé dermatitidy na stáří kůže. Dráždivá reakce může být zvýšená u dětí a klesající pak s rostoucím věkem. Obecně platí, že starší pokožka reaguje ve srovnání s mladou kůží na podráždění pomaleji a s menší intenzitou (Zhai et al., 2012).

Dráždivost kůže i sliznic chemikáliemi je často zkoumanou oblastí zejména kvůli využití látek v kosmetických výrobcích. Svědčí o tom mnohé publikace, mezi které patří studie z roku 2003, která pojednává o bezpečnosti sulfidů aplikovaných ve vlasové kosmetice (Nair, Elmore), dále studie o bezpečnosti užívání křemičitanů (Elmore, Andersen), ricinového oleje a jeho sloučenin (Johnson, Wilbur, 2007), tokoferolu a jeho sloučenin (Fiume, 2002), akrylátových kopolymerů (Fiume, 2002) či poloxamerů (polyoxyethylenové, polyoxypropylenové polymery) v kosmetice (Singh-Joy et al., 2008) a další. Zkoumány jsou samozřejmě nejen látky užívané v kosmetice, ale všechny ty, se kterými člověk přichází do kontaktu. O této problematice pojednávají práce o dráždivosti cementu u pracovníků ve stavebnictví (Winder a Carmody, 2002) či studie dráždivosti látek obsažených v prostředcích, které jsou používány pro zajištění hygieny rukou u pracovníků ve zdravotnictví (Kampf et al., 2007).

Data o kožní dráždivosti anilinu u lidí nejsou k dispozici, známý je však jeho slabě dráždivý účinek na kůži králíků a silně dráždivý účinek na oči králíků (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

Postup pro posuzování zdravotnických prostředků a materiálů z hlediska jejich schopnosti vyvolávat podráždění a senzibilizaci kůže je popsán v desáté části souboru českých norem biologického hodnocení zdravotnických prostředků (ČSN EN ISO 10993), zabývající se zkouškami dráždivosti a senzibilizace kůže. Senzibilizace kůže neboli alergická kontaktní dermatitida, je imunologicky zprostředkovaná kožní reakce na testovanou látku. U člověka se tato reakce projevuje svěděním, zarudnutím kůže, otokem, pupenci, puchýřky nebo kombinací uvedených příznaků (ČSN EN ISO 10993-10).

4.4.2 Narkotický účinek, celkové působení

Narkotický účinek je způsobován rozpouštěním narkotik v tukových strukturách membrán, což brzdí přenos nervového vzruchu a potlačuje funkci nervového systému. Narušení je reversibilní, jelikož je organismus schopný dostat se poměrně snadno do původního stavu. Narkoticky působí ty chemikálie, které v krvi dosahují narkoticky účinné koncentrace dříve, než způsobí jiné toxické účinky (Tichý, 2004).

4.4.3 Inhibice přenosu kyslíku

Transport kyslíku je proces nezbytně potřebný pro většinu organismů. Tento transport však blokují sloučeniny, které reagují buď přímo s kyslíkem a snižují jeho dostupnost, reagují přednostně s místem jeho vazby na nosiči, anebo vazebné místo chemicky mění (Tichý, 2004).

4.4.4 Inhibice funkce enzymů

Na enzymu rozlišujeme tzv. aktivní místo, což je oblast enzymu, které zprostředkovává enzymové reakce. Látky, které jsou schopny se na aktivní místo specificky vázat, nazýváme substráty. Po navázání probíhá reakce, během které dochází k přeměně struktury substrátu (Nečas, 2000). Inhibitor je látka, která je schopna se vázat na totéž místo, a tak soutěžit se substrátem o daný enzym. To je inhibice kompetitivní (soutěživá). Aby kompetitivní inhibice proběhla, musí mít inhibitor schopnost účinně se vázat na enzym. Pro tuto vazbu je nutné, aby měl inhibitor podobné vlastnosti jako substrát. Kromě toho se může cizorodá látka vázat na jiné místo enzymu, čímž mění jeho strukturu. Pozměněný enzym pak není schopen plnit svoji funkci. V tomto případě mluvíme o inhibici nekompetitivní (Horák, Linhart, Klusoň, 2004).

S inhibicí enzymů se můžeme setkat v důsledku podání léku. Cizorodé látky jsou v těle převáděny na strukturně odlišné produkty prostřednictvím biotransformačních reakcí. Lék jako xenobiotikum je oxidován cytochromem P450 (P450) jak na chemicky stabilní, tak i reaktivní metabolity či meziprodukty. Je-li reaktivita produktu příliš vysoká, váže se na katalytické místo enzymu a inaktivuje jej (Masubuchi et al., 2007). Tento jev pak může být zesílen interakcemi léků, které jsou podávány na předpis, s bylinnými výtažky, jejichž používání je mezi lidmi stále častější. Indukce nebo inhibice P450 je pravděpodobně nejčastější mechanismus farmakokinetických interakcí léků a bylin, přičemž inhibice P450 bylinnými extrakty mohou vést ke snížení koncentrace léčiva, tedy i ke snížení účin-

nosti léku a celkovému selhání léčby (Mukherjee et al., 2011). K podobným interakcím může docházet v důsledku konzumace grapefruitové šťávy, která obsahuje furanokumariny a flavonoidy. Interakce těchto látek s léky jsou původcem inhibic P450 či P-glykoproteinů (Seden et al., 2010). Další látky způsobující inhibici enzymů jsou beze sporu organické sloučeniny fosforu (OP), užívané jako pesticidy a zároveň vyvíjeny pro bojové účely. Expozice organismu i malému množství OP mohou být fatální a smrt je obvykle způsobena respiračním selháním. Mechanismus otravy OP spočívá v inhibici acetylcholinesterázy, což vede k inaktivaci enzymu, který má důležitou roli v neurologických přenosech (Jokanovic, 2009).

Inhibice funkcí enzymů však může být využito i ve prospěch člověka. Bylo prokázáno, že existuje souvislost mezi zvýšenými hladinami polyaminů a kožními nádory. Přestože mechanismus, kterým polyaminy podporují kožní nádory, není zatím dobře chápán, je zřejmé, že zvýšené hladiny polyaminů aktivují epidermální i podkladové stromální buňky v kůži, čímž je podporován rozvoj a progresse kožních nádorů. Bylo zjištěno, že inhibice klíčových enzymů biosyntézy polyaminů má potenciál k tomu, aby se stal efektivní chemoprevenční strategií proti nemelanomovým kožním nádorům (Gilmour, 2007). Existují též farmakologické inhibitory proteinové deacetylase, které jsou již schváleny pro léčbu rakoviny. Cílové enzymy, známé jako histonové deacetylázy, byly také prokázány jako účinné v preklinických modelech srdečního selhání (McKinsey, 2012).

4.4.5 Indukce činnosti enzymů

Induktory bývají často prekarcinogeny, které pak mohou být účinněji přeměněny v karcinogeny. Indukce tak může měnit toxicitu i dalších chemikálií, nejen ji zvyšovat nebo snižovat, ale i indukovat jiné účinky, které jsou dané zvýšeným množstvím metabolitů (Tichý, 2004).

Jak už bylo řečeno, inhibice i indukce činnosti enzymů P450 je ovlivňována podávanými léky. Touto problematikou se zabývalo již mnoho studií. Toxikologická práce Davida E. Amachera (2006) se zabývala indukcí jaterních mikrozomálních enzymů u hlodavců a větších savců v závislosti na vysokých dávkách xenobiotik, které byly podávány pro určité farmakologické cíle v daných orgánech. Studie Pelkonena et al. (2008) uvádí aktuální pohled na rozsah a význam jak inhibice, tak indukce cytochromu P450 zejména u lidí. David E. Amacher publikoval roku 2010 další práci, ve které hodnotí odchylky en-

dogenních regulačních systémů, které způsobují xenobiotické induktory P450, a jejich potenciální důsledky.

4.4.6 Imunotoxicita

Imunitní systém člověka je pokládán za jeden z nejdůležitějších systémů organismu, který zajišťuje jeho homeostázu. Funkce imunitního systému dělíme v souvislosti s imunitní odpovědí na nespecifickou (vrozenou) a specifickou (získanou) imunitu. Obě tyto části se skládají z humorálních a buněčných složek, které spolu navzájem spolupracují (Petanová, 2007). Humorální obrana spočívá v tvorbě protilátek cirkulujících v krvi a vázících se specificky s antigenem, buněčná vede ke vzniku specializovaných buněk s jedinečnou specifitou, které mají regulační a cytotoxické funkce (Trojan, 2003). Nespecifickou imunitu představují zejména makrofágy, přirození zabíječi (NK buňky) a z humorálních složek například komplementový systém. Specifickou imunitní odpověď zajišťují kromě T lymfocytů (producentů velké řady cytokinů) i B lymfocyty, které po přeměně na plazmatické buňky produkují specifické protilátky – imunoglobuliny (Petanová, 2007). Látky, které je imunitní systém schopen rozpoznat a které vyvolávají v organismu imunitní odpověď, se nazývají antigeny. Jsou to látky makromolekulární, převážně organické povahy. (Trojan, 2003). Jakmile je antigen imunitním systémem rozpoznán jako cizí, začíná proti této látce tvorba protilátek. Tyto protilátky jsou schopny vytvořit s antigenem komplex, čímž jej inaktivují. Imunitní odpověď se může projevovat různě, např. kožními projevy, kopřivkou, dýchacími potížemi či anafylaktickým šokem. Toxické látky mají dva typy účinku. Imunitní reakci mohou potlačit (imunosuprese), nebo naopak vyvolat nepřiměřenou odpověď imunitního systému (alergická reakce). Malé molekuly standartních chemikálií samy o sobě za normálních podmínek nemohou být antigeny, pokud se však naváží na molekuly fyziologických proteinů, mohou jejich chemickou strukturu pozměnit tak, že jsou imunitním systémem rozpoznány jako cizí, antigenní (Horák, Linhart, Klusoň, 2004).

Imunotoxikologie studuje interakce xenobiotik s imunitním systémem, které následně vyústí v nežádoucí důsledky. Pro hodnocení vlivu xenobiotik na imunitní systém je důležité zjištění možnosti jejich vazby jako haptenu na nosič, zjištění jejich imunotoxického potenciálu pro člověka a určení míry rizika pro populaci i jednotlivce (Petanová, 2007). Existuje také závislost imunotoxicity na věku jedince, který přišel do styku s danou látkou, čímž se zabývá vývojová imunotoxikologie (DIT). DIT se zaměřuje na možné dů-

sledky expozice raných vývojových stádií látkám, které jsou zaměřeny na imunitní systém. Takové expozice pak mohou vést ke zvýšené vnímavosti vůči nemocem souvisejících s imunitou, mezi které patří např. infekce, autoimunita, rakovina (Collinge et al., 2012). Batista-Duharte et al. (2011) publikovali článek, kde poskytují nejnovější informace o současných znalostech, které se týkají jednotlivých parametrů a reaktantů imunitního systému na buněčné i molekulární úrovni. Jsou zde diskutovány důkazy získané z pozorování různých látek in vitro a in vivo, včetně těch, které jsou používány při očkování ve velkém měřítku dodnes.

Mezi známé imunotoxické látky patří mimo jiné olovo, kterým se zabývá recenze Dieterta et al. (2004). Olovo u lidí produkuje nepříznivé imunitní změny, které jsou mírné na buněčné úrovni, funkčně však mohou být přesto dramatické. Roku 2006 byla publikována recenze Luebkeho et al., která srovnávala imunotoxické působení pěti vybraných chemických látek včetně olova (diethylstilbestrol, diazepam, olovo, 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin, tributyloxid) na nevyvinuté a dospělé organismy. Větší riziko bylo vyhodnoceno u všech pěti sloučenin pro nevyspělé organismy. Jiné práce hodnotí imunotoxicitu mnoha různých látek. Příkladem je recenze zabývající se potenciálem pro neurotoxické a imunotoxikologické účinky ethylbenzenu, které byly zkoumány u potkanů (Li et al., 2010) či souhrn efektů polycyklických aromatických uhlovodíků na vrozenou i získanou imunitu, které byly testovány na rybách (Reynaud, Deschaux, 2006).

Anilin u lidí způsobuje kožní alergické reakce, zvláště u pacientů trpících ekzematickou dermatitidou. Účinek anilinu na zvířata se projevoval mírným až středním senzibilizačním potenciálem. Respirační senzibilizace nebyla pozorována, ale kvůli pozorování kožní senzibilizace ji nelze vyloučit (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

4.4.7 Teratogenita

Teratogenita představuje nežádoucí účinky zkoušené látky na embryo nebo fetus a prenatální a ranně postnatální vývoj, přičemž reprodukční funkce mohou být danou látkou ovlivňovány bez jiných, zjevných příznaků toxicity a negativní efekt se může projevit od snížení fertility až po úplnou sterilitu. Reprodukční a vývojová toxicita stanovují potenciální účinky testovaných vzorků na reprodukční funkci a embryonální morfologii (ČSN EN ISO 10993-3).

Zásahem teratogenu do normálního embryonálního vývoje nedochází ke změnám genotypu, změny tedy nejsou dědičné (Tichý, 2004). Účinky látky jako potenciálního teratogenu závisí na období těhotenství, ve kterém probíhá expozice matky, délce expozice, genotypu matky a plodu a samozřejmě dávky látky, která působí na plod. Teratogeny mohou způsobovat u vyvíjejícího se plodu sotva pozorovatelné abnormality biochemických a fyziologických pochodů a změny chování, i když jsou dávky teratogenů mnohem menší než ty, které způsobují anatomické anomálie. Mnoho takovýchto skrytých poruch není zřejmých ani po narození a mohou být odhaleny až několik roků po porodu (Schwarzová, 2010).

Zatím nebyly provedeny multigenerační či jiné studie plodnosti s anilinem. Byla ale zjištěna určitá data při studii chronické toxicity na potkanech, která trvala 104 týdnů. U samců nebyly pozorovány žádné důkazy toxicity pro rozmnožovací systém, ale u skupiny samic, které dostávaly vysoké dávky (72 mg / kg hmotnosti / den), byl zaznamenán pokles hmotnosti vaječnicků (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

Byly zkoumány též postnatální účinky anilinu při perorálním podání u potkanů. Při nejvyšších dávkách (100 mg AH / kg hmotnosti / den) byly u samic zjištěny známky hematotoxicity. Dále bylo zaznamenáno statisticky významné zvýšení relativní hmotnosti sleziny u samic během těhotenství a to při dávkách 10 mg AH odpovídajících 7 mg anilinu / kg hmotnosti / den. Z tohoto důvodu nebylo možné určit NOAEL. Plody i novorozenci samic s vysokými dávkami vykazovali mírné náznaky změn hematologických parametrů, což indikovalo NOAEL vývojové toxicity na 30 mg AH odpovídající 21 mg anilinu / kg hmotnosti / den. Kritická úroveň expozice pro potenciální vývojovou toxicitu byla stanovena na 15 mg/osoba/den nebo 15 mg/m³ (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

4.4.8 Genotoxicita

Dle ČSN EN ISO 10993 je pojem genotoxicita chápán jako schopnost způsobovat u buněk savců nebo i nižších organismů genové mutace, změny struktury chromozomů či jiné změny DNA a genů. Genotoxický účinek stojí na počátku chemické karcinogeneze, která je procesem vedoucím v konečném důsledku ke vzniku nádorového onemocnění. V této části ČSN EN ISO 10993 se tedy pojednává o potenciálu zdravotnických prostředků k indukci genetických změn u člověka, které pak mohou být přenášeny zárodečnými buň-

kami na budoucí generace. Je to složitý komplex vlastností, jejichž společný efekt je na molekulární úrovni obtížně kvantifikovatelný. Z tohoto důvodu je při interpretaci výsledků nutná značná opatrnost. Legislativní požadavky na zkoušky genotoxicity jsou založeny na kombinaci dvou či tří testů. Jedna z možností zahrnuje kombinaci zkoušky na genové mutace na bakteriích a zkoušky na genové mutace pomocí buněk myšího lymfomu. Druhou alternativou jsou zkoušky genové mutace na bakteriích a savčích buňkách v kombinaci se zkouškou na klastogenitu, tedy schopnost vyvolávat chromozomové mutace na savčích buňkách (ČSN EN ISO 10993-3).

Mutageny jsou látky, které působí změny v genetické informaci buněk, zvyšují frekvenci mutací, k nimž dochází i spontánně (Tichý, 2004). Genetická informace je uchována a přenášena pomocí kyseliny deoxyribonukleové (DNA) a ribonukleové (RNA). Obě kyseliny jsou tvořeny dvojitými šroubovicemi, přičemž jejich vlákna jsou k sobě vázána vodíkovými můstky dle pravidel párování bází jednotlivých řetězců šroubovice (Nečas, 2000). V případě, že dojde ke změně struktury některé báze daného vlákna, není tato báze schopna vytvořit příslušný pár. Může tak dojít ke změně kódované, či přenášené genetické informace. Takové změny nazýváme mutace (Horák, Linhart, Klusoň, 2004).

Mezi mutagenní látky patří mimo jiné monocyklické aromatické aminy. Více než 80 takových aminů bylo přezkoumáno testem mutagenity pro kmeny *Salmonella* v letech 1975 – 1996, přičemž anilin zde vykazoval negativní výsledky (Chung et al., 1997).

4.4.9 Karcinogenita

Za karcinogeny považujeme látky, které svým působením vyvolávají zhoubné bujení buněk a tkání. Dále rozlišujeme ještě kokarcinogeny, které účinek karcinogenů zesilují a prekarcinogeny, neúčinné sloučeniny, jejichž metabolity mají karcinogenní účinek (Tichý, 2004). Mechanismus vzniku nádoru je značně složitý. Prvotní příčinou může být mutace, přičemž se předpokládá, že k přeměně zdravé buňky na rakovinnou je třeba více než jedné mutace v jedné buňce (Alberts, 2001). Vztah mezi mutagenitou a karcinogenitou není jednoznačný. Mutagenita není ani nutnou, ani postačující podmínkou karcinogenity. Většina karcinogenů má mutagenní účinky, ale nádorová bujení mohou vyvolat i látky nemutagenní (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). Nádorové bujení je obecně považováno za důsledek ztráty mezibuněčné komunikace, která zajišťuje růstovou regulaci, diferenciaci buněk a jejich funkce. Nádorové buňky pak mají schopnost nekontrolovatelného dělení,

jsou schopny nekonečně proliferovat bez ohledu na dosaženou hustotu buněk (Alberts, 2001).

Požadavky na zkoušky karcinogenity jsou definovány v 3. Části ČSN EN ISO 10993. Karcinogenita materiálů je studována na základě pozorování vývoje nádorového bujení u pokusných zvířat během jejich života. Studie karcinogenity *in vivo* se provádí jako další stupeň po zkouškách genotoxicity a to pouze v případech, kdy genotoxicita nebyla stanovena. Byl-li tedy materiál vyhodnocen jako genotoxický, je považován za nebezpečný i z hlediska karcinogenity (ČSN EN ISO 10993-3).

V rozvinutém průmyslu s anilinovými barvivy bylo evidováno nadměrné množství úmrtí ve skupinách pracovníků v důsledku rakoviny močového měchýře (CANCER, International Agency for Research on, 1982). Pracovníci byli většinou vystavováni mnoha různým aromatickým aminům zahrnující anilin, alfa-naftylamin, beta-naftylamin, benzidin a auramin. Proto neexistují dostatečné důkazy o tom, že anilin sám způsobuje rakovinu močového měchýře (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003). Epidemiologické studie na pracovnících vystavených pouze anilinu a ne ostatním známým karcinogenům močového měchýře nevykazovaly mnoho důkazů o zvýšeném riziku. V metodologicky nejsilnější studii byla ohlášena jedna smrt způsobená rakovinou močového měchýře mezi 1223 muži, kteří vyráběli či používali anilin (CANCER, International Agency for Research on, 1982).

4.5 Osud cizorodých látek v organismu

Účinek cizorodých látek je dán interakcí látky s organismem, tedy jejich vzájemným působením. Při studiu působení těchto látek proto musíme sledovat obě strany interakce, tzn. změny pozorované nejen u cizorodých látek, ale i u živého organismu. Osud cizorodých látek v organismu dělíme do čtyř stádií: absorpce, distribuce, biotransformace, vylučování (Linhart, 2012).

4.5.1 Absorpce

Chemikálie mohou působit až ve chvíli, kdy se dostanou na místo vlastního účinku, což nemusí být na povrchu těla. Látky proto musí do organismu pronikat, musí se resorbovat (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004). Absorpci ovlivňuje několik faktorů – aplikační cesta, léková forma, množství účinné látky, prokrvení, velikost resorpční plochy a základní fyzikálně-chemické vlastnosti chemikálie. Důležitou roli hraje ionizace molekul. Ionizované

formy jsou polárnější a těžce pronikají biologickými membránami, zatímco u forem neionizovaných, tedy lipofilnějších, je prostupnost membránami daleko snadnější (Slíva, Votava, 2010). Aplikací cesta je významná kvůli různému charakteru buněk jednotlivých orgánů, jejich membrán, dále i anatomickému uspořádání, proto rozlišujeme dané cesty vstupu do organismu: inhalační, transdermální, intravenosní, perorální (Tichý, 2004).

4.5.1.1 Inhalační

V toxikologii je tato cesta vstupu nejdůležitější. Inhalace je vstup nejmasovější zejména kvůli neustálému dýchání suchozemských savců, kterým se do dýchacích cest mohou dostávat plyny, páry, aerosol či prachové částice (Tichý, 2004). Dalším důvodem je fakt, že touto cestou mohou škodliviny do těla pronikat nepozorovaně. Ačkoliv se v horních cestách dýchacích část těchto látek zadržuje, jednak na řasinkové výstelce sliznic, jednak rozpuštěním ve vlhkém povrchu sliznic, zbytek vdechovaných látek se dostává až do plicních sklípků a odtud do krve. Velká rychlost resorpce je pak dána vysokým prokrvením plic (Horák, Linhart, Klusoň, 2004).

4.5.1.2 Transdermální

Účinky chemikálií při dermální absorpci dělíme na účinky lokální, kdy mluvíme o leptání či dráždění, a účinky systémové, kdy se látka musí vstřebat, aby se dostala k místu svého účinku (Tichý, 2004).

I když dermální absorpce patří mezi pomalejší cesty vstupu, je z hlediska možné otravy významná (Linhart, 2012). Schopnost látek prostupovat kůží závisí na řadě faktorů. Mimo vlastnosti samotných chemikálií, jako je bod tání, relativní molekulová hmotnost, tlak nasycených par nad kapalinou nebo rozpustnost ve vodě (Tichý, 2004), je zde rozhodující též stav kůže, tedy to, je-li mechanicky či chemicky porušena, její vlhkost, teplota i stáří (Horák, Linhart, Klusoň, 2004).

Nanočástice prostupují do organismu vedle cesty dýchacím ústrojím též transdermální absorpcí, přičemž tyto dva mechanismy vždy probíhají současně a kůže je pak často považována za méně propustnou a vnímání rizik touto cestou je velmi nízké. Kožní absorpce chemikálií však musí být pro hodnocení rizika brána v úvahu. Na základě fyzicko-chemických vlastností sloučenin rozlišujeme čtyři cesty průniku kůží: mezibuněčné, transcelulární a skrz vlasové folikuly či potní žlázy. Je známo, že malé (<600 Da) lipofilní molekuly mohou snadno proniknout kůží pasivně, ale rozsah kožní absorpce mohou ovliv-

ňovat další faktory jako kožní integrita, povrchové kontaminace, anatomické vlastnosti a přítomnost kožních nemocí jako alergická a dráždivá kontaktní dermatitida, atopický ekzém a lupénka. Navíc i mechanické ohyby, dráždivé saponáty a chemikálie mohou zvyšovat kožní absorpci (Crosera et al., 2009). Kůži, jako cestou vstupu nanočástic, se zabývali Alvarez-Roman et al (2004), kteří užívali konfokální mikroskopii k tomu, aby zviditelnili distribuci nebiodegradabilních, fluorescenčních, polystyrenových nanočástic (průměry 20 a 200 nm) napříč prasečí kůží po půl, jedné a dvou hodinách vystavení ve vertikálních difúzních buňkách. Povrchové obrazy odhalily, že polystyrenové nanočástice se nahromadily především v chlupových folikulech. Hromadění bylo časově závislé, přičemž distribuce částic ukázala na přednostní akumulaci malých částic. Tinkle et al. (2003) studovali efekty ohybu na kůži vychytávající nanočástice, což ukázalo, že mechanický ohyb usnadňuje penetraci fluorescenčních dextranových mikročástic, které byly pozorované v hlubších kožních vrstvách.

4.5.1.3 Intravenosní

Intravenosní podání je významné zejména v lékařství, jelikož jde o nejrychlejší možnou cestu vstupu, kdy látky podáváme přímo do krevního řečiště, odkud se rozvádí a distribuuje do cílových orgánů (Linhart, 2012). Další osudy chemikálie přitom závisí na místě, kde byla vpravena do oběhu, protože vždy postupuje s proudem krve (Tichý, 2004).

4.5.1.4 Perorální

Pokud chemikálie není žíravá či dráždivá a nemá tak za následek otravu přímo v zažívacím traktu, způsobuje požití chemikálie systémové působení. Aby k tomuto došlo, musí být škodlivina vstřebána do krve. U ionizovatelných látek závisí lipofilita na pH (Horák, Linhart, Klusoň, 2004). V kyselém prostředí žaludku je potlačována disociace slabých kyselin, které se potom lépe vstřebávají. Zásady se v prostředí žaludku chovají přesně naopak. Hlavní absorpce látek, bez ohledu na jejich pH, pak probíhá v tenkém střevě (Tichý, 2004).

4.5.2 Distribuce

Jakmile se látka dostane do krevního řečiště, je v závislosti na svých vlastnostech transportována do tkání a orgánů celého těla (Linhart, 2012). Mezi distribuční prostory s vodným prostředím, kde se látka může rozpouštět, patří krevní plazma, intersticiální te-

kutina a intracelulární prostor. Daná látka se může vázat i na pevné struktury, jako jsou erythrocyty v krvi, fosfolipidové dvojvrstvy membrán či receptory v tkáních, ale jen nena-
vázané, volné molekuly mohou obsadit místo účinku (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004). Aby se tento volný podíl dostal k cílovým receptorům, které se nacházejí uvnitř buněk nebo organel, musí být látka schopna prostupovat skrz buněčné membrány (Linhart, 2012).

Nespecifické distribuční pochody pak závisí zejména na rozpustnosti dané látky. Dle rozpustnosti rozlišujeme látky:

- rozpustné pouze ve vodě (hydrofilní) – pokud se jejich kinetiky neúčastní transportní proteiny, po perorálním podání se špatně resorbují, po intravenosním podání jejich distribuce probíhá jen v extracelulárním prostoru a jsou pak dobře vylučovány ledvinami,
- rozpustné pouze v tucích (hydrofobní) – v závislosti na koeficientu rozpustnosti se hromadí v tucích, např. DDT,
- amfifilní látky (obsahují jak hydrofilní tak hydrofobní složku) – mohou se hromadit na membránách v důsledku hydrofobních interakcí s řetězcí mastných kyselin a elektrostatických interakcí s fosfátovými skupinami fosfolipidů (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004).

Distribuce látek v organismu tedy neprobíhá rovnoměrně. Cizorodé látky se mohou ukládat v různých orgánech a tvořit tzv. depot, odkud se ještě dlouho po ukončení expozice uvolňují do oběhového systému (Linhart, 2012).

Kromě nespecifických pochodů je distribuce látek výrazně ovlivňována i specifickými biologickými pochody, jako jsou vazby na receptory či účast na aktivních transportních mechanismech (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004).

4.5.3 Biotransformace

Veškeré látky, které organismus vstřebá, jsou vystaveny působení řady enzymových reakcí, při kterých dochází k přeměnám látky biochemickými procesy, tedy k její biotransformaci. Těmito mechanismy organismus usiluje o vznik látek lépe rozpustných ve vodě, které lze snáze vyloučit (Hampl, Rádl, Paleček, 2002). Biotransformací mohou vznikat:

- látky stejného farmakologického účinku jako látka původní,

- látky se sníženou či nulovou účinností, kdy mluvíme o detoxikaci,
- látky účinnější ve srovnání s původní látkou, kdy jde o tzv. aktivaci. Zejména reaktivní metabolické intermediáty, elektrofilny a volné radikály mohou původní látku aktivovat za vzniku metabolitu o výrazně vyšší toxicitě (Linhart, 2012).

Biotransformační reakce probíhají ve dvou fázích:

- reakce I. fáze mající mechanismus oxidace, redukce či hydrolýzy mění strukturu xenobiotik,
- reakce II. fáze jsou reakce slučovací (konjugační) s polárními endogenními látkami, které způsobují vyšší rozpustnost ve vodě a tím snažší vylučování močí (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004).

4.5.4 Vylučování

Rychlost vylučování z organismu je u jednotlivých látek různá. Látky špatně metabolizovatelné, či látky lipofilního charakteru, jsou odstraňovány pomaleji, lipofilní látky se navíc mohou kumulovat v tukové tkáni. Velmi pomalu probíhá vylučování některých toxických prvků, např. iontů olova nebo rtuti. Některé organické sloučeniny se vážou na kreatinin v nehtech nebo vlasech a podléhají zpětnému vstřebávání, ionty kovů se mohou ukládat v kostech (Tichý, 2004).

Schopnost organismu eliminovat látku charakterizuje veličina zvaná clearance (CL). CL vyjadřuje objem plazmy, který se za jednotku času očistil od účinné látky (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004).

Největší význam pro vylučování má vylučování močí, existují však i jiné cesty, jako vylučování stolicí, vydechovaným vzduchem a ve velmi malé míře i potem, slzami či mateřským mlékem (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004).

4.5.5 Interakce s místem účinku

Vlastní interakce s cílovými molekulami a následné působení těchto dějů na buněčné organely i buňky smotné jsou popsány v samostatné kapitole 4.6 Působení jedů.

4.6 Působení jedů

4.6.1 Působení na úrovni molekul, receptory, cílové molekuly

4.6.1.1 *Specifické působení na určité receptory*

Působení biologicky účinných látek začíná interakcí látky nebo jejího metabolitu s receptorem, tedy určitou proteinovou strukturou, na kterou se specificky váže účinná látka. Po navázání účinné látky na receptor dojde ke spuštění kaskády biochemických dějů, což vede k vnějšímu projevu účinku, v našem případě k příznakům otravy (Linhart, 2012). Navázání látky na receptor bývá často zprostředkováno různými typy slabých interakcí. Příkladem je orientace a konformační přizpůsobení molekul tvaru receptoru nebo fixace molekul k receptoru pomocí vodíkových můstků, hydrofobních interakcí či van der Waalsových sil. Jsou-li příslušné vazebné struktury komplementární, vzniká nový komplex s minimálním obsahem Gibbsovy energie (Hampl, Rádl, Paleček, 2002). Dalo by se předpokládat, že se znalostí struktury xenobiotik můžeme předpovídat účinky těchto látek. To je ve skutečnosti možné jen se značnou opatrností, jelikož situace v organismu je velmi komplexní (Lüllman, Mohr, Wehling, 2004).

4.6.1.2 *Nespecifické působení na molekulární úrovni*

Mimo uvedené specifické interakce dochází k nespécifickému poškozování biomolekul reaktivními částicemi, které se na ně vážou kovalentní vazbou. Tyto částice reagují nejčastěji s malými, poměrně snadno nahraditelnými molekulami, které jsou v buněčném prostředí hojně zastoupeny. Dle chemické povahy rozlišujeme tyto interakce na reakce elektrofilů, nukleofilů a volných radikálů:

- Elektrofilní látky mají schopnost vazby s nukleofilními centry v proteinech, která může vést k významným strukturním i funkčním změnám proteinů.
- Nukleofilní látky se mohou vázat na aktivní centra v metaloenzymech, čímž dochází k vytlačování přirozených ligandů, bez nichž zmíněné enzymy ztrácejí svoji funkčnost.
- Volné radikály, známé pro schopnost iniciace řetězových radikálových reakcí, které jsou pro živé organismy nebezpečné, jsou zároveň neodlučnou součástí všech aerobních organismů. Případné narušení či vyčerpání obraných buněčných mecha-

nismů vůči volným radikálům může způsobit iniciaci těchto organismu škodlivých reakcí (Linhart, 2012).

4.6.2 Působení na subcelulární úrovni

4.6.2.1 Buněčné membrány

Při vstupu do buňky musí látky nejprve prostoupit buněčnými membránami. Ty se skládají z dvojité vrstvy fosfolipidů, která je tzv. selektivně propustná. Skrze membrány mohou prostupovat na základě prosté difuze:

- malé nepochární molekuly (např. kyslík),
- nenabitě polární molekuly, jejichž rychlost difuze závisí na velikosti molekuly (malé molekuly, např. voda či ethanol, jsou schopny membránou procházet poměrně rychle, oproti tomu glycerol pomaleji),
- pro nabitě molekuly i všechny ionty jsou pak membrány téměř nepropustné, jelikož náboj molekuly brání vstupu do uhlíkové fáze fosfolipidové dvojvrstvy (Alberts, 2001).

Látky, které nejsou schopny přes membrány difundovat, využívají pro vstup:

- Membránové kanály, které lze zjednodušeně popsat jako póry či průduchy procházející napříč celou membránou.
- Přenašečové proteiny, které mohou specificky vázat přenášenou molekulu (ligand) na jedné straně membrány a odtud ji konformačními změnami ligandu přesunout na druhou stranu, kde ji uvolní.
- Mechanismů, které manipulují celými částmi biomembrán tak, že odštěpují její části ve formě měchýřků (exocytóza) nebo s měchýřky naopak splývají za jejich otevření a vylití obsahu do buňky (endocytóza) (Nečas, 2000).

Uvnitř membrán může také docházet ke škodlivým interakcím, což může mít za následek poruchy přenosu fyziologicky důležitých látek nebo narušení integrity buněčné membrány, které předchází smrti celé buňky. Buněčné membrány jsou narušovány volnými radikály, které způsobují peroxidaci lipidů, tedy štěpí řetězce mastných kyselin, následuje rozpad fosfolipidů membrán a vylití obsahu buňky do okolí. Dále jsou pro membrány

nebezpečná organická rozpouštědla, povrchově aktivní látky a kationty těžkých kovů (Linhart, 2012).

4.6.2.2 Mitochondrie

Mitochondrie jsou buněčné organely, které buňce dodávají energii. Oxidací molekul potravy (např. cukrů) produkují adenosintrifosfát (ATP), který je potřebný pro pohon většiny buněčných aktivit (Alberts, 2001). Dojde-li k narušení funkce mitochondrií, hladina ATP může klesnout až na kritickou úroveň, kdy buňka hyne. Mezi látky narušující syntézu ATP řadíme fenoly nesoucí elektron-akceptorní substituenty, zejména chlor a nitroskupinu. Tyto látky jsou schopné díky své lipofilní povaze procházet membránami mitochondrií a svým kyselým pH pak uvnitř mitochondrií narušit gradient pH potřebný k syntéze ATP (Linhart, 2012).

4.6.2.3 Lysosomy

Lysosomy jsou organely, jejichž funkcí jsou katabolické biochemické procesy, tedy rozklad makromolekul, které jsou pro buňku nepotřebné. K tomuto trávení funkčních i stavebních jednotek buňky lysosomy využívají asi 40 různých hydrolytických enzymů. Pouze membránové proteiny lysosomů jsou vysoce glykozylovány a tím zřejmě chráněny proti jejich účinku (Nečas, 2000). Pokud však dojde k prasknutí membrány lysosomu a vylití těchto enzymů do cytoplazmy, dochází k destrukci (Linhart, 2012).

4.6.2.4 Buněčná jádra

V buněčném jádře se nacházejí důležité biomolekuly, jako je deoxyribonukleová kyselina (DNA), ale také proteiny zodpovědné za replikaci DNA, za její opravy a přepis, za transkripci genů do informační ribonukleové kyseliny (RNA). Zmíněné molekuly se mohou stát cílovými pro toxické látky a způsobovat tak např. inhibici či stimulaci syntézy nukleových kyselin, inhibici mitosy a další (Linhart, 2012).

4.6.2.5 Endoplasmatické retikulum

Hlavní funkcí endoplasmatického retikula (ER) je syntéza membránových lipidů a proteinů všech membránových organel, také veškerých extracelulárních enzymů, hormonů i krevních bílkovin. Podílí se také na regulaci koncentrace kalciových iontů v cytoplazmě, které se spoluúčastní na transdukci signálů z okolí buňky. Indukce nebo

inhibice enzymů v ER má významnou roli při toxickém působení na organismus (Nečas, 2000).

4.6.3 Působení na úrovni buněk

Toxické účinky, které mají počátek na molekulární úrovni, se na úrovni buněk projevují patologickými změnami u buněk až jejich nadměrným odumíráním. Odumírání, v závislosti na regenerační schopnosti tkáně, rozsahu a způsobu odumření, má nepříznivé účinky pro funkce jednotlivých tkání (Linhart, 2012). Zejména nekróza buněk, tedy smrt buněk způsobená okolními vlivy, má na okolní tkáň neblahé následky. Příčiny zahájení procesu nekrózy mohou být různé. Zahrnují například vniknutí jedu do organismu, kde brání správnému průběhu metabolických procesů. Smrtící faktor, v našem případě chemická látka, zasahuje do dílčích buněčných procesů a struktur, jako jsou buněčné membrány či syntéza ATP. Následkem toho nejčastěji dochází k rozložení buněčných struktur a makromolekul enzymy a jejich uvolnění do okolí. Je-li buňka součástí mnohobuněčného organismu, reagují okolní buňky zánětlivou reakcí, což vyvolává poškození dalších buněk (Nečas, 2000). Na rozdíl od nekrózy nemá apoptóza, tedy programovaná, řízená smrt buňky, nepříznivé následky pro okolní tkáň. Živé buňky se dokážou velmi dobře vyrovnat s nepříznivými podmínkami nejen vnějšího, ale i vnitřního prostředí buňky. Mezi obranné mechanismy buněk patří změna prostupnosti membrán pro určité látky, aktivní transportní mechanismy a chemické transformace cizorodých látek na produkt, který pak snadno difunduje z buňky ven (Linhart, 2012).

5 TOXICITA ANILIN HYDROCHLORIDU

5.1 Subchronická toxicita

Byla provedena studie subchronické expozice AH na potkanech Sprague-Dawley, při které byly pozorovány hematologické, biochemické a histopatologické odpovědi. Jedna skupina samců dostávala 600 parts per million (ppm) AH v pitné vodě, druhá skupina pouze čistou vodu. Z každé skupiny bylo vždy po 30, 60 a 90 dnech usmrceno 5 zástupců, u kterých byla pozorována změna hmotnosti orgánů. Poměr hmotnosti sleziny vzhledem k tělu byl u skupiny, které byl AH podáván, vždy vyšší než u skupiny kontrolní, největší rozdíl byl zaznamenán u potkanů usmrcených po 60 dnech a sice 61 %. Játra vykazovala po 30 dnech snížení hmotnosti u léčené skupiny, po 60 dnech pak zvýšení oproti kontrolní skupině. Varlata vykazovala významné snížení poměru hmotnosti po 60 dnech. Počty erytrocytů ukázaly velmi významný pokles ve všech časových intervalech, hematokryt a hemoglobin vykazovaly snížení po 30 a 90 dnech léčby (Firoze et al., 1993).

5.2 Karcinogenita

Testy možné karcinogenity AH byly prováděny použitím potkanů Fisher 344 a myši B6C3F1. AH byl podáván ve stravě ve dvou koncentracích vždy 50 samcům a 50 samicím každého druhu. Koncentrace v potravě činily u potkanů 0,6 a 0,3 %, u myši 1,2 a 0,6 % a do výzkumu byly zahrnuty též kontrolní skupiny od každého pohlaví, kterým byla podávána strava s nulovým obsahem AH. Výzkum trval 103 týdnů za podávání AH a dalších 5 týdnů dodatečného pozorování. U potkaních samců bylo zjištěno několik typů statisticky významných mezenchymálních tumorů, zejména sleziny, spojovaných s účinky AH. Výskyt tumorů u samic byl významně propojen s rostoucí koncentrací AH. AH byl vyhodnocen jako karcinogenní při perorálním podání. U myši, a to u obou pohlaví, nebyl ve srovnání s kontrolní skupinou prokázán statisticky významný výskyt tumorů (Bioassay of aniline hydrochloride for possible carcinogenicity, 1978).

AH byl testován na kancerogenitu v jednotlivých experimentech na myších a potkanech při perorálním podávání. U myši nebylo zjištěno žádné zvýšení výskytu nádorů. U potkanů byl pozorován výskyt fibrosarkomů, zhoubných nádorů pojivových tkání a sarcomů sleziny a peritoneální dutiny (CANCER, International Agency for Research on, 1982).

AH byl též testován po dva roky při perorálním podání na potkanech. Výsledky vykazovaly zvýšený výskyt různých typů sarkomů sleziny u skupiny samců s vysokými dávkami AH (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

5.3 Teratogenita

AH byl hodnocen jednak z hlediska teratogenity a jednak z hlediska postnatálních účinků ve studii při ústním podání u potkanů Fisher 344. Při nejvyšší dávce, tedy 100 mg AH / kg hmotnosti / den, byly u samic zjištěny známky hematotoxicity. U skupiny, které byla podávána nejnižší dávka, tedy 10 mg AH / kg hmotnosti / den, bylo pozorováno u těhotných samic statisticky významné zvýšení relativní hmotnosti sleziny. V důsledku takto různorodých výsledků nebylo možné určit hodnotu NOAEL (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

Jak u plodů tak u novorozenců ze skupiny samic, kterým byly podávány vysoké dávky AH, byly indikovány změny v hematologických parametrech. Na základě těchto výsledků byla stanovena NOAEL vývojové toxicity na 30 mg AH / kg hmotnosti / den (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

6 TOXICITA AMONIUM PERSULFÁTU

6.1 Akutní toxicita

Akutní toxicita při perorálním podání byla testována na potkanech v koncentraci 200 mg/ml za stanovení hodnoty LD50 na 820 mg/kg (Smyth et al., 1969). Při podání roztoku APS v destilované vodě potkaním samcům a roztoku APS v kohoutkové vodě potkaním samicím byla hodnota LD50 600 mg/kg u samců a 495 mg/kg u samic. Při testování akutní toxicity při aplikaci dermální cestou byla stanovena LD50 na 2 g/kg, kdy byl APS aplikován na neporušenou kůži deseti Sprague-Dawley potkanů, a 10 g/kg při aplikaci neředěného APS na čtyři králičí samce. Akutní toxicita je vyvolávána také inhalací APS. Po čtyřhodinové inhalaci APS potkany byla vyhodnocena LC50 2,95 mg/l (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001).

6.2 Toxicita při opakovaném podání APS (Repeated dose toxicity)

Krátkodobá toxicita APS byla testována jednak po podání perorálním, jednak inhalací. Perorálně byl APS podáván samcům CR-CD potkanů v dávkách 0, 100, 300 nebo 600 ppm po dobu 28 dní. Tomuto výzkumu nenásledovalo žádné úmrtí. Jako LOAEL byla stanovena dávka 600 ppm (National industrial chemicals and assessment scheme, 2001). Příznaky toxicity APS nebyly pozorovány při výzkumu, ve kterém byla šesti psům podávána mouka obsahující 15 g/45 kg APS 6 dní v týdnu po dobu tří měsíců. Žádné změny nebyly zaznamenány ani u potkanů a psů, kteří byli krmeni moukou upravenou pomocí APS po dobu pěti nebo šestnácti měsíců (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001).

Inhalační cestou vstupu se již také zabývalo několik studií. Patří sem výzkum, ve kterém byli potkani vystavováni aerosolu APS o koncentracích 0, 1, 4, 9, 17 a 20 mg/m³ během 7 dní, 23,5 hodin denně. Jako NOAEL byla stanovena hodnota 1 mg/m³. Při vyšších koncentracích byly zaznamenány poklesy hmotnosti a náznaky plicního edému (Last et al., 1982). Další prací, která se zabývala touto cestou vstupu, je třináctidenní studie toxicity APS. Byla provedena na králících, kteří inhalovali vdechovatelný prach o koncentraci 0; 5; 10,3 nebo 25 mg/m³ vždy 6 hodin denně, 5 dní v týdnu. Během studie nebylo vyhodnoceno žádné úmrtí související s expozicí APS, ale byly zjištěny šelesty na plicích a zvýšená rychlost dýchání ve skupině 25 mg/m³ a u několika jedinců skupiny 10,3 mg/m³. Tyto příznaky vymizely během několika týdnů výzkumu. Vyskytovaly se další změny, jako pokles těles-

né hmotnosti či nárůst hmotnosti plic, všechny však byly na konci výzkumu srovnatelné s kontrolní skupinou. NOAEL byl stanoven na $10,3 \text{ mg/m}^3$ (Signorin et al., 2001).

6.3 Podráždění kůže a sliznic

Dermální dráždivost APS byla zjišťována pomocí náplastí aplikovaných jak na neporušenou, tak i na odřenou kůži tří bílých ruských králíků. Na porušené kůži bylo pozorováno silné zarudnutí doprovázené otokem, kterému následovala tvorba strupu a zjizvení. Neporušená kůže nevykazovala kromě slabého otoku, který odezněl během 24 hodin, jiné známky dráždivosti, a proto byl APS vyhodnocen jako kůži nedráždivá látka. Tyto výsledky se pak shodují s výzkumem z roku 1994, kdy byl APS aplikován na kůži šesti novozélandských bílých králíků. V této studii taktéž nebyly pozorovány dráždivé účinky APS (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001).

Schopnost APS dráždit oční sliznice byla vyhodnocena indexem dráždivosti rovným hodnotě 10,5 - mírně dráždivý. APS v množství 0,1 g byl nakapán do spojivkového očního vaku tří králíků, čemuž následovalo silné zarudnutí doprovázené otokem s nadměrnou sekrecí. Příznaky ustupovaly po dobu 72 hodin, přičemž zákal rohovky přetrvával déle. Studie CTFA pozorovala reakce u devíti novozélandských králíků, z nichž třem byly oči po aplikaci promývány po dobu třiceti sekund. APS vykazoval mírnou dráždivost u králíků, jejichž oči nebyly promývány, a téměř nulovou u těch, kterým byly oči promyty (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001).

6.4 Genotoxicita

APS v množství 1 až 1000 $\mu\text{g/miska}$ byl podroben testům mutagenity na bakteriích. Testy byly provedeny na *Salmonella typhimurium* druhu TA1535, TA1537 a TA1538 s metabolickou aktivací i bez ní. Ve všech případech byly získány negativní výsledky (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001). Mutagenní potenciál byl testován i v koncentracích až do 10 mg/miska za použití *Salmonella typhimurium* druhu TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535 a TA1537, opět s metabolickou aktivací i bez metabolické aktivace. Výsledky mutagenity byly negativní ve všech testovaných koncentracích (Ishidate et al., 1984).

Při testech chromozomálních aberací APS vykazuje též negativní výsledky. Testy byly provedeny na CHL buňkách inkubovaných v koncentraci 250 $\mu\text{g/ml}$ po dobu 48 hodin bez metabolické aktivace (National industrial chemicals and assessment scheme, 2001).

6.5 Karcinogenita

Karcinogenita APS byla zjišťována ve studii zaměřené na potenciál této látky pro tvorbu kožních nádorů. Výzkum probíhal 51 týdnů a byl prováděn na myších samicích. V první řadě bylo myším jednorázově podáno 20 nmolů iniciátoru dimethyl benzantracenu v 0,2 ml acetonu. O týden později bylo započato podávání APS v koncentraci 200 mg/ml acetonu, kontrolním jedincům byl podáván čistý aceton. Ve výsledcích byly náznaky tvorby nádorů spojované s APS, ale nebylo možné jej označit jako aktivně podpůrný ani kompletní karcinogen (Kurokawa et al., 1984).

7 TOXICITA OLIGOMERŮ ANILINU

Toxicita oligomerů anilinu byla systematicky poprvé zkoumána roku 2012. Práce, která byla tohoto roku vydána, popisuje zkoušky cytotoxicity anilinových dimerů, trimerů a tetramerů na myších fibroblastech (NIH-3T3) a karcinogenních lidských alveolárních bazálních epitelálních buňkách (A549). Výsledky demonstrují, že anilinové trimery vykazují vyšší cytotoxicitu než dimery či tetramery, a to na oba typy buněk. Nicméně i typ buněk výrazně ovlivňoval výsledky. U buněk A549 byla pozorována nižší cytotoxicita než u NIH-3T3 (Zhang et al.).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

8 MATERIÁL A METODIKA

8.1 Anilin hydrochlorid a amonium persulfát

Anilin hydrochlorid (pure, kat. č.: 40008-CT0) byl vyroben a dodán firmou Lach-Ner. Amonium persulfát (reagent grade, 98%, kat. č.: 215589) byl vyroben a dodán firmou Sigma-Aldrich.

Bezpečnostní listy obou použitých látek jsou k dispozici v přílohách této práce.

8.2 Použité buněčné linie

V rámci MTT testu byly použity buňky buněčné linie HaCaT. Jedná se o buněčnou linii lidských keratinocytů, které byly získány od firmy Cell Lines Service (Catalog No. 300493, Germany). Jako kultivační médium bylo použito Dulbecco's Modified Eagle Medium, s vyšším obsahem glukózy. K médiu se dle návodu pro kultivaci buněk přidává 10% fetálního séra skotu a antibiotika – konkrétně Penicillin/Streptomycin, 100 U/ml (100 μ g/ml), (PAA Laboratories GmbH, Austria). Kultivační podmínky byly následující: teplota 37°C, koncentrace CO₂ – 5%, stabilní relativní vlhkost uvnitř inkubátoru.

V rámci testů fluorescenční mikroskopie byla použita buněčná linie myších fibroblastů NIH/3T3 (ARCC CRL-1658), pro které bylo použito stejné medium jako v předchozím případě, rozdíl byl pouze v použitém séru. U linie NIH/3T3 jsme použili telecí sérum.

8.3 Použité přístroje

Biologický inkubátor s řízenou atmosférou CO₂ – Inkubátor Heracell 150i (ThermoScientific, USA), mikroskop s fázovým kontrastem (Olympus CKX 41, Japan), centrifuga Ependorf 5702 R (Ependorf, Německo), spektrofotometrický přístroj pro měření absorbance Sunrise (Tecan, Švýcarsko), laminární flow box s řízenou cirkulací vzduchu (ThermoScientific, USA).

8.4 Experimentální uspořádání

8.4.1 Příprava roztoků AH, APS

Roztoky AH i APS byly připraveny smícháním jednotlivých monomerů s používaným kultivačním médiem. Finální koncentrace AH byly 25; 20; 15; 10; 5; 1;

0,75; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 a 0,025 mg/ml. Koncentrace APS byly 25; 20; 15; 10; 5; 1; 0,75; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 a 0,025 mg/ml. V případě roztoků AH bylo zjištěno nízké pH, proto byl proveden ještě pokus s vzorky u kterých bylo pH upraveno na hodnotu $\text{pH} = 7 \pm 0,2$.

8.4.2 Prekultivace buněk

Z kultivační lahve bylo odsáto kultivační médium. Po důkladném odsátí bylo provedeno opláchnutí buněk pufovaným fyziologickým roztokem (PBS) v množství $0,2 \text{ ml/cm}^2$. Bezprostředně po oplachu bylo PBS odsáto. Poté byl k buňkám přidán trypsin v množství $0,1 \text{ ml/cm}^2$ a láhev byla vložena do inkubátoru. Stav trypsinizace byl průběžně kontrolován pod mikroskopem. Poté, co bylo zpozorováno oddělení buněk od kultivační nádoby (proces může trvat maximálně 20 minut od přidavku trypsinu), bylo do nádoby přidáno kultivační médium ve stejném objemu, v jakém byl přidáván trypsin. Suspenze buněk pak byla pomocí pipety převedena do centrifugační zkumavky. Zkumavka byla vložena do centrifugy, kde probíhalo odstředění po dobu 3 minut při rychlosti 1100 rotací za minutu (rpm) a teplotě $37,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Po vyjmutí zkumavky s buněčným sedimentem na dně byl opatrně odsát supernatant. Samotné koncentrované buňky pak byly naředěny čerstvým médiem na požadovanou koncentraci $1 \cdot 10^5$ buněk/ml. Takto připravená buněčná suspenze byla poté rozpipetována do jednotlivých jamek 96 jamkových destiček v objemu $100 \text{ } \mu\text{l}$ na 1 jamku. Připravené destičky byly vloženy do inkubátoru, kde probíhala prekultivace buněk po dobu 24 hodin. Prekultivace buněk je důležitá z hlediska jejich fyziologického stavu při začátku testu.

8.4.3 Přidávání roztoků

Druhého dne bylo odsáto médium a následně byly do jamek s buňkami přidávány roztoky AH a APS a to v koncentracích: 0,15; 0,2; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 5; 10; 15; 20; 25 mg/ml. Jednotlivých koncentrací bylo docíleno ředěním roztoku o nejvyšší koncentraci (25 mg/ml) čistým médiem. Následovala kultivace buněk v inkubátoru po dobu 24 hodin.

8.4.4 MTT test

Třetího dne, po 24 hodinách kultivace v přítomnosti roztoků, bylo buňkám vyměněno médium a přidán 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazolium bromid (MTT) v koncentraci $0,5 \text{ mg/ml}$ média. Destičky s buňkami byly poté vloženy do inkubátoru na 4 hodiny. Po uplynutí této doby bylo z jamek pomocí mikropipety odebráno $40 \text{ } \mu\text{l}$ média, zbytek byl odsát a odpipetovaných $40 \text{ } \mu\text{l}$ bylo navraceno zpět do jamek. V dalším kroku

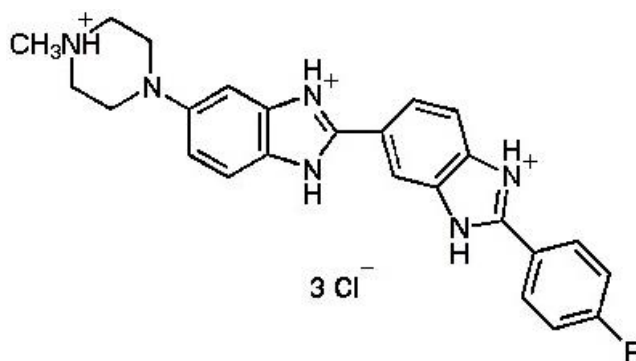
bylo přidáno 80 μ l dimethylsulfoxidu (DMSO). DMSO byl ponechán účinkovat po dobu 15 minut. Poté byla změřena absorbance pomocí spektrofotometrického přístroje (Molecular probes, 2002).

8.4.5 Fluorescenční mikroskopie

Fibroblasty NIH/3T3 použité pro testování pomocí fluorescenční mikroskopie byly kultivovány stejným způsobem jako keratinocyty HaCaT pozorované v testu MTT. Postup je popsán v kapitolách 8.4.2 Prekultivace buněk a 8.4.3 Přidávání roztoků. Poté bylo k buňkám přidáno 10 μ g/ml fluorescenčního barviva, v našem případě barviva Hoechst 33258, tedy pentahydrát (bis-benzimide), které bylo ponecháno působit po dobu deseti minut. Buňky byly opláchnuty pomocí PBS a vzorky byly pozorovány pod fluorescenčním mikroskopem s fázovým kontrastem.

Barviva Hoechst jsou modrá flouorescenční barviva schopná prostupovat do buněčných struktur, což umožňuje pozorovat za jejich použití přítomnost daných proteinů v buněčných organelách. Díky jejich citlivosti na konformace DNA a stav chromatinu v buňkách je možná detekce poškození buněčných struktur, vizualizace chromozomů, jadérek či jader a tedy i počtu samotných buněk. Struktura barviva hoechst 33258 je znázorněna na obrázku 4 (Molecular probes, 2005).

Obrázek 4 - strukturní vzorec barviva Hoechst 33258 (Molecular probes, 2005)



Princip fluorescenční mikroskopie spočívá ve specifickém navázání barviva na pozorovanou strukturu a následném ozáření světlem o takové vlnové délce, kterou barvivo absorbuje za současného zvýšení energie molekuly. Tato energie je pak vyzářena světlem o delší vlnové délce, což se pod mikroskopem projeví barevnou změnou (Molecular probes, 2005).

9 VÝSLEDKY

Níže jsou uvedeny výsledky testů cytotoxicity dvou látek, jedná se o anilin hydrochlorid (AH) a amonium persulfát (APS), přičemž v případě AH byl ještě zahrnut vzorek s upraveným pH. Viabilita buněk je vyjádřena pomocí grafů a tabulek. V tabulkách jsou uvedeny výsledky průměrné absorbance a jejich směrodatné odchylky, přičemž se jedná o průměr ze čtyř opakování. V tabulkách je také uvedeno vyhodnocení dle ISO 10 993-5 „Zkoušky na cytotoxicitu *in vitro*“. ISO norma je primárně určena pro testování zdravotnických prostředků, nicméně způsob vyhodnocení je v tomto případě aplikovatelný také pro naše testy cytotoxicity samostatných sloučenin. Dle ISO se porovnává procentuální viabilita buněk reference s viabilitou jednotlivých vzorků, přičemž je aplikován následující postup: hodnota rovna 100 znamená 100% přežitelnost buněk; >80 vyjadruje necytotoxický efekt; 60–80 slabá cytotoxicita; 40–60 střední cytotoxicita, <40 silná cytotoxicita.

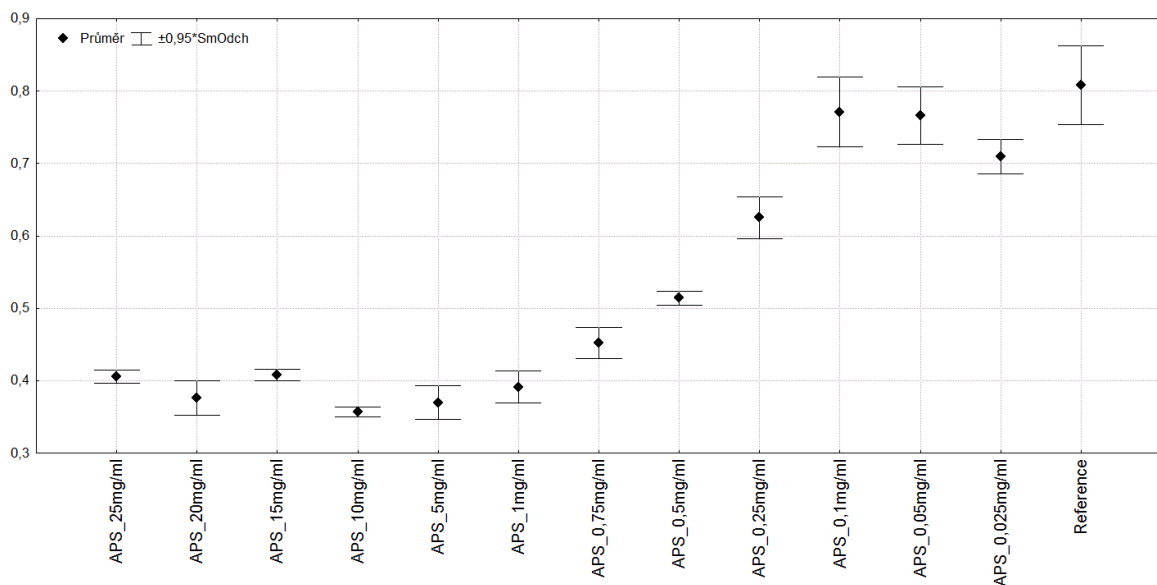
9.1 pH jednotlivých roztoků

Hodnoty pH jsou důležité z hlediska reakcí buněk, proto je potřebné je před testováním zkontrolovat, případně upravit. Testovaný vzorek amonium persulfátu o koncentraci 25 mg/ml měl hodnotu pH 7,319, tudíž nebylo nutné jeho pH upravovat. Při testování vzorku anilin hydrochloridu byly pro dané koncentrace naměřeny hodnoty pH: pH 3,983 pro 25 mg/ml, pH 5,501 pro 5 mg/ml a pH 7,363 pro koncentraci 1 mg/ml. Jelikož vzorky anilin hydrochloridu o koncentracích vyšších než 5 mg/ml vykazovaly kyselé hodnoty, bylo pH vzorku anilin hydrochloridu o koncentraci 25 mg/ml upraveno na hodnotu 7,403. V tomto stavu byl vzorek naředěn na potřebné koncentrace a opětovně podroben zkouškám cytotoxicity.

9.2 Cytotoxicita amonium persulfátu

Cytotoxicita amonium persulfátu (APS) byla stanovena na buněčné linii HaCaT pomocí upravené metodiky ISO normy č. 10993-5. V grafu č. 1 jsou uvedeny výsledky vyjadřující absorbanci jednotlivých vzorků APS při testu MTT. Z grafu je patrné, že se zvyšující se koncentrací APS v kultivačním médiu dochází ke snížení viability buněk. Výrazný pokles viability nastává od koncentrace 0,25 mg/ml. V koncentracích nižších (0,1; 0,05 a 0,025) jsou hodnoty absorbance velmi blízké referenci. Je možno konstatovat, že absorbance u koncentrace 0,025 mg/ml je nižší než u mírně vyšších koncentrací, zdá se však, že se jedná pouze o chybu měření. Jako limitní se zdá koncentrace 1 mg/ml. Při vyšších koncentracích (5; 10; 15; 20 a 25 mg/ml) APS již nedochází k výraznému snížení viability buněk.

Graf 1 - výsledky testu cytotoxicity jednotlivých koncentrací vzorků APS



V tabulce č. 1 jsou uvedeny výsledky doplňující graf č. 1 o vyhodnocení pomocí T-testu a dle ISO normy. Z tabulky je zřejmé, že tendence pozorované v grafu jsou potvrzeny i matematicko-statistickým vyhodnocením. Všechny koncentrace s výjimkou koncentrací 0,1 a 0,05 mg APS na ml média jsou dle T-testu statisticky průkazně odlišné od referenčního vzorku. V případě koncentrace 0,025 mg/ml je sice pozorován statisticky významný rozdíl oproti referenci, ale podle ISO normy je tato koncentrace necytotoxická podobně jako koncentrace 0,1 a 0,05 mg/ml. Vyšší koncentrace APS již vykazují slabou cytotoxicitu. Konkrétně se jedná o koncentrace 0,25 a 0,5 mg/ml. Zbývající koncentrace (0,75; 1; 5; 10; 15; 20 a 25 mg/ml) pak vykazují již střední cytotoxicitu.

Tabulka 1 - vyhodnocení absorbancí vzorků APS pomocí T-testu

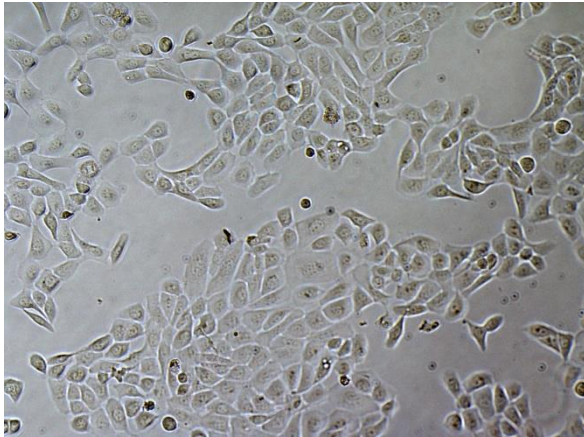
Koncentrace	Průměr ± SD	p	%
25 mg/ml	0,4054 ± 0,0095	0,0000	50
20 mg/ml	0,3761 ± 0,0248	0,0000	47
15 mg/ml	0,4080 ± 0,0082	0,0000	50
10 mg/ml	0,3565 ± 0,0070	0,0000	44
5 mg/ml	0,3696 ± 0,0248	0,0000	46
1 mg/ml	0,3911 ± 0,0234	0,0000	48
0,75 mg/ml	0,4522 ± 0,0230	0,0000	56
0,5 mg/ml	0,5139 ± 0,0107	0,0000	64
0,25 mg/ml	0,6251 ± 0,0303	0,0000	77
0,1 mg/ml	0,7709 ± 0,0507	0,3928	95
0,05 mg/ml	0,7662 ± 0,0422	0,2429	95
0,025 mg/ml	0,7096 ± 0,0251	0,0090	88
Reference	0,8079 ± 0,0574		100

Poznámka: p vyjadřuje hladinu významnosti při porovnání s referencí. % vyjadřují procentuální pokles buněčné viability ve srovnání s referencí, přičemž: hodnota rovna 100 znamená 100% přežitelnost buněk; >80 vyjadřuje necytotoxický efekt; 60–80 slabá cytotoxicita; 40–60 střední cytotoxicita, <40 silná cytotoxicita.

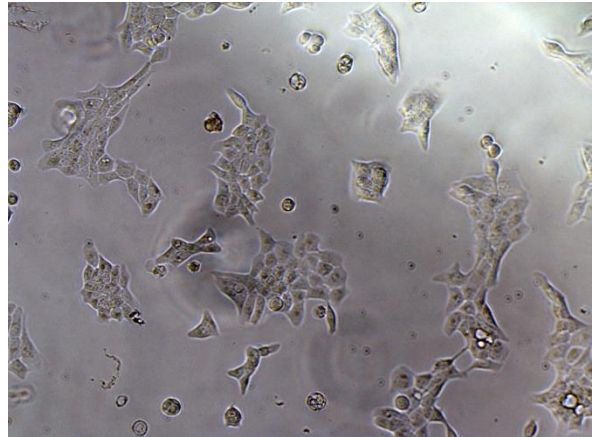
Na obrázku č. 5 jsou zobrazeny fotografie buněčné linie HaCaT při stonásobném zvětšení, těsně před vyhodnocením testu pomocí MTT. Mikrofotografie korespondují s kvantifikací dle testu MTT, na jednotlivých snímcích lze pozorovat morfologické změny buněk. Na fotografii (A) je zobrazena koncentrace 0,1 mg APS na 1 ml média. To odpovídá množství i vzhledu zdravých buněk, což značí fyziologický vzhled, dobře viditelná jádra a adheze buněk. Při koncentraci 0,25 mg/ml na obrázku (B) zatím nejsou pozorovány výrazné morfologické změny, ale je zde zachycen úbytek buněk, což se shoduje s výsledky T-testu, který vyhodnotil tuto koncentraci jako slabě toxickou. U vyšších koncentrací na fotografiích (C), (D), (E) a (F) množství buněk radikálně klesá a jsou zde vidět značné změny morfologie, snížená adheze i zbytky odumřelých buněk. Na fotografii (F) je zachycena tvorba bublin cytoplazmatické membrány, což je charakteristický jev doprovázející buněčnou smrt.

Obrázek 5 - fotografie buněk při testu cytotoxicity amonium persulfátu v koncentracích 0,1 (A); 0,25 (B); 1 (C); 5 (D); 15 (E) a 25 mg/ml (F)

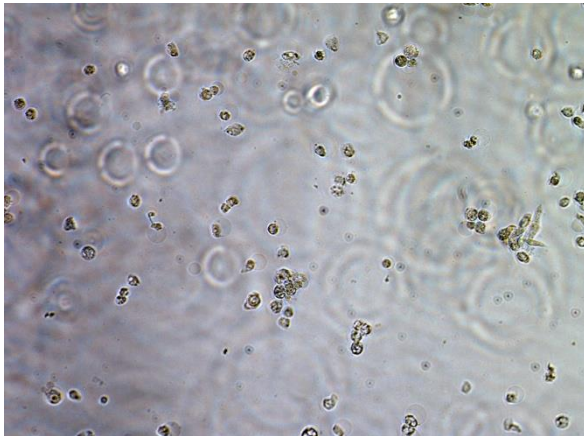
(A)



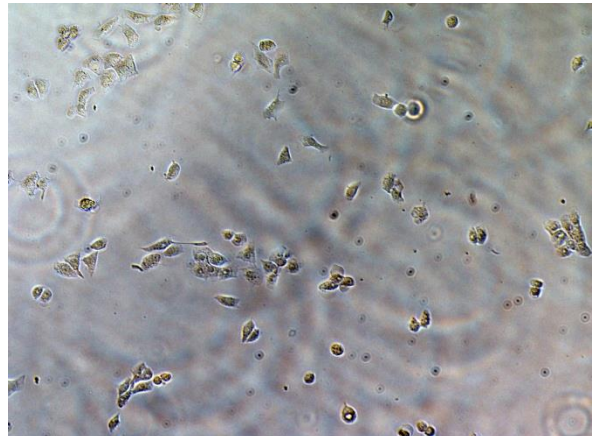
(B)



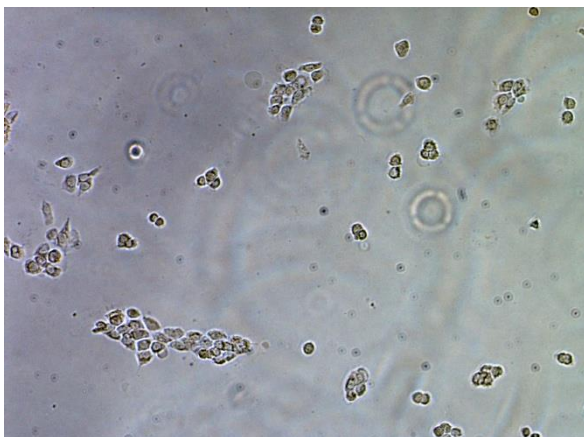
(C)



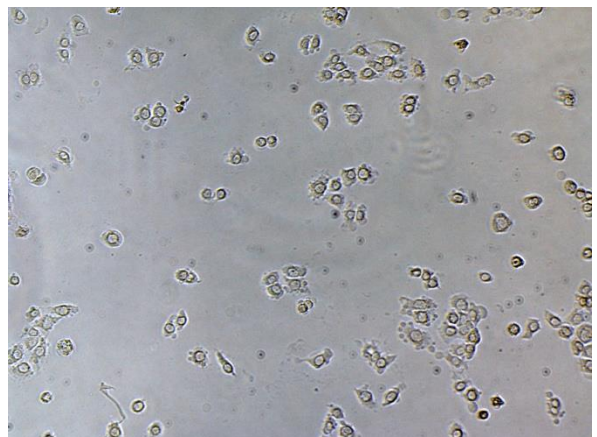
(D)



(E)

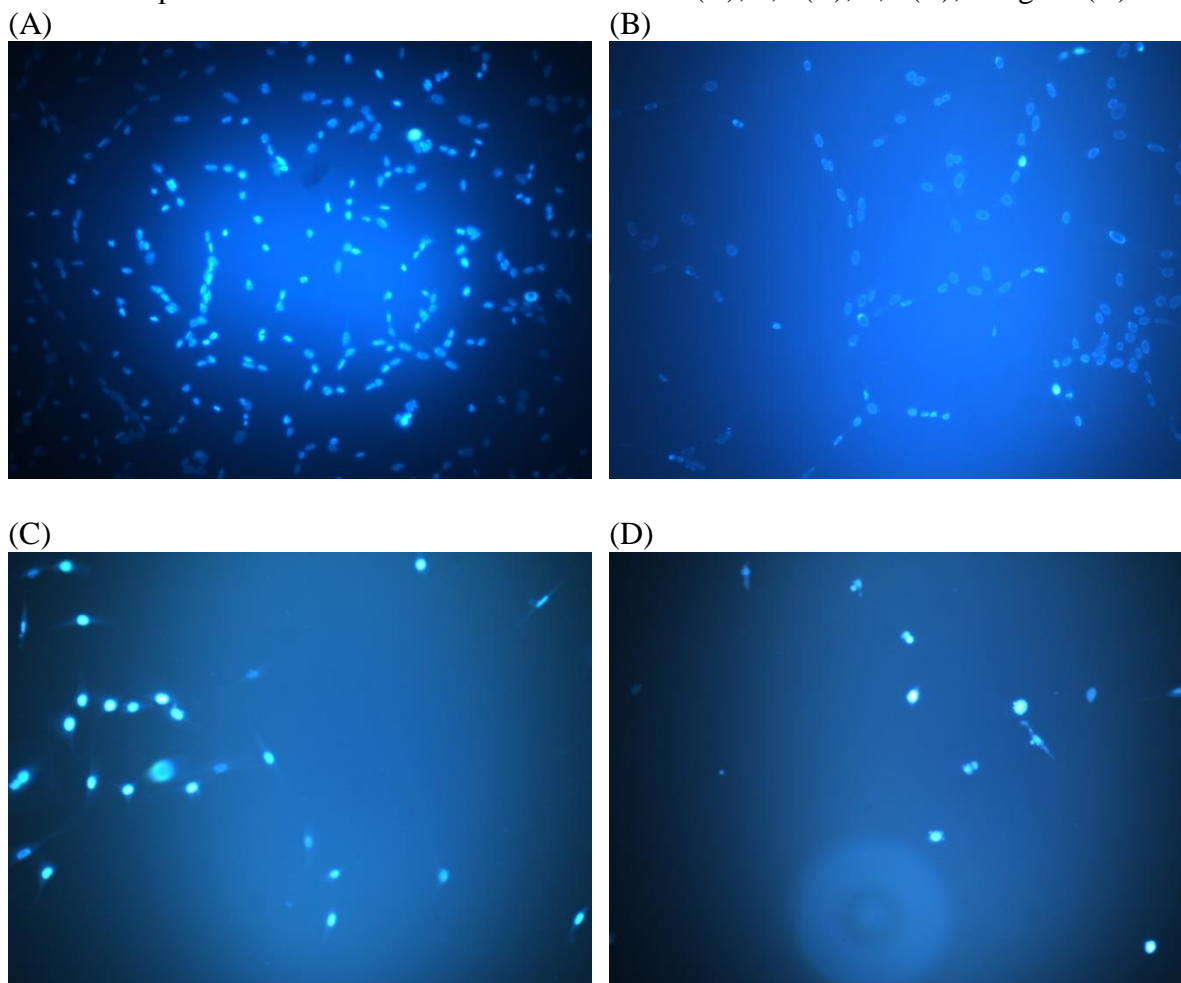


(F)



Na obrázku č. 6 jsou zobrazeny fotografie buněčné linie NIH/3T3 při stonásobném zvětšení po obarvení fluorescenčním barvivem Hoechst 33258. Fotografie jsou pořízeny pomocí fluorescenčního mikroskopu. Přestože je test vyhodnocován na buněčné linii jiného původu, fotografie korespondují s výsledky testu MTT. Pozorujeme zde výrazné snižování počtu buněk s rostoucí koncentrací amonium persulfátu.

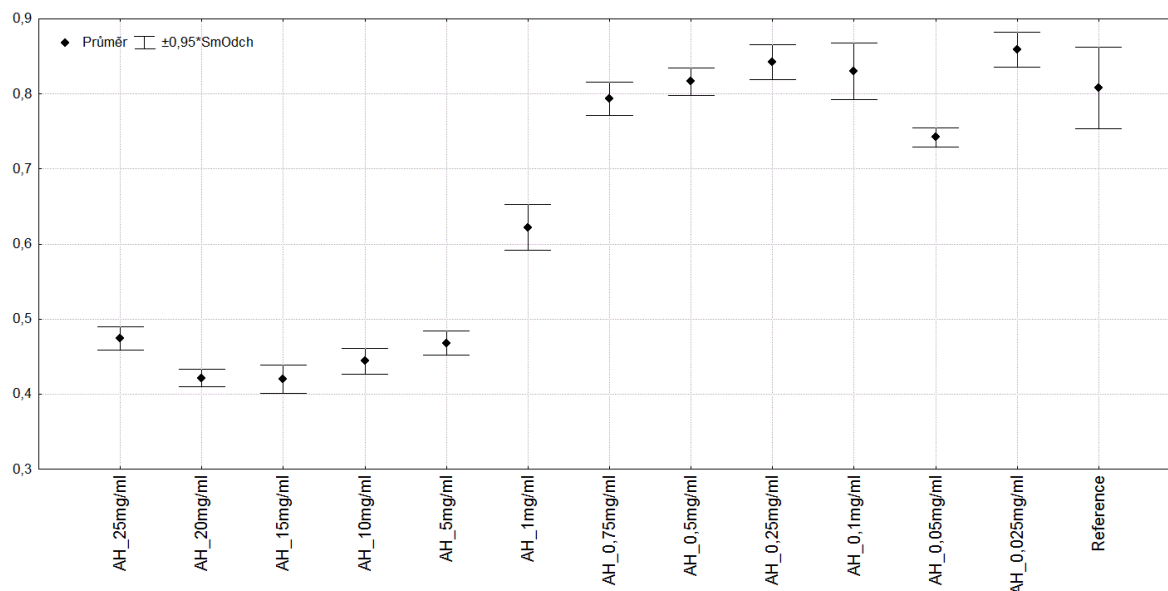
Obrázek 6 - fotografie fluorescenční mikroskopie buněčné linie NIH/3T3 prekultivované s amonium persulfátem v koncentraci: referenční – 0 (A); 0,1 (B); 0,5 (C); 1 mg/ml (D)



9.3 Cytotoxicita anilin hydrochloridu

Cytotoxicita anilin hydrochloridu (AH) byla stanovena na linii HaCaT pomocí upravené metodiky ISO normy. Výsledky testu MTT jsou znázorněny pomocí absorbancí jednotlivých vzorků AH o různých koncentracích v grafu č. 2. Na grafu je viditelný klesající trend viability buněk s rostoucí koncentrací látky v kultivačním médiu. Znatelné snížení viability lze pozorovat od koncentrace 1 mg AH na 1 ml kultivačního média. Jako limitní se jeví koncentrace 5 mg/ml. Nejvyšší koncentrace látky, tedy 25 mg/ml, vykazuje mírné zvýšení absorbance vůči mírně nižším koncentracím. Tato změna absorbance je však způsobena tvorbou krystalků AH, které se samovolně vytváří již od koncentrace 15 mg/ml, u koncentrace 25 mg/ml je ale jejich vliv mnohem výraznější. Ke vzniku krystalků dochází i v čistém médiu, pokud je však AH rozpuštěn v ultračisté vodě, krystalky se netvoří. Jejich vznik je tedy pravděpodobně způsobem interakcí s některou ze složek média. Krystalky jsou viditelné na obrázku č. 7 (F). U nižších koncentrací (0,75; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 a 0,025 mg/ml) než 1 mg/ml, jsou hodnoty absorbance viditelně blízké referenční hodnotě. Značný pokles absorbance při koncentraci 0,05 mg/ml je považován za chybu měření.

Graf 2 - výsledky testu cytotoxicity jednotlivých koncentrací vzorků AH



Tabulka č. 2 uvádí výsledky doplňující graf č. 2 o vyhodnocení pomocí T-testu a dle ISO normy. Z výsledků je patrné, že v grafu viditelný trend viability buněk je potvrzen i matematicko-statistickým vyhodnocením. Koncentrace vyšší než 1 mg AH na 1 ml média (25; 20; 15; 10; 5 a 1 mg/ml) jsou podle T-testu statisticky průkazně odlišné od reference. U koncentrací vyšších než 1 mg/ml (0,75; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 a 0,025) nebyla

T-testem zjištěna statisticky průkazná odlišnost od referenčního vzorku. Ačkoliv u koncentrace 0,05 mg/ml pozorujeme značný propad hodnoty absorbance, je tato koncentrace AH v kultivačním médiu považována dle ISO normy za necytotoxickou, podobně jako tomu je u koncentrací 0,025; 0,1; 0,25; 0,5 a 0,75 mg/ml. Slabou cytotoxicitu vykazuje koncentrace 1 mg AH na 10 ml média. Zbylé koncentrace této látky (5; 10; 15; 20 a 25 mg/ml) již vykazují střední cytotoxicitu. Výrazné zvýšení buněčné viability u nejvyšší koncentrace je způsobeno změnou absorbance v důsledku tvorby krystalků AH.

Tabulka 2 - vyhodnocení absorbancí vzorků AH pomocí T-testu

Koncentrace	Průměr ± SD	p	%
25 mg/ml	0,4742 ± 0,0162	0,0000	59
20 mg/ml	0,4212 ± 0,0125	0,0000	52
15 mg/ml	0,4198 ± 0,0203	0,0000	52
10 mg/ml	0,4440 ± 0,0180	0,0000	55
5 mg/ml	0,4677 ± 0,0169	0,0000	58
1 mg/ml	0,6218 ± 0,0321	0,0000	77
0,75 mg/ml	0,7936 ± 0,0237	0,6332	98
0,5 mg/ml	0,8164 ± 0,0192	0,8408	101
0,25 mg/ml	0,8424 ± 0,0249	0,3242	104
0,1 mg/ml	0,8299 ± 0,0400	0,4758	103
0,05 mg/ml	0,7424 ± 0,0134	0,0670	92
0,025 mg/ml	0,8590 ± 0,0241	0,1496	106
Reference	0,8079 ± 0,0574		100

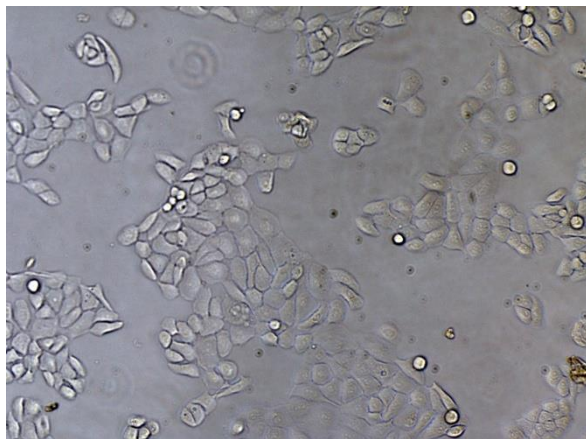
Poznámka: p vyjadřuje hladinu významnosti při porovnání s referencí. % vyjadřují procentuální pokles buněčné viability ve srovnání s referencí, přičemž: hodnota rovna 100 znamená 100% přežitelnost buněk; >80 vyjadřuje necytotoxický efekt; 60–80 slabá cytotoxicita; 40–60 střední cytotoxicita, <40 silná cytotoxicita.

Fotografie buněčné linie HaCaT zachycené před vyhodnocením testu MTT jsou na obrázku č. 7. Zvětšení fotografií je stonásobné. Fotografie korespondují s výsledky testu MTT. Fotografie (A) koncentrace 0,25 mg AH na 1 ml média znázorňuje buňky v dobrém fyziologickém stavu a velkém množství. Ve stejně dobré fyziologické kondici zachycuje buňky fotografie (B), kde jsou zobrazeny buňky kultivované s roztokem AH o koncentraci 0,75 mg/ml. Mimo mírné snížení jejich počtu zde nejsou pozorovány žádné změny.

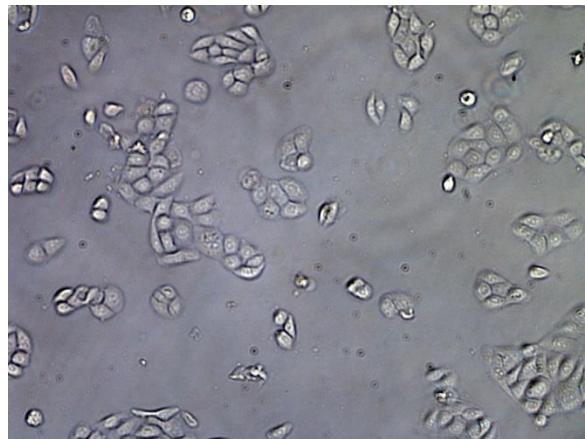
Na obrázku (C) a (D) o koncentracích 1 a 10 mg/ml lze pozorovat nefyziologický vzhled, zejména tvar buněk. Na fotografiích (E) a (F) je zobrazena koncentrace 25 mg/ml, přičemž na obrázku (E) je vidět tvorba „bublin“ doprovázející apoptózu, na obrázku (F) krystalky AH ovlivňující absorbanci při testu MTT a v důsledku toho pak hodnoty získané viability.

Obrázek 7 - fotografie buněk při testu cytotoxicity anilin hydrochloridu v koncentracích 0,25 (A); 0,75 (B); 1 (C); 10 (D); 25 (E) a 25 mg/ml, kde jsou viditelné krystalky AH (F)

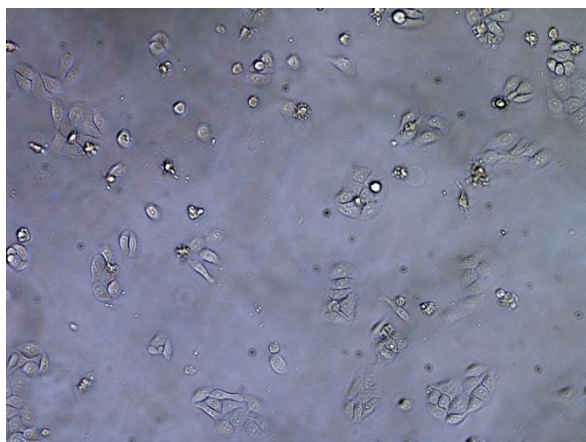
(A)



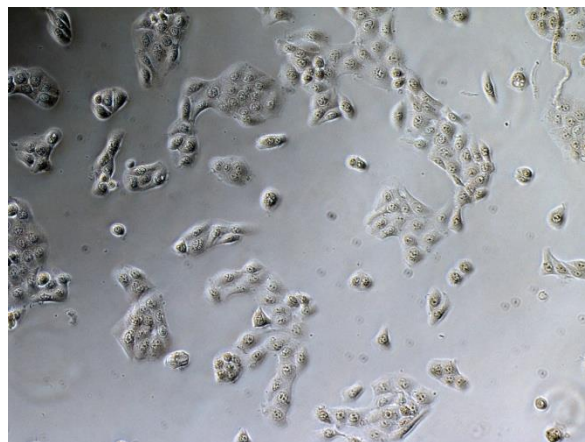
(B)



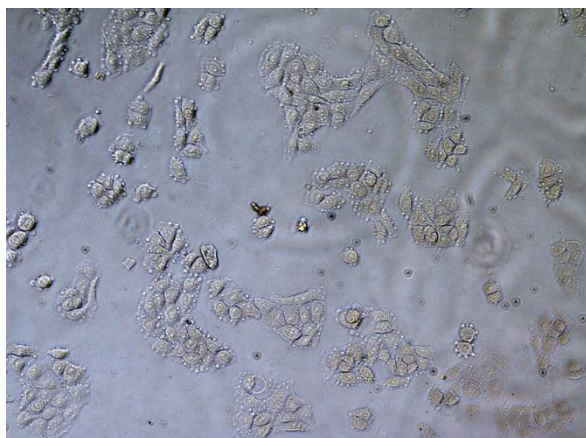
(C)



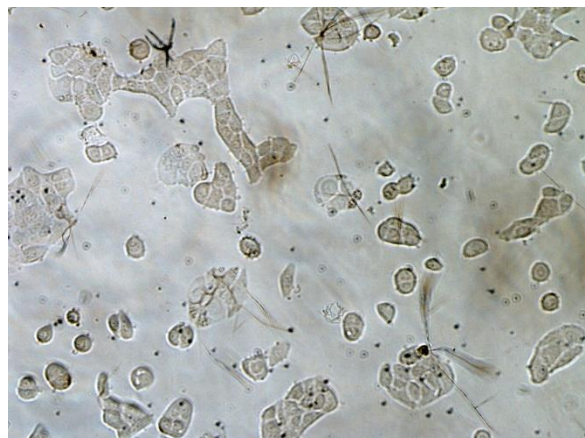
(D)



(E)

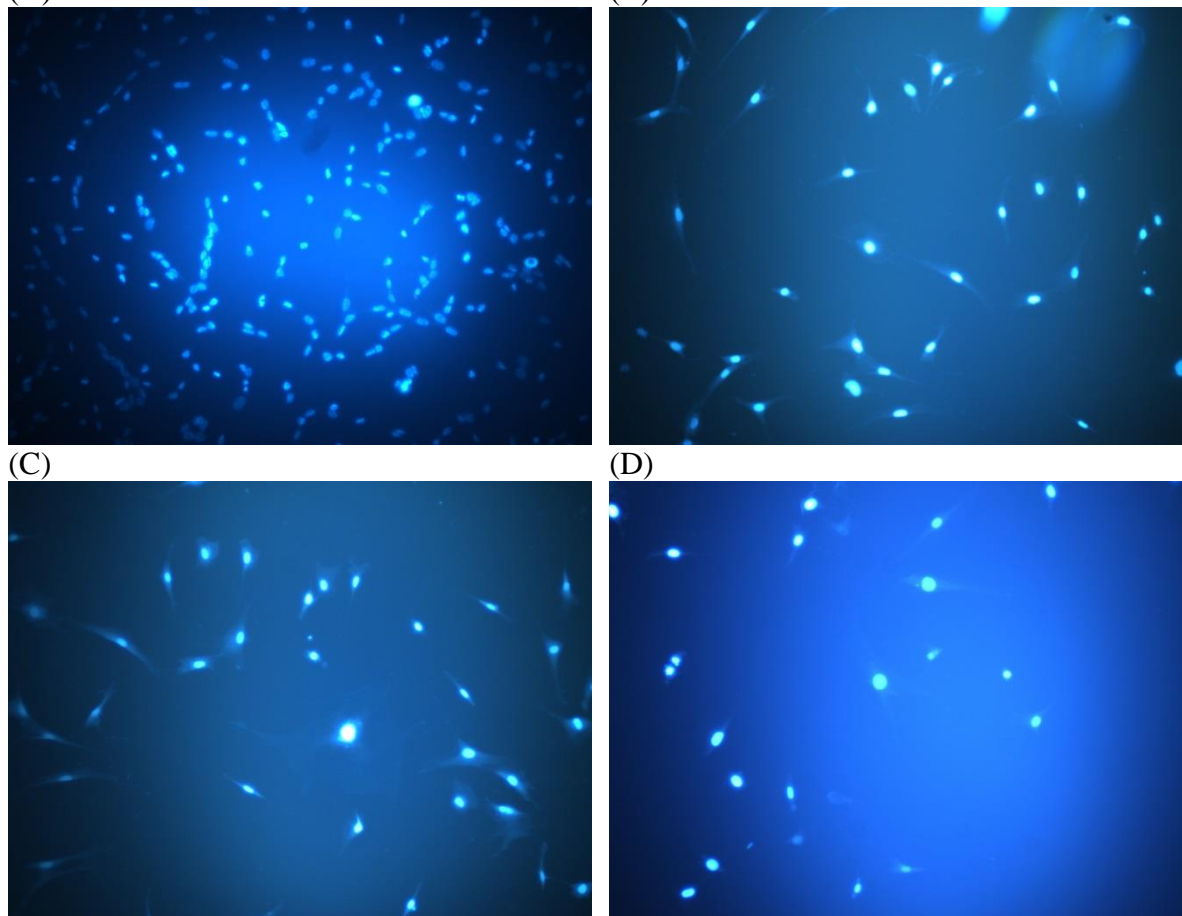


(F)



Na obrázku č. 8 jsou zachyceny fotografie buněčné linie NIH/3T3 po obarvení fluorescenčním barvivem Hoechst 33258. Fotografie jsou pořízeny pomocí fluorescenčního mikroskopu při stonásobném zvětšení. Na obrázku je pozorováno snížení počtu buněk s rostoucí koncentrací anilin hydrochloridu, což se shoduje s výsledky testu MTT.

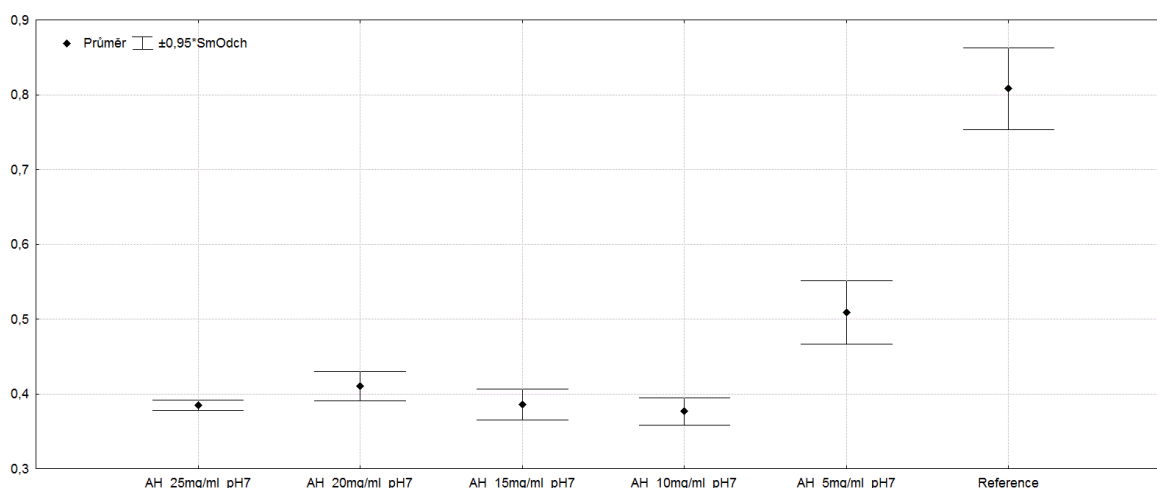
Obrázek 8 - fotografie fluorescenční mikroskopie buněčné linie NIH/3T3 prekulivované s anilin hydrochloridem v koncentraci: referenční – 0 (A); 0,5 (B); 0,75 (C); 1 mg/ml (D)



Cytotoxicita Anilin hydrochloridu s upraveným pH

Cytotoxicita Anilin hydrochloridu s upraveným pH byla taktéž stanovena na linii HaCaT pomocí upravené metodiky ISO normy. V grafu č. 3 jsou uvedeny hodnoty absorbancí jednotlivých vzorků anilin hydrochloridu s upraveným pH, získaných při testu MTT. Na grafu je viditelná klesající tendence viability buněk s rostoucí koncentrací látky v kultivačním médiu a to zejména v rozmezí koncentrací 5 a 10 mg anilin hydrochloridu na 1 ml kultivačního média. U zbylých koncentrací (15; 20 a 25 mg/ml) již pozorujeme mírné kolísání kolem ustálené hodnoty absorbance, tedy podobné vlivy těchto koncentrací na viabilitu buněk. Nepřiměřený vzrůst absorbance u koncentrace 20 mg/ml je pravděpodobně, s ohledem na směrodatné odchylky, způsoben chybou měření.

Graf 3 - výsledky testu cytotoxicity jednotlivých koncentrací vzorků AH s upraveným pH



V tabulce č. 3 jsou uvedeny výsledky doplňující graf č. 3 o vyhodnocení pomocí T-testu a dle ISO normy. Z výsledků je zřejmé, že tendence viability buněk pozorovaných v grafu jsou doloženy i matematicko-statistickým vyhodnocením. Všechny testované koncentrace (5; 10; 15; 20 a 25 mg/ml) anilin hydrochloridu s upraveným pH jsou statisticky průkazně odlišné od referenční hodnoty a všechny spadají do kategorie střední cytotoxicity, jako tomu bylo při testování anilin hydrochloridu bez úpravy pH.

Tabulka 3 - vyhodnocení absorbancí vzorků AH s upraveným pH pomocí T-testu

Vzorek	Průměr ± SD	p	%
AH_25mg/ml	0,3850 ± 0,0074	0,0000	48
AH_20mg/ml	0,4105 ± 0,0212	0,0000	51
AH_15mg/ml	0,3861 ± 0,0217	0,0000	48
AH_10mg/ml	0,3766 ± 0,0191	0,0000	47
AH_5mg/ml	0,5089 ± 0,0450	0,0000	63
Reference	0,8079 ± 0,0574		100

Poznámka: p vyjadřuje hladinu významnosti při porovnání s referencí. % vyjadřují procentuální pokles buněčné viability ve srovnání s referencí, přičemž: hodnota rovna 100 znamená 100% přežitelnost buněk; >80 vyjadřuje necytotoxický efekt; 60–80 slabá cytotoxicita; 40–60 střední cytotoxicita, <40 silná cytotoxicita.

9.4 Srovnání cytotoxicity Amonium persulfátu a Anilin hydrochloridu

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že obě látky, jak amonium persulfát (APS), tak anilin hydrochlorid (AH), vykazují cytotoxické účinky závislé na koncentraci dané chemikálie. Jejich účinky se však při různých koncentracích mírně liší. Svědčí o tom například první výrazný pokles viability buněk viditelný na grafu č. 1 a 2, který byl u APS pozorován při koncentraci 0,25 mg/ml a u AH při koncentraci 1 mg/ml. Tato informace tedy říká, že nástup cytotoxicity byl u APS zaznamenán při nižší koncentraci než u AH. Potvrzuje to také limitní koncentrace, pozorovaná na grafech, která byla u APS rovna 1 mg/ml, u AH 5 mg/ml. Z tabulek č. 1 a 2 je zjevné, že obě zjištěné kategorie cytotoxicity se projevovaly u APS v nižších koncentracích než u AH. Konkrétně slabá cytotoxicita byla u APS zaznamenána při koncentraci 0,25 mg/ml a u AH při 1 mg/ml. Střední cytotoxicita se objevila u APS při koncentraci 0,75 mg/ml, u AH při 5 mg/ml. Je vhodné též podotknout, že ačkoliv obě látky dosahovaly pouze kategorie střední cytotoxicity, nejvyšší pozorovaná hodnota u APS dosahovala vyšších hodnot než nejvyšší hodnota cytotoxicity AH.

10 DISKUZE

Polyanilin (PANI) je jako zástupce vodivých polymerů potenciálně využitelný v biomedicínských aplikacích, například v oboru srdečního a nervového tkáňového inženýrství. Roku 2012 byla provedena studie biokompatibility PANI (Humpolíček et al.), kde byla zjištěna cytotoxicita tohoto polymeru. Vzhledem k tomu, že bylo dosaženo významného snížení cytotoxicity pomocí čistících postupů následujících po syntéze PANI, bylo možné konstatovat, že za cytotoxicitu jsou odpovědné zejména nízkomolekulární složky, které se v hotovém PANI nachází. S ohledem na tyto výsledky bylo vhodné provést výzkum vlivů možných nečistot PANI, tedy zbytků výchozích látek, monomeru anilin hydrochloridu (AH) a oxidačního činidla amonium persulfátu (APS) (Prokeš, Stejskal, Omasťová, 2001).

O těchto látkách již bylo v minulosti provedeno několik studií. Svědčí o tom například výzkum subchronické toxicity AH na potkanech (Firoze et al., 1993), který odhalil negativní vliv na tělesné orgány těchto zvířat, konkrétně jater, sleziny a varlat, přičemž bylo zaznamenáno také snížení hematokrytu. Karcinogenita této látky byla často diskutována v souvislosti se zvýšeným množstvím nádorů močového měchýře, které byly zjištěny u pracovníků v průmyslu s anilinovými barvivy. Bylo však vyzkoumáno, že tyto nádory byly způsobovány komplexním působením více látek v tomto průmyslu. Při pozorování účinku samotného anilinu nebylo pozorováno zvýšené riziko (CANCER, International Agency for Research on, 1982). Při testování karcinogenních účinků AH na myších nebyly zjištěny pozitivní výsledky, studie karcinogenity prováděné na potkanech ukazovaly zvýšenou produkci tumorů, což dokládá jednak souhrn dat International Agency for Research on cancer (1982), jednak práce Bioassay of aniline hydrochloride for possible carcinogenicity (1978) a výsledky testů Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment (2003). AH byl dále testován na teratogenní účinky perorálním podáním této látky těhotným samicím potkanů. Ačkoliv byly pozorovány fyziologické změny, z důvodu různorodosti výsledku nemohla být určena hodnota NOAEL. V důsledku hematologických změn u samic i plodů byla ale získána hodnota NOAEL pro vývojovou toxicitu 30 mg AH / kg hmotnosti / den (Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment, 2003).

APS je látka hojně využívaná v kosmetickém odvětví, zejména v prostředcích pro barvení vlasů, a proto již prošla mnoha studiemi. Akutní toxicita byla testována na potka-

nech po perorálním podání v koncentraci 200 mg/ml za zjištění hodnoty LD50 820 mg/kg (Smyth et al., 1969), v další studii taktéž perorálním podáním potkanům ve vodě, kdy byly stanoveny hodnoty LD50 600 mg/kg u samců a 495 mg/kg u samic, stejně tak dermální cestou neporušenou kůží u potkanů, kdy už hodnota 2g/kg byla určena jako LD50 a u králíků pak 10 g/kg. Akutní toxicita inhalací u potkanů byla stanovena na koncentraci LC50 2,95 mg/l (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001). Toxicita po opakovaném podání byla pozorována u potkanů, u nichž byla zjištěna LOAEL perorálním podáním 600 ppm (National industrial chemicals and assessment scheme, 2001). Naproti tomu ve studii na psech, kterým byl APS podáván ve stravě obsahující 15 g/45 kg mouky po dobu tří měsíců, nebyla prokázána toxicita této látky. Toxicita nebyla pozorována ani v šestnáctimesíční studii na psech a potkanech (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001). Při aplikaci APS potkanům inhalační cestou byla určena NOAEL 1 mg/m³ (Last et al., 1982). Třináctidenní studie toxicity u králíků při inhalaci APS poskytla NOAEL 10,3 mg/m³ (Signorin et al., 2001). Dráždivost kůže nebyla v žádné studii upozorována, byla zjištěna pouze mírná dráždivost očí při testování na králících (Final report on safety assessment of ammonium, potassium, and sodium persulfate, 2001). APS byl také podroben testům mutagenity na bakteriích. Ve třech různých studiích mutagenity na kmeni *Salmonella typhimurium* vykazoval negativní výsledky (National industrial chemicals and assessment scheme, 2001), stejně jako u testů chromozomálních aberací prováděných na CHL buňkách (Ishida et al., 1984). Kurokawa et al. (1984) zkoumaly karcinogenní účinky APS na myších. I když byly pozorovány náznaky tvorby nádorů, nebylo možné jej označit jako prokazatelný karcinogen. Mezi další zkoumané účinky této látky patří její potenciál k uvolňování histaminu z kůže. Mahzoon, Yamamoto a Greaves (1977) tento potenciál testovali na kožních řezech tří druhů, morčat, potkanů a opic. Kožní štěpy byly inkubovány s různými koncentracemi APS. U morčat a opic nebyl pozorován žádný projev, u potkaní kůže bylo při koncentraci 1000 µg/ml zjištěno 20% až 24% uvolnění histaminu. Jak je patrné z uvedeného přehledu, oba monomery byly v minulosti intenzivně studovány, ale především s ohledem na in vivo studie. Práce zabývající se cytotoxicitou, v souladu s ISO normami, však nebyly publikovány. V praktické části této práce proto byly stanoveny cytotoxické koncentrace amonium persulfátu a anilin hydrochloridu. AH vykazoval slabou cytotoxicitu při koncentraci 1 mg/ml, při koncentracích vyšších již cytotoxicitu střední, přičemž jako limitní se zdála být koncentrace 5 mg/ml. Slabá cytotoxicita APS se projevovala

při koncentracích 0,25 a 0,5 mg/ml, vyšší koncentrace pak způsobovaly cytotoxicitu střední. Jako limitní bylo možné označit koncentraci 1 mg/ml. Roku 2012 byly vyhotoveny první zkoušky cytotoxicity látek, které této práci posloužily jako výchozí pro určení testovaných koncentrací (Kuceková et al.). V této studii byly pro AH zvoleny nízké koncentrace, z nichž žádná nevykazovala cytotoxické účinky, proto byly v mé práci přidány i vzorky o vyšších koncentracích, u nichž byl zjištěn cytotoxický vliv, a dále pak i limitní koncentrace. U koncentrací stejných jako v práci Kuceková et al. byly stanoveny podobné necytotoxické výsledky. U roztoků APS byly ve studii Kuceková et al. zjištěny téměř stejné výsledky jako v praktické části této bakalářské práce. Můj výzkum byl rozšířen o nižší koncentrace APS, u kterých byl sledován přechod mezi necytotoxickým působením a střední cytotoxicitou této látky.

Mezi další nečistoty, které se mohou v PANI vyskytovat, patří oligomery anilinu. Jejich cytotoxické vlivy byly poprvé zkoumány roku 2012. Oligomery byly rozděleny dle délky řetězce, tedy počtu merů, na dimery, trimery a tetramery, a poté byly jednotlivě testovány na myších fibroblastech (NIH-3T3) a karcinogenních lidských alveolárních bazálních epiteliálních buňkách (A549). U obou typů buněk bylo zjištěno, že anilinové trimery vykazují vyšší cytotoxicitu než ostatní oligomery. Pro porovnání posloužila hodnota IC₅₀, tedy koncentrace oligomeru, při které dochází k 50% poklesu viability. Po šesti hodinách inkubace buněk s oligomery byly získány hodnoty IC₅₀; 642,2 µg/ml pro dimery, 210,8 µg/ml pro trimery a 532,2 µg/ml pro tetramery. Z výsledků je možno usoudit, že i malé koncentrace těchto látek, zejména trimerů anilinu, mohou značně měnit výslednou toxicitu polymeru (Zhang et al.). Naše výsledky doplňují dosavadní znalosti v objasnění toxicity polyanilinu, konkrétně z hlediska cytotoxicity zbytků monomeru polyanilinu, tedy anilin hydrochloridu a oxidační látky amonium persulfátu. Konkrétně byly zjištěny hranice koncentrací, při kterých je pozorován cytotoxický vliv na lidské buňky, přičemž se zvyšující se koncentrací obou látek cytotoxicita rostla. Anilin hydrochlorid vykazoval první cytotoxický účinek při koncentraci 1 mg/ml, amonium persulfát při koncentraci 0,25 mg/ml.

ZÁVĚR

Hlavním cílem praktické části této bakalářské práce bylo stanovení cytotoxicity amonium persulfátu a anilin hydrochloridu jakožto výchozích složek pro výrobu polyanilinu, vodivého polymeru s potenciálním využitím v medicínských aplikacích. Zjištění toxicity bylo prováděno z důvodu možných pozůstatků těchto látek v hotovém polymeru, a tudíž případného působení na organismus.

Testy cytotoxicity byly provedeny pomocí testu MTT na buněčné linii lidských keratinocytů HaCaT. Do testu byly zařazeny jednotlivé koncentrace látek, které se zdály být z toxikologického hlediska významné, včetně reference, vzorku buněk inkubovaných s nulovou koncentrací zkoumaných látek, pro porovnání získaných hodnot. Výsledky testu pak byly doplněny o matematicko-statistická vyhodnocení pomocí T-testu, která v obou případech korespondují se získanými hodnotami. Správnost testu MTT byla ověřována porovnáním výsledků daných koncentrací s pořizovanými mikrofotografiemi, na kterých byly pozorovány změny v morfologii odpovídající výsledné viabilitě buněk.

Z výsledků je patrné, že cytotoxický účinek vykazovaly obě látky, přičemž jejich negativní účinek se zvyšoval s rostoucí koncentrací testované látky v kultivačním médiu. U anilin hydrochloridu i amonium persulfátu byla stanovena limitní koncentrace, od které se zdál být účinek látky konstantní, bez dalšího růstu. Limitní koncentrace byla určena u amonium persulfátu na 1 mg/ml, u anilin hydrochloridu na 5 mg/ml média. Slabý cytotoxický účinek byl u APS zaznamenán již při koncentraci 0,25 mg/ml, u AH při 1 mg/ml. Na základě těchto zjištění by bylo do budoucna možné pomocí čistících postupů hotového polyanilinu dosáhnout takových koncentrací zbytkových nečistot - anilin hydrochloridu a amonium persulfátu, díky kterým by radikálně klesla celková toxicita polyanilinu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ABID, C. K. V. Zainul et al., 2010. Synthesis and characterization of quaternary ammonium PEGDA dendritic copolymer networks for water disinfection .In: *Journal of Applied Polymer Science* [online]. Jan 5, 2010, roč. 116, č. 3 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0021-8995. DOI: 10.1002/app.31510. ALBERTS, Bruce, 2001. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. Ústí nad Labem: Espero, 2001, 630 s., ISBN 80-902906-2-0.
- ALVAREZ-ROMÁN, R., A. NAIK, Y.N. KALIA, R.H. GUY a H. FESSI,2004. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. In: *Journal of Controlled Release* [online]. Sep 2004, vol. 99, č. 1, s. 53-62 [cit. 2013-05-14]. DOI: 10.1016/j.jconrel.2004.06.015.
- AMACHER, David E., 2006. A toxicologist's guide to the preclinical assessment of hepatic microsomal enzyme induction. In: *Toxicology Mechanisms and Methods* [online]. Sep 2006, roč. 16, č. 7 [cit. 2013-04-01]. ISSN 1537-6516. DOI: 10.1080/15379510600783791.
- AMACHER, David E., 2010. The effects of cytochrome P450 induction by xenobiotics on endobiotic metabolism in pre-clinical safety studies. In: *Toxicology Mechanisms and Methods* [online]. May 2010, roč. 20, č. 4, s. 159-166 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1537-6515. DOI: 10.3109/15376511003690307.
- BATISTA-DUHARTE, Alexander, Erik B. LINDBLAD a Ernesto OVIEDO-ORTA, 2011. Progress in understanding adjuvant immunotoxicity mechanisms. In: *Toxicology letters* [online]. June 10, 2011, roč. 203, č. 2 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0378-4274. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.03.001.
- BHATTACHARYA, Sudin et al, 2011. Toxicity Testing in the 21st Century: Defining New Risk Assessment Approaches Based on Perturbation of Intracellular Toxicity Pathways. In: *PLOS ONE* [online]. June 20, 2011 [cit. 2013-04-07]. DOI: 10.1371/journal.pone.0020887.
- CANCER, International Agency for Research on, 1982. *IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1982, vol. 27, 341 s., ISBN 92-832-1227-4.
- CARCINOGENESIS, National Cancer Institute, 1978. Bioassay of aniline hydrochloride for possible carcinogenicity. In: *Technical Report Series*. 1978, č. 130, s. 113 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr130.pdf

COLLINGE, Mark et al., 2012. Developmental immunotoxicity (DIT) testing of pharmaceuticals: Current practices, state of the science, knowledge gaps, and recommendations. In: *Journal of Immunotoxicology* [online]. Apr 2012, roč. 9, č. 2, s. 1043-1055 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1547-691x. DOI: 10.3109/1547691X.2012.661486.

CROSERÀ, Matteo et al., 2009. Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. In: *International Archives of Occupational and Environmental Health* [online]. Aug 25, 2009, roč. 82, č. 9 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0340-0131. DOI: 10.1007/s00420-009-0458-x.

DIETERT, R. Rodney et al., 2004. Developmental immunotoxicology of lead. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. Jul 15, 2004, roč. 198, č. 2 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0041008x. DOI: 10.1016/j.taap.2003.08.020.

ELMORE, A. R. a F. A. ANDERSEN, 2003. Final Report on the Safety Assessment of Aluminum Silicate, Calcium Silicate, Magnesium Aluminum Silicate, Magnesium Silicate, Magnesium Trisilicate, Sodium Magnesium Silicate, Zirconium Silicate, Attapulgit, Bentonite, Fuller's Earth, Hectorite, Kaolin, Lithium Magnesium Silicate, Lithium Magnesium Sodium Silicate, Montmorillonite, Pyrophyllite, and Zeolite. In: *International Journal of Toxicology (Taylor & Francis)* [online]. Jan 2, 2003, roč. 22, č. 1 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1091-5818. DOI: 10.1080/10915810390204890.

Final Report on the Safety Assessment of Ammonium, Potassium, and Sodium Persulfate. In: *International Journal of Toxicology* [online]. Jan 2001, roč. 20, č. 4, s. 7-21 [cit. 2013-04-07]. DOI: 10.1080/10915810152630710.

Firoze, K. M., Bhupendra S. KAPHALIA, Paul J. BOOR a G. A. S. ANSARI. Subchronic toxicity of aniline hydrochloride in rats. In: *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. Apr 1993, roč. 24, č. 3, s. 368-374 [cit. 2013-05-14]. DOI: 10.1007/BF01128736.

FIUME, Monice Zondlo, 2002a. Final Report on the Safety Assessment of Tocopherol, Tocopheryl Acetate, Tocopheryl Linoleate, Tocopheryl Linoleate/Oleate, Tocopheryl Nicotinate, Tocopheryl Succinate, Dioleoyl Tocopheryl Methylsilanol, Potassium Ascorbyl Tocopheryl Phosphate, and Tocophersolan. In: *International Journal of Toxicology* [online]. Nov 15, 2002, roč. 21, č. 6, s. 51-116 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1091-5818. DOI: 10.1080/10915810290169819.

FIUME, Monice Zondlo, 2002b. Final Report on the Safety Assessment of Acrylates Copolymer and 33 Related Cosmetic Ingredients. In: *International Journal of Toxicology* [online]. Nov 2002, roč. 21, č. 3, s. 1-50 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1091-5818. DOI: 10.1080/10915810290169800.

GILMOUR, S., 2007. Polyamines and nonmelanoma skin cancer. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. Nov 1, 2007, roč. 224, č. 3, s. 249-256 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0041-008X. DOI: 10.1016/j.taap.2006.11.023.

HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK, 2007. *Farmakochemie*. 2. rozš. vydání. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 448 s. ISBN 978-80-7080-639-5.

HARTUNG, Thomas, 2010. Lessons Learned from Alternative Methods and their Validation for a New Toxicology in the 21st Century. In: *Journal of toxicology and environmental health* [online]. Feb 2010, roč. 13, č. 2-4, s. 277-290 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1528-7394. DOI: 10.1080/10937404.2010.483945.

HORÁK, Josef, Igor LINHART a Petr KLUSOŇ, 2004. *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 2004, 188 s. ISBN 80-708-0548-X.

HUMPOLÍČEK, Petr a Věra KAŠPÍRKOVÁ, 2012. Polymerní materiály ve zdravotnických prostředcích a jejich biologické vlastnosti. In: *Plasty a Kaučuk* [online]. Jul-Aug 2012 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0332-7340.

HUMPOLÍČEK, Petr et al., 2012. Biocompatibility of polyaniline. In: *Synthetic Metals* [online]. Mar 2012, roč. 162, s. 722-727 [cit. 2013-04-07]. ISSN 03796779. DOI: 10.1016/j.synthmet.2012.02.024.

CHIARAPPA-ZUCCA, Marina L. et al., 2004. Measurement of Beryllium in Biological Samples by Accelerator Mass Spectrometry: Applications for Studying Chronic Beryllium Disease. In: *Chemical Research in Toxicology* [online]. Apr 27, 2004, roč. 17, č. 12, s. 1614-1620 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0893-228x. DOI: 10.1021/tx049883o.

CHUNG, King-Thom et al., 1997. Review of mutagenicity of monocyclic aromatic amines: quantitative structure-activity relationships. In: *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [online]. Aug 1997, roč. 387, č. 1, s. 1-16 [cit. 2013-04-07]. ISSN 13835742. DOI: 10.1016/S1383-5742(97)00019-7.

ISHIDATE, M et al., 1984. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. In: *Food and Chemical Toxicology* [online]. Aug 1984, roč. 22, č. 8, [cit. 2013-04-07]. ISSN 02786915. DOI: 10.1016/0278-6915(84)90271-0.

JOKANOVIČ, Milan, 2009. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. In: *Toxicology Letters* [online]. Oct 28, 2009, roč. 190, č. 2, s. 107-115 [cit. 2013-04-07]. ISSN 03784274. DOI: 10.1016/j.toxlet.2009.07.025.

KLAASSEN, Curtis D, 2008. *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*. 7. vydání. New York: McGraw-Hill Medical, 1310 s. ISBN 978-0-07-147051-3. [cit. 2013-04-07].

KUCEKOVÁ, Zdenka, Petr HUMPOLÍČEK, Jaroslav STEJSKAL a Věra Kašpárková, 2012. Cytotoxicity of polyaniline precursors. In: *Chemické listy* [online]. 2012, roč. 49 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0322-7340.

KUROKAWA, Yuji et al., 1984. Studies on the promoting and complete carcinogenic activities of some oxidizing chemicals in skin carcinogenesis. In: *Cancer Letters* [online]. 1984, roč. 24, č. 3, s. 299-304 [cit. 2013-04-07]. ISSN 03043835. DOI: 10.1016/0304-3835(84)90026-0.

LACH-NER, 2005. *Bezpečnostní list anilin hydrochlorid*. [cit. 2013-04-07]. LACH-NER, s.r.o. Neratovice. Dostupné z: <http://www.vitrum.cz/stazeni/Chemie/Anilin%20hydrochlorid.pdf>

LACH-NER, 2011. *Bezpečnostní list amonium persulfát*. [cit. 2013-04-07]. LACH-NER, s.r.o. Neratovice. Dostupné z: http://www.lach-ner.com/files/7727-54-0_Peroxodisiran_amonny_v2_CZ.pdf

LAST, J. A. et al., 1982. Inhalation toxicology of ammonium persulfate, an oxidant aerosol, in rats. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. 1982, roč. 63, č. 2, s. 257-263 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0041008x. DOI: 10.1016/0041-008X(82)90047-3.

LEIST, Marcel, Thomas HARTUNG a Pierluigi NICOTERA, 2008. The Dawning of a New Age of Toxicology. In: *ALTEX-ALTERNATIVEN ZU TIEREXPERIMENTEN* [online]. Feb 2010, roč. 25, č. 2 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0946-7785. Dostupné z: http://www.altex.ch/resources/Leist_E.pdf

LI, Abby A. et al., 2010. Oral gavage subchronic neurotoxicity and inhalation subchronic immunotoxicity studies of ethylbenzene in the rat. In: *NeuroToxicology* [online]. Jun 2010,

roč. 31, č. 3, s. 247-258 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0161813x. DOI: 10.1016/j.neuro.2010.02.001.

LINHART, Igor, 2012. *Toxikologie: interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. 1. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 375 s. ISBN 978-807-0808-061.

LUEBKE, Robert W. et al., 2006. The Comparative Immunotoxicity of Five Selected Compounds Following Developmental or Adult Exposure. In: *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* [online]. Jan-Feb 2006, roč. 9, č. 1, s. 1-26 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1093-7404. DOI: 10.1080/15287390500194326.

LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Martin WEHLING, 2004. *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. 2. vydání české. Praha: Grada, 2004, 725 s. ISBN 80-247-0836-1.

MARTENS, Penny et al., 2008. Characterisation of Redox Initiators for Producing Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogels. In: *Macromolecular Symposia* [online]. 2008, roč. 266, č. 1, s. 59-62 [cit. 2013-04-07]. ISSN 10221360. DOI: 10.1002/masy.200850611.

MARTÍNEK, Jindřich a Zdeněk VACEK. *Histologický atlas*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009, 134 s. ISBN 978-802-4723-938.

MASUBUCHI, Yasuhiro a Toshiharu HORIE, 2007. Toxicological Significance of Mechanism-Based Inactivation of Cytochrome P450 Enzymes by Drugs. In: *Critical Reviews in Toxicology* [online]. Jun 2007, roč. 37, č. 5, s. 389-412 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1040-8444. DOI: 10.1080/10408440701215233.

MCKINSEY, Timothy A, 2012. Therapeutic Potential for HDAC Inhibitors in the Heart. In: *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* [online]. Feb 2012, roč. 52, č. 1, s. 303-319 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0362-1642. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134712.

MOLECULAR PROBES, 2002. *Vibrant MTT Cell Proliferation Assay Kit (V-12154)* [online]. Mar 27, 2002 [cit. 2013-04-07]. Life technologies corporation. Dostupné z: <http://probes.invitrogen.com/media/pis/mp13154.pdf>

MOLECULAR PROBES, 2005. *Hoechst stains* [online]. Dec 21, 2005 [cit. 2013-04-07]. Life technologies corporation. Dostupné z: <http://probes.invitrogen.com/media/pis/mp21486.pdf>

MUKHERJEE, Pulok K. et al., 2011. Botanicals as medicinal food and their effects on drug metabolizing enzymes. In: *Food and Chemical Toxicology* [online]. Dec 2011, roč. 49, č. 12, s. 3142-3153 [cit. 2013-04-07]. ISSN 02786915. DOI: 10.1016/j.fct.2011.09.015.

NAIR, B. a A. R. ELMORE, 2003. Final report on the safety assessment of Sodium Sulphite, Potassium Sulphite, Ammonium Sulphite, Sodium Bisulphite, Ammonium Bisulphite, Sodium Metabisulphite and Potassium Metabisulphite. In: *International Journal of Toxicology* [online]. Sep 2, 2003, roč. 22, č. 2 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1091-5818. DOI: 10.1080/10915810390239478.

National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS), 2001. *Ammonium, potassium and sodium persulfate*. Sydney: NICNAS, Jun 2001, 103 s. ISBN 06-427-0985-8.

NEČAS, Oldřich, 2000. *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. 3., přeprac. vydání. Jinočany: H & H, 2000, 554 s. ISBN 8086022463.

NORTH, Matthew a Chris D. VULPE, 2010. Functional Toxicogenomics: Mechanism-Centered Toxicology. In: *International Journal of Molecular Science* [online]. Nov 24, 2010, roč. 11, č. 12, s. 4796-4813 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms11124796.

PELKONEN, Olavi et al., 2008. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. In: *Archives of Toxicology* [online]. Oct 2008, roč. 82, č. 10, s. 667-715 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0340-5761. DOI: 10.1007/s00204-008-0332-8.

PETANOVÁ, Jitka, 2007. Vliv prostředí na imunitní systém. In: *Medicína pro praxi* [online]. Jun 2007 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1803-5310. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/06/04.pdf>

PROKEŠ, Jan, Jaroslav STEJSKAL a Mária OMASTOVÁ, 2001. Polyanilin a polypyrrol – dva představitelé vodivých polymerů. In: *Chemické listy* [online]. Jan 24, 2001, roč. 95, č. 8 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2001/08-PDF/484-492.pdf>

REYNAUD, S. a P. DESCHAUX, 2006. The effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the immune system of fish: A review. In: *Aquatic Toxicology* [online]. May 1, 2006, roč. 77, č. 2, s. 229-238 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0166445x. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.10.018.

RUSYN, Ivan a George P. DASTON, 2010. Computational Toxicology: Realizing the Promise of the Toxicity Testing in the 21st Century. In: *ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES* [online]. Aug 2010, roč. 118, č. 8, s. 1047-1050 [cit. 2013-04-07]. DOI: 10.1289/ehp.1001925.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON TOXICITY, ECOTOXICITY AND THE ENVIRONMENT (CSTEE), 2003. *Opinion on the results of the Risk Assessment of : Aniline, human health part.* Apr 2003 [cit. 2013-04-07]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/sct/documents/out183_en.pdf

SEDEN, Kay et al., 2010. Grapefruit-Drug Interactions. In: *Drugs* [online]. Dec 2010, roč. 70, č. 18, s. 2373-2407 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0012-6667. DOI: 10.2165/11585250-000000000-00000.

SCHWARZOVÁ, Jana, Mária BELOVIČOVÁ a Martin WAWRUCH, 2010. Teratogenita liečiv a jej význam pre racionálnu farmakoterapiu. In: *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2010, roč. 24, č. 3 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1212-7973. Dostupné z: <http://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2010/03/09.pdf>

SIGNORIN, John et al., 2001. 13-week inhalation toxicity study (including 6- and 13-week recovery periods) with ammonium persulphate dust in albino rats. In: *Inhalation Toxicology* [online]. 2001, roč. 13, č. 11, s. 1033-1045 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0895-8378. DOI: 10.1080/089583701753210399.

SINGH-JOY, Subhashni D. a Valerie C. McLAIN, 2008. Safety Assessment of Poloxamers 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403, and 407, Poloxamer 105 Benzoate, and Poloxamer 182 Dibenzoate as Used in Cosmetics. In: *International Journal of Toxicology* [online]. 2008, roč. 27, s. 93-128 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1091-5818. DOI: 10.1080/10915810802244595.

SIVAKUMAR, P. A. a K. Panduranga RAO, 2002. Development of Stable Polymerized Vinyl Pyrrolidone-Cholesteryl Methacrylate Liposomes as Carriers for Drug Delivery. In: *Biomedical Microdevices* [online]. Jul 2001, roč. 4, č. 3, s. 197-204 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1387-2176. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1016096329874#page-1>

SLÍVA, Jiří a Martin VOTAVA, 2010. *Farmakologie*. 1. vyd. Praha: Triton, 238 s. ISBN 978-80-7387-424-7.

SMYTH, Henry F. et al., 1969. Range-Finding Toxicity Data: List VII. In: *American Industrial Hygiene Association Journal* [online]. Apr 8, 1969, roč. 30, č. 5, s. 470-476 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0002-8894. DOI: 10.1080/00028896909343157.

STEJSKAL, Jaroslav a R. G. Gilbert, 2002. Polyaniline. Preparation of a conducting polymer. In: *International Union of Pure and Applied Chemistry* [online]. 2002, roč. 74, č. 5 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0033-4545.

TICHÝ, Miloň, 2003. *Toxikologie pro chemiky: toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*. 2. vydání. Praha: Karolinum, 119 s. ISBN 80-246-0566-X.

TINKLE, Sally S. et al., 2003. Skin as a Route of Exposure and Sensitization in Chronic Beryllium Disease. In: *Environmental Health Perspectives* [online]. Feb 24, 2003, roč. 111, č. 9, s. 1202-1208 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0091-6765. DOI: 10.1289/ehp.5999.

TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie, 2003*. 4., přeprac. a dopl. vydání. Praha: Grada, 2003, 771 s. ISBN 80-247-0512-5.

WELSS, Thomas, David A. BASKETTER a Klaus R. SCHRODER, 2004. In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. In: *Toxicology in Vitro* [online]. Jun 2004, roč. 18, č. 3, s. 231-243 [cit. 2013-04-07]. ISSN 08872333. DOI: 10.1016/j.tiv.2003.09.009.

WILBUR, Jr. Johnson, 2007. Final Report on the Safety Assessment of Ricinus Communis (Castor) Seed Oil, Hydrogenated Castor Oil, Glyceryl Ricinoleate, Glyceryl Ricinoleate SE, Ricinoleic Acid, Potassium Ricinoleate, Sodium Ricinoleate, Zinc Ricinoleate, Cetyl Ricinoleate, Ethyl Ricinoleate, Glycol Ricinoleate, Isopropyl Ricinoleate, Methyl Ricinoleate, and Octyldodecyl Ricinoleate. In: *International Journal of Toxicology* [online]. Jan 2007, roč. 26, s. 31-77 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1091-5818. DOI: 10.1080/10915810701663150.

WINDER, C. a M. CARMODY, 2002. The dermal toxicity of cement. In: *Toxicology and Industrial Health* [online]. Aug 1, 2002, roč. 18, č. 7, s. 321-331 [cit. 2013-04-07]. ISSN 0748-2337. DOI: 10.1191/0748233702th159oa.

ZHAI, Hongbo et al., 2012. Irritant contact dermatitis: effect of age. In: *Cutaneous and Ocular Toxicology* [online]. Jun 2012, roč. 31, č. 2, s. 138-143 [cit. 2013-04-07]. ISSN 1556-9527. DOI: 10.3109/15569527.2011.618472.

ZHANG, Xiaoyong et al., 2012. Cellular responses of aniline oligomers: a preliminary study. *Toxicology Research* [online]. Aug 2012, roč. 1, č. 3, s. 201- [cit. 2013-05-20]. DOI: 10.1039/C2TX20035J.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- ED Efektivní dávka, která způsobuje reakci u určité části jedinců v souboru.
- IC Koncentrace, která způsobí pokles viability u určité části jedinců v souboru.
- LD Letální dávka, při které zahyne určitá část jedinců v souboru.
- LOAEL Nejnižší testovaná dávka s pozorovaným nepříznivým účinkem.
- MIC Minimální inhibiční koncentrace.
- NOAEL Nejvyšší dávka, při které není pozorovaný nepříznivý účinek.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - polyanilinové formy (Prokeš, Stejskal, Omastová, 2001)	12
Obrázek 2 - strukturní vzorec anilin hydrochloridu.....	14
Obrázek 3 - strukturní vzorec amonium persulfátu	15
Obrázek 4 - strukturní vzorec barviva Hoechst 33258 (Molecular probes, 2005).....	45
Obrázek 5 - fotografie buněk při testu cytotoxicity amonium persulfátu.....	49
Obrázek 6 - fotografie fluorescenční mikroskopie (amonium persulfát).....	50
Obrázek 7 - fotografie buněk při testu cytotoxicity anilin hydrochloridu	53
Obrázek 8 - fotografie fluorescenční mikroskopie (anilin hydrochlorid).....	54

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - vyhodnocení absorbancí vzorků APS pomocí T-testu	48
Tabulka 2 - vyhodnocení absorbancí vzorků AH pomocí T-testu.....	52
Tabulka 3 - vyhodnocení absorbancí vzorků AH s upraveným pH pomocí T-testu	56

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 - výsledky testu cytotoxicity APS	47
Graf 2 - výsledky testu cytotoxicity AH	51
Graf 3 - výsledky testu cytotoxicity AH s upraveným pH.....	55

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA PI: Bezpečnostní list anilin hydrochloridu

PŘÍLOHA PII: Bezpečnostní list amonium persulfátu

PŘÍLOHA P I: Bezpečnostní list anilin hydrochloridu

strana 1/9

lach:ner

Bezpečnostní list podle 1907/2006/ES, Článek 31

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

1 Identifikace látky/směsi a společnosti/podniku

- **Identifikátor výrobku**
- **Obchodní označení:** Anilin hydrochlorid
- **Číslo výrobku:** 40008
- **Číslo CAS:** 142-04-1
- **Registrační číslo -**
- **Číslo ES (EINECS):** 205-519-8
- **Příslušná určená použití látky nebo směsi a nedoporučená použití**
Pro průmyslové účely.
Laboratorní chemikálie.
- **Podrobné údaje o dodavateli bezpečnostního listu:**
Lach-Ner, s.r.o.
Továrni 157
271 11 Neratovice
Czech Republic
tel. +420 315 618 111
Fax. +420 315 684 008
info@lach-ner.com
- **Obor poskytovající informace:** odborně způsobilá osoba za MSDS: MSDS@lach-ner.com
- **Telefonní číslo pro naléhavé situace:**
Toxikologické informační středisko
Na Bojišti 1
128 08 Praha 2
Czech Republic
tel. +420 224 919 293
(224 914 575, 224 915 402)

2 Identifikace nebezpečnosti

- **Klasifikace látky nebo směsi**
- **Klasifikace v souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008**



GHS06 lebka se zkříženými hnáty

Acute Tox. 3 H301 Toxický při požití.
Acute Tox. 3 H311 Toxický při styku s kůží.
Acute Tox. 3 H331 Toxický při vdechování.



GHS08 nebezpečnost pro zdraví

Muta. 2 H341 Podezření na genetické poškození.
Carc. 2 H351 Podezření na vyvolání rakoviny.
STOT RE 1 H372 Způsobuje poškození orgánů při prodloužené nebo opakované expozici.



GHS05 korozivita

Eye Dam. 1 H318 Způsobuje vážné poškození očí.



GHS09 životní prostředí

Aquatic Acute 1 H400 Vysoce toxický pro vodní organismy.
Skin Sens. 1 H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

(pokračování na straně 2)

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 1)

· **Klasifikace podle směrnice Rady 67/548/EHS nebo směrnice 1999/45/ES**



T; Toxický

R23/24/25-48/23/24/25: Toxický při vdechování, styku s kůží a při požití. Toxický: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním, stykem s kůží a požíváním.



Xn; Zdraví škodlivý

R40-68: Podezření na karcinogenní účinky. Možné nebezpečí nevratných účinků.



Xi; Dráždivý

R41: Nebezpečí vážného poškození očí.



Xi; Senzibilizující

R43: Může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží.



N; Nebezpečný pro životní prostředí

R50: Vysoce toxický pro vodní organismy.

Karc. kat. 3, Muta. kat. 3

· **Nejzávažnější nepříznivé účinky na zdraví člověka a životní prostředí při používání látky/přípravku**
Odpadá.

· **Prvky označení**

· **Označování v souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008**

· **Piktogramy označující nebezpečí**



GHS05



GHS06



GHS08



GHS09

· **Signální slovo Nebezpečí**

· **Nebezpečné komponenty k etiketování: odpadá**

· **Údaje o nebezpečnosti**

H301 Toxický při požití.

H311 Toxický při styku s kůží.

H331 Toxický při vdechování.

H318 Způsobuje vážné poškození očí.

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H341 Podezření na genetické poškození.

H351 Podezření na vyvolání rakoviny.

H372 Způsobuje poškození orgánů při prodloužené nebo opakované expozici.

H400 Vysoce toxický pro vodní organismy.

· **Bezpečnostní pokyny**

P301+P310 **PŘI POŽITÍ:** Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

P305+P351+P338 **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P310 **Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.**

P361 **Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte.**

P405 **Skladujte uzamčené.**

P501 **Obsah/nádobu likvidujte v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.**

(pokračování na straně 3)

CZ

Bezpečnostní list podle 1907/2006/ES, Článek 31

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 2)

· **Označení podle právních směrnic EHS:**

Produkt je zařazen a označen podle směrnic ES/nařízení o nebezpečných látkách.

· **Poznávací písmeno a označení nebezpečnosti produktu:**



Karc. kat. 3, Muta. kat. 3

T Toxický

N Nebezpečný pro životní prostředí

· **R-věty:**

23/24/25 Toxický při vdechování, styku s kůží a při požití.

40 Podezření na karcinogenní účinky.

41 Nebezpečí vážného poškození očí.

43 Může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží.

48/23/24/25 Toxický: nebezpečí vážného poškození zdraví při dlouhodobé expozici vdechováním, stykem s kůží a požíváním

68 Možné nebezpečí nevratných účinků.

50 Vysoce toxický pro vodní organismy.

· **S-věty:**

1/2 Uchovávejte uzamčené a mimo dosah dětí.

26 Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.

27 Okamžitě odložte veškeré kontaminované oblečení.

36/37/39 Používejte vhodný ochranný oděv, ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít.

45 V případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení).

61 Zabraňte uvolnění do životního prostředí. Viz speciální pokyny nebo bezpečnostní listy.

63 V případě nehody při vdechnutí přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu.

· **Další nebezpečnost: -**

· **Výsledky posouzení PBT a vPvB**

· **PBT:** Odpadá.

· **vPvB:** Odpadá.

3 Složení/informace o složkách

· **Chemická charakteristika:**

· **Číslo CAS:**

142-04-1 Anilin hydrochlorid (anilin, soli)

· **Identifikační číslo(číslo)**

· **Číslo ES (EINECS):** 205-519-8

· **Indexové číslo:** 612-009-00-2

· **R-věta:** 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50

· **S-věta:** 1/2-26-27-36/37/39-45-61-63

4 Pokyny pro první pomoc

· **Popis první pomoci:**

Neprodleně odstranit části oděvů znečištěné produktem.

Příznaky otravy se mohou projevit až po mnoha hodinách, proto je nutný lékařský dohled nejméně 48 hodin po nehodě.

Ochranu dýchání odstranit teprve po odstranění znečištěných částí oděvu.

Při nepravidelném dechu nebo zástavě dechu provést umělé dýchání.

Při zdravotních potížích a i v případě pochybností vyhledejte lékařskou pomoc.

Při stavech ohrožujících život je třeba provádět resuscitaci:

postížený nedýchá – je nutné okamžitě provádět umělé dýchání, ne přímo z úst do úst;

zástava srdce – je nutné okamžitě zahájit nepřímou masáž srdce;

(pokračování na straně 4)

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 3)

- bezvědomí – je nutné postiženého uložit do stabilizované polohy.
Dochází-li ke zvracení, udržujte hlavu postiženého v předklonu, aby nedošlo ke vdechnutí zvratků.
- **Při nadýchání:**
Přívod čerstvého vzduchu nebo kyslíku; vyhledat lékařskou pomoc.
Při bezvědomí uložit a přepravit ve stabilní poloze na boku.
 - **Při styku s kůží:**
Ihned omýt vodou a mýdlem a dobře opláchnout.
Při neustávajícím podráždění pokožky je nutno vyhledat lékaře.
 - **Při zasažení očí:**
Oči s otevřenými víčky několik minut vyplachovat proudem tekoucí vody.
Zajistit lékařské ošetření.
 - **Při požití:**
Vypláchnout ústa vodou.
Nepřivodit zvracení, ihned zavolat lékařskou pomoc.
 - **Upozornění pro lékaře:**
Příznaky otravy se mohou projevit až po mnoha hodinách, proto je nutný lékařský dohled nejméně 48 hodin po nehodě.
 - **Nejdůležitější akutní a opožděné symptomy a účinky:**
Způsobuje podráždění očí, kůže a dýchacích cest.
Methemoglobinemie
Bolesti hlavy
Cyanoza
Srdeční arytmie
Dýchací potíže.
Křeče
Kóma
Poškození ledvin
Smrt
 - **Nebezpečí** Nebezpečí zhoršení po požití alkoholu.
 - **Pokyn týkající se okamžité lékařské pomoci a zvláštního ošetření:**
V případě, že se vyskytne modré zabarvení (rty, ušní boltce, nehty), zavést, co možná nejdříve, kyslíkové dýchání.
Lékařský dohled nejméně 48 hodin.

5 Opatření pro hašení požáru

- **Hasiva:**
CO₂, hasicí prášek nebo rozstříkané vodní paprsky. Větší ohně zdotat rozstříkanými vodními paprsky nebo pěnou odolnou vůči alkoholu.
Způsob hašení přizpůsobit podmínkám v okolí.
- **Nevhodná hasiva:** Plný proud vody
- **Zvláštní nebezpečnost vyplývající z látky nebo směsi:**
Při zahřátí nebo v případě požáru se vytváří jedovaté plyny.
Při požáru se může uvolnit:
Kysličníky dusíku (NO_x).
Kysličník uhelnatý (CO).
Chlorovodík (HCl)
Nitrozní plyny.
- **Pokyny pro hasiče:**
Nosit dýchací přístroj nezávislý na okolním vzduchu.
Nosit celkový ochranný oděv.
- **Další údaje:**
Ohrožené nádrže chladit vodní sprchou.

(pokračování na straně 5)

-CZ-

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 4)

Pozůstatky po požáru a kontaminovaná hasící voda se musí zlikvidovat podle platných úředních předpisů.**6 Opatření v případě náhodného úniku**

- **Opatření na ochranu osob, ochranné prostředky a nouzové postupy:**
Osoby přivést do bezpečí.
Nosit ochrannou výstroj. Nechráněné osoby se nesmí přibližovat.
Zamezit vytváření prachu.
Starat se o dostatečné větrání.
- **Opatření na ochranu životního prostředí:**
Nenechat proniknout do kanalizace/povrchových vod/podzemních vod.
Při vniknutí do kanalizace nebo vodního toku informovat příslušné orgány.
- **Metody a materiál pro omezení úniku a pro čištění:**
Kontaminovaný materiál odstranit jako odpad podle bodu 13.
Nabrat mechanicky.
Zajistit dostatečné větrání.
- **Odkaz na jiné oddíly:**
Informace o bezpečnému zacházení viz kapitola 7.
Informace o osobní ochranné výstroji viz kapitola 8.

7 Zacházení a skladování

- **Opatření pro bezpečné zacházení:**
- **Upozornění k bezpečnému zacházení:**
Pracovat jen v odtahu.
Na pracovišti zabezpečit dobré větrání a odsávání.
Nádrž opatrně otevřít a zacházet s ní opatrně.
Zamezit vytváření prachu.
- **Upozornění k ochraně před ohněm a explozí:**
Chránit před horkem.
Mít připravené ochranné dýchací přístroje.
- **Podmínky pro bezpečné skladování látek a směsí včetně neslučitelných látek a směsí:**
- **Požadavky na skladovací prostory a nádoby:**
Skladovat na chladném místě.
Přechovávat jen v původní nádobě.
- **Upozornění k hromadnému skladování:** Skladovat odděleně od potravin.
- **Další údaje k podmínkám skladování:**
Uchovávat uzamčené anebo přístupné jen pro povolané osoby anebo osoby jimi pověřené.
Skladovat v dobře uzavřených nádobách v chladu a suchu.
Nádobu přechovávat jen na dobře větraném místě.
Chránit před vlhkostí vzduchu a před vodou.
Produkt je hygroskopický.
Chránit před účinky světla.
- **Specifické konečné/specifická konečná použití:** -

8 Omezování expozice / osobní ochranné prostředky

- **Technická opatření:** Žádné další údaje, viz bod 7.
- **Kontrolní parametry:** Odpadá
- **Další upozornění:** Jako podklad sloužily při zhotovení platné listiny.

(pokračování na straně 6)

Bezpečnostní list
podle 1907/2006/ES, Článek 31

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 5)

- **Omezování expozice:**
- **Všeobecná ochranná a hygienická opatření:**
Zdržovat od potravin, nápojů a krmiv. Dodržujte bezpečnostní předpisy pro manipulaci s chemikáliemi.
Zašpiněné, nasáknuté šaty ihned vysvléci.
Před přestávkami a po práci umýt ruce.
Ochranný oděv odděleně přechovávat.
Zamezit styku se zrakem.
Zamezit styku s pokožkou a zrakem.
- **Ochrana dýchacích orgánů:**
Při krátkodobém nebo nízkém zatížení použít dýchací přístroj s filtrem, při intenzivním nebo delším zatížení se musí použít dýchací přístroj nezávislý na okolním vzduchu.
- **Ochrana rukou:**



Ochranné rukavice

Materiál rukavic musí být nepropustný a odolný proti produktu / látce / směsi.
Vzhledem k tomu, že chybí testy, není možné doporučit materiálu rukavic pro produkt / přípravek / chemickou směs.

Výběr materiálu rukavic proveďte podle času průniku, permeability a degradace.

- **Materiál rukavic**
Správný výběr rukavic nezávisí jen na materiálu, ale také na dalších kriteriích, která se liší podle výrobce.
- **Doba průniku materiálem rukavic**
Je nutno u výrobce rukavic zjistit a dodržovat přesné časy průniku materiálem ochranných rukavic.
- **Ochrana očí:**



Uzavřené ochranné brýle

9 Fyzikální a chemické vlastnosti

Informace o základních fyzikálních a chemických vlastnostech

- | | |
|---|---|
| · Vzhled: | |
| · Skupenství: | Pevné |
| · Barva: | Bílá
až slabě našedlá nebo šedo zelená |
| · Zápach (vůně): | Slabý, charakteristický |
| · Změna stavu | |
| · Teplota (rozmezí teplot) tání: | 198°C |
| · Teplota (rozmezí teplot) varu: | 245°C |
| · Bod vzplanutí: | 193°C |
| · Zápalnost (tuhé, plynné skupenství): | Hořlavý. |
| · Nebezpečí exploze: | U produktu nehrozí nebezpečí exploze. |
| · Hustota při 20°C: | 1,22 g/cm ³ |
| · Rozpustnost ve / smísitelnost s vodě při 25°C: | 1070 g/l |

(pokračování na straně 7)

-CZ

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 6)

· **Další informace:** Žádné.*** 10 Stálost a reaktivita**

- **Termický rozklad / Podmínky, kterým je třeba zabránit:**
Nedochází k rozkladu při doporučeném způsobu použití.
- **Neslučitelné materiály:**
oxidační činidla
kyseliny
alkalické kovy
- **Možnost nebezpečných reakcí:**
Reakce s vodou a kyselinami.
Reakce s oxidačními činidly.
Reakce s alkalickými kovy.
- **Nebezpečné produkty rozkladu:**
Chlorovodík (HCl)
Chlor (Cl)
Nitrozní plyny
Fosgen
oxid uhelnatý (CO)
- **Další údaje:**
Hygroskopické: absorbuje vlhkost nebo vodu ze vzduchu.
citlivý na světlo

11 Toxikologické informace

- **Informace o toxikologických účincích:**
- **Primární dráždivé účinky:**
- **na kůži:** Žádné dráždivé účinky
- **na zrak:**
Silné dráždivé účinky s nebezpečím vzniku vážných poškození zraku
Dráždivé účinky.
- **Senzibilizace:** Stykem s pokožkou je možné přecitlivělost.
- **Senzibilizace** Může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží.
- **Účinky CMR (karcinogenita, mutagenita a toxicita pro reprodukci)**
Karc. kat. 3, Muta. kat. 3

12 Ekologické informace

- **Perzistence a rozložitelnost:** Údaje nejsou k dispozici.
- **Chování v ekologickém prostředí:**
- **Bioakumulační potenciál:** Údaje nejsou k dispozici.
- **Toxicita:**
- **Poznámka:** Velmi jedovatý pro ryby.
- **Jiné nepříznivé účinky:**
- **Všeobecná upozornění:**
Třída ohrožení vody 2 (zařazení v listině): ohrožuje vodu
Nesmí vniknout do spodní vody, povodí nebo kanalizace.
Ohrožuje pitnou vodu už při proniknutí malého množství do zeminy.
V povodích je také jedovatá pro ryby a plankton.
velmi jedovatá pro vodní organismy

(pokračování na straně 8)

CZ

Bezpečnostní list
podle 1907/2006/ES, Článek 31

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

· **Výsledky posouzení PBT a vPvB** Údaje nejsou k dispozici.

(pokračování strany 7)

13 Pokyny pro odstraňování

· **Produkt:**

· **Metody nakládání s odpady:**

Nesmí se odstraňovat společně s odpady z domácnosti. Nepřipustit únik do kanalizace.

· **Kontaminované obaly:**

· **Doporučení:**

Odstranění podle příslušných předpisů.

Odstranění látky/přípravku musí být zneškodněn oprávněnou osobou v souladu se Zákonem o odpadech č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů a Vyhláškou MŽP č. 381/2001 Sb., kterou se stanoví Katalog odpadů, seznam nebezpečných odpadů a seznamy odpadů a států pro účely vývozu, dovozu a tranzitu odpadů a postup při udělování souhlasu k vývozu, dovozu a tranzitu odpadů, ve znění pozdějších předpisů.

14 Informace pro přepravu

· **Pozemní přeprava ADR/RID (hranice překračující):**



· **ADR/RID-GGVS/E třída nebezpečnosti:** 6.1 Jedovaté látky

· **Kemlerovo číslo:** 60

· **Číslo UN:** 1548

· **Obalová skupina:** III

· **Etiketa:** 6.1

· **Zvláštní označení:** Symbol (ryba a strom)

· **Náležitý název UN pro zásilku:** -

1548 HYDROCHLORID ANILÍNU

· **Kód omezení pro tunely:** E

· **Námořní přeprava IMDG:**



· **IMDG-třída:** 6.1

· **Číslo UN:** 1548

· **Label:** 6.1

· **Obalová skupina:** III

· **EMS-skupina:** F-A, S-A

· **Látka znečišťující moře:** Ne

· **Technický název:** ANILINE HYDROCHLORIDE

· **Letecká přeprava ICAO-TI a IATA-DGR:**



· **ICAO/IATA-třída:** 6.1

· **Číslo UN:** 1548

(pokračování na straně 9)

Bezpečnostní list podle 1907/2006/ES, Článek 31

Datum vydání: 28.10.2010

Revize: 28.10.2010

Obchodní označení: Anilin hydrochlorid

(pokračování strany 8)

· Label	6.1
· Obalová skupina:	III
· Technický název:	ANILINE HYDROCHLORIDE

· **UN "Model Regulation":** UN1548, HYDROCHLORID ANILÍNU, 6.1, III

· **Nebezpečnost pro životní prostředí:**

Žádné.

Látka ohrožující životní prostředí; Marine Pollutant

15 Informace o předpisech

- **Posouzení chemické bezpečnosti** Posouzení chemické bezpečnosti nebylo provedeno.
- **Nařízení týkající se bezpečnosti, zdraví a životního prostředí/specifické právní předpisy týkající se látky nebo směsi:**
 - Zákon č. 254/2001 Sb. o vodách (vodní zákon), ve znění pozdějších předpisů
 - Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech, ve znění pozdějších předpisů
 - Zákon č. 86/2002 Sb., o ochraně ovzduší, ve znění pozdějších předpisů
 - Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů
 - Zákon č. 356/2003 Sb., o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů
 - Vyhláška č. 232/2004 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, týkající se klasifikace, balení a nebezpečných chemických látek a chemických přípravků, ve znění pozdějších předpisů
 - Nařízení vlády č. 361/2007 Sb., kterým se stanoví podmínky ochrany zdraví při práci, ve znění pozdějších předpisů
 - Nařízení (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek a o zřízení Evropské agentury pro chemické látky, ve znění pozdějších předpisů.
- **Posouzení chemické bezpečnosti** Nebylo provedeno.

16 Další informace

Údaje se opírají o dnešní stav našich vědomostí, nepředstavují však záruku vlastností produktu a nevznikají tak žádné smluvní právní vztahy.

Do bezpečnostního listu byly přidány pouze relevantní informace dle nařízení CLP

- **Pokyny na provádění školení**
S tímto bezpečnostním listem musí být seznámeni všichni relevantní pracovníci. Pokud vyžaduje specifikace pracoviště je nutno vypracovat vlastní podrobnější bezpečnostní předpisy (viz zákonné požadavky)
- **Obor, vydávající bezpečnostní list:** Product safety department
- **Poradce:** Mr. Kudrna
- **Zkratky a akronymy:**
 - ADR: Accord européen sur le transport des marchandises dangereuses par Route (European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road)
 - RID: Règlement international concernant le transport des marchandises dangereuses par chemin de fer (Regulations Concerning the International Transport of Dangerous Goods by Rail)
 - IMDG: International Maritime Code for Dangerous Goods
 - IATA: International Air Transport Association
 - IATA-DGR: Dangerous Goods Regulations by the "International Air Transport Association" (IATA)
 - ICAO: International Civil Aviation Organization
 - ICAO-TI: Technical Instructions by the "International Civil Aviation Organization" (ICAO)
 - GHS: Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals
 - EINECS: European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances
 - CAS: Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)
- * **Údaje byly oproti předešlé verzi změněny**

PŘÍLOHA P II: Bezpečnostní list amonium persulfátu

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení (ES) č. 1907/2006
Verze 5.1 Datum revize 26.07.2012
Datum vytištění 13.05.2013

1. IDENTIFIKACE LÁTKY/ SMĚSI A SPOLEČNOSTI/ PODNIKU

1.1 Identifikátory výrobku

Název výrobku : Diamonium-peroxodisulfát

Číslo produktu: : 215589
Značka : Sigma-Aldrich
Č. indexu : 016-060-00-6
Č. CAS : 7727-54-0

1.2 Příslušná určená použití látky nebo směsi a nedoporučená použití

Určená použití : Laboratorní chemikálie, Výroba látek

1.3 Podrobné údaje o dodavateli bezpečnostního listu

Firma : Sigma-Aldrich spol. s r.o.
Sokolovska 100/94
CZ-186 00 PRAHA 8

Telefonní : +420 246 003 200
Číslo faxu : +420 246 003 292
E-mailová adresa : eurtechserv@sial.com

1.4 Telefonní číslo pro naléhavé situace

Číslo nouzového telefonu : Toxikologické informační středisko: +420
224919293, 224915402

2. IDENTIFIKACE NEBEZPEČNOSTI

2.1 Klasifikace látky nebo směsi

Klasifikace podle Nařízení (ES) č.1272/2008 [EU-GHS/CLP]

Oxidující tuhé látky (Kategorie 3)
Akutní toxicita, Orálně (Kategorie 4)
Podráždění očí (Kategorie 2)
Toxicita pro specifické cílové orgány - jednorázová expozice (Kategorie 3)
Dráždivost pro kůži (Kategorie 2)
Dechová senzibilizace (Kategorie 1)
Senzibilizace kůže (Kategorie 1)

Klasifikace podle směrnic EU 67/548/EHS nebo 1999/45/ES

Dotek s hořlavým materiálem může způsobit požár. Zdraví škodlivý při požití. Dráždí oči, dýchací orgány a kůži. Může vyvolat senzibilizaci při vdechování a při styku s kůží.

2.2 obsah štítku

Značení podle Nařízení (ES) č.1272/2008 [CLP]

Piktogram



Signálním slovem

Nebezpečí

Rizikové věty

H272 : Může zesílit požár; oxidant.
H302 : Zdraví škodlivý při požití.
H315 : Dráždí kůži.
H317 : Může vyvolat alergickou kožní reakci.
H319 : Způsobuje vážné podráždění očí.

H334	Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.
H335	Může způsobit podráždění dýchacích cest.
Bezpečnostní oznámení	
P220	Uchovávejte/skladujte odděleně od oděvů/hořlavých materiálů.
P261	Zamezte vdechování prachu/ dýmu/ plynu/ mlhy/ par/ aerosolů.
P280	Používejte ochranné rukavice.
P305 + P351 + P338	PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
P342 + P311	Při dýchacích potížích: Volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
Doplňkové údaje o nebezpečí	žádný

Podle evropské směrnice 67/548/EHS ve smyslu pozdějšího znění a doplňků.

Symbole nebezpečnosti



R-věty	
R 8	Dotek s hořlavým materiálem může způsobit požár.
R22	Zdraví škodlivý při požití.
R36/37/38	Dráždí oči, dýchací orgány a kůži.
R42/43	Může vyvolat senzibilizaci při vdechování a při styku s kůží.
S-věty	
S22	Nevdechujte prach.
S24	Zamezte styku s kůží.
S26	Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.
S37	Používejte vhodné ochranné rukavice.

2.3 jiná rizika - žádný

3. SLOŽENÍ/ INFORMACE O SLOŽKÁCH

3.1 Látky

Synonyma	:	AP Ammonium peroxodisulfate APS PER Ammonium peroxydisulfate
----------	---	--

vzorec	:	HgN ₂ O ₈ S ₂
Molekulová hmotnost	:	228,20 g/mol

Složku	Koncentrace
Diammonium peroxodisulphate	
Č. CAS	7727-54-0
Č.ES	231-786-5
Č. indexu	016-060-00-6

4. POKYNY PRO PRVNÍ POMOC

4.1 Popis první pomoci

Všeobecné pokyny

Konzultujte s lékařem. Ošetřujícím lékařům předložte tento bezpečnostní list.

Při vdechnutí

Při nadýchání dopravte postiženého na čerstvý vzduch. Pokud postižený nedýchá, provádějte umělé dýchání. Konzultujte s lékařem.

Při styku s kůží

Omývejte mýdlem a velkým množstvím vody. Konzultujte s lékařem.

Při styku s očima

Nejméně 15 minut pečlivě vyplachujte velkým množstvím vody a konzultujte s lékařem.

Při požití

Osobám v bezvědomí nikdy nepodávejte nic ústy. Vypláchněte ústa vodou. Konzultujte s lékařem.

4.2 Nejdůležitější akutní a opožděné symptomy a účinky

Dle našich nejlepších znalostí nebyly chemické, fyzikální a toxikologické vlastnosti úplně prozkoumány.

4.3 Pokyn týkající se okamžité lékařské pomoci a zvláštního ošetření

data neudána

5. OPATŘENÍ PRO HAŠENÍ POŽÁRU**5.1 Hasiva****Vhodná hasiva**

Použijte proud vody, pěnu vhodnou k hašení alkoholu, práškový hasicí prostředek nebo oxid uhličitý.

5.2 Zvláštní nebezpečnost vyplývající z látky nebo směsi

oxidy dusíku (NOx), Oxidy síry

5.3 Pokyny pro hasiče

Při požáru použijte v případě nutnosti izolační dýchací přístroj.

5.4 Další informace

Může zesílit požár; oxidant. Uzavřené nádoby ochlazujte rozprašováním vody.

6. OPATŘENÍ V PŘÍPADĚ NÁHODNÉHO ÚNIKU**6.1 Opatření na ochranu osob, ochranné prostředky a nouzové postupy**

Použijte vhodné ochranné prostředky. Je nutno vyloučit vznik prachu. Zabraňte šíření plynu/mlhy/par tekutiny. Zajistěte přiměřené větrání. Osoby odvedte do bezpečí. Nevdechujte prach.

6.2 Opatření na ochranu životního prostředí

Zabraňte dalšímu unikání nebo rozlití, není-li to spojeno s rizikem. Nenechtejте vniknout do kanalizace. Zabraňte vypuštění do okolního prostředí.

6.3 Metody a materiál pro omezení úniku a pro čištění

Zamette a vsypte do vhodné nádoby k likvidaci. Seberte uniknuvší materiál vysavačem v nevýbušném provedení nebo mokřým kartáčem a uložte do obalu k likvidaci podle místních / národních předpisů (viz oddíl 13). Uložte do vhodné uzavřené nádoby.

6.4 Odkaz na jiné oddíly

Zneškodnit podle kapitoly 13.

7. ZACHÁZENÍ A SKLADOVÁNÍ**7.1 Opatření pro bezpečné zacházení**

Zamezte styku s kůží a očima. Zabraňte vzniku prachu a aerosolu.

Při vzniku prachu nutno zajistit přiměřené větrání. Uchovávejte mimo dosah zdrojů zapálení - Zákaz kouření. Neopouštějte v blízkosti zdrojů tepla a ohně.

7.2 Podmínky pro bezpečné skladování látek a směsí včetně neslučitelných látek a směsí

Skladujte na chladném místě. Nádoby skladujte dobře uzavřené na suchém, dobře větraném místě.

Citlivý na vlhkost.

7.3 Specifické konečné/specifická konečná použití

data neudána

8. OMEZOVÁNÍ EXPOZICE / OSOBNÍ OCHRANNÉ PROSTŘEDKY**8.1 Kontrolní parametry****Složky s parametry pro kontrolu pracoviště**

Neobsahuje žádné látky s mezními hodnotami expozice na pracovišti.

8.2 Omezování expozice

Vhodné technické kontroly

Dodržujte bezpečnostní předpisy pro manipulaci s chemikáliemi. Před pracovní přestávkou a po skončení práce si umyjte ruce.

Osobní ochranné prostředky

Ochrana očí a obličeje

Ochranný štít na obličej a bezpečnostní brýle. Použijte zařízení na ochranu očí testované a schválené příslušnými státními normami jako NIOSH (US) nebo EN 166(EU).

Ochrana kůže

Používejte ochranné rukavice Rukavice je nutno před použitím prohlédnout. Používejte správnou techniku svlékání rukavic bez dotyku vnějšího povrchu rukavic, aby jste zabránili kontaktu kůže s tímto produktem Po použití kontaminované rukavice zneškodněte podle SLP a platných zákonů Ruce umyjte a osušte

Zvolené ochranné rukavice mají vyhovovat specifikacím směrnice EU 89/686/EHS a z ní odvozené normě EN 374.

Ochrana před přetékáním

Materiál: Nitrilový kaučuk

minimální tloušťka vrstvy: 0,11 mm

Doba průniku: 480 min

Materiál testovaný Dermatril® (Aldrich Z677272, Velikost M)

Ochrana před rozstříkáváním

Materiál: Nitrilový kaučuk

minimální tloušťka vrstvy: 0,11 mm

Doba průniku: 480 min

Materiál testovaný Dermatril® (Aldrich Z677272, Velikost M)

datum: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Telefonní +49 (0)6659 873000, e-mail sales@kcl.de, Estovací metoda: EN374

Při použití ve formě roztoku nebo směsi s jinými látkami a při podmínkách odlišných od podmínek uvedených v EN 374 se obraťte na dodavatele rukavic schválených EK. Toto doporučení má informací charakter a musí být přehodnoceno průmyslovým hygienikem, který zná specifickou situaci předpokládaného použití zákazníkem Toto nemá být interpretováno jako schválení žádného specifického použití

Ochrana těla

Kompletní protichemický oděv, Typ ochranného prostředku musí být zvolen podle koncentrace a množství nebezpečné látky na příslušném pracovišti.

Ochrana dýchacích cest

Pokud z odhadu rizika plyne, že jsou vhodné respirátory čistící vzduch, použijte celoobličejový částečný respirátor typu N100 (US) nebo respirátorové patrony typu P3 (EN 143) jako náhradu pro regulaci. Pokud je respirátor jediným prostředkem ochrany, použijte respirátor dodávaný jako celoobličejový. Používejte respirátory a součásti testované a schválené dle příslušných státních norem, jako je NIOSH (US) nebo CEN (EU).

9. FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI

9.1 Informace o základních fyzikálních a chemických vlastnostech

- | | |
|----------------------------|-------------------------------|
| a) Vzhled | Forma: prášek
Barva: bílý |
| b) Zápach | data neudána |
| c) Prahová hodnota zápachu | data neudána |
| d) pH | 1,0 - 2 při 228 g/l při 25 °C |
| e) Bod tání / bod tuhnutí | data neudána |

f)	Počáteční bod varu a rozmezí bodu varu	data neudána
g)	Bod vzplanutí	data neudána
h)	Rychlost odpařování	data neudána
i)	Hořlavost (pevné látky, plyny)	data neudána
j)	Horní/dolní meze zápalnosti nebo meze výbušnosti	data neudána
k)	Tlak páry	data neudána
l)	Hustota páry	7,88 - (vzduch = 1.0)
m)	Relativní hustota	1,980 g/cm ³
n)	Rozpustnost ve vodě	228 g/l při 20 °C - plně rozpustná látka
o)	Rozdělovací koeficient: n-oktanol/voda	data neudána
p)	Teplota samovznícení	data neudána
q)	Teplota rozkladu	data neudána
r)	Viskozita	data neudána
s)	Výbušné vlastnosti	data neudána
t)	Oxidační vlastnosti	data neudána

9.2 Další bezpečnostní informace.

Sypná měrná hmotnost 900 kg/m³

10. STÁLOST A REAKTIVITA

10.1 Reaktivita

data neudána

10.2 Chemická stabilita

data neudána

10.3 Možnost nebezpečných reakcí

data neudána

10.4 Podmínky, kterým je třeba zabránit

data neudána

10.5 Neslučitelné materiály

Silná redukční činidla, Organické materiály, S práškovými kovy

10.6 Nebezpečné produkty rozkladu

Další produkty rozkladu - data neudána

11. TOXIKOLOGICKÉ INFORMACE

11.1 Informace o toxikologických účincích

Akutní toxicita

LD50 Orálně - krysa - 689 mg/kg

LD50 Kožní - krysa - 2.000 mg/kg

Žiravost/dráždivost pro kůži

Kůže - králík - Nedráždí pokožku

Vážné poškození očí / podráždění očí

Oči - králík - Nedochází k dráždění očí

Senzibilizace dýchacích cest / senzibilizace kůže

Může vyvolat alergické dýchací a kožní reakce.

Mutagenita v zárodečných buňkách

data neudána

Karcinogenita

IARC: Žádná ze složek obsažených v tomto produktu nebyla IARC identifikována při hladinách větších nebo rovných 0,1% jako pravděpodobný, možný nebo potvrzený karcinogen.

Toxicita pro reprodukci

data neudána

Toxicita pro specifické cílové orgány - jednorázová expozice

Může způsobit podráždění dýchacích cest.

Toxicita pro specifické cílové orgány - opakovaná expozice

data neudána

Nebezpečnost při vdechnutí

data neudána

Možné ovlivnění zdraví

Vdechnutí	Může mít škodlivé účinky při vdechování. Způsobuje podráždění dýchacích cest.
Požítí	Zdraví škodlivý při požití.
Kůže	Škodlivý při absorpci přes kůži. Vyvolává podráždění kůže.
Oči	Způsobuje vážné podráždění očí.

Příznaky a symptomy expozice

Dle našich nejlepších znalostí nebyly chemické, fyzikální a toxikologické vlastnosti úplně prozkoumány.

Další informace

RTECS: SE0350000

12. EKOLOGICKÉ INFORMACE**12.1 Toxicita**

Toxicita pro ryby LC50 - Oncorhynchus mykiss (pstruh duhový) - 76 mg/l - 96 h

Toxicita pro dafnie a jiné vodní bezobratlé EC50 - Daphnia magna (perloočka velká) - 120 mg/l - 48 h

12.2 Perzistence a rozložitelnost

data neudána

12.3 Bioakumulační potenciál

data neudána

12.4 Mobilita v půdě

data neudána

12.5 Výsledky posouzení PBT a vPvB

data neudána

12.6 Jiné nepříznivé účinky

Škodlivý pro vodní organismy.

13. POKYNY PRO ODSTRAŇOVÁNÍ**13.1 Metody nakládání s odpady****Výrobek**

Spalujte v spalovně chemických odpadů, která je vybavena přídavným spalováním a pračkou plynů. Při zapalování buďte opatrní, protože tento materiál je vysoce hořlavý. Zbytková množství a nezregenerovatelné roztoky předejte osvědčené likvidační firmě.

Znečištěné obaly

Zlikvidujte jako nespotřebovaný výrobek.

14. INFORMACE PRO PŘEPRAVU**14.1 Číslo OSN**

ADR/RID: 1444

IMDG: 1444

IATA: 1444

14.2 Příslušný název OSN pro zásilku

ADR/RID: PERSÍRAN AMONNÝ

IMDG: AMMONIUM PERSULPHATE

IATA: Ammonium persulphate

14.3 Třída/ třídy nebezpečnosti pro přepravu

ADR/RID: 5.1

IMDG: 5.1

IATA: 5.1

14.4 Obalová skupina

ADR/RID: III

IMDG: III

IATA: III

14.5 Nebezpečnost pro životní prostředí

ADR/RID: ne

IMDG Marine pollutant: no

IATA: no

14.6 Zvláštní bezpečnostní opatření pro uživatele

data neudána

15. INFORMACE O PŘEDPÍSECH

Tento bezpečnostní list splňuje požadavky Nařízení (ES) č. 1907/2006.

15.1 Nařízení týkající se bezpečnosti, zdraví a životního prostředí/ specifické právní předpisy týkající se látky nebo směsi

data neudána

15.2 Posouzení chemické bezpečnosti

data neudána

16. DALŠÍ INFORMACE**Další informace**

Copyright 2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. Licence poskytnuta k výrobě libovolného množství papírových kopií pro vnitřní použití.

Předpokládá se, že výše uvedené informace jsou správné. Neznamená to však, že jsou kompletní a měly by sloužit jen jako vodítko. Společnost Sigma-Aldrich Co. a její dceřinné společnosti nenesou zodpovědnost za škody způsobené manipulací nebo stykem s uvedenými chemikáliemi. Proto Vás žádáme, abyste se řídili obchodními podmínkami uvedenými na stránkách www.sigma-aldrich.com a/nebo na zadní straně faktur a příbalových letáků.
