

## 4-Toliloamina (*p*-toluidyna)

### Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego<sup>1,2</sup>

#### 4-Aminotoluene (*p*-toluidine)

#### Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

dr RENATA SOĆKO

<https://orcid.org/0000-0002-4304-9563>

dr JAN GROMIEC

<https://orcid.org/0000-0002-0550-6655>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, Łódź

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź

<b>NDS</b>	4,4 mg/m <sup>3</sup>
<b>NDSch</b>	8,8 mg/m <sup>3</sup>
<b>NDSP</b>	nie ustalono
<b>DSB</b>	2% methemoglobiny we krwi

**I** substancja o działaniu drażniącym

**A** substancja o działaniu uczulającym

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

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25-27.06.2019 r.

Data zatwierdzenia przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN: 16.12.2019 r.

#### Streszczenie

4-Toliloamina (*p*-toluidyna) ma postać białych, połyskujących płatków. Substancja ta jest wytwarzana i/lub importowana do Europejskiego Obszaru Gospodarczego w ilości 1 000 ÷ 10 000 t/rok.

Związek jest używany jako półprodukt w syntezach substancji organicznych, m.in. przy produkcji: barwników, żywic jonowymiennych, pestycydów oraz farmaceutyków. Około 1 000 t 4-toliloaminy/rok stosuje się do produkcji pestycydów, m.in. insektycydu o nazwie Fipronil oraz fungicydu Tolyfluanid. Substancja jest stosowana także w laboratoriach jako odczynnik do wykrywania: ligniny, nitylu oraz floroglucynolu.

W projekcie dyrektywy ustanawiającej 5. wykaz wskaźnikowych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego zamieszczono wartości dla 4-toliloaminy na poziomie: OEL (TWA) – 4,46 mg/m<sup>3</sup>, STEL – 8,92 mg/m<sup>3</sup>. Wartość średnia ważona jest dwukrotnie mniejsza od obowiązującej wartości NDS dla 4-toliloaminy w Polsce – 8 mg/m<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Wartości NDS i NDSch 4-toliloaminy zostały w dniu 16.12.2019 r. przyjęte na 94. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie zostały przedłożone Ministrowi Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej (wniosek nr 110) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

<sup>2</sup> Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach IV etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Podczas narażenia zawodowego na 4-toliloaminę duże znaczenie ma droga inhalacyjna i skórna. Według danych o narażeniu na 4-toliloaminę uzyskanych od Głównego Inspektora Sanitarnego za 2017 i 2018 r., nie odnotowano w warunkach zawodowych przekroczenia obowiązującej wartości NDS (8 mg/m<sup>3</sup>).

4-Toliloamina jest klasyfikowana jako substancja działająca toksycznie po połknięciu, przez drogi oddechowe i w kontakcie ze skórą, działająca drażniąco na oczy oraz uczulająca w kontakcie ze skórą. Ponadto 4-toliloaminę zaklasyfikowano jako substancję rakotwórczą kategorii zagrożenia 2., czyli substancję, co do której podejrzewa się, że jest rakotwórcza dla człowieka. Na podstawie dostępnych danych wykazano, że krytycznymi skutkami narażenia na 4-toliloaminę są krew (methemoglobinemia) i wątroba.

Podstawą do wyliczenia wartości NDS było działanie methemoglobinoformujące 4-toliloaminy odnotowane w badaniu na szczurach Wistar, którym podawano związek z paszą o zawartości 4 lub 14% tłuszczu, w dawkach: 0; 40; 80 lub 160 mg/kg mc./dzień przez 1- i 3-miesiące.

4-Toliloamina powodowała u zwierząt narażanych istotny statystycznie, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej, wzrost poziomu methemoglobiny we krwi.

Przyjmując za wartość LOAEL dawkę 40 mg/kg mc./dzień wyliczono z niej wartość NDS.

Na podstawie wyników przeprowadzonych obliczeń zaproponowano dla 4-toliloaminy wartość NDS na poziomie 4,46 mg/m<sup>3</sup> (tj. takim jaki jest podany w projekcie dyrektywy ustanawiającej 5. wykaz wskaźnikowych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego zgodnie z dyrektywą 98/24/WE). Wartość NDSCh zaproponowano na poziomie 8,8 mg/m<sup>3</sup>. Ustalona wartość NDSCh powinna zabezpieczyć pracowników przed możliwym podrażnieniem oczu.

Ze względu na działanie drażniące 4-toliloaminy na oczy zaproponowano oznakowanie związku literą „I” (substancja o działaniu drażniącym), a ze względu na wartość LD<sub>50</sub> po podaniu na skórę królika wynoszącą 890 mg/kg mc. – opatrzenie informacją o wchłanianiu przez skórę („skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową). 4-Toliloamina zgodnie z klasyfikacją zharmonizowaną została zaklasyfikowana jako substancja działająca uczulająco na skórę, dlatego zaproponowano wprowadzić również oznakowanie literą „A” – substancja o działaniu uczulającym. Działanie uczulające na skórę wykazano u świnek morskich oraz ludzi uczulonych na *p*-fenylenodiaminę, u których odnotowano reakcję krzyżową na 2-procentową 4-toliloaminę. Zaproponowano pozostawić zalecaną wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla 4-toliloaminy na poziomie ustalonym dla związków methemoglobinoformujących, tj. 2% methemoglobiny we krwi.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

**Słowa kluczowe:** 4-toliloamina, narażenie zawodowe, toksyczność, NDS, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

## Abstract

4-Aminotoluene (*p*-toluidine) has the form of white, lustrous plates or leaflets with a characteristic wine-like odour. The substance is manufactured and / or imported into the European Economic Area in the amount of 1000–10.000 t / year. Five registrants from Germany registered the substance on ECHA's website. 4- Aminotoluene is used as an intermediates in the manufacture of many dyes, resins, pesticides, pharmaceuticals and in the synthesis of organic chemicals. About 1000 t of 4-aminotoluene / year is used for the production of pesticides, including an insecticide called Fipronil and a fungicide Tolyfluanid. The substance is also used in laboratories as a reagent for lignin, nitrile and phloroglucinol. 4- Aminotoluene is included in draft Directive (Chemical Agents Directive 98/24 / EC) establishing the 5<sup>th</sup> list of indicative occupational exposure limit values with values: OEL: 4.46 mg / m<sup>3</sup>; STEL: 8.92 mg / m<sup>3</sup>, much lower than the obligatory MAC value at 8 mg/m<sup>3</sup> in Poland therefore the monograph with the hygienic standard proposal has been developed again. As far as occupational exposure to 4-aminotoluene (production and use) is concerned, the route of exposure is significant: inhalation and dermal contact. Taking into consideration health effects, 4-aminotoluene is classified as toxic by inhalation, in contact with the skin and if swallowed, irritating to eyes, sensitising by skin contact and carcinogenic cat. 2 (suspected of causing cancer). A review of scientific literature showed that exposure to 4-aminotoluene affects blood (methemoglobin inducer) and the liver. The basis for calculating the proposed MAC value was the methaemoglobinogenic effect of 4-aminotoluene recorded in a 1- and 3-month study on Wistar rats, which were given 4-aminotoluene with feed containing 4% or 14% fat, in doses: 0; 40; 80 or 160 mg/kg/day. 4-Aminotoluene caused statistically significant, dose-related increases in the level of methaemoglobin in the blood compared to control animals. Based on the above effect, the 40 mg / kg / day dose was taken as the LOAEL value and the OEL value was calculated from it. It was proposed to adopt an OEL value of 4-aminotoluene at 4.4 mg/m<sup>3</sup>, i.e. as it is in the draft directive establishing the 5th list of indicative occupational exposure limit values according to Directive 98/24 / EC. The instantaneous value of OELs was proposed at the level of 8.8 mg/m<sup>3</sup>. This value should protect employees against possible eye irritation. Due to the eye irritation of 4-aminotoluene, it was proposed to label the compound with the letter “I” (irritant), and because of the LD<sub>50</sub> after administration to the skin of a rabbit of 890 mg/kg. – information on skin absorption ('skin' – absorption of the sub-

stance through the skin may be just as important as when inhaled). 4-Aminotoluene according to the harmonized classification was classified as a skin sensitizer, therefore it was proposed to introduce the notation with the letter "A" – a substance with sensitizing effect. Skin sensitization has been demonstrated in guinea pigs and in people allergic to *p*-phenylenediamine, in which a cross reaction to 2% 4-aminotoluene has been reported. It was proposed to leave the limit value as admissible concentration in biological material (DSB) at the level recommended for methaemoglobinogenic substances, i.e. 2% of methaemoglobin in the blood. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

**Keywords:** *p*-toluidine, occupational exposure, toxicity, MAC, health sciences, environmental engineering.

## CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

### Ogólna charakterystyka substancji

4-Toliloamina jest organicznym związkiem chemicznym z grupy amin aromatycznych. Jest to aminowa pochodna toluenu, a jednocześnie metylowa pochodna aniliny.

Ogólna charakterystyka 4-toliloaminy (ACGIH 2001; HSDB 2019; SCOEL 2013):

- wzór sumaryczny  $C_7H_9N$   
 $CH_3C_6H_4NH_2$
- wzór strukturalny



- SMILES (sposób jednoznaczny zapisu struktury cząsteczek związków chemicznych z wykorzystaniem ciągu znaków ASCII)  $CC1=CC=C(N)C=C1$
- nazwa chemiczna 4-toliloamina
- nazwa IUPAC 4-metylaniline
- numer CAS 106-49-0

- numer indeksowy 612-160-00-4
- numer WE 203-403-1
- synonimy: *p*-toluidyna;  
1-amino-4-metylobenzen;  
4-aminotoluen;  
4-metyloanilina;  
4-metylobenzoamina;  
4-amino-1-metylobenzen;  
4-metylo-1-aminobenzen;  
4-toluidyna;  
4-metylofenyloamina;  
*p*-metyloanilina;  
C.I. 37107.

4-Toliloamina ma zharmonizowaną klasyfikację w Unii Europejskiej (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 ze zm., rozporządzenie (WE) nr 790/2009), którą przedstawiono na rysunku 1. i w tabeli 1.



GHS06



GHS08



GHS09

**Rys. 1.** Kody hasła ostrzegawczego: „Niebezpieczeństwo”. Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Tabela 1.

**Zharmonizowana klasyfikacja 4-toliloaminy** (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Klasyfikacja		Oznakowanie	
	klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasła ostrzegawczego	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
4-Toliloamina	Carc. 2 Acute Tox. 3 * Acute Tox. 3 * Eye Irrit. 2 Skin Sens. 1 Acute Tox. 3 * Aquatic Acute 1	H351 H301 H311 H319 H317 H331 H400	GHS09 GHS08 GHS06 Dgr	H351 H301 H311 H319 H317 H331 H400

Objaśnienia:

Carc. 2 – rakotwórczość, kategoria zagrożenia 2.

H351 – podejrzewa się, że powoduje raka.

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

H301 – działa toksycznie po połknięciu.

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

H311 – działa toksycznie w kontakcie ze skórą.

Eye Irrit. 2 – poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy, kategoria zagrożenia 2.

H319 – działa drażniąco na oczy.

Skin Sens. 1 – działanie uczulające na skórę, kategoria zagrożenia 1.

H317 – może powodować reakcję alergiczną skóry.

Acute Tox. 3 – toksyczność ostra (po narażeniu inhalacyjnym), kategoria zagrożenia 3.

H331 – działa toksycznie w następstwie wdychania.

Aquatic Acute 1 – stwarzająca zagrożenie dla środowiska wodnego – zagrożenie ostre, kategoria zagrożenia 1.

H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

\* – minimum klasyfikacji.

**Właściwości fizykochemiczne**

Właściwości fizykochemiczne 4-toliloaminy (ACGIH 2001; HSDB 2019; SCOEL 2013):

- postać, wygląd i zapach

bezbarwne lub żółtawe połyskujące płatki, ciemniejące pod wpływem powietrza, o zapachu przypominającym zapach wina

- masa cząsteczkowa 107,16
- temperatura topnienia 44 ÷ 45 °C
- temperatura wrzenia 200,5 °C (1013 hPa)
- prężność par (w temp. 25 °C) 0,381 hPa
- gęstość par (powietrze = 1) 3,9
- gęstość 1,046 g/cm<sup>3</sup> (w temp. 20 °C)
- stała dysocjacji (pKa) 5,08 (25 °C)

- rozpuszczalność w wodzie

słabo rozpuszczalna (0,7%) – 6,64 g/l (w temp. 20 °C, pH = 7)

- rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach:

dobrze rozpuszczalna w: alkoholach, acetonie, eterze, rozcieńczonych kwasach, olejach

- temperatura zapłonu

87 °C (1013 hPa, zamknięty tygiel)

- stężenia wybuchowe w powietrzu

1,1 ÷ 6,6 vol %

- temperatura samozapłonu

482 °C

- palność

brak zapłonu w kontakcie z powietrzem

- próg zapachowy 1,5 mg/m<sup>3</sup>  
(0,33 ppm),  
(*Falcy, Malard* 2005)
- współczynnik podziału  
oktanol-woda  
jako log Kow 1,39
- współczynniki  
przeliczeniowe: 1 ppm = 4,46 mg/m<sup>3</sup>;  
1 mg/m<sup>3</sup> = 0,224 ppm  
(20 °C, 101 kPa).

### Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

Na skalę przemysłową 4-toliloamina jest otrzymywana przez redukcję *p*-nitrotoluenu w obecności żelaza i kwasu solnego (HSDB 2019).

4-Toliloamina jest wytwarzana i/lub importowana do Europejskiego Obszaru Gospodarczego w ilości 1 000 ÷ 10 000 t rocznie. Na stronie ECHA substancję zarejestrowało 5 rejestrujących z Niemiec (ECHA 2019). Substancja jest wykorzystywana przez pracowników (szeroko rozpowszechnione zastosowania) w zakładach przemysłowych i produkcyjnych.

4-Toliloamina jest używana jako półprodukt w syntezach substancji organicznych, m.in. przy produkcji: barwników, żywic jonowymiennych, pestycydów oraz farmaceutyków. Około 1 000 t 4-toliloaminy/rok wykorzystuje się do produkcji pestycydów, m.in. insektycydu o nazwie Fipronil oraz fungicydu Tolyfluanid (Organization... 2005). Substancja jest stosowana także w laboratoriach jako odczynnik do wykrywania: ligniny, nitrylu oraz floroglucynolu (Merc 1996).

4-Toliloamina jest obecna w dymie papierosowym (wielkość emisji do 2,4 µg/papierosa), (*Neurath* 1969; *Pailer* i in. 1966; *Schmeltz, Hoffmann* 1977).

W warunkach pracy zawodowej (produkcja i stosowanie substancji) głównymi drogami narażenia na 4-toliloaminę jest droga inhalacyjna oraz kontakt ze skórą.

Według danych o narażeniu na 4-toliloaminę uzyskanych z ogólnopolskiej bazy danych prowadzonej przez Wojewódzką Stację Sanitarno-Epidemiologiczną w Bydgoszczy oraz od Głównego Inspektora Sanitarnego za 2017 i 2018 r., nie odnotowano w warunkach zawodowych przekroczenia obowiązującej wartości NDS (8 mg/m<sup>3</sup>).

## DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

### Obserwacje kliniczne

#### *Działanie ostre i krótkoterminowe*

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat działania toksycznego 4-toliloaminy na ludzi w warunkach narażenia ostrego i krótkoterminowego. Przedstawione w literaturze przypadki dotyczą zatrucia toluidynami, najczęściej izomerem *o*-toluidyny lub bez określenia rodzaju izomeru. Potwierdzonym skutkiem działania izomerów toluidyny jest działanie methemoglobinotwórcze. Wymieniane najczęściej objawy zatrucia toluidynami to: podrażnienie/zapalenie skóry i oczu, zaburzenia funkcji nerek i pęcherza moczowego (krwiomocz), sinica, nudności, wymioty, niskie ciśnienie krwi, drgawki, anemia oraz znużenie (osłabienie, wyczerpanie), (ACGIH 2001; HSDB 2019).

U osób narażonych na toluidynę (izomer nieokreślony) podobne objawy opisał *Smyth* (1931). Substancja ta powodowała hemoglobinurię i anemię z objawami podobnymi do zatrucia aniliną, ale z mniej wyraźną methemoglobinemią.

4-Toliloaminę oznaczono we krwi i moczu osób palących i niepalących papierosa, niebędących zatrudnionymi zawodowo w narażeniu na tę substancję. Nie stwierdzono różnic w stężeniu 4-toliloaminy w moczu między osobami niepalącymi a palącymi. Średni poziom adduktów Hb 4-toliloaminy we krwi mężczyzn palących papierosa wynosił – w zależności od rodzaju palonego tytoniu – 50 ÷ 100%, tj. więcej niż w przypadku osób niepalących (*Henschler* 1990).

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat działania uczulającego 4-toliloaminy. Za pomocą testów skórnych u 37 spośród 58 badanych pacjentów, wykazujących uczulenie

na *p*-fenylenodiaminę, stwierdzono reakcję krzyżową na 2-procentową 4-toliloaminę (naniesiona w żółtej wazelinie), (Kleniewska 1975; 1980).

Próg zapachowy 4-toliloaminy określono na poziomie 1,5 mg/m<sup>3</sup> (0,33 ppm), (Falczy, Malard 2005).

### Działanie podprzewlekłe i przewlekłe

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji dotyczących skutków narażenia podprzewlekłego i przewlekłego ludzi na 4-toliloaminę.

Dostępne prace dotyczą narażenia łącznego osób zatrudnionych przy produkcji 2-toliloaminy i 4-toliloaminy. Szczegółowy opis można znaleźć w części „Działanie łączne”.

### Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji dotyczących badań epidemiologicznych nad skutkami przewlekłego narażenia ludzi na 4-toliloaminę.

## DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

### Toksyczność ostra i przedłużona

4-Toliloamina w Unii Europejskiej posiada klasyfikację zharmonizowaną, zgodnie z którą została zaklasyfikowana jako substancja działająca toksycznie: po połknięciu, przez drogi oddechowe i w kontakcie ze skórą.

Wartości LD<sub>50</sub> 4-toliloaminy po podaniu dożołądkowym szczurom wynosiły 200 ÷ 760 mg/kg mc. Po aplikacji na skórę królika wartość LD<sub>50</sub> ustalono na poziomie 890 mg/kg mc., natomiast wartość CL<sub>50</sub> po narażeniu inhalacyjnym szczurow wynosiła powyżej 64 mg/m<sup>3</sup>. Uzyskane wartości LD<sub>50</sub> i CL<sub>50</sub> przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Wartości LD<sub>50</sub> i CL<sub>50</sub> 4-toliloaminy i jej chlorowodoru wyznaczone dla zwierząt doświadczalnych

Gatunek/szczep zwierząt, płeć	Droga podania	Wartość LD <sub>50</sub> /CL <sub>50</sub>	Piśmiennictwo
4-Toliloamina			
Szczury Wistar, ♂	dożołądkowa	620 mg/kg mc.	Bayer AG 1978
Szczury, ♂	dożołądkowa	656 mg/kg mc.	Industrial... 1973
Szczury Wistar, ♀	dożołądkowa	200 mg/kg mc.	Seńczuk, Rucińska 1984
Szczury	dożołądkowa	760 mg/kg mc.	Vasilenko i in. 1981
Myszy	dożołądkowa	330 mg/kg mc.	Vasilenko i in. 1981
Myszy	dożołądkowa	794 mg/kg mc.	Matrka i in. 1978
Króliki	dożołądkowa	270 mg/kg mc.	Vasilenko i in. 1977
Króliki	na skórę	890 mg/kg mc.	Industrial... 1973
Szczury, ♂	inhalacyjna	> 640 mg/m <sup>3</sup>	Industrial... 1973
Myszy, ♂	dootrzewnowa	50 mg/kg mc.	Plzak, Doull 1969
Szczury Sprague-Dawley, ♀	podskórna	1 012 mg/kg mc.	Bayer AG 1981
Chlorowodorek 4-toliloaminy			
Myszy, ♂, ♀	dootrzewnowa	♂ 399 mg/kg mc. ♀ 435 mg/kg mc.	Weisburger i in. 1978
Szczury	dożołądkowa	1 285 mg/kg mc.	Industrial ... 1973
Szczury, ♂, ♀	dootrzewnowa	♂ 390 mg/kg mc. ♀ 265 mg/kg mc.	Weisburger i in. 1978

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.



Najczęściej wymienianym skutkiem narażenia ostrego na 4-toliloaminę była methemoglobinemia i objawy z nią związane. Po podaniu dożołądkowo samicom szczurów szczepu Wistar 4-toliloaminy w dawce 200 mg/kg mc. obserwowano wzrost stężenia methemoglobiny we krwi obwodowej sięgający 21,7% po 2 h od podania związku (Seńczuk, Rucińska 1984). W tym samym badaniu szczurom samicom na skórę aplikowano na 2 ÷ 6 h roztwory związku: 0,5-; 0,75-; 1- lub 1,25-procentowe i także obserwowano wzrost poziomu methemoglobiny we krwi sięgający 40%, który był proporcjonalnie zależny od dawki oraz czasu narażenia (Seńczuk, Rucińska 1984).

W badaniach przeprowadzonych na szczurach samcach (5 zwierząt/dawkę), którym podawano zgłębnikiem 4-toliloaminę w dawkach: 316; 464; 681 lub 1 000 mg/kg mc., ustalono wartość LD<sub>50</sub> na poziomie 656 mg/kg mc., a wśród objawów narażenia obserwowano: zmniejszenie aktywności ruchowej, zmniejszenie siły mięśniowej, podrażnienie skóry (zacerwienie, obrzęk, oparzenia, krwotoki śródskórne), drgawki, które prowadziły do padnięcia zwierząt (Industrial... 1973).

W innym badaniu wartość LD<sub>50</sub> po narażeniu drogą pokarmową ustalono na poziomie 620 mg/kg mc. W badaniu tym samcom szczurów szczepu Wistar (10 osobników/dawkę) podano jednorazowo, dożołądkowo, zgłębnikiem 4-toliloaminę w dawkach: 100; 500; 600; 620; 700 lub 900 mg/kg mc. U zwierząt wśród objawów narażenia obserwowano: poliurię, zmniejszenie masy ciała, przekrwienie oczu, sinicę, anoreksję oraz śpiączkę, która prowadziła do padnięcia zwierząt przed upływem 14-dniowego okresu obserwacji (Bayer, Löser 1978).

Wartość LD<sub>50</sub> (890 mg/kg mc.) po naniesieniu na skórę wyznaczono w badaniach na królikach, którym наносono na skórę jednorazowo 4-toliloaminę rozcienczoną wodą w dawkach: 464; 691; 1 000 lub 1 470 mg/kg mc. (nie podano czasu narażenia). 4-Toliloamina w dawce 691 mg/kg mc. powodowała: zmniejszenie aktywności ruchowej zwierząt, zmniejszenie siły mięśniowej, podrażnienie skóry (zacerwienie, obrzęk, oparzenia, krwotoki śródskórne), drgawki oraz padnięcia zwierząt (Industrial... 1973).

Narażenie inhalacyjne szczurów samców na 4-toliloaminę o stężeniu 640 mg/m<sup>3</sup> przez 1 h powodowało: zmniejszenie aktywności ruchowej zwierząt, nieżyt nosa, łzawienie. Wymienione obja-

wy ustępowały po 24 h od narażenia (Industrial... 1973).

W badaniach na królikach nie wykazano działania drażniącego 4-toliloaminy na skórę. 4-Toliloamina (50 mg substancji zmieszanej z wodą na 24 h) naniesiona na wewnętrzną powierzchnię ucha królików nie spowodowała zmian na skórze, świadczących o działaniu drażniącym substancji (Bayer, Löser 1978).

Niewielkie podrażnienie skóry zaobserwowano po aplikacji na ogoloną skórę grzbietu królików 500 mg 4-toliloaminy (opatrunek półokluzyjny) na 4 h (2 sztuki), (Hoechst 1986).

Podrażnienie skóry stwierdzono po aplikacji na otartą lub nieuszkodzoną skórę królików 500 mg 4-toliloaminy (podana w postaci proszku), (6 sztuk). Po 24 i 72 h od aplikacji w teście *Draize'a* stwierdzono wystąpienie rumienia i obrzęku (Industrial... 1973).

Działanie drażniące 4-toliloaminy na oczy wykazano po podaniu 50 mg substancji do worka spojówkowego oka królików. Po 24 h wystąpiło zacerwienie spojówek oraz obrzęk i łzawienie. Objawy utrzymywały się około 7 dni od podania substancji (Bayer, Thyssen 1979).

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat działania drażniącego 4-toliloaminy na układ oddechowy.

Działanie uczulające 4-toliloaminy wykazano w teście skórnym przeprowadzonym na 10 świnkach morskich (Kleniewska, Maibach 1980).

Szczurom samicom (10 sztuk w grupie) podawano 4-toliloaminę w paszy w dawkach: 0; 13,8; 66,8 lub 125,7 mg/kg mc./dzień (0; 165; 825 i 1650 ppm) przez 28 dni. Podczas trwania badania po żadnej z zastosowanych dawek u zwierząt nie obserwowano objawów zatrucia ani przypadków padnięć zwierząt. W grupie zwierząt otrzymujących 4-toliloaminę w dawce 125,7 mg/kg mc., w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej, obserwowano istotnie zmniejszoną końcową masę ciała. W przypadku zwierząt otrzymujących dawki 66,8 lub 125,7 mg/kg mc./dzień obserwowano wzrost względnej masy badanych narządów wewnętrznych (wątroba, nerki, nadnercza, gonady), ale tylko w przypadku wątroby ten wzrost był istotny statystycznie. Badaniem histopatologicznym nie stwierdzono istotnych zmian w badanych narządach. Grupa badaczy przyjęła dawkę 13,8 mg/kg mc./dzień jako wartość NOAEL (Industrial... 1973).

## Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Skutki działania toksycznego 4-toliloaminy w warunkach narażenia podprzewlekłego i przewlekłego drogą pokarmową oceniano na podstawie wyników badań na szczurach i myszach. Dostęp-

ne wyniki badań wskazują, że w przypadku narażenia na 4-toliloaminę narządami krytycznymi są krew i wątroba. Szczegółowe informacje dotyczące badań wraz z wartościami NOAEL/LOAEL przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

### Skutki nienowotworowe powtarzanego i przewlekłego narażenia zwierząt doświadczalnych na 4-toliloaminę

Gatunek zwierząt, płeć warunki doświadczenia	Wartość NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury, grupy po 10 ♂; 28 dni z paszą w dawkach: 0; 13,8; 66,8 lub 125,7 mg/ kg mc./dzień	NOAEL: 13,8 mg/kg mc./dzień toksyczność układowa	brak objawów zatrucia i przypadków śmiertelnych; dawki 66,8 lub 125,7 mg/kg mc./dzień: – zwiększenie względnej masy badanych narządów (wątroba, nerki, nadnercza, gonady), ale tylko w przypadku wątroby ten wzrost był istotny statystycznie; dawka 66,8 mg/kg mc./dzień: – zwiększenie względnej masy wątroby (6,42%); dawka 125,7 mg/kg mc./dzień: – zwiększenie względnej masy wątroby (7,71%) – istotne zmniejszenie końcowej masy ciała w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej – brak istotnych zmian histopatologicznych w badanych narządach	Industrial... 1973
Szczury Wistar, grupy po 8 ♂; 1 i 3 miesiące narażenia z paszą o zawartości 4 lub 14% tłuszczu w dawkach: 0; 40; 80 lub 160 mg/kg mc./dzień	LOAEL: < 40 mg/kg mc./dzień	brak różnic w ilości przyjmowanego pokarmu i wody pomiędzy grupami narażanymi a kontrolnymi (bez względu na czas narażenia); bez względu na czas narażenia brak istotnego wpływu narażenia na przyrost masy ciała (najmniejsze przyrosty masy ciała odnotowano u zwierząt narażanych na związek o największej dawce); istotny statystycznie w stosunku do zwierząt z grup kontrolnych, zależny od dawki wzrost stężenia MetHb: • po 1 miesiącu narażenia pasza – 4% tłuszczu: – dawka 0 mg/kg mc./dzień 1,2% MetHb – dawka 40 mg/kg mc./dzień 3,7% MetHb – dawka 80 mg/kg mc./dzień 4,3% MetHb – dawka 160 mg/kg mc./dzień 7,6% MetHb, pasza – 14% tłuszczu: – dawka 0 mg/kg mc./dzień 1,5% MetHb – dawka 40 mg/kg mc./dzień 3,6% MetHb – dawka 80 mg/kg mc./dzień 3,2% MetHb – dawka 160 mg/kg mc./dzień 6,1% MetHb; • po 3 miesiącach narażenia pasza – 4% tłuszczu: – dawka 0 mg/kg mc./dzień 1,4% MetHb – dawka 40 mg/kg mc./dzień 6,6% MetHb – dawka 80 mg/kg mc./dzień 6,5% MetHb – dawka 160 mg/kg mc./dzień 13,2% MetHb, pasza – 14% tłuszczu: – dawka 0 mg/kg mc./dzień 1,5% MetHb – dawka 40 mg/kg mc./dzień 4,2% MetHb – dawka 80 mg/kg mc./dzień 4,1% MetHb – dawka 160 mg/kg mc./dzień 7,6% MetHb;	<i>Jodynis-Liebert, Bennisir</i> 2005



cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt, płeć warunki doświadczenia	Wartość NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
<p>Myszy CD-1; grupy po 25 ♂ i ♀ w grupie; 6 miesięcy (większe dawki: 0; 150; 300 mg/kg mc./ dzień z paszą), 12 miesięcy (mniejsze dawki: 0; 75; 150 mg/kg mc./dzień z paszą), 3 miesiące obserwacji</p> <p>Szczury CD, grupy po 25 ♂; 18 miesięcy + 6 miesięcy obserwacji; dawki: 0; 75; 150 mg/kg mc./dzień z paszą</p> <p>Szczury Wistar, grupy po 8 ♀; 6 miesięcy, 7 dni/tydzień, największa dawka 12 miesięcy, dawki: 0; 40; 80; 160 mg/kg mc./dzień z paszą nisko-(8%) i wysokobiałkową (24%)</p>	<p>NOAEL: 75 mg/kg mc./dzień toksyczność układowa</p> <p>NOAEL: 150 mg/kg mc./dzień toksyczność układowa</p> <p>LOAEL: &lt; 40 mg/kg mc./dzień</p>	<p>u zwierząt narażanych, niezależnie od zastosowanej paszy i czasu narażenia, odnotowano istotne zwiększenie aktywności glutationu wątroby (1,9- ÷ 3,3-krotny), dialdehydu malonowego (1,2- ÷ 4,5-krotny) oraz aminotransferazy alaninowej (1,3- ÷ 1,8-krotny); brak wpływu narażenia na poziom azotu mocznikowego we krwi; brak związku pomiędzy ilością wydalonej z moczem 4-toliloaminy a wielkością dawki; po 1 miesiącu narażenia ilość 4-toliloaminy w moczu była większa u szczurów karmionych paszą o większej zawartości tłuszczu, lecz różnice te nie były istotne statystycznie (z wyjątkiem zwierząt narażanych na 4-toliloaminę w dawce 160 mg/kg).</p> <p>W 3-miesięcznym eksperymencie ilość 4-toliloaminy w moczu wahała się 1,2 ÷ 5,7% dawki u zwierząt karmionych standardową paszą (4% tłuszczu) i 1,6 ÷ 6,1% w grupach otrzymujących paszę wysokotłuszczową</p> <p>dawka 150 mg/kg mc. /dzień:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- istotnie zmniejszona masa ciała</li> <li>- zwiększona liczba padłych zwierząt</li> <li>- brak zmian histopatologicznych w badanych narządach</li> </ul> <p>brak objawów zatrucia i przypadków padnięć</p> <p>zależny od dawki wzrost poziomu MetHb; pasza niskobiałkowa:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- dawka 0 mg/kg mc./dzień ok. 1% MetHb</li> <li>- dawka 40 mg/kg mc./dzień 2,2% MetHb</li> <li>- dawka 80 mg/kg mc./dzień 6,7% MetHb</li> <li>- dawka 160 mg/kg mc./dzień 10,5% MetHb;</li> </ul> <p>dawka 160 mg/kg mc./dzień, 12 miesięcy narażenia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- znaczne zmniejszenie poziomu MetHb w stosunku do poziomu zanotowanego po 6 miesiącach w analogicznej grupie (4 ÷ 5%)</li> <li>- przebieg krzywej przedstawiającej wzrost stężeń MetHb w grupie wysokobiałkowej był podobny, tylko stężenia methemoglobiny były większe</li> <li>- wyraźne zmiany w wątrobie, pasza niskobiałkowa: poszerzenie przestrzeni bramno-żółciowych w wątrobie, martwica, ogniskowe stłuszczenia, nacieki z komórek jednojądrzastych limfocytopodobnych, multiplikacja jąder</li> </ul>	<p><i>Weisburger</i> i in. 1978</p> <p><i>Weisburger</i> i in. 1978</p> <p><i>Malik-Bryś,</i> <i>Seńczuk</i> 1995a; 1995b</p>

cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt, płeć warunki doświadczenia	Wartość NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Spargue-Dawley ♂ i ♀; grupy po 30 samców i samic; 24 miesiące; podskórnie w oleju z orzecha ziemnego 1 raz w tygodniu; dawki: 0; 25; 75 mg/kg mc./dzień; 2 grupy kontrolne: - grupa kontrolna otrzymująca olej z orzecha ziemnego - grupa kontrolna bez iniekcji	LOAEL: 25 mg/kg mc./dzień toksyczność układowa	dawka 25 mg/kg mc./ dzień: - zmniejszenie masy ciała w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej - martwica hepatocytów (8/60 – ♂ i ♀); dawka 75 mg/kg mc./ dzień: - zmniejszenie masy ciała w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej - martwica hepatocytów (9/60 – ♂ i ♀)	Bayer i in. 1981

Objaśnienia:

MetHb – methemoglobina.

♂ – samiec.

♀ – samica.

LOAEL (ang. *Lowest Observed Adverse Effect Level*) – najmniejsza dawka/stężenie badanej substancji, wywołujące objawy szkodliwe u zwierząt doświadczalnych.

NOAEL (ang. *No Observed Adverse Effect Level*) – największa dawka/stężenie badanej substancji, niewywołujące objawów szkodliwych u zwierząt doświadczalnych.

Szczurom szczepu Wistar, samicom (8 w grupie) podawano z paszą wysoko- (24%) i niskobiałkową (8%) 4-toliloaminę w dawkach: 0; 40; 80 lub 160 mg/kg mc./dzień przez 6 miesięcy. Dawkę 160 mg/kg mc./dzień podawano przez 12 miesięcy. W badaniu zarówno u zwierząt karmionych paszą niskobiałkową, jak i wysokobiałkową wystąpił zależny od dawki wzrost stężenia methemoglobiny. Z graficznego opisu danych wynika, że w grupach niskobiałkowych, otrzymujących doświadczalne dawki 4-toliloaminy przez 6 miesięcy, poziom methemoglobiny we krwi wynosił odpowiednio: 2,2; 6,7 i 10,5% (40; 80; 160 mg/kg mc./dzień). Po 12 miesiącach narażenia 4-toliloamina w największej dawce spowodowała znaczne zmniejszenie poziomu methemoglobiny w stosunku do poziomu zanotowanego po 6 miesiącach w analogicznej grupie (tj. do 4 ÷ 5%). Przebieg krzywej przedstawiającej wzrost stężeń methemoglobiny w grupie wysokobiałkowej był podobny, tylko stężenia methemoglobiny były większe (Malik-Bryś, Seńczuk 1995a; 1995b).

Szczurom CD samcom (25 zwierząt w grupie) podawano 4-toliloaminę z paszą w dawkach: 0; 75 lub 150 mg/kg mc./dzień przez 18 miesięcy

(Weisburger i in. 1978). Podczas 6-miesięcznego okresu obserwacji oraz po zakończeniu narażenia, nie obserwowano żadnych objawów zatrucia i przypadków padnięć zwierząt. Badaniem patomorfologicznym nie stwierdzono także zmian histopatologicznych.

Weisburger i in. (1978) przeprowadzili podobne badania na myszach CD-1 obu płci (25 zwierząt w grupie), którym podawano z paszą 4-toliloaminę w dawkach: 0; 150 lub 300 mg/kg mc./dzień przez 6 miesięcy. Ze względu na zwiększoną liczbę padnięć zwierząt dawki zmniejszono do 75 lub 150 mg/kg mc./dzień, które podawano przez następne 12 miesięcy. U badanych zwierząt nie stwierdzono objawów zatrucia ani zmian histopatologicznych, wyłączając zmiany o charakterze nowotworowym, które opisano w rozdziale dotyczącym działania rakotwórczego 4-toliloaminy.

Działanie methemoglobintwórcze 4-toliloaminy obserwowano w badaniu na szczurach Wistar, którym podawano 4-toliloaminę z paszą o zawartości 4 lub 14% tłuszczu, w dawkach: 0; 40; 80 lub 160 mg/kg mc./dzień przez 1 miesiąc i 3 miesiące (Jodynis-Liebert, Bennasir 2005). 4-Toliloamina, bez względu na rodzaj zastosowanej paszy (4 lub 14%

tłuszczu), powodowała istotny statystycznie wzrost poziomów MetHb we krwi w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej. Obserwowano zależność dawka-skutek w przypadku obu okresów narażenia. W grupach otrzymujących kolejne dawki związku (o zawartości tłuszczu 4%) przez 1 miesiąc, stwierdzono u zwierząt istotny statystycznie w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wzrost stężenia MetHb: 1,2; 3,7; 4,3 i 7,6% (0; 40; 80 i 160 mg/kg mc./dzień). W przypadku podawania 4-toliloaminy z paszą o większej obecności tłuszczu (14%) zawartość procentowa MetHb wynosiła odpowiednio: 1,5; 3,6; 3,2 i 6,1% (0; 40; 80 i 160 mg/kg mc./dzień). Po 3 miesiącach narażenia, podobnie jak po 1 miesiącu, zaobserwowano także istotny statystycznie w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej, zależny od dawki 4-toliloaminy wzrost poziomu MetHb we krwi. Największy wzrost poziomu MetHb (13,2%) wystąpił po dawce 160 mg/kg mc./dzień (pasza 4% tłuszczu). W badaniu tym nie stwierdzono różnic

w ilości przyjmowanego pokarmu i wody pomiędzy grupami narażanymi a kontrolnymi. Nie stwierdzono także wyraźnych różnic pomiędzy narażeniem szczurów na 4-toliloaminę a przyrostem masy ciała, aczkolwiek najmniejsze przyrosty masy ciała odnotowano u zwierząt narażanych na związek o największej dawce. U zwierząt narażanych (niezależnie od zastosowanej paszy i czasu narażenia) odnotowano zwiększenie aktywności: glutationu, dialdehydu malonowego oraz aminotransferazy alaninowej. U zwierząt narażanych nie wykazano wpływu 4-toliloaminy na poziom azotu mocznikowego we krwi. Nie stwierdzono wyraźnego związku pomiędzy ilością wydalanej z moczem 4-toliloaminy a wielkością dawki. W badaniu tym autorzy przyjęli za wartość LOAEL dawkę 40 mg/kg mc./dzień, która powodowała istotny statystycznie, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej, wzrost poziomu methemoglobiny.

## ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

### Działanie mutagenne

Informacje dotyczące badań na temat działania mutagennego 4-toliloaminy u ludzi są nieliczne. W literaturze opisano wyniki jednego badania, w którym wykazano, że 4-toliloamina powoduje uszkodzenia nici DNA w ludzkich komórkach płuca (ECB 2000; Henschler 1990; NLM 2006).

### Badania w warunkach *in vitro*

Działania mutagennego 4-toliloaminy nie wykazano w testach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* na *Salmonella* Typhimurium (szczepy: TA98, TA102, TA104, TA1535, TA1537, TA1538) oraz *Escherichia coli* (szczepy: WP2, WP2uvrA, WP2urA/pKM101) przeprowadzonych zarówno z aktywacją metaboliczną, jak i bez aktywacji metabolicznej (JETOC 1996; 1997; Zeiger i in. 1992).

Wynik dodatni uzyskano w testach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* na *Salmonella* Typhimurium (szczep TA100) w obecności frakcji S9 z wątroby chomika (Zeiger i in. 1992).

4-Toliloamina nie indukowała procesów naprawy pęknięć nici DNA u *Escherichia coli*, nie powodowała pęknięć nici DNA w fibroblastach linii V79 chomika chińskiego, blokowała proces

wymiany materiału genetycznego (*crossing-over*) u *Saccharomyces cerevisiae* D3 oraz konwersję genów u *Saccharomyces cerevisiae* D4 (ECB 2000; Henschler 1990; NLM 2006). 4-Toliloamina powodowała natomiast nieplanową syntezę DNA w hepatocytach szczurzych (ECB 2000; Henschler 1990; NLM 2006).

W testach na komórkach płuc chomika chińskiego związek ten indukował aberracje chromosomowe tylko w warunkach aktywacji metabolicznej (Ishidate i in. 1988).

4-Metylofenylohydroksyloamina (metabolit 4-toliloaminy) wykazywał działanie mutagenne u szczepu *Salmonella* Typhimurium TA98 w obecności frakcji S9, natomiast bez frakcji S9 u szczepu TA100. Ponadto 4-metylofenylohydroksyloamina indukowała *crossing-over* u *S. cerevisiae* D4 (Henschler 1990).

### Badania w warunkach *in vivo*

Działanie genotoksyczne 4-toliloaminy wykazano za pomocą testu „wing spot” przeprowadzonego u *Drosophila melanogaster*, którym podano substancję z pokarmem o największej z zastosowanych dawek (5 mM), (ECB 2000).

Wzrost częstości pęknięć nici DNA obserwowano w komórkach wątroby i nerek samców myszy

Swiss po podaniu dootrzewnowym 4-toliloaminy w dawce 35 mg/kg mc. (Henschler 1990).

Przedstawione wyniki badań wskazują, że 4-toliloamina nie wykazuje lub wykazuje niewielkie właściwości mutagenne.

### Działanie rakotwórcze na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących rakotwórczego działania 4-toliloaminy na ludzi. Wyniki pochodzące z badań dotyczących narażenia zawodowego dotyczą łącznego narażenia na dwie aminy, tj.: 4-toliloaminę i 2-toliloaminę (znane czynniki rakotwórcze). Wyniki tych badań zamieszczono w rozdziale: „Działanie łączne”.

### Działanie rakotwórcze na zwierzęta

W dwuletnich badaniach szczurom szczepu CD samcom (25 sztuk w grupie) podawano z paszą 4-toliloaminę w dawkach: 0; 75 lub 150 mg/kg mc./dzień. Następnie zwierzęta pozostawiono na 6-miesięczny okres obserwacji. Żadne ze zwierząt nie wykazywało objawów zatrucia, a wyniki badań histopatologicznych nie wykazały zmian o charakterze nowotworowym (Weisburger i in. 1978).

Analogiczne badanie trwające 21 miesięcy przeprowadzono na myszach CD-1 obu płci (25 zwierząt każdej płci w grupie), którym podawano 4-toliloaminę z paszą w dawkach: 0; 150 lub 300 mg/kg mc./dzień przez 6 miesięcy. Ze względu na zwiększoną liczbę padnięć zwierząt po 6 miesiącach, zmniejszono dawki do 75 lub 150 mg/kg mc./dzień, które podawano przez następne 12 miesięcy. Wszystkie zwierzęta obserwowano przez 3 miesiące od zakończenia narażenia. U narażonych samców, niezależnie od wielkości dawki,

wystąpił istotny statystycznie wzrost częstości występowania nowotworów wątroby (rak wątrobowokomórkowy). Nowotwory wątroby wystąpiły także u samic narażanych na większą dawkę (Weisburger i in. 1978).

Szczurom szczepu Spargue-Dawley obu płci (30 zwierząt w grupie) podawano podskórnice 4-toliloaminę w oleju z orzecha ziemnego w dawkach: 0; 25 lub 75 mg/kg mc./dzień 1 raz w tygodniu przez 2 lata. Wszystkie zwierzęta, bez oznak zatrucia, przeżyły do końca eksperymentu. Odnotowano jedynie zmniejszenie masy ciała zwierząt narażanych. Na podstawie wyników badań histopatologicznych wykazano zmiany martwicze komórek wątroby we wszystkich grupach zwierząt, także w grupie kontrolnej (kontrola otrzymująca olej z orzecha ziemnego oraz kontrola bez iniekcji): 8/60 (25 mg/kg mc./dzień); 9/60 (75 mg/kg mc./dzień); 4/60 (kontrola) i 4/60 (kontrola bez iniekcji). Wzrost częstości występowania nowotworów złośliwych w miejscu aplikacji obserwowano u zwierząt narażanych obu płci (niezależnie od dawki był nieistotny statystycznie). Nieznaczny wzrost częstości występowania łagodnych nowotworów wątroby (szczególnie u samic) obserwowano u zwierząt otrzymujących 4-toliloaminę w większej dawce (Steinhoff, Dycka 1981).

4-Toliloamina podana na skórę grzbietu myszy w postaci jednej kropli (20% roztworu tej substancji w dioksanie) nie spowodowała wystąpienia brodawczaków i raków w miejscu aplikacji przeprowadzanej 2 razy w tygodniu, przez 12 tygodni (Henschler 1990).

Wyniki badań działania rakotwórczego 4-toliloaminy przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

#### Działanie rakotwórcze 4-toliloaminy

Gatunek zwierząt, płeć, warunki doświadczenia	Wartość NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury CD, grupy po 25 ♂; 2 lata + 6 miesięcy obserwacji; z paszą w dawkach: 0; 75; 150 mg/kg mc./dzień	NOAEL: 150 mg/kg mc./dzień	nie stwierdzono zmian o charakterze nowotworowym	Weisburger i in. 1978
Myszy CD-1, grupy po 25 ♂ i ♀ w grupie; 6 miesięcy (większe dawki: 0; 150; 300 mg/kg mc./dzień z paszą), 12 miesięcy (mniejsze dawki: 0; 75; 150 mg/kg mc./dzień z paszą), 3 miesiące obserwacji	LOAEL: 75 mg/kg mc./dzień	♂ – rak wątrobowokomórkowy: - kontrola 3/18 (16,7%) - mniejsze dawki 8/17 (47%) - większe dawki 9/18 (50%); ♀ – nowotwory wątroby (bliżej nieokreślone): - kontrole 0/20 (0%) - mniejsze dawki 2/21 (9,5) - większe dawki 3/17 (17,6%)	Weisburger i in. 1978

cd. tab. 4.

Gatunek zwierząt, płeć, warunki doświadczenia	Wartość NOAEL/LOAEL	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Szczury Spargue-Dawley, ♂ i ♀; grupy po 30 ♂ i ♀; 24 miesiące; podskórnie w oleju z orzecha ziemnego 1 raz w tygodniu; dawki: 0; 25; 75 mg/kg mc./dzień; 2 grupy kontrolne: - kontrola otrzymująca olej z orzecha ziemnego - kontrola bez iniekcji	LOAEL: 25 mg/kg mc./dzień	nowotwory złośliwe w miejscu wstrzyknięć u obu płci nieistotne statystycznie: - kontrole 4/60 - dawka 25 mg/kg mc. 8/60 - dawka 75 mg/kg mc. 9/60;  łagodne nowotwory wątroby u ♀: - kontrole 0/30 - dawka 25 mg/kg mc. 0/30 - dawka 75 mg/kg mc. 1/30	<i>Steinhoff, Dycka</i> 1981
Myszy, ♀; 12 tygodni, 2 razy w tygodniu aplikacja na skórę grzbietu – 20% roztworu 4-toliloaminy w dioksanie (1 kropla)	–	nie obserwowano wystąpienia brodawczaków i raków w miejscu aplikacji na skórę	<i>Henschler</i> 1990

Objaśnienia:

♂ – samiec.

♀ – samica.

LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) – najmniejsza dawka/stężenie badanej substancji, wywołujące objawy szkodliwe u zwierząt doświadczalnych.NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) – największa dawka/stężenie badanej substancji, niewywołujące objawów szkodliwych u zwierząt doświadczalnych.

Wyniki badań działania rakotwórczego 4-toliloaminy są niejednoznaczne. Eksperti SCOEL (2013) nie zaklasyfikowali 4-toliloaminy do żadnej z grup rakotwórczości.

### Jakościowa ocena rakotwórczości

Eksperti Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (IARC) nie zaklasyfikowali 4-toliloaminy do żadnej z grup rakotwórczości, ponieważ wyniki uzyskane z badań działania rakotwórczego tej substancji są niejednoznaczne.

Eksperti UE zaklasyfikowali 4-toliloaminę do kategorii zagrożenia 2, czyli substancji, co do których podejrzewa się, że są rakotwórcze dla człowieka z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia H351 – podejrzewa się, że powoduje raka

(rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady 2008).

W Niemczech 4-toliloaminę zaklasyfikowano do grupy 3B, tj. substancji, w przypadku których badania w warunkach *in vitro* i badania na zwierzętach dostarczyły dowodów ich działania rakotwórczego, jednak uzyskane dowody są niewystarczające dla zaklasyfikowania tych substancji do jednej z pozostałych kategorii. Przed podjęciem ostatecznej decyzji są wymagane dalsze badania.

W USA higieniści ACGIH zaliczyli 4-toliloaminę do grupy A3, czyli związków o potwierdzonym działaniu rakotwórczym na zwierzęta i nieznanym działaniu na człowieka.

Ocena działania rakotwórczego 4-toliloaminy przez inne organizacje międzynarodowe: NIOSH – Ca (potencjalny kancerogen zawodowy).

## DZIAŁANIE EMBRIOTOKSYCZNE, TERATOGENNE ORAZ WPŁYW NA ROZRODCZOŚĆ

### Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących działania embriotoksycznego, teratogennego i wpływu 4-toliloaminy na rozrodczość ludzi.

### Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość zwierząt

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono opisów badań mających na celu ocenę działania embriotoksycznego i teratogennego 4-toliloaminy na rozrodczość zwierząt doświadczalnych.



W dostępnej literaturze nie znaleziono standardowych badań dotyczących wpływu 4-toliloaminy na płodność zwierząt.

W dostępnej literaturze opisano wyniki jednego badania, które wskazują na zahamowanie syntezy DNA w tkankach jąder myszy po podaniu z paszą 4-toliloaminy w dawce 200 mg/kg mc./dzień (ACGIH 2001).

W badaniach toksyczności podostrej (28 dni) szczurom samcom (10 zwierząt/grupę) podawano 4-toliloaminę z paszą o stężeniach: 0; 165; 825 lub 1650 ppm (co odpowiada dawkom: 0; 13,8; 66,8 lub 125,7 mg/kg mc./dzień). Podczas badania nie padło żadne zwierzę, nie stwierdzono także istotnych zmian patologicznych w badanych narządach, w tym w gonadach. Stosunek masy gonad do masy ciała zwierząt był podobny we wszystkich grupach dawkowania i w grupie zwierząt kontrolnych (Industrial... 1973).

Także w badaniach działania rakotwórczego 4-toliloaminy prowadzonych na szczurach i myszach, opisanych w rozdziale dotyczącym rakotwórczości, nie obserwowano zmian histopatologicznych w gonadach narażanych zwierząt (Weisburger i in. 1978).

### Podsumowanie

Na podstawie danych z piśmiennictwa stwierdzono, że nie ma informacji wskazujących na wpływ 4-toliloaminy na rozrodczość zwierząt doświadczalnych. Dane z badań toksyczności podostrej nie wskazują na możliwe skutki *p*-toluidyny na narządy rozrodcze. Badania toksyczności rozwojowej 4-toliloaminy nie są dostępne.

## TOKSYKOKINETYKA

### Wchłanianie i rozmieszczenie

Wydaje się, że w warunkach narażenia zawodowego najbardziej prawdopodobną drogą wchłaniania 4-toliloaminy jest droga inhalacyjna i dermalna, chociaż w dostępnym piśmiennictwie brak jest danych ilościowych na ten temat. Za wchłanianością tej substancji tymi drogami przemawia wielkość cząsteczki 4-toliloaminy oraz wyznaczone doświadczalnie wartości LD<sub>50</sub> (po narażeniu drogą skórną wynosi 890 mg/kg mc.) i CL<sub>50</sub> (drogą inhalacyjną wynosi > 640 mg/m<sup>3</sup>). Współczynnik przenikania 2-toliloaminy (izomer 4-toliloaminy) przez nieuszkodzoną skórę człowieka wyznaczono na poziomie 0,0037 mg/cm<sup>2</sup>/h, można więc przypuszczać, że podobna wartość tego współczynnika będzie dla 4-toliloaminy (US EPA 1988).

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych na zwierzętach stwierdzono, że związek ten może się wchłaniać również przez układ pokarmowy (Brock i in. 1990). Rozmieszczenie znakowanej izotopem 4-toliloaminy badano u 4 szczurów samców otrzymujących dożołądkowo substancję w dawce 500 mg/kg mc. Największe stężenia we krwi zanotowano po 12 i 24 h od podania. Okres półtrwania w osoczu wynosił od 12 do 15 h (Brock i in. 1990). Po 72 h od podania znakowanej 4-toliloaminy badano rozmieszczenie radioaktywności w tkankach/narządach. Największe poziomy

radioaktywności obserwowano w: tkance tłuszczowej > wątrobie > skórze > nerkach > pełnej krwi > śledzionie > pęcherzu moczowym > płucach > układzie pokarmowym > sercu > szpiku kostnym > mięśniach > mózgu > gonadach (Brock i in. 1990).

Znacznie krótszy niż u szczurów okres półtrwania 4-toliloaminy w osoczu (tj. 1h) wykazano u czterech psów, którym substancję podano drogą dożylną (Kiese 1963).

### Metabolizm i wydalanie

W badaniu na szczurach Wistar samicach (8 zwierząt w grupie), które otrzymywały z paszą 4-toliloaminę w dawkach: 0; 40; 80 lub 160 mg/kg mc./dzień z dietą wysoko- (24%) i niskobiałkową (8%) przez 6 i 12 miesięcy (grupy otrzymujące największą dawkę) oznaczano poziomy tej substancji w moczu i we krwi (Malik-Bryś, Seńczuk 1995a; 1995b). Pod koniec 6. miesiąca narażania wzrósł zależnie od wielkości dawki poziom 4-toliloaminy we krwi i moczu zarówno w grupie zwierząt otrzymujących paszę wysoko-, jak i niskobiałkową. Oznaczone poziomy 4-toliloaminy we krwi i moczu były mniejsze u zwierząt karmionych paszą niskobiałkową. Wydłużenie czasu narażania do 12 miesięcy nie skutkowało podwyższeniem poziomów badanej substancji we krwi i moczu



powyżej wartości obserwowanych po 6 miesiącach.

Metabolizm 4-toliloaminy badano u 4 szczurów szczepu Sprague-Dawley samców, którym podano dożyłkowo 4-toliloaminę w jednorazowej dawce 500 mg/kg mc. (Cheever i in. 1980). Po 24 h stwierdzono w moczu 2,5% podanej dawki w postaci związku niezmienionego oraz główny metabolit 2-amino-5-metylofenol (brak podanej zawartości procentowej). Na tej podstawie autorzy badania stwierdzili, że głównym szlakiem metabolizmu 4-toliloaminy jest hydroksylacja pierścienia węglowego i następująca po niej reakcja sprzęgania.

W innym badaniu poziomy niezmienionej 4-toliloaminy, która została wydalona z moczem szczurów po 24 h po podaniu dożyłkowym zgębnikiem związku w dawkach: 20; 100 lub 200 mg/kg

mc., wynosiły odpowiednio: 26; 10 i 10% podanej dawki (Seńczuk i in. 1984).

#### Podsumowanie

4-Toliloamina wchłania się do organizmu drogą układu pokarmowego, drogą inhalacyjną oraz przez skórę, a wydalą z moczem i kałem. Metabolizm 4-toliloaminy u ssaków polega na hydroksylacji pierścienia węglowego, a następnie reakcji sprzęgania. Głównym metabolitem 4-toliloaminy jest 2-amino-5-metylofenol. W literaturze nie przedstawiono szczegółowych danych toksykokinetycznych dotyczących wchłaniania przez skórę i drogi oddechowe. Absorpcję przez skórę można przewidzieć ze względu na wielkość cząsteczkową 4-toliloaminy oraz wartość współczynnika przenikania 2-toliloaminy.

## MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

4-Toliloamina jest związkiem o działaniu methemoglobinotwórczym, podobnie jak izomery 3- i 2-toliloaminy (*m*- i *o*-toluidyny) oraz szereg amin aromatycznych (ACGIH 2001; HSDB 2019; Smyth 1931). Methemoglobinemia polega na zwiększonej ilości methemoglobiny w stosunku do hemoglobiny. W methemoglobinie hem zawiera żelazo na III stopniu utlenienia zamiast na II (jak w hemoglobinie), co skutkuje utratą zdolności do przyłączenia i przenoszenia tlenu.

Wykazano, że 4-toliloamina modyfikowała aktywność systemu monoooksygenaz oraz enzymów uczestniczących w procesach detoksykacji u szczurów. Po dootrzewnowym podaniu substancji w oleju słonecznikowym (3 kolejne dni po 76 mg/kg mc.) w wątrobie u szczurów szczepu

Wistar (samce) stwierdzono: zmniejszenie zawartości cytochromu P450 (o 17% w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej), zmniejszenie aktywności hydroksylazy węglowodorów arylowych (AHH), (o 37%), demetylazy aminopyryny (25%) oraz zwiększenie aktywności mikrosomalnej hydrolazy epoksydowej (o 172%) i S-transferazy glutationowej (o 53%), (Gnojkowski i in. 1984).

Nie stwierdzono zależności między rakotwórczym działaniem 4-toliloaminy oraz 2-toliloaminy a występowaniem adduktów tych związków z DNA i RNA hepatocytów szczurów, którym podano dożyłkowo związek w dawce 500 mg/kg mc. (Brock i in. 1990).

## DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie opisano prace dotyczące skutków narażenia zawodowego na izomery: *m*- , *o*- i *p*-toluidyny.

W literaturze odnotowano poważne zatrucie toluidyną o stężeniu 176 mg/m<sup>3</sup> (40 ppm, wszystkie izomery), które rozwinęło się w ciągu 60 min od narażenia (Goldblatt 1955). Narażenie na toluidynę o stężeniu 44 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm) wywołało objawy charakterystyczne dla zatrucia tym związkiem

(zwiększony poziom methemoglobiny, podrażnienie/zapalenie skóry, podrażnienie oczu, zaburzenia funkcji nerek i pęcherza moczowego, sinicę, nudności, wymioty, niskie ciśnienie krwi, drgawki, anemię, znużenie), jeżeli czas narażenia był odpowiednio wydłużony (Goldblatt 1955).

Spośród 81 badanych osób (62 mężczyzn i 19 kobiet w wieku 22 ÷ 55 lat) zatrudnionych przy produkcji 2-toliloaminy i 4-toliloaminy

zdiagnozowano methemoglobinemię u 20 pracowników (6 ÷ 19%), (Khlebnikova i in. 1970). Wśród 81 osób odnotowano 4 przypadki brodawczaka pęcherza moczowego. Ogółem zatrudnionych przy produkcji było 35 pracowników, 18 z nich było instalatorami, 10 osób tworzyło personel sprząający. Wśród zatrudnionych 9 osób było narażonych poniżej 1 roku, 31 osób od 1 ÷ 5 lat, 20 osób od 6 ÷ 10 lat, 21 osób ponad 10 lat. Nie podano stężeń 4-toliloaminy w powietrzu środowiska pracy. Oznaczone poziomy 2-toliloaminy w powietrzu środowiska pracy w większości próbek wynosiły: 0,7 ÷ 28,6 mg/m<sup>3</sup> i 6 ÷ 9 mg/m<sup>3</sup> (około 1 ÷ 2 ppm). Badanie cystoskopowe, którym objęto 75 z 81 pracowników ujawniło 2 przypadki brodawczaka pęcherza moczowego, z których

1. wystąpił u 23-letniego pracownika zatrudnionego w narażeniu tylko na 4-toliloaminę przez 20 miesięcy, a 2 u 49-letniego pracownika narażanego na obie substancje chemiczne przez 23 lata (Khlebnikova i in. 1970). Na podstawie uzyskanych wyników badań nie można wnioskować na temat działania rakotwórczego 4-toliloaminy. Większość bowiem narażanych pracowników była jednocześnie narażana na 2-toliloaminę, która jest znanym czynnikiem rakotwórczym. W opisanym badaniu nie podano szczegółowych danych dotyczących narażenia pracowników na 4-toliloaminę.

## ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

W tabeli 3. przedstawiono zależność skutku toksycznego od wielkości narażenia zwierząt doświadczalnych na 4-toliloaminę.

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

### Istniejące wartości NDS i DSB

W Polsce od 2010 roku obowiązuje wartość NDS 4-toliloaminy na poziomie 8 mg/m<sup>3</sup> (wartości NDSCh nie ustalono). Dla jednego z izomerów tego związku 2-toliloaminy – związek rakotwórczy kat. 2. – przyjęto w Polsce wartość NDS na poziomie 3 mg/m<sup>3</sup> (wartości NDSCh nie ustalono). Podstawą do wyliczenia proponowanej wartości NDS 4-toliloaminy było przyjęcie, jako skutku krytycznego, zwiększenie względnej masy wątroby u zwierząt doświadczalnych w 28-dniowym badaniu na szczurach (Pałaszewska-Tkacz, Czerczak 2011).

Zestawienie wartości normatywów higienicznych 4-toliloaminy w innych państwach zamieszczono w tabeli 5.

Ustalona przez ACGIH wartość TLV-TWA 4-toliloaminy na poziomie 8,8 mg/m<sup>3</sup> (2 ppm) istnieje od 1984 r. (ACGIH 2001). Wartość ta

została przyjęta przez analogię do *o*-toluidyny i aniliny oraz pośrednio do nitrobenzenu. Wartość ta ma zabezpieczyć pracowników przed methemoglobinotwórczym działaniem związku oraz przed jego działaniem drażniącym na oczy i skórę. 4-Toliloaminę zaliczono – ze względu na działanie rakotwórcze na wątrobę, stwierdzone na podstawie wyników badań na myszach, ale nie potwierdzone na tych samych dawkach w badaniach na szczurach – do grupy A3 (związki o działaniu rakotwórczym na zwierzęta). 4-Toliloamina wykazuje słabsze działanie mutagenne i rakotwórcze niż 2-toliloamina. Normatyw oznakowano informacją o wchłanianiu przez skórę („skin”) ze względu na wyznaczoną wartość współczynnika przenikania izomeru 4-toliloaminy (2-toliloaminy) przez nieuszkodzoną skórę człowieka, która wynosi 0,0037mg/cm<sup>2</sup>/h. Brak wystarczających danych do ustalenia warto-

ści chwilowej TLV-STEL oraz oznakowania jako substancji o działaniu uczulającym. Wartość BEI ustalono na poziomie 1,5% methemoglobiny we krwi pod koniec zmiany roboczej (ACGIH 2006).

Ekspert z Niemiec 4-toliloaminę zaklasyfikowali do grupy 3B, tj. substancji, w przypadku których badania w warunkach *in vitro* oraz badania na zwierzętach dostarczyły dowodów ich działania rakotwórczego, jednak uzyskane dowody są niewystarczające do zaklasyfikowania tych substancji do jednej z pozostałych kategorii. Przed podjęciem ostatecznej decyzji są wymagane dalsze badania. Ekspert nie ustalili wartości MAK, natomiast wprowadzili oznakowanie „skin” ze względu na objawy działania toksycznego 4-toliloaminy obserwowane u królików po narażeniu drogą skórą oraz przez analogię do innych amin. Wprowadzili także oznakowanie „Sh” (substancja niebezpieczna ze względu na działanie uczulające przez skórę).

Komitet Naukowy ds. Dopuszczalnych Norm Zawodowego Narażenia na Oddziaływanie Czynniki Chemiczne w Pracy (*Scientific Committee for Occupational Exposure Limits for Chemical Agents*, SCOEL) zaproponował przyjęcie wartości OEL 4-toliloaminy na poziomie 4,46 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm), a wartość chwilową STEL (15 min) na poziomie 8,92 mg/m<sup>3</sup> (2 ppm), (SCOEL 2013). Zaproponowane wartości były konsultowane publicznie przez punkty kontaktowe państw członkowskich w 2017 i 2018 r. Komitet Doradczy ds. Bezpieczeństwa, Higieny i Ochrony Zdrowia w Miejscu Pracy Komisji Europejskiej (*Advisory Committee on Safety and Health*, ACSH) przyjął wartości wskaźnikowe (IOEL) dla 4-toliloaminy zaproponowane przez ekspertów SCOEL. Wartości te znalazły się w projekcie dyrektywy ustanawiającej 5. wykaz wskaźnikowych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego zgodnie z dyrektywą 98/24/WE. Zaproponowane wartości są znacznie mniejsze niż obowiązujące w Polsce i innych państwach.

Ekspert SCOEL za skutek krytyczny narażenia na 4-toliloaminę przyjęli tworzenie cząsteczki methemoglobiny (MetHb) występujące zarówno u zwierząt, jak i ludzi.

Ekspert SCOEL w podsumowaniu stwierdzili, że nie ma wyraźnego dowodu na działanie genotoksyczne i rakotwórcze 4-toliloaminy u ludzi i zwierząt doświadczalnych. Istnieje zatem potrzeba przeprowadzenia dalszych badań doświadczalnych nad genotoksycznością i rakotwórczością tego związku w warunkach *in vivo*. Wiadomo

jednak, że potencjał rakotwórczy 4-toliloaminy jest znacznie mniejszy niż potencjał rakotwórczy 2-toliloaminy (o-toluidyny). Ta ostatnia amina jest udowodnionym czynnikiem rakotwórczym dla ludzi, powoduje raka pęcherza moczowego. Dopóki nie będą przeprowadzone dalsze badania ekspert SCOEL postanowili nie przypisywać 4-toliloaminy do żadnej z grup rakotwórczości, a wartość OEL przyjmując dla skutku nienowotworowego – methemoglobintwórczego tego związku. Wyniki uzyskane z badań doświadczalnych przeprowadzonych na kotach wskazują, że 4-toliloamina wykazuje dwukrotnie słabsze działanie methemoglobintwórcze niż anilina (McLean i in. 1969), co zostało potwierdzone wynikami badań przeprowadzonych u ludzi narażonych zawodowo na tę aminę (Smyth 1931; Goldblatt 1955). W przypadku aniliny SCOEL przyjął wartość OEL na poziomie 0,5 ppm, w oparciu o indukcję methemoglobinemii u ludzi (SCOEL 2010), a ponieważ 4-toliloamina wykazuje dwukrotnie słabsze działanie methemoglobintwórcze niż anilina, dlatego wartość OEL dla tej substancji zaproponował na poziomie 1 ppm (4,46 mg/m<sup>3</sup>). Tworzenie methemoglobiny przez aminy aromatyczne zależy od metabolicznego procesu *N*-utleniania, który jest procesem zależnym od czasu, można zatem oczekiwać, że krótkotrwałe (15 minut) zwiększone dwukrotnie narażenie (2 · TWA) nie wpłynie praktycznie na zwiększone tworzenie methemoglobiny. Ekspert SCOEL zalecili wartość STEL dla 4-toliloaminy na poziomie 2 ppm (8,92 mg/m<sup>3</sup>). Ustalona wartość STEL powinna również zabezpieczyć pracowników przed możliwym podrażnieniem oczu.

Biorąc pod uwagę wartość ostrej toksyczności LD<sub>50</sub> 4-toliloaminy po narażeniu drogą skórą u szczurów i królików oraz analogicznie do innych amin aromatycznych, zwłaszcza aniliny i 2-toliloaminy, które przenikają przez skórę, SCOEL wprowadził notację „skin”.

Tabela 5.

Wartości normatywów higienicznych 4-toliloaminy w różnych państwach (ACGIH 2018; GESTIS 2018; rozporządzenie MRPIPS 2018; SCOEL 2013)

Państwo	Wartość NDS		Wartość NDSC		Oznaczenia
	mg/m <sup>3</sup>	ppm	mg/m <sup>3</sup>	ppm	
Austria (2006)	1	0,2	4	0,8	
Australia	8,8	2	–	–	
Belgia (2002)	8,9	2	–	–	
Dania (2002)	9	2	18	4	
Hiszpania	8,9	2	–	–	Skin
Irlandia (2002)	0,9	0,2	–	–	
Łotwa	0,5	–	1(1)		
Szwajcaria	0,9	0,2	–	–	
Nowa Zelandia (2001)	8,8	2	–	–	
Niemcy (2018)	–	–	–	–	Rakotw. grupa 3B, skin, Sh
Korea	9	2	–	–	
Polska (2010)	8	–	–	–	Skóra, BEI: 2% methemoglobiny we krwi
Węgry (2000)	1	–	4	–	
Rumunia	3	–	5(1)	–	
SCOEL/SUM/145 (2013), projekt dyrektywy ustalającej 5. wykaz wartości wskaźnikowych	4,46	1	8,92	2 (15 min)	Skin
USA:					
- ACGIH (1984)	8,8	2	–	–	Skin, A3, BEI: 1,5% methemoglobiny we krwi pod koniec zmiany roboczej
- NIOSH	–	–	–	–	Skin, Ca
- OSHA	–	–	–	–	

Objaśnienia:

Skin – substancja wchłania się przez skórę.

Sh – substancja niebezpieczna ze względu na działanie uczulające przez skórę.

Ca – carcinogen, substancja o działaniu rakotwórczym.

A3 – substancja o potwierdzonym działaniu rakotwórczym u zwierząt i nieznanym działaniu na ludzi.

Grupa 3B (Niemcy) – substancje, dla których wyniki badań w warunkach *in vitro* lub badań na zwierzętach wskazywały na działanie rakotwórcze, ale są one niewystarczające do zaklasyfikowania substancji do wyższej grupy rakotwórczości. Konieczne jest prowadzenie dalszych badań.

Łotwa(1) – 15-minutowa średnia wartość.

Rumunia (1) – 15-minutowa średnia wartość.

## Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

Krytycznym skutkiem narażenia na 4-toliloaminę jest methemoglobinemia obserwowana zarówno u zwierząt (Jodynis-Liebert, Bennasir 2005; Malik-Bryś, Seńczuk 1995a; 1995b), jak i ludzi (Smyth 1931; Goldblatt 1955). Za podstawę do wyliczenia proponowanej wartości NDS przyjęto działanie methemoglobinoformujące 4-toliloaminy odnotowane w badaniu 1- i 3-miesięcznym na szczurach

Wistar. W badaniu szczurom podawano 4-toliloaminę z paszą o zawartości 4 lub 14% tłuszczu w dawkach: 0; 40; 80 lub 160 mg/kg mc./dzień (Jodynis-Liebert, Bennasir 2005). 4-Toliloamina, bez względu na rodzaj zastosowanej paszy (4 lub 14% tłuszczu), powodowała istotny statystycznie w stosunku do zwierząt kontrolnych zależny od dawki wzrost poziomów MetHb (tab. 6.). Generalnie obserwowano zależność dawka-skutek w przypadku obu okresów narażenia. W bada-

niu tym nie stwierdzono różnic w ilości przyjmowanego pokarmu i wody pomiędzy grupami narażanymi a kontrolnymi. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy narażeniem szczurów na 4-toliloaminę a przyrostem masy ciała, aczkolwiek najmniejsze przyrosty masy ciała odnotowano u zwierząt narażanych na związek o największej dawce. Ponadto u zwierząt naraż-

nych niezależnie od zastosowanej paszy i czasu narażenia odnotowano zwiększenie aktywności: glutationu wątroby, dialdehydu malonowego oraz aminotransferazy alaninowej. U zwierząt narażanych nie wykazano wpływu 4-toliloaminy na poziom azotu mocznikowego we krwi. Nie stwierdzono wyraźnego związku pomiędzy ilością wydalanej z moczem 4-toliloaminy a wielkością dawki.

Tabela 6.

Wartości średnich stężeń  $\pm$ SD methemoglobiny (oraz zawartość %) we krwi szczurów otrzymujących 4-toliloaminę z paszą

Czas narażenia, miesiące	Dawki, mg/kg mc./dzień			
	0	40	80	160
Pasza o zawartości 4% tłuszczu				
1	1,2 $\pm$ 0,2	3,7 $\pm$ 0,6* (+208)	4,3 $\pm$ 0,5* (+258)	7,6 $\pm$ 0,9* (+533)
3	1,4 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 2,3* (+371)	6,5 $\pm$ 0,9* (+364)	13,2 $\pm$ 2,4* (+843)
Pasza o zawartości 14% tłuszczu				
1	1,5 $\pm$ 0,2	3,6 $\pm$ 0,5* (+140)	3,2 $\pm$ 0,4* (+113)	6,1 $\pm$ 0,6* (+307)
3	1,5 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 1,7* (+180)	4,1 $\pm$ 0,5* (+173)	7,6 $\pm$ 2,0* (+407)

Objaśnienie:

\* – istotne statystycznie różnice w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej,  $p < 0,01$ .

Przyjmując za wartość LOAEL dawkę 40 mg/kg mc./dzień, która powodowała istotny statystycznie, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej, wzrost poziomu methemoglobiny wyliczono wartość NDS.

Na podstawie dziennej dawki 4-toliloaminy dla szczura, odpowiadającej wartości LOAEL, obliczono równoważne dla człowieka stężenie tego związku w powietrzu, na podstawie wzoru:

$$D_h = \frac{D_w \cdot D_h}{V_h},$$

gdzie:

$D_h$  – równoważne stężenie 4-toliloaminy w powietrzu dla człowieka,

$D_w$  – dawka podana szczurom *per os*,

$W_h$  – masa ciała człowieka (70 kg),

$V_h$  – objętość powietrza wdychanego przez człowieka w ciągu 8 h (10 m<sup>3</sup>),

zatem:

$$D_h = (40 \text{ mg/kg} \cdot 70 \text{ kg}) / 10 \text{ m}^3 = 280 \text{ mg/m}^3.$$

Do wyznaczenia wartości NDS 4-toliloaminy przyjęto następujące wartości współczynników niepewności:

$A = 2$  – współczynnik związany z wrażliwością osobniczą człowieka,

$B = 4$  – współczynnik związany z różnicami międzygatunkowymi i drogą podania (badanie na szczurach, test paszowy),

$C = 2$  – narażenie trwało 1 lub 3 miesiące, a więc jest konieczne przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych,

$D = 2$  – do wyliczenia wartości NDS przyjęto wartość LOAEL,

$E = 2$  – współczynnik modyfikacyjny (wartość LOAEL dla skutku methemoglobinemii jest poniżej wartości przyjętej do wyliczenia, nie badano dawek poniżej wartości LOAEL).

Obliczamy wartość NDS 4-toliloaminy, podstawiając przyjęte wartości współczynników do wzoru:

$$\text{NDS} = 280 \text{ mg/m}^3 / (2 \cdot 4 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2) = 4,38 \text{ mg/m}^3.$$

Na podstawie przeprowadzonych obliczeń wartość NDS 4-toliloaminy wynosi 4,38 mg/m<sup>3</sup>, ale zaproponowano przyjąć wartość NDS na poziomie 4,46 mg/m<sup>3</sup>, tak jak w projekcie dyrektywy ustana-



wiającej 5. wykaz wskaźnikowych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego (zgodnie z dyrektywą 98/24/WE). Wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) zaproponowano przyjąć na poziomie 8,8 mg/m<sup>3</sup>. Ustalona wartość NDSCh powinna zabezpieczyć pracowników przed możliwym podrażnieniem oczu.

Ze względu na działanie drażniące 4-toliloaminy na oczy zaproponowano oznakowanie związku literą „I” (substancja o działaniu drażniącym), a ze względu na wartość LD<sub>50</sub> po podaniu na skórę królika wynoszącą 890 mg/kg mc. – opatrzenie informacją o wchłanianiu przez skórę („skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową).

4-Toliloamina zgodnie z klasyfikacją zharmonizowaną została zaklasyfikowana jako substancja działająca uczulająco na skórę, dlatego zaproponowano wprowadzić również oznakowanie literą „A” – substancja o działaniu uczulającym. Działanie uczulające na skórę wykazano u świnek morskich oraz ludzi uczulonych na *p*-fenylenodiaminę, u których odnotowano reakcję krzyżową na 2-procentową 4-toliloaminę.

Zaproponowano pozostawić wartość dopuszczalną w materiale biologicznym (DSB) na zalecanym poziomie dla substancji methemoglobino-twórczych, tj. 2% methemoglobiny we krwi.

## PIŚMIENNICTWO

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001). Documentation of the TLVs. *p*-Toluidine. Cincinnati, OH. 7<sup>th</sup> Edition Dokumentation CD-ROM, 2018.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2006). The BEI Documentation on Methemoglobin inducers. *p*-Toluidine. Cincinnati, OH. 7<sup>th</sup> Edition Dokumentation CD-ROM, 2018.

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2018). Guide to Occupational Exposure Value. Compiled by ACGIH.

Bayer A.G., Löser E. (1978). Akute orale Toxizität: *p*-Toluidin. Short report, november 09.

Bayer A.G., Thyssen J. (1979). Untersuchungen zur Haut- und Schleimhautverträglichkeit. Short report, march 19.

Bayer A.G., Steinhoff D., Dycka J. (1981). Vergleichende Kanzerogenese Versuche mit 2,4-toluylendiamin, 2,4/2,6-toluylendianin 80/20, *m*-phenylendiamin, *o*-toluidin, *p*-toluidin, 4,4'-diaminodiphenylmethan, benzidin, bei subkutaner applikation an ratten. Unpublished report No 10682. July 06 [cyt. za: OECD SIDS 2006].

Brock W.J., Hundley S.G., Lieder P.H. (1990). Hepatic macromolecular binding and tissue distribution of ortho- and para-toluidine in rats. Toxicol. Lett. 54, 317–325.

Cheever K.L., Richards D.E., Plotnick H.B. (1980). Metabolism of ortho-, meta-, and para-toluidine in the adult male rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 56, 361–369.

Chemical Agents Directive 98/24/EC. Dyrektywa ustalająca 5. wykaz wskaźnikowych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego.

ECB, European Chemicals Bureau (2000). IUCLID, International Uniform Chemical Information Database. Edition II EUR 19559 EN, European Commission.

ECHA (2019) [<https://echa.europa.eu/pl/>].

Falcy M., Malard S. (2005). Comparaison des seuils olfactifs de substances chimiques avec des indicateurs de securite utilises en milieu professionnel. INRS - Hygiene et ecurit du Travail 198, 7–21.

GIS, Główny Inspektor Sanitarny (2018) [dane za rok 2017 i 2018 niepublikowane].

Gnojkowski J., Baer-Dubowska W., Klimek D., Chmiel J. (1984). Effect of toluidenes on drug metabolizing enzymes in rat liver, kidney and lung. Toxicol. 32, 335–342.

Henschler D. (1990). Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeits-medizinische Begründungen von MAK-Werten. Loseblattsammlung, 16. Lfg. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. VCH Verlag, Weinheim [cyt. za: SCOEL 2013].

Hoechst A.G. (1986). Unpublished data (86.0832), cited in IUCLID data set published by ECB, 2000 [cyt. za: OECD SIDS, 2006].

GESTIS Substance Database (2019). *p*-Toluidine. IFA Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance [[http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis\\_en/000000.xml?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestiseng:sdbeng\\$3.0](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/000000.xml?f=templates$fn=default.htm$vid=gestiseng:sdbeng$3.0)].

Goldblatt M.W. (1955). Research in industrial health in the chemical industry. Br. J. Ind. Med. 12, 1–20.



- HSDB (2019). 4-Aminotoluene [<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+106-49-0>].
- Industrial Bio-Test Laboratory Inc. (1973). Datasheet for p-toluidine. BIO-FAX 31-4/73, see also EPA/OTS0555319 [cyt. za: OECD SIDS 2006].
- Ishidate Jr. M., Harnois M.C., Sofuni T. (1988). A comparative analysis of data on the clastogenicity of 951 chemical substances tested in mammalian cell cultures. *Mutat. Res.* 195, 151–213.
- JETOC, Japan Chemical Industry Ecology Toxicology Information Center (1996). Mutagenicity Test Data of Existing Chemical Substances 31–34, 218–220.
- JETOC, Japan Chemical Industry Ecology Toxicology Information Center (1997). Mutagenicity Test Data of Existing Chemical Substances 33–39, 247–249.
- Jodynis-Liebert J., Bennisir H.A.H. (2005). Effect of dietary fat on selected parameters of toxicity following 1- or 3-month exposure of rats to toluidine isomers. *Int. J. Toxicol.* 24, 365–376.
- Khlebnikova M.I., Gladkova E.V., Kurenko L.T., Pshenitsyn A.V., Shalin B.M. (1970). Industrial hygiene and status of health of workers engaged in the production of o-toluidine. *Gig. Tr. Prof. Zabol.* 14, 7–10 [cyt. za: Henschler 1990].
- Kiese M. (1963). The effect of certain substituents upon the N-oxidation of aniline in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 244, 387–404.
- Kleniewska D. (1975). Studies on hypersensitivity to "para group". *Berufsdermatosen* 23, 31–36, cited in Greim 2004.
- Kleniewska D., Maibach H. (1980). Allergenicity of Aminobenzenes compounds: structurefunction relationships. *Dermat. Beruf. Umwelt.* 28, 11–13.
- Malik-Bryś M., Seńczuk W. (1995a). Toxicodynamic properties of toluidines in chronic poisoning. Part I. Experiments on animals maintained on protein-rich diet. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 28, 67–71.
- Malik-Bryś M., Seńczuk W. (1995b). Toxicodynamic properties of toluidines in chronic poisoning. Part II. Tests on animals maintained on low-protein diet. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 28, 175–178.
- McLean S., Starmer G.A., Thomas J. (1969). Methaemoglobin formation by aromatic amines. *J. Pharm. Pharmacol.* 21, 441–450.
- Matrka M., Rambousek V., Zverina Z. (1978). Toxicity p-substituovaných derivátů anilínu u pokusných kryš. *Ceskoslovenska Hygiene* 23, 168–172 [cyt. za: OECD SIDS 2006].
- Neurath G. (1969). Stickstoffverbindungen des Tabakrauchs. *Beitraege Tabakforsch.* 5 (3), 115–133.
- NLM, National Library of Medicine (2006). CCRIS, Chemical Carcinogenesis Research Information System, p-toluidine [<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?/~0wW77>]:5, accessed June. [cyt. za: SCOEL 2013].
- OECD SIDS Initial Assessment Report For SIAM 21 (2006). p-Toluidine. [<http://www.inchem.org/documents/sids/sids/106490.pdf>].
- Organization for Economic Cooperation and Development (2005). Screening Information Data Set for p-Toluidine, CAS #106-49-0 pp. 11–12. Available from, as of May 19, 2010 [<http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECD/SIDS/sidspub.html>], [cyt. za: HSDB 2019].
- Pailer M., Huebsch W.J., Kuhn K. (1966). Ueber das Vorkommen aromatischer Amine im Zigarettenrauch. *Mh. Chemie* 97(5), 1448–1451.
- Pałaszewska-Tkacz A., Czerczak S. (2011). 4-Toliloamina (p-toluidyna). Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego [4-Aminotoluene. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)]. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*, nr 2(68), 169–186.
- Plzak V, Doull J (1969). A further survey of compounds for radiation protection. SAM-TR-69-1, NTIS AD691-490, February 1969.
- Schmeltz I., Hoffmann D. (1977). Nitrogen-containing compounds in tobacco and tobacco smoke. *Chem. Reviews* 77 (3), 295–311.
- SCOEL (2010). Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for aniline. SCOEL/SUM/153. European Commission. Employment, Social Affairs and Inclusion.
- SCOEL (2013). Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for 4-aminotoluene (p-toluidine). SCOEL/SUM/145. European Commission. Employment, Social Affairs and Inclusion.
- Seńczuk W., Rucińska H. (1984). Toxicodynamic properties of toluidines. Part V: Methaemoglobin-genic action of toluidines. *Bromat. Chem. Toksykol.* 17, 241–243 [cyt. za: OECD SIDS 2006].
- Smyth H.F. (1931). The toxicity of certain benzene derivatives and related compounds. *J. Ind. Hyg.* 13, 87–95.
- Steinhoff D., Dycka J. (1981). Unpublished Studies. Bayer AG, Wuppertal/Germany, 1981, referenced by Henschler 1990 and by NTP (last updated 28 Nov 2012) [<http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=E87BD779-BD85-F49A792259B-FA8D8>].
- US EPA (1988). Agency, Research and Development: Evaluation of Potential Carcinogenicity of p-Toluidine: NTIS/PB93-201192.
- Vasilenko N.M., Yaremenko V.D., Baturina T.S., Nedbailo E.P. (1977). Comparative toxicity of toluidine isomers (russian). *Vses Inst Nauchnol Tekh Inf #4035-77: Moscow*, 11 pp [cyt. za: OECD SIDS 2006].

Vasilenko N.M., Zvezdai V.I. (1981). Die Möglichkeiten einer mathematischen Prognostizierung einiger Kriterien der Toxizität der Nitro- und Aminoverbindungen der Benzolreihe (russian). Gig. Tr. Prof. Zabol. 25, 50–52 [cyt. za: OECD SIDS 2006].

Weisburger E.K., Russfield A.B., Homburger F., Weisburger J.H., Boger E., van Dongen C. G., Chu K.C. (1978). J. Environm. Path. Toxicol. 2, 325.

Zeiger E., Anderson B., Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K. (1992). Salmonella Mutagenicity tests: V. Results from the testing of 311 chemicals. Environm. Mol. Mutagen. 19 [Suppl 21], 2–141.

**Adres do korespondencji/Contact details:**

dr RENATA SOĆKO

e-mail: renata.socko@imp.lodz.pl

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

91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

POLAND

## ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA 4-TOLILOAMINĘ (P-TOLUIDYNĘ)

dr hab. n. med. Marta Wiszniewska  
Instytut Medycyny Pracy  
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera  
91-348 Łódź  
ul. św. Teresy od Dzieciatka Jezus 8

### Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: skórę, spojówki i wątrobę, w zależności od wskazań konsultacja dermatologiczna.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, ALAT, AspAT).

### Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: skórę, spojówki i wątrobę, w zależności od wskazań konsultacja dermatologiczna.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, stężenie methemoglobiny we krwi, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, ALAT, AspAT).

Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 lata.

### U w a g a

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

### Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: skórę, spojówki i wątrobę, w zależności od wskazań konsultacja dermatologiczna.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, stężenie methemoglobiny we krwi, badania czynności wątroby (bilirubina w surowicy krwi, ALAT, AspAT).

### Narządy (układy) krytyczne

Narządami krytycznymi podczas pracy w narażeniu na 4-toliloaminę są:

- skóra,
- spojówki,
- wątroba,
- układ krwiotwórczy (krwinki czerwone).

### Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na 4-toliloaminę są:

- niedokrwistość,
- methemoglobinemia wrodzone i nabyte,
- choroby przebiegające z upośledzeniem funkcji wątroby,
- przewlekłe stany zapalne błon śluzowych oczu,
- przewlekłe stany zapalne skóry.

### U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

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

W badaniu okresowym należy oznaczyć wskaźnik narażenia DSB – 2% methemoglobiny we krwi.

