Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2014, nr 2(80), s. 73–110

Eter *tert*-butylowo-etylowy

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego[1,2]

Ethyl *tertiary*-butyl ether

Documentation of suggested occupational exposure limits (OELs)

prof. dr hab. JADWIGA SZYMAŃSKA
e-mail:jadwiga.szymanska@umed.lodz.pl
dr hab.ELŻBIETA BRUCHAJZER
e-mail:elzbieta.bruchajzer@umed.lodz.pl
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. J. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź

NDS: 100 mg/m^3
NDSCh: 200 mg/m^3
NDSP: –
DSB: –
I – substancja o działaniu drażniącym

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 8.10.2013 r.
Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 26.03.2014 r.

Słowa kluczowe: eter *tert*-butylowo-etylowy, ETBE, narażenie zawodowe, toksyczność, działanie drażniące, NDS, NDSCh.

Keywords: ethyl *tertiary*-butyl ether, ETBE, occupational exposure, toxicity, irritation, MAC-TWA, MAC-STEL.

[1] Przyjęte przez Międzyresortową Komisję do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy wartości NDS i NDSCh eteru *tert*-butylowo-etylowego zostały w 2013 r. przedłożone (wniosek nr 91) ministrowi pracy i polityki społecznej w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 części A wykazu wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

[2] Publikacja została przygotowana na podstawie wyników badań uzyskanych w ramach II etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy" dofinansowanego w latach 2011-2013 w zakresie służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Streszczenie

Eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE, 2-etoksy-2-metylopropan, nr CAS: 637-92-3) jest bezbarwną, palną cieczą o charakterystycznym zapachu, otrzymywaną w reakcji izobutenu z etanolem. ETBE jest stosowany w ilości do 15% jako dodatek poprawiający właściwości utleniające i podwyższający liczbę oktanową benzyn. W Polsce ETBE produkują PKN ORLEN S.A. i Grupa LOTOS, łącznie ponad 170 000 t rocznie. Narażenie pracowników (najczęściej drogą inhalacyjną) występuje w czasie wytwarzania, mieszania ETBE z benzynami oraz jego transportu i dystrybucji. Nie ma danych na temat liczby osób narażonych na ETBE w Polsce oraz wielkości stężeń, na jakie są narażeni.

ETBE łatwo wchłania się do organizmu drogą inhalacyjną. Jego eliminacja z krwi jest procesem 4-fazowym (dwie pierwsze fazy są bardzo szybkie, $t_{1/2}$ = 2 i 18 min). ETBE jest szybko metabolizowany przez utlenianie przy udziale cytochromów P-450 do: alkoholu *tert*-butylowego (TBA), 2-metylo-1,2-propandiolu (MPD) i kwasu 2-hydroksymasłowego (HBA, występującego w postaci soli). W drugiej fazie metabolizmu TBA ulega sprzęganiu (głównie z kwasem glukuronowym). ETBE wydala się z powietrzem wydychanym w postaci niezmienionej (około 45 ÷ 50% dawki) lub jako TBA (około 3% dawki). Powstałe metabolity (stanowiące około 40 ÷ 70% dawki) są wydalane z moczem.

Istnieje niewiele danych o działaniu ETBE na ludzi. U ochotników narażonych inhalacyjnie na ETBE o stężeniu 106 lub 212 mg/m^3 (25 lub 50 ppm) przez 2 h notowano podrażnienie błon śluzowych nosa i górnych dróg oddechowych, istotne statystycznie po narażeniu na ETBE o stężeniu 212 mg/m^3 oraz niewielkie zmiany w parametrach określających funkcje płuc.

Wartości DL_{50} po dożołądkowym podaniu ETBE szczurom przekraczały 2000 mg/kg mc. Związek wykazywał działanie drażniące na skórę i oczy u królików. Test maksymalizacji wykonany na świnkach morskich wykazał, że ETBE nie działa uczulająco.

W doświadczeniach krótkoterminowych na zwierzętach, niezależnie od drogi narażenia (dożołądkową lub inhalacyjną), notowano zależny od wielkości dawki (600 ÷ 1800 mg/kg mc./dzień, przez 14 dni) lub stężenia (2090 ÷ 16 720 mg/m^3, przez 4 tygodnie) wzrost względnej masy wątroby i nerek, ale bez zmian histopatologicznych w tych narządach.

Do skutków inhalacyjnego podprzewlekłego narażenia szczurów na ETBE o stężeniach 2090 ÷ 20 900 mg/m^3, które były zależne od wielkości stężenia związku, zaliczono: zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz zwiększenie mas wątroby i nerek. W nerkach samców notowano zmiany histopatologiczne i zaburzenia w funkcjonowaniu nerek spowodowane gromadzeniem się α_2-mikroglobuliny w komórkach kanalików proksymalnych. ETBE o stężeniach 7315 ÷ 20900 mg/m^3 u szczurów powodował ponadto zwiększenie poziomu azotu mocznikowego (BUN) we krwi. Po 13-tygodniowym narażeniu szczurów na ETBE o stężeniach 2090 ÷ 20900 mg/m^3 zanotowano objawy działania neurotoksycznego związku.

Na podstawie wyników 2-letnich badań na zwierzętach, którym ETBE podawano z wodą do picia, za wartość LOAEL przyjęto stężenie związku w wodzie wynoszące 625 ppm (625 µg/l), po którym u szczurów stwierdzono uszkodzenie nerek.

ETBE nie wykazywał ani działania genotoksycznego, ani rakotwórczego (w ACGIH zaliczono związek do grupy 4A), nie wpływał także na płodność i rozrodczość zwierząt laboratoryjnych oraz nie powodował działania embriotoksycznego i teratogennego.

Podstawą do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla ETBE były wyniki badań wykonanych na ochotnikach, u których po narażeniu na ETBE o stężeniu 212 mg/m^3 (LOAEL) obserwowano: podrażnienie błon śluzowych oczu, nosa i górnych dróg oddechowych oraz niewielkie zaburzenia funkcji płuc. Po uwzględnieniu współczynników niepewności, zaproponowano: przyjęcie stężenia 100 mg/m^3 za wartość NDS eteru *tert*-butylowo-etylowego, a stężenia 200 mg/m^3 za wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) związku, a także oznakowanie związku literą „I", ze względu na jego działanie drażniące.

Summary

Ethyl *tertiary*-butyl ether (ETBE, 2-ethoxy-2--methylpropane, CAS: 637-92-3) is a colorless, flammable liquid with a characteristic odor, which is obtained in a reaction of isobutene with ethanol. ETBE is used in an amount up to 15% as an additive, which improves the oxidizing properties and the octane number of gasoline. In Poland, PKN ORLEN SA and LOTOS Group produce ETBE (more than 170000 tonnes per year). Exposure of workers (usually by inhalation) occurs during manufacturing of ETBE, blending gasolines, and its transport and distribution. There are no data on the number of people exposed to ETBE in Poland and the concentrations, to which they are exposed. ETBE is readily absorbed into the body by inhalation. Its elimination from the blood is a four-phase process (the first two phases are very fast, $t_{1/2}$ = 2 and 18 min). ETBE is rapidly metabolized by oxidation involving cytochrome P-450 to *tert*-buthyl alcohol (TBA), 2-methyl-1,2-propanediol (MPD) and 2-hydroxybutyric acid (HBA). In the second phase of metabolism, TBA is coupled, mainly with glucuronic acid. Unchanged ETBE is excreted in the expired air (about 45 – 50% of the dose) or as TBA (about 3% of the dose). The metabolites (representing approximately 40 to 70% of the dose) in the urine are excreted. There is little data on the effect of ETBE in humans. In volunteers exposed to ETBE by inhalation at the concentration of 106 or 212 mg/m^3 (25 or 50 ppm), the mucous membrane of the nose and upper respiratory tract were irritated. After exposure to ETBE at the concentration of 212 mg/m^3 irritation and slight changes in the parameters defining the functions of the lungs were recorded.
After intragastric administration of ETBE to rats, LD_{50} values 2000 mg/kg of body weight were exceeded. The compound was irritant to the skin and eyes of rabbits. No allergic effect was noted (maximization test on guinea pigs). In short-term experiments on animals, regardless of the route of exposure (inhalation or intragastric), dose-related (600 – 1800 mg/kg/day for 14 days) or concentration (2090 – 16720 mg/m^3 for 4 weeks) increases in the relative weight of the liver and kidneys, but without histopathological changes in these organs were reported. After subchronic inhalation of rats to ETBE at the concentrations 2090 – 20900 mg/m^3, reduced body weight gain and an increase in the mass of the liver and kidneys were observed. In the kidneys of males, histopathological changes and disorders in the functioning of the kidneys caused by the accumulation of α_2-microglobulin in proximal tubular cells were reported. ETBE at the concentrations 7315 – 20900 mg/m^3 caused an increase in urea nitrogen (BUN) in the blood of rats. After 13--week exposure of rats to ETBE at the concentrations 2090 – 20900 mg/m^3, effects of neurotoxicity were noted. On the basis of a two-year study, in which ETBE was administered to animals in drinking water, the LOAEL value (kidney damage in rats) was 625 ppm (625 µg/l of water). No genotoxic nor carcinogenic effects were noted. ACGIH classifies ETBE as group 4A. ETBE did not affect the fertility and reproductive in laboratory animals, and did not cause embryotoxicity and teratogenicity. The value of the maximum admissible concentration (MAC) for ETBE was based on the results of tests carried out on volunteers. After exposure to ETBE at the concentration of 212 mg/m^3 (LOAEL), the irritation of the mucous membranes of the eyes, nose and upper respiratory tract and a slight dysfunction of the lungs were observed. The Expert Group for Chemicals Agents suggest a MAC-TWA value of 100 mg/m^3. Due to the irritant potential of ETBE, a MAC-STEL value of 200 mg/m^3 (2 x MAC-TWA) has been proposed. It has been also proposed to label the substance with "I" (irritant).

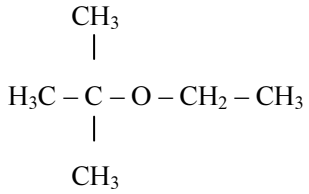
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka eteru *tert*-butylowo--etylowego (ETBE), (RTECS 2013; IUCLID 2000; ACGIH 2001; 2013; HSDB 2013; Toxicol. Rev. 2009):

– wzór sumaryczny $C_6H_{14}O$

– wzór strukturalny



– nazwa zwyczajowa: eter *tert*-butylowo-etylowy
– nazwa chemiczna CAS: ethyl *tertiary*-butyl ether
– numer CAS: 637-92-3
– numer RTECS: KN 4730200
– numer EINECS: 211-309-7
– synonimy: 2-etoksy-2-metylopropan; eter etylowo-1,1-dimetyloetylowy; tlenek etylowo-*tert*-butylowy; ETBE.

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r., 1) i rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 10.08.2012 r. w sprawie kryteriów i sposobu klasyfikacji substancji chemicznych i ich mieszanin (DzU z dnia 14.09.2012 r., poz. 1018), eter *tert*-butylowo-etylowy nie jest substancją lub mieszaniną klasyfikowaną jako niebezpieczna.

Firmy produkujące i stosujące ETBE w opracowanych kartach charakterystyki podają następującą klasyfikację i oznakowania: F – produkt wysoce łatwopalny; R11 – produkt wysoce łatwopalny; R67 – pary mogą wywoływać uczucie senności i zawroty głowy; H225 – wysoce łatwopalna ciecz i pary; H336 – może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy (karty charakterystyki: ORLEN S.A. 2010; Neste Oil 2013).

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) (IUCLID 2000; ACGIH 2001; 2013; HSDB 2013; RTECS 2013; Toxicol. Rev… 2009):

– wygląd: ciecz od bezbarwnej do jasnożółtej, palna, o charakterystycznym, silnym zapachu, przypominającym eter lub benzynę
– masa cząsteczkowa: 102,1748 g/mol
– próg wyczuwalności zapachu: 0,054 mg/m^3 (0,013 ppm)
– granica rozpoznawalności zapachu: 0,1 mg/m^3 (0,024 ppm)
– temperatura wrzenia: 70 ÷ 72,8 ^{o}C
– temperatura topnienia: -94 ^{o}C
– temperatura zapłonu: -19 ^{o}C (metoda tygla zamkniętego)
– temperatura samozapłonu: 310 ^{o}C (ACGIH 2013); 375 ^{o}C (HSDB 2013; IUCLID 2000)
– gęstość względna (masa właściwa) d_4^{20}: 0,7364 g/cm^3 (woda = 1)
– gęstość par (powietrze = 1): > 1 (ORLEN 2010); 3,52 (*Sax* 1963)
– prężność par: 12,8 kPa (w temp. 20 ^{o}C); 17,3 kPa (w temp. 25 ^{o}C); 34 kPa (w temp. 37,8 ^{o}C)

– granice stężeń wybuchowych (obj. % w powietrzu): 1 ÷ 6,8% (ACGIH 2001; 2013); 1,24 ÷ 7,7% (HSDB 2013)

– współczynnik podziału oktanol/woda: Log K_{ow} = 1,48 (*Montgomery* 1994); 1,74 (*Drogos, Diaz* 2002); 1,92 (HSDB 2013)

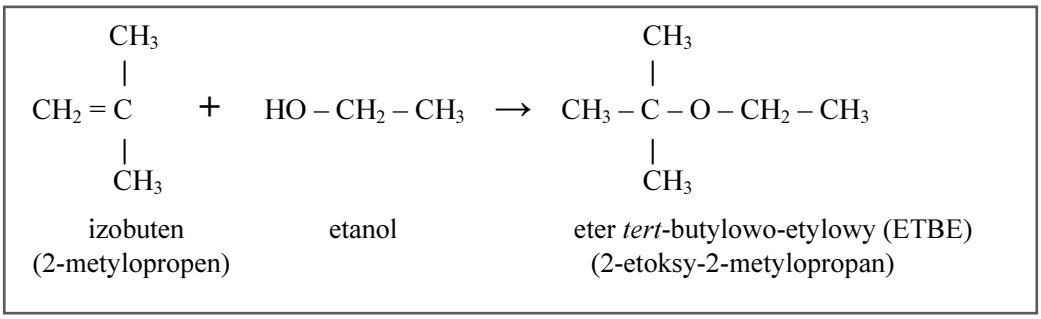
– rozpuszczalność w wodzie 12 g/l w temperaturze 20 °C (2% wagowe)

– rozpuszcza się w: etanolu, acetonie (≥ 100 g/l w temp. 21 °C), eterze

– współczynniki przeliczeniowe w warunkach normalnych (w temp. 25 °C, ciśn. 101,3 kPa), (ACGIH 2001) 1 ppm = 4,18 mg/m^3; 1 mg/m^3 = 0,24 ppm.

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) jest otrzymywany w reakcji izobutenu (zawartego we frakcji C4 węglowodorów alifatycznych) z etanolem. Proces ten zachodzi przy udziale katalizatora typu kwaśnych żywic jonowymiennych (rys. 1.):



Rys. 1. Proces otrzymywania eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE)

ETBE jest stosowany w przemyśle petrochemicznym jako dodatek (zgodnie z normą EN 228 w ilości do 15% wagowych) do benzyn silnikowych, podwyższający ich liczbę oktanową. Związek ten zwiększa także właściwości utleniające bezołowiowych benzyn, poprawiając proces ich spalania w silniku oraz parametry przeciwstukowe, a także ograniczając wydzielanie CO do środowiska. Produkcja ETBE jest bardziej kosztowna niż MTBE (eteru *tert*-butylowo-metylowego) i etanolu, które były do niedawna częściej stosowane jako dodatki do benzyn niż ETBE.

Największym producentem ETBE w Polsce jest PKN ORLEN S.A wytwarzający go od stycznia 2001 r., a stosujący od marca 2001 r. Związek jest dodawany w ilościach do 15% do produkowanych przez koncern benzyn: ES 95E, Super Plus 98 i Verva. W latach 2005-2010 PKN ORLEN S.A. produkował 115 000 t ETBE rocznie i zastąpił nim w swoich benzynach MTBE (do 2004 r. wytwarzany w podobnych ilościach, czyli 120 000 t rocznie), (ORLEN 2010). W 2009 r. w gdańskiej rafinerii Grupy LOTOS zużyto około 57 000 t ETBE. Wykorzystano je m.in. do produkcji benzyn Super Plus 98 (LOTOS 2009).

Narażenie zawodowe na ETBE jest związane głównie z jego produkcją, mieszaniem z

benzynami oraz transportem i dystrybucją. Najbardziej prawdopodobną drogą narażenia ludzi na ETBE jest narażenie inhalacyjne (Toxicol. Rev.... 2009). Pomimo powszechnego stosowania związku, nie ma informacji na temat liczby osób narażonych na ETBE w Polsce.

Potencjalnym, znacznie mniejszym źródłem narażenia na ETBE w wodzie pitnej, mogą być rury z tworzyw sztucznych, zwłaszcza PEX (polietylen usieciowany silanem). Stężenia ETBE w wodzie wynosiły od 23 do ponad 140 µg/l. Zapach związku był wyczuwalny, gdy stężenie ETBE w wodzie wynosiło 5 µg/l (*Durand, Dietrich* 2007).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne. Zatrucia ostre u ludzi

Ośmiu ochotników (mężczyźni w wieku od 21 do 41 lat) narażano inhalacyjnie przez 2 h na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) o stężeniach: 21; 106 lub 212 mg/m^3 (5; 25 lub 50 ppm). W trakcie narażenia ochotnicy wykonywali lekkie ćwiczenia na ergometrze rowerowym *(Nihlen* i in. 1998a), (tab. 1.). Ochotnicy swoje odczucia zapachowe określali subiektywnie – od „niewyczuwalny" (zapach) do określenia „nie do zniesienia". Odczuwanie zapachu u ochotników zmniejszało się wraz w wydłużeniem czasu narażenia na ETBE i ustępowało po jego zakończeniu.

Tabela 1.

Skutki ostrego narażenia ochotników na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE)

Osoby narażone	Narażenie	Stężenie		Skutki działania ETBE	Piśmiennictwo
		mg/m^3	ppm		
Ochotnicy, mężczyźni *n* = 8	drogą oddechową 2 h, przy lekkim wysiłku fizycznym	21	5	brak skutków działania związku (NOAEL dla zaburzeń funkcjonowania płuc); zwiększenie częstości mrugania powiekami (nieistotne statystycznie)	*Nihlen* i in. 1998a
		106	25	wyczuwalny zapach, wzrost częstości mrugania powiekami w czasie narażenia (16 ÷ 103 min narażenia), nieprzyjemny smak w ustach, podrażnienie gardła i dróg oddechowych, obrzęk błon śluzowych nosa; zaburzenia wskaźników funkcji płuc: obniżenie VC[a] o 3,2%, FVC[b] o 3,6% i FEV_1[c] o 1,9% były zbliżone do występujących fizjologicznie (należnych i wystąpiły 35 ÷ 50 min po zakończeniu narażenia)	
		212	50	bardzo wyraźny, nieprzyjemny zapach, podrażnienie błony śluzowej oczu (wzrost częstości mrugania powiekami o 50% po 60 min narażenia oraz do 2 h po zakończeniu narażenia), nieprzyjemny smak w ustach; podrażnienie (dyskomfort) gardła i dróg oddechowych (40 ÷120 min po zakończeniu narażenia), obrzęk błon śluzowych nosa (zmiany istotne statystycznie), niewielkie zaburzenia funkcji płuc: obniżenie VC o 3,4%, FVC o 4,4% i FEV_1 o 2,2% (35 ÷ 50 min po zakończeniu narażenia), zawroty głowy	

Objaśnienia:
[a] VC – pojemność życiowa (*vital capacity*).
[b] FVC – natężona pojemność życiowa (*forced vital capacity*).
[c] FEV_1 – natężona objętość oddechowa pierwszosekundowa (*forced expiratory volume in* 1 *second*).

U ochotników ETBE powodował słabe działanie drażniące na błony śluzowe oczu, co przejawiało się zwiększeniem (nieistotnym statystycznie) częstotliwości mrugania powiekami. Objawy takie po dwóch mniejszych stężeniach obserwowano w czasie narażenia, a po największym stężeniu (212 mg/m^3) także do 2 h po jego zakończeniu. Po narażeniu ochotników na ETBE o stężeniach 106 lub 212 mg/m^3 (25 lub 50 ppm) stwierdzono ponadto nieprzyjemny smak w ustach oraz niewielkie zaburzenia funkcji płuc (zmiany w parametrach oceniających ich pracę mieściły się w granicach wartości fizjologicznych), (*Nihlen* i in. 1998a; ACGIH 2013). U ochotników istotne podrażnienie błon śluzowych nosa i gardła oraz uczucie dyskomfortu w drogach oddechowych obserwowano tylko wówczas, gdy stężenie ETBE wynosiło 212 mg/m^3 (tab. 1.). Analiza popłuczyn z nosa wykonana celem oceny markerów stanu zapalnego (albuminy, lizozym, eozynofile, mieloperoksydazy, interleukina 8) wykazała sporadyczne (nieistotne statystycznie) zmiany w poziomach tych parametrów. Zwykle występowały one 1 ÷ 2 h po zakończeniu narażenia (*Nihlen* i in. 1998a).

W eksperymencie wykonanym u 6 kobiet przez *Vetrano* (1993) wskaźnikiem wielkości narażenia na ETBE było subiektywne wyczucie zapachu. Na podstawie wyników badań wykazano, że próg wyczuwalności zapachu związku w powietrzu wynosił 0,054 mg/m^3 (0,013 ppm), a próg jego rozpoznawalności 0,1 mg/m^3 (0,024 ppm). Okazało się, że poziomy te były 4-krotnie niższe od progów zapachowych dla MTBE. Substancje o progu wyczuwania zapachu poniżej 1 ppm są klasyfikowane jako bardzo pachnące.

Dwukrotnie niższe w porównaniu z MTBE były też granice wyczuwania zapachu ETBE (0,049 ppm, czyli 49 µg/l) i jego rozpoznania (0,106 ppm, czyli 106 µg/l) w wodzie. W badaniu określono także próg wykrywania smaku ETBE w wodzie, który wyniósł 47 µg/l (0,047 ppm), co było poziomem 3-krotnie niższym niż w przypadku MTBE.

Zatrucia przewlekłe u ludzi

W dostępnym piśmiennictwie nie ma informacji o przewlekłym narażeniu ludzi na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE).

Badania epidemiologiczne

Na temat wyników badań epidemiologicznych eteru-*tert*-butylowo-etylowego (ETBE) nie ma informacji w dostępnym piśmiennictwie.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) w doświadczeniach na zwierzętach wykazywał małą toksyczność ostrą. Wartości DL_{50} dla szczurów i myszy po podaniu dożołądkowym ETBE wahają się w granicach > 2000 ÷ 7150 mg/kg mc. Dane te wskazują, że ETBE nie jest klasyfikowany jako substancja toksyczna. Mediana stężenia śmiertelnego po narażeniu inhalacyjnym szczurów i myszy wynosiła ponad 5880 mg/m^3 (tab. 2.).

W badaniach oceniających toksyczność ostrą ETBE u szczurów (samców i samic) stosowane dawki 500 ÷ 5000 mg/kg mc. (podawane sondą do żołądka) nie spowodowały padnięć zwierząt ani zmian morfologicznych w narządach. Tylko u jednej samicy po podaniu dawki 2500 mg/kg mc. ETBE obserwowano zmniejszenie przyrostu masy ciała (MB Researc… 1988a).

ETBE, podobnie jak inne etery alifatyczne, może wykazywać działanie ogólnie znieczulające. Skutki takie zanotowano m.in. po 30 min inhalacyjnego narażenia myszy. Narażenie na ETBE o stężeniu wynoszącym 71 528 mg/m^3 (17 112 ppm) powodowało anestezję u 50% myszy. Za wartość CL_{50} dla ETBE przyjęto stężenie 122 616 mg/m^3 (29 334 ppm), (*Marsh, Leake* 1950).

Toksyczność ostrą ETBE oceniano także po naniesieniu dawki 2000 mg/kg mc. związku na skórę królików. U zwierząt obserwowano skutki działania drażniącego ETBE: obrzęk, rumień oraz owrzodzenia. Ponieważ nie obserwowano padnięć zwierząt, dawkę ETBE powyżej 2000 mg/kg mc. przyjęto za wartość DL_{50} (IIT Research… 1989b), (tab. 3).

Tabela 2.

Mediana dawek i stężeń śmiertelnych eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) dla zwierząt doświadczalnych

Gatunek zwierząt	Droga podania	Mediana dawek śmiertelnych DL_{50}, mg/kg	Mediana stężeń śmiertelnych CL_{50}, mg/m^3	Piśmiennictwo
Szczur	dożołądkowa	> 2000		HSDB 2013; IUCLID 2000
		> 5000		*McGregor* 2007
		7150		RTECS 2013
	dootrzewnowa	2320		RTECS 2013
	inhalacyjna (4 h)		> 5880	RTECS 2013; HSDB 2013
			36200	RTECS 2013
Mysz	dożołądkowa	6710		RTECS 2013
	inhalacyjna		24 950 (2 h)	RTECS 2013
			122 616 (30 min)	*Marsh, Leake* 1950
			123 000 (15 min)	RTECS 2013; IUCLID 2000
Świnka morska	dootrzewnowa	3400		RTECS 2013
Królik, New Zealand	skórna	> 2000		RTECS 2013; HSDB 2013

Tabela 3.

Wyniki badań działania drażniącego eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) na zwierzęta laboratoryjne

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka	Czas narażenia	Skutki	Piśmiennictwo
Działanie drażniące na skórę				
Narażenie jednorazowe				
Królik, New Zealand 5♀, 5♂	2000 mg/kg	raz na skórę	bez padnięć zwierząt, DL_{50} > 2000 mg/kg, podrażnienie skóry (obrzęk, rumień, owrzodzenia, strupy); bez zmian patologicznych w narządach wewnętrznych	IIT Research Institute 1989
Królik, New Zealand 5♀, 5♂	2000 mg/kg	raz na skórę	1 królik padł, DL_{50} > 2000 mg/kg, podrażnienie skóry, biegunka, łzawienie, żółte zabarwienie okolic nosa, zmiany w obrębie odbytu i narządów płciowych	MB Research Laboratories 1988b
Królik, New Zealand *n* = 6	0,5 ml (368 mg)	raz na skórę	po 24, 48 i 72 h podrażnienie skóry (średnio oceniane na 3,08 pkt. w skali 8-stopniowej), po 7 dniach ustępowało	MB Research Laboratories 1988c
Świnka morska	brak danych	raz na skórę	niewielkie podrażnienie skóry	*Roudabush* 1966

cd. tab. 3.

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka	Czas narażenia	Skutki	Piśmiennictwo
Narażenie wielokrotne				
Szczur, Sprague--Dawley, 10♀, 10♂	0,05 ml/kg (37 mg/kg) 0,25 ml/kg (184 mg/kg) 1 ml/kg (737 mg/kg)	28 dni (5 dni/tyg.), na skórę	bardzo słabe działanie drażniące na skórę; NOAEL < 0,05 ml/kg mc./dzień słabe działanie drażniące na skórę objawy działania drażniącego na skórę od nieznacznych do umiarkowanych; NOAEL dla zmian ogólnoustrojowych	UBTL Inc. 1994
Działanie drażniące na błony śluzowe oczu				
Królik, New Zealand, *n* = 9	0,1 ml (74 mg)	raz do worka spojówkowego oka	działanie drażniące na oczy (lekkie zmętnienie rogówki, zapalenie tęczówki, podrażnienie spojówek)	MB Research Laboratories 1988d

W podobnym doświadczeniu, po naniesieniu królikom na skórę dawki 2000 mg/kg mc. ETBE, u połowy zwierząt zanotowano zmniejszenie przyrostu masy ciała. Oprócz działania drażniącego ETBE u zwierząt obserwowano także: biegunkę, łzawienie, zmiany w obrębie odbytu i narządów płciowych oraz żółte zabarwienie okolic nosa (MB Research… 1988b).

Po naniesieniu ETBE na skórę królików w ilości 0,5 ml objawy podrażnienia skóry notowano po: 24, 48 oraz 72 h. Objawy te ustępowały po 7 dniach obserwacji (MB Research… 1988c).

ETBE naniesiony do worka spojówkowego oka królika w ilości 0,1 ml (tab. 3.) powodował działanie drażniące (MB Research… 1988d).

Na podstawie analizy testu maksymalizacji, który przeprowadzono na świnkach morskich, wykazano, że ETBE nie działa uczulająco (Pharmakon… 1994a).

Toksyczność krótkoterminowa

Ocenę toksyczności krótkoterminowej eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) wykonano po dożołądkowym i inhalacyjnym narażeniu szczurów (tab. 4.). Po 14 dniach podawania sondą do żołądka samców dawki 600 mg/kg mc./dzień ETBE nie stwierdzono żadnych zmian.

Dawki 1200 lub 1800 mg/kg mc./dzień ETBE spowodowały u zwierząt wzrost względnej masy wątroby i nerek (*de Peyster* i in. 2009). Po 28 dniach inhalacyjnego narażenia szczurów na ETBE o stężeniach 8360 ÷ 16 960 mg/m^3 (2000 ÷ 4000 ppm) również stwierdzono zwiększenie względnej masy wątroby. Po narażeniu na ETBE o stężeniu 16 960 mg/m^3 (4000 ppm) zanotowano ponadto: wzrost względnej masy nerek, nadnerczy, niewielkie zmiany hematologiczne (zmniejszenie liczby leukocytów u samic) oraz objawy depresji ośrodkowego układu nerwowego (przejściowa ataksja, uspokojenie), (*White* i in. 1995).

Po 28 dniach dożołądkowego podawania dawek 250 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień ETBE (tab. 4.) samicom szczurów nie stwierdzono działania immunotoksycznego związku (*Banton* i in. 2011).

Tabela 4.

Skutki krótkoterminowego narażenia zwierząt doświadczalnych na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE)

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka/stężenie		Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne					
	Stężenie				
	mg/m^3	ppm			
Szczury ♀, ♂ Sprague-Dawley; 10/dawka/płeć	2090	500	4 tygodnie 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian (NOAEL)	*White* i in. 1995
	8360	2000		bez zmian masy ciała, wzrost względnej masy wątroby (o 10% u ♀ i o 16% u ♂) oraz spadek liczby leukocytów u samic	
	16720	4000		bez zmian masy ciała i zmian histopatologicznych; wzrost względnej masy wątroby (o 16% u ♂ i o 12,5% u ♀), nerek (o 12,8% u ♂) i nadnerczy (o 13,7% u ♂), spadek liczby leukocytów u samic, objawy depresji OUN (ataksja, uspokojenie), które mijały 15 min po przerwaniu narażenia, spadek temp. ciała (o ok. 2% u samców po 5 dniach)	
Podanie dożołądkowe					
	Dawka, mg/kg mc./dzień				
Szczur, F344, ♂	600		14 dni	bez zmian	*de Peyster* i in. 2009
	1200			wzrost względnej masy wątroby (o 18%) i nerek (o 17%)	
	1800			wzrost względnej masy wątroby (o 22%) i nerek (o 17%)	
Szczury, ♀ Crl: CD(SD)	250 500 1000		28 dni	bez zmian: masy ciała, śledziony, grasicy, brak działania immunotoksycznego; NOAEL dla immunotoksyczności = 1000 mg/kg mc./dzień	*Banton* i in. 2011

Toksyczność podprzewlekła

Badania toksyczności podprzewlekłej wykonano na szczurach i myszach (tab. 5.), które narażano inhalacyjnie na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) o stężeniach 2090 ÷ 20 900 mg/m^3 (500 ÷ 5000 ppm).

Tabela 5.

Skutki podprzewlekłego inhalacyjnego narażenia zwierząt doświadczalnych na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE)

Gatunek zwierząt, płeć	Stężenie		Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
	mg/m^3	ppm			
Szczur, ♀ ♂ F344	2090	500	13 tygodni	bez zmian u samców i samic (NOAEL)	*Wolf* i in. 1997
	7315	1750		u samców: zmiany w wątrobie (nasilenie czynności mitotycznej komórek) i zaburzenia funkcji nerek (α_2-mikroglobulina w moczu)	
	20 900	5000		u samców: zmiany w wątrobie (nasilenie czynności mitotycznej komórek) i zaburzenia funkcji nerek (α_2-mikroglobulina w moczu), bez nefropatii u samic	

cd. tab. 5.

Gatunek zwierząt, płeć	Stężenie		Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
	mg/m^3	ppm			
Szczur, ♀ ♂ F344 48/płeć/ grupę	2090	500	13 tygodni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	wzrost masy serca (o 10,1%) i spadek poziomu bilirubiny w surowicy ♀, zmiany histopatologiczne w nerkach ♂	*Medinsky* i in. 1999
	7315	1750		przejściowy spadek masy ciała w 1. tygodniu narażenia, wzrost masy wątroby (o 14,2% u ♂) i nerek (o 9,8% u ♂ i 12,2% u ♀), zmiany histopatologiczne w nerkach samców, zmiany w szpiku kostnym u ♀, spadek MCHC[a] i stężenia Cl^- w surowicy ♂, wzrost liczby płytek krwi u ♂ i MCV[b] u ♀	
	20 900	5000		przejściowa ataksja (trwająca < 1 h), przejściowy spadek masy ciała w 1. tygodniu narażenia, wzrost masy wątroby (o 32,4% u ♂ i 25,8% u ♀), nerek (o 19,3% u ♂ i 21,3% u ♀) i nadnerczy (o 34,3% u ♂ i 17,8% u ♀), wzrost masy serca (o 12,3% u ♀), zmiany histopatologiczne w nerkach samców, zmiany w szpiku kostnym u samic, spadek MCHC u ♂, wzrost liczby płytek krwi i MCV u ♂ oraz wzrost MCV u ♀	
Szczur, ♀ ♂ F344 12/płeć/ grupę	2090	500	90 dni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	zwiększenie siły przyczepności tylnych kończyn u samców, osłabienie siły chwytu kończyn przednich u samic (niezależne od stężenia)	*Dorman* i in. 1997
	7315	1750			
	20 900	5000		przejściowa ataksja (poniżej 1 h, po zakończeniu narażenia samców przez 5 pierwszych tygodni), wzrost masy ciała ♀; bez działania neurotoksycznego (aktywność ruchowa, testy behawioralne, przewodnictwo nerwowo-mięśniowe, histopatologia układu nerwowego)	
Mysz, ♀ ♂ CD-1	2090	500	13 tygodni	bez zmian u samców i samic (NOAEL)	*Wolf* i in. 1997
	7315	1750		u samców: zmiany w wątrobie (nasilenie czynności mitotycznej komórek) i zaburzenia funkcji nerek (α_2-mikroglobulina w moczu)	
	20 900	5000		u samców: zmiany w wątrobie (nasilenie czynności mitotycznej komórek) i zaburzenia funkcji nerek (α_2-mikroglobulina w moczu), bez nefropatii u samic	
Mysz	2090 7315 20 900	500 1750 5000	13 tygodni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian masy ciała i śledziony, zaburzenia układu odpornościowego: zależny od dawki spadek liczby komórek CD3+, CD4+ i CD8+T oraz odsetka limfocytów CD4+T i CD4+/CD8+, bez zmian w liczbie: komórek NK[c], B i makrofagów oraz całkowitej liczbie splenocytów – ETBE selektywnie wpływał na liczbę komórek T śledziony	*Li* i in. 2011
Mysz, ♀ ♂ CD-1	2090	500	13 tygodni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	zmniejszenie stężenia jonów Cl^- w surowicy samców	*Medinsky* i in. 1999
	7315	1750		wzrost względnej masy wątroby (o 12,2% u ♂ i 19% u ♀), wzrost stężenia hemoglobiny i hematokrytu oraz spadek stężenia jonów Cl^- u ♂, wzrost stężenia azotu mocznikowego we krwi u ♀	
	20 900	5000		ataksja po zakończeniu narażenia, wzrost względnej masy wątroby (o 18% u ♂ i 32,6% u ♀), zmiany histopatologiczne w wątrobie (rozrost centralnej strefy zrazików), wzrost stężenia białka całkowitego w surowicy ♂ i ♀ oraz albumin u ♀	

Objaśnienia:
[a] MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach (*mean corpuscular hemoglobin concentration*).
[b] MCV – wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej (*mean corpuscular volume*).
[c] NK – komórki NK (*natural killer* – naturalni zabójcy).

U samców szczurów po narażeniu inhalacyjnym na ETBE o stężeniu 2090 mg/m^3 obserwowano zaburzenia funkcji nerek. Skutki te były nasilone, gdy stężenia związku były większe. Nefrotoksycznego działania ETBE nie zanotowano u samic (*Medinsky* i in. 1999). Po narażeniu szczurów na związek o stężeniach 7315 ÷ 20 900 mg/m^3 (1750 ÷ 5000 ppm) stwierdzono ponadto: wzrost względnej masy wątroby (*Wolf* i in. 1997; *Medinsky* i in. 1999), u samic zmiany w szpiku kostnym oraz niewielkie zaburzenia hematologiczne (*Medinsky* i in. 1999).

U samców myszy narażanych na ETBE o stężeniach 7315 ÷ 20 900 mg/m^3 (1750 ÷ 5000 ppm) przez 13 tygodni obserwowano zmiany w wątrobie i nerkach (*Wolf* i in. 1997) oraz niewielkie zaburzenia hematologiczne (*Medinsky* i in. 1999). Po stężeniu ETBE 20 900 mg/m^3 (5000 ppm) zanotowano ponadto przejściową ataksję (po zakończeniu narażenia), (*Medinsky* i in. 1999).

Po inhalacyjnym, 90-dniowym narażeniu szczurów na ETBE o stężeniach 2090 ÷ 20 900 mg/m^3 (500 ÷ 5000 ppm) nie stwierdzono zmian w: aktywności ruchowej zwierząt, testach behawioralnych, przewodnictwie nerwowo-mięśniowym, badaniach histopatologicznych układu nerwowego (ośrodkowego, obwodowego i autonomicznego) oraz w masie mózgu. U szczurów obserwowano jedynie (tab. 5.) zmiany w sile przyczepności tylnych kończyn i chwytu kończyn przednich (*Dorman* i in. 1997).

Toksyczność przewlekła

Po 23 tygodniach dożołądkowego podawania (tab. 6.) samcom szczurów dawki 1000 mg/kg mc./dzień eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) zanotowano: zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz wzrost względnej masy: wątroby, nerek, nadnerczy, tarczycy i jąder (*Hagiwara* i in. 2011).

Tabela 6.
Skutki przewlekłego narażenia zwierząt doświadczalnych na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE)

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka		Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
	w wodzie do picia, ppm[a]	mg/kg mc./dzień			
Szczur F344; 50 ♀, 50 ♂	625	28 ♂ 46 ♀	104 tygodnie	u samców: zmniejszenie spożycia wody (o 19%) i paszy (o 3%), spadek przyrostu masy ciała (o 4%), wzrost stężenia azotu mocznikowego we krwi; u samic: zmniejszenie spożycia wody (o 23%) i paszy (o 4%), spadek przyrostu masy ciała (o 10%), spadek MCV w surowicy, istotny wzrost względnej masy nerek	*Suzuki* i in. 2012
	2500	121 ♂ 171 ♀		rozrost błony śluzowej dróg moczowych; u samców: zmniejszenie spożycia wody (o 15%) i paszy (o 3%), spadek przyrostu masy ciała (o 7%), istotny wzrost względnej masy nerek; u samic: zmniejszenie spożycia wody (o 27%) i paszy (o 3%), spadek przyrostu masy ciała (o 11%), istotny wzrost względnej masy nerek	

cd. tab. 6.

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka		Czas narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
	w wodzie do picia, ppm[a]	mg/kg mc./dzień			
	10 000	542 ♂ 560 ♀		rozrost błony śluzowej dróg moczowych; u samców: zmniejszenie spożycia wody (o 6%) i paszy (o 4%), spadek przyrostu masy ciała (o 9%); działania nefrotoksyczne (wzrost stężenia azotu mocznikowego w surowicy, istotny wzrost względnej masy nerek), wzrost poziomu całkowitego cholesterolu, triglicerydów, fosfolipidów, spadek stężenia białka całkowitego i albuminy, spadek pH moczu; u samic: zmniejszenie spożycia wody (o 42%) i paszy (o 5%), spadek przyrostu masy ciała (o 17%), spadek poziomu MCV, istotny wzrost względnej masy nerek	
Szczur F344; 12 ♂		1000 (sondą)	23 tyg.	zmniejszenie przyrostu masy ciała, wzrost względnej masy narządów (tarczycy, wątroby, nerek, nadnerczy i jąder)	*Hagiwara* i in. 2011

Objaśnienia:
[a] - 1 ppm w wodzie do picia odpowiada stężeniu wyrażonemu jako 1 µg/l.

W przewlekłym, 2-letnim doświadczeniu, w którym ETBE podawano szczurom w wodzie do picia o stężeniach 625 ÷ 10 000 ppm (625 ÷ 10 000 µg/l), u zwierząt obserwowano: zmniejszone spożycie wody i paszy oraz zmniejszenie przyrostu masy ciała. U samców po podaniu dawki 28 mg/kg mc./dzień ETBE notowano uszkodzenie nerek oraz stwierdzono wzrost poziomu azotu mocznikowego we krwi, które nasilało się wraz ze wzrostem dawki związku (*Suzuki* i in. 2012). Za nefrotoksyczny skutek działania związku u samic uznano wzrost względnej masy nerek (tab. 6).

Podawanie szczurom dawek 121 ÷ 542 mg/kg mc./dzień (samce) oraz 171 ÷ 560 mg/kg mc./dzień (samice) ETBE spowodowało także rozrost błony śluzowej dróg moczowych (*Suzuki* i in. 2012).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Ocenę aktywności mutagennej eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) przeprowadzono m.in. na szczepach testowych *Salmonella* Typhimurium: TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538 z dodatkiem i bez dodatku aktywatora – frakcji S9 wątroby świnki morskiej (tab. 7.). Po narażeniu na ETBE o wszystkich stosowanych w badaniach stężeniach, wynoszących 100 ÷ 10 000 µl/płytkę, nie stwierdzono mutagennego działania związku (*Zeiger* i in. 1992). Genotoksycznego działania związku nie zanotowano w badaniach wykonanych na komórkach jajnika (mutacje i aberracje chromosomowe) i V79 (mutacje) chomika chińskiego. W badaniach w warunkach in vivo wykonanych na myszach nie stwierdzono także dodatnich wyników w teście mikrojądrowym (tab. 7.).

Tabela 7.

Wyniki badań mutagenności i genotoksyczności eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE)

Rodzaj testu	Organizm	Gatunek/ szczep/typ	Stężenia ETBE	Wynik	Piśmiennictwo
Badania w warunkach in vitro					
Mutacje powrotne	bakterie	*Salmonella* Typhimurium: TA 97, TA 98, TA 100, TA 1535	100 ÷ 10 000 µg/płytkę	– (–S9) – (+S9)	*Zeiger* i in. 1992
		Salmonella Typhimurium: TA 98; TA 1535; TA 1537; TA 1538	500 µg/płytkę	– (–S9) – (+S9)	Institut Pasteur de Lille 1992a
		Salmonella Typhimurium: TA 98; TA 100; TA 1535; TA 1537; TA 1538	500 µg/płytkę	– (–S9) – (+S9)	Pharmakon Europe 1994b
Mutacje	chomik chiński	komórki jajnika/HGPRT	0,1 ÷ 5 mg/ml	– (–S9) – (+S9)	*Vergnes, Kubena* 1995b
Mutacje	chomik chiński	komórki V79 *hprt locus*	5000 µg/ml	– (–S9) – (+S9)	*Vergnes, Kubena* 1995b
Aberracje chromosomowe	chomik chiński	komórki jajnika CHO	0,1 ÷ 5 mg/ml	– (–S9) – (+S9)	*Vergnes* 1995;
Badania w warunkach in vivo					
Test mikrojądrowy	myszy ♀♂, szpik kostny	inhalacja 5 dni 6 h/dzień	1672; 8360; 20900 mg/m^3 (400; 2000; 5000 ppm)	–	*Vergnes, Kubena* 1995a
Test mikrojądrowy	myszy ♀♂, szpik kostny	podanie 1-razowe	5000 mg/kg mc.	–	Institut Pasteur de Lille 1992b

Objaśnienia:
„–" – ujemny wynik testu.
+S9 – dodanie frakcji S-9 z wątroby świnki morskiej.
–S9 – brak frakcji S-9 z wątroby świnki morskiej.

Aktywność genotoksyczną ETBE badano na myszach C57BL (6 samców i 6 samic), które przez 13 tygodni narażano na związek o stężeniach: 2090; 7315 lub 20 900 mg/m^3 (500; 1750 lub 5000 ppm). U samców narażanych na wszystkie trzy poziomy stężeń i u samic narażonych na ETBE o stężeniu 20 900 mg/m^3 zanotowano oksydacyjne uszkodzenie DNA w hepatocytach. Autorzy badań stwierdzili, że samce są bardziej wrażliwe na toksyczne działanie związku niż samice (*Weng* i in. 2012).

Aldehyd octowy – metabolit ETBE – jest związkiem genotoksycznym i potencjalnie rakotwórczym. W badaniach wykonanych na myszach była oceniana m.in. aktywność dehydrogenazy aldehydowej-2 (ALDH2), która uczestniczy w detoksykacji ETBE. Analizy wykonane przez *Weng'a* i in. (2013) wykazały, że samce myszy były bardziej wrażliwe niż samice na genotoksyczne działanie metabolitów ETBE. Po 13-tygodniowym narażeniu samców na ETBE o stężeniach: 2090; 7315 lub 20 900 mg/m^3 (500; 1750 lub 5000 ppm) obserwowano bowiem zależną od dawki większą częstość uszkodzeń DNA (test kometowy, test mikrojądrowy). U samic skutek taki notowano tylko po narażeniu na związek o stężeniu 20 900 mg/m^3 (5000 ppm).

Działanie rakotwórcze

W przewlekłych doświadczeniach, w których eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) podawano szczurom przez 104 tygodnie, przeprowadzono badania w kierunku określenia ewentual-

nego działania rakotwórczego (tab. 8). Eksperymenty wykonane przez *Suzuki* i in. (2012) oraz *Nagano* i in. (2011), w których związek podawano w wodzie do picia o stężeniach: 625; 2500 lub 10 000 ppm (μg/l) nie stwierdzono rakotwórczego działania ETBE.

Po 23 tygodniach dożołądkowego podawania dawek 1000 mg/kg mc./dzień związku u 2 z 12 samców szczurów zanotowano brodawczakowatość w pęcherzu moczowym (*Hagiwara* i in. 2011).

W doświadczeniu wykonanym przez *Maltoni* i in. (1998) stwierdzono, że po 2 latach podawania dawek 250 mg/kg mc./dzień ETBE u 10% samic wystąpiły złośliwe guzy macicy oraz u 14/60 samców nowotwory przedżołądka (grupa kontrolna 8/60). Po dawce 1000 mg/kg mc./dzień ETBE u samców obserwowano przypadki nowotworów błony śluzowej jamy ustnej i przedżołądka (u 9/60 samców, grupa kontrolna 8/60). W badaniach tych nie zaobserwowano zmian zależnych od wielkości dawki, a duża śmiertelność (8 ÷ 20%) utrudniała ocenę działania rakotwórczego (tab. 8.).

Po inhalacyjnym narażeniu szczurów na ETBE o stężeniu 2090 lub 6270 mg/m^3 (500 lub 1500 ppm) przez 2 lata odpowiednio u 4 oraz 2% samców stwierdzono wystąpienie gruczolaka wątrobowokomórkowego. Po największym stężeniu ETBE wynoszącym 20 900 mg/m^3 nowotwory wątroby zanotowano u 18% samców. W przeprowadzonych badaniach (tab. 8.) u samic nie stwierdzono działania rakotwórczego ETBE (*Nagano* i in. 2011).

W ACGIH (2013) zaliczono ETBE do grupy 4A, czyli czynników nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi.

Tabela 8.

Występowanie nowotworów u zwierząt doświadczalnych po narażeniu na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE)

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka/stężenie		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Podawanie dożołądkowe					
	Dawka				
	w wodzie do picia, ppm[a]	mg/kg mc./dzień			
Szczur F344; 50 ♀, 50 ♂	625 2500 10 000	28 ♂ 46 ♀ 121 ♂ 171 ♀ 542 ♂ 560 ♀	104 tygodnie	bez działania rakotwórczego	*Suzuki* i in. 2012
Szczur F344; 50 ♀, 50 ♂	625 2500 10 000		104 tygodnie	bez działania rakotwórczego	*Nagano* i in. 2011
Szczur F344; 12 ♂		1000	23 tygodnie (sondą)	brodawczakowatość w pęcherzu moczowym u 2 szczurów	*Hagiwara* i in. 2011
Szczur Sprague--Dawley 60 ♀, 60 ♂		250	104 tygodnia 4 dni/tyg. (sondą)	złośliwe guzy macicy (*malignant schwannomsa*) u 10% samic, nowotwory przedżołądka u 14/60 samców (grupa kontrolna 8/60)	*Maltoni* i in. 1999

cd. tab. 8.

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka/stężenie		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
		1000		przypadki nowotworów błony śluzowej jamy ustnej (u samców), przedżołądka u 9/60 samców (grupa kontrolna 8/60) i macicy (u 2/60 samic); brak zależności od dawki, duża liczba padnięć zwierząt (8 ÷ 20%) utrudnia ocenę działania kancerogennego	
Narażenie inhalacyjne					
	Stężenie				
	mg/m^3	ppm			
Szczur F344; 50 ♀, 50 ♂	2090	500	104 tygodnie 6 h/dziennie 5 dni/tyg.	samce: wzrost częstości występowania nowotworów wątroby (u 2 szczurów gruczolak wątrobowokomórkowy)	*Nagano* i in. 2011
	6270	1500		samce: wzrost częstości występowania nowotworów wątroby (u 1 szczura gruczolak wątrobowokomórkowy)	
	20900	5000		samce: wzrost częstości występowania nowotworów wątroby (u 9 szczurów gruczolak wątrobowokomórkowy); bez istotnych zmian u samic	

Objaśnienia:
[a] - 1 ppm w wodzie do picia odpowiada stężeniu wyrażonemu jako 1 µg/l.

Działanie embriotoksyczne, teratogenne i wpływ na rozrodczość

Ocenę wpływu eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) na rozrodczość badano u samców (tab. 9.) i samic (tab. 10.) szczurów i myszy. Po inhalacyjnym narażeniu samców szczurów na ETBE o stężeniach: 2090; 8360 lub 16 720 mg/m^3 (500; 2000 lub 4000 ppm) przez 4 tygodnie nie stwierdzono zmian w: jądrach, pęcherzykach nasiennych oraz prostacie (IIT 1991; *White* i in. 1995). Po 3-miesięcznym narażeniu szczurów na ETBE o stężeniach: 7315 lub 20 900 mg/m^3 (1750 lub 5000 ppm) zanotowano zależne od stężenia zwiększenie odsetka nieprawidłowych splenocytów w pęcherzykach nasiennych samców szczurów F344 (*Medinsky* i in. 1999; CIT 2003). U innego szczepu szczurów (SD) narażanych na związek o stężeniu 20 900 mg/m^3 (5000 ppm) zaobserwowano tylko niewielkie zwyrodnienie nabłonka w pęcherzykach nasiennych (METI 2008e).

W 3-miesięcznych inhalacyjnych doświadczeniach, którym poddano myszy, nie zanotowano wpływu związku na narządy rozrodcze samców (*Medinsky* i in. 1999; CIIT 1996b).

Tabela 9.

Objawy działania toksycznego eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) w badaniach funkcji rozrodczych samców

Gatunek zwierząt	Stężenie/ dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne					
	Stężenie				
	mg/m^3	ppm			
Szczur, Sprague--Dawley, 10/dawkę	2090 8360 16720	500 2000 4000	4 tygodnie 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (prostacie, jądrach, pęcherzykach nasiennych)	IIT 1991; *White* i in. 1995

cd. tab. 9.

Gatunek zwierząt	Stężenie/ dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur, F344, 12/dawkę	2090 7315 (7420) 20 900 (21 200)	500 1750 5000	13 tyg. 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian masy jąder zwiększenie odsetka zmienionych splenocytów w pęcherzykach nasiennych (o 7,8%) zwiększenie odsetka zmienionych splenocytów w pęcherzykach nasiennych (o 12,7%)	*Medinsky* i in. 1999; CIT 2003
Szczur, Crl; CD(SD), 10/dawkę	627 2090 6270 20 900	150 500 1500 5000	90 dni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (prostacie, jądrach, najądrzach, pęcherzykach nasiennych) niewielkie zwyrodnienie nabłonka w pęcherzykach nasiennych	METI 2008e
Mysz, CD-1, 15/dawkę	2090 7315 20 900	500 1750 5000	90 dni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (prostacie, jądrach, najądrzach, pęcherzykach nasiennych)	*Medinsky* i in. 1999; CIIT 1996b
Podawanie dożołądkowe					
	Dawka, mg/kg mc./dzień		Czas narażenia		
Szczur, F 344, 12/dawkę	600 1200 1800		14 dni	bez zmian w masie i histopatologii jąder; wzrost stężenia testosteronu (o 50%) i estradiolu (o 28%) we krwi bez zmian w masie i histopatologii jąder; wzrost stężenia testosteronu (o 26%) i estradiolu (o 106%) we krwi bez zmian w masie i histopatologii jąder; spadek stężenia testosteronu (o 33%) i wzrost estradiolu (o 105%) we krwi	*de Peyster* i in. 2009
Szczur, F 344, 12/dawkę	50 250 500 1000		12 tygodni	bez zmian w masie ciała, nasilenie wydzielania śliny (u 1/12); bez zmian w gonadach i płodności bez zmian w masie ciała, nasilenie wydzielania śliny (u 6/12); bez zmian w gonadach i płodności (NOAEL)	CIT 2003
Szczur, Sprague-Dawley, 12/dawkę	50 250 500 1000		12 tygodni	bez zmian w masie ciała, nasilenie wydzielania śliny (u 1/12); bez zmian w gonadach i płodności bez zmian w masie ciała, nasilenie wydzielania śliny (u 10/12); bez zmian w gonadach i płodności (NOAEL)	CIT 2003
Szczur, Sprague-Dawley, 15/dawkę	5 25 100 400		180 dni	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (prostacie, jądrach, najądrzach, pęcherzykach nasiennych)	METI 2008f
Narażenie dermalne					
Szczur, Sprague-Dawley, 10/dawkę	0,05 ml/kg/dz. 0,25 ml/kg/dz. 1 ml/kg/dz.		28 dni 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (prostacie, jądrach, najądrzach, pęcherzykach nasiennych)	UBTL, Inc. 1994
Badania w warunkach in vitro					
Szczur, komórki Leydiga	50 µmol/l 100 µmol/l			spadek produkcji testosteronu o 33% spadek produkcji testosteronu o 46%	*de Peyster* i in. 2009

Po dożołądkowym podawaniu szczurom dawek ETBE: 50; 250; 500 lub 1000 mg/kg mc./dzień przez 12 tygodni (CIT 2003) oraz dawek: 5; 25; 100 lub 400 mg/kg mc./dzień (METI 2008f) przez 180 dni nie stwierdzono niekorzystnego wpływu związku na płodność

samców. Skutku takiego nie było także po nanoszeniu na skórę szczurów (tab. 9.) dawek: 0,05; 0,25 lub 1 ml/kg mc./dzień ETBE przez 28 dni (UBTL Inc. 1994).

W badaniach oceniających poziomy hormonów płciowych we krwi szczurów, którym ETBE podawano dożołądkowo przez 14 dni, obserwowano wzrost stężenia estradiolu po dawce ETBE wynoszącej 600 lub 1800 mg/kg mc./dzień oraz obniżenie stężenia testosteronu po największej dawce wynoszącej 1800 mg/kg mc./dzień. Nie zanotowano wtedy zmian histopatologicznych w jądrach (*de Peyster* i in. 2009). Autorzy badań wykonali także doświadczenia w warunkach in vitro, w których wykorzystali komórki Leydiga szczura. Zaobserwowali oni (tab. 9.) zależny od wielkości stężenia (50 lub 100 µmol/l) spadek produkcji testosteronu, odpowiednio o 33 oraz 46% (*de Peyster* i in. 2009).

Po inhalacyjnym narażeniu samic szczurów na ETBE o stężeniach: 2090; 8360 lub 16 720 mg/m^3 (500; 2000 lub 4000 ppm) przez 4 tygodnie nie zanotowano zmian (tab. 10.) w narządach rozrodczych (jajnikach, macicy, pochwie) oraz gruczołach sutkowych (IIT 1991; *White* i in. 1995). Po 13-tygodniowym narażeniu na ETBE o stężeniach 2090 ÷ 20 900 mg/m^3 (500 ÷ 5000 ppm) nie zaobserwowano zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych samic szczurów (szczepów F344 i SD – Sprague-Dawley) oraz myszy (*Medinsky* i in. 1999; CIIT 1996a; METI 2008e).

Po dożołądkowym podawaniu samicom szczurów dawki 450 mg/kg mc./dzień (0,3% w wodzie do picia) ETBE przez 2 tygodnie nie stwierdzono wpływu związku na jakość gamet, po zapłodnieniu plemnikami nienarażonych samców (*Berner, Horner* 2003). Nie zanotowano także zmian w rozrodczości samic, które przez 180 dni otrzymywały dożołądkowo dawki 5 ÷ 400 mg/kg mc./dzień ETBE (METI 2008f). Narażenie samic na związek przez 10 tygodni (od dwóch tygodni przed zapłodnieniem do zakończenia okresu laktacji) na dawki 50 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień ETBE nie wpływało na: płodność, rozwój zarodka i płodu oraz przebieg porodu. Po największej ze stosowanych dawek (1000 mg/kg mc./dzień) u samic zaobserwowano jedynie zmniejszenie przyrostu masy ciała w czasie ciąży oraz zwiększone wydzielanie śliny (CIT 2003).

ETBE nie wpływał także (tab. 10.) na funkcje rozrodcze samic, którym substancję nanoszono na skórę (UBTL Inc. 1994).

Ocenę toksycznego działania ETBE na ciężarne matki i płody wykonano po dożołądkowym podawaniu związku szczurom i królikom (tab. 11.). Samice szczurów otrzymywały dawki 100 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień ETBE (między 5. a 19. dniem ciąży). Nawet największa z podawanych dawek (1000 mg/kg mc./dzień) nie spowodowała żadnych zmian u matek oraz płodów, dlatego też przyjęto ją za wartość NOAEL (*Aso* i in. 2014; CIT 2004a; METI 2008b). Tylko w jednym raporcie zaobserwowano, że po podaniu dawki ETBE 1000 mg/kg mc./dzień zanotowano u matek zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 11%), dlatego wartość tę przyjęto za LOAEL (CIT 2004a).

Dożołądkowe podawanie ETBE między 6. a 27. dniem ciąży u samic królików nie spowodowało żadnych zaburzeń w rozwoju płodów, nawet po dawce 1000 mg/kg mc./dzień, którą przyjęto za wartość NOAEL (*Asano* i in. 2011; METI 2008c; METI 2008d). Za wartość NOAEL dla matek uznano dawkę 300 mg/kg mc./dzień. U narażonych samic po podaniu dawki 1000 mg/kg mc./dzień ETBE (LOAEL) obserwowano (tab. 11.) zmniejszenie przyrostu masy ciała i spadek spożycia paszy (*Asano* i in. 2011; METI 2008d).

Tabela 10.

Objawy działania toksycznego eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) w badaniach funkcji rozrodczych samic

Gatunek zwierząt	Stężenie/ dawka		Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne					
	Stężenie				
	mg/m^3	ppm			
Szczur, Sprague--Dawley, 10/dawkę	2090 8360 16720	500 2000 4000	4 tygodnie 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (jajnikach, macicy, pochwie, gruczołach sutkowych)	IIT 1991; *White* i in. 1995
Szczur, F344, 12/dawkę	2090 7315 (7420) 20 900 (21200)	500 1750 5000	13 tyg. 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian masy jajników	*Medinsky* i in. 1999; CIIT 1996a
Szczur, Crl;CD (SD), 10/dawkę	627 2090 6270 209 00	150 500 1500 5000	90 dni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (jajnikach, macicy, pochwie, gruczołach sutkowych)	METI 2008e
Mysz, CD-1, 15/dawkę	2090 7315 20 900	500 1750 5000	90 dni 6 h/dzień 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (jajnikach, macicy, pochwie, gruczołach sutkowych)	*Medinsky* i in. 1999; CIIT 1996b
Podawanie dożołądkowe					
	Dawka, mg/kg mc./dzień		Czas narażenia		
Szczur, Sprague--Dawley	450 (0,3% w wodzie do picia)		2 tygodnie	oocyty pobrane od narażonych samic zapłodniono (in vitro) plemnikami od nienarażonych samców; nie zanotowano wpływu na jakość gamet	*Berger, Horner* 2003
Szczur, Sprague--Dawley, 24/dawkę	50 250		ok. 10 tyg. (2 tyg. przed kojarzeniem + kojarzenie + ciąża + laktacja = 68 dni)	bez zmian masy ciała w okresie ciąży i laktacji oraz w spożyciu paszy (w porównaniu z grupą kontrolną)	CIT 2003
	500			bez zmian przyrostu masy ciała w okresie laktacji i zmniejszenie przyrostu (o 6%) w czasie ciąży, bez zmian w spożyciu paszy, wzrost wydzielania śliny (1/12) w ciąży i laktacji; NOAEL dla matek	
	1000			bez zmian przyrostu masy ciała w okresie laktacji i zmniejszenie przyrostu masy ciała w czasie ciąży, bez zmian w spożyciu paszy, wzrost wydzielania śliny (przed kojarzeniem u 3/12, w ciąży u 8/12, laktacji u 6/12); bez zmian w czynności gonad, płodności, rozwoju zarodka i płodu, przebiegu porodu; NOAEL dla płodów, LOAEL dla matek	
Szczur, Sprague--Dawley, 15/dawkę	5 25 100 400		180 dni	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (jajnikach, macicy, pochwie, gruczołach sutkowych)	METI 2008f
Narażenie dermalne					
Szczur, Sprague--Dawley, 10/dawkę	0,05 ml/kg/dz. 0,25 ml/kg/dz. 1 ml/kg/dz.		28 dni 5 dni/tyg.	bez zmian w masie i histopatologii narządów rozrodczych (jajnikach, macicy, pochwie, gruczołach sutkowych)	UBTL, Inc. 1994

Tabela 11.

Badania toksyczności rozwojowej u płodów zwierząt narażanych na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) podczas ciąży

Gatunek zwierząt, płeć	Dawka, mg/kg m.c./dzień	Czas narażenia	Skutki działania ETBE	Piśmiennictwo
Szczur, ♀	100 300 1000	między 5. a 19. dniem ciąży	bez skutków działania związku u matek; bez zmian u zarodków i płodów (zewnętrznych, trzewnych, szkieletowych) NOAEL dla matek i płodów = 1000 mg/kg mc./dzień	*Aso* i in. 2014
Szczur, ♀, Sprague--Dawley 24/dawkę	250 500 1000	między 5. a 19. dniem ciąży	bez zmian w przyroście masy ciała matek; bez zmian w rozwoju zarodków i płodów; NOAEL dla toksyczności matczynej = 500 mg/kg mc./dzień zmniejszenie przyrostu masy ciała matek (o 11%); bez zmian w rozwoju zarodków i płodów; NOAEL dla płodów = 1000 mg/kg mc./dzień	CIT 2004b
Szczur, ♀, Sprague--Dawley 24/dawkę	250 500 1000	między 5. a 19. dniem ciąży	bez zmian w liczbie ciałek żółtych, strat preimplantacyjnych, implantacji, wczesnych i późnych resorpcji, śmiertelności płodów, masie ciała matek i płodów, stosunku płci; bez zmian teratogennych; NOAEL dla matek i płodów = 1000 mg/kg mc./dzień	METI 2008b
Królik, ♀, New Zealand, 24/dawkę	100 300 1000	między 6. a 27. dniem ciąży	bez zmian u matek i płodów (NOAEL dla toksyczności matczynej = 300 mg/kg mc./dzień) matki: zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 28%) i spożycia paszy (o 15%); bez zmian klinicznych; płody: bez zmian w ilości ciałek żółtych, strat preimplantacyjnych, implantacji, wczesnych i późnych resorpcji, śmiertelności płodów, masie ciała płodów, stosunku płci, różnic w występowaniu płodów z wadami i kostnieniem szkieletu; NOAEL dla płodów = 1000 mg/kg mc./dzień	*Asano* i in. 2011
Królik, ♀, New Zealand, 6/dawkę	30 100 300 1000	między 6. a 27. dniem ciąży	bez zależnych od dawki zmian w przyroście masy ciała matek i płodów, liczbie ciałek żółtych, implantacji, liczby resorpcji i płodów martwych, masy macicy, stosunku płci, spożyciu paszy przez matki, bez teratogenności; NOAEL dla matek i płodów = 1000 mg/kg mc./dzień	METI 2008c
Królik, ♀, New Zealand, 24/dawkę	100 300 1000	między 6. a 27. dniem ciąży	bez zmian u matek i płodów; NOAEL dla toksyczności matczynej = 300 mg/kg mc./dzień matki: spadek spożycia paszy i zmniejszenie przyrostu masy ciała; bez zmian u płodów NOAEL dla płodów = 1000 mg/kg mc./dzień	METI 2008d

Do oceny toksyczności reprodukcyjnej ETBE wykonano 2-pokoleniowe badania na szczurach (tab. 12). W doświadczeniu przeprowadzonym na 2 różnych szczepach szczurów (Sprague-Dawley i Fischer 344) zaobserwowano, że największa z podawanych dożołądkowo (przez 12 tygodni) dawek związku (1000 mg/kg mc./dzień) spowodowała zmniejszenie przyrostu masy ciała matek szczepu F344. Dla szczepu Sprague-Dawley

dawkę ETBE 1000 mg/kg mc./dzień przyjęto za wartość NOAEL. Po dawce tej u obu szczepów szczurów nie stwierdzono działania embriotoksycznego związku (CIT 2003).

W doświadczeniu, w którym szczurom przez 10 tygodni (przed okresem kojarzenia, w czasie zapłodnienia i ciąży) podawano dawki 100 ÷ 300 mg/kg mc./dzień ETBE, nie zanotowano skutków toksycznych w pokoleniu rodziców i u młodych. U samic i samców po podaniu dawki 1000 mg/kg mc./dzień ETBE nie stwierdzono zmian w reprodukcji i zachowaniach seksualnych. W pokoleniu matek narażonych na ETBE zdarzały się przypadki poronień. Nie zaobserwowano zmian w rozwoju pokolenia F_1 (METI 2008a), (tab. 12.).

Tabela 12.

Objawy działania toksycznego eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) w badaniach wielopokoleniowych toksyczności reprodukcyjnej

Gatunek zwierząt	Dawka, mg/kg/dz.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur, Sprague--Dawley, F344, 12/płeć/ dawkę/ szczep	50 250 500 1000	12 tyg. badania dwupokoleniowe	bez zmian u matek i płodów; NOAEL dla toksyczności matczynej = 500 mg/kg/dz. F344: zmniejszenie przyrostu masy ciała matek (LOAEL); NOAEL dla reprodukcji dla szczurów SD; NOAEL dla embriotoksyczności (dla SD i F344)	CIT 2003
Szczur, ♀ ♂ Crl: CD(SD), 24/płeć/ dawkę	100 300 1000	10 tyg. (przed kojarzeniem, zapłodnienie, ciąża) badania 1-pokoleniowe	bez zmian F_0: ♀ ♂ NOAEL, NOAEL dla przeżycia młodych F_0: zwiększenie przypadków utraty miotu, nasilenie ślinienia się; bez zmian w cyklu estralnym u samic, bez zmian w plemnikach, bez zmian w reprodukcji i zachowaniach seksualnych; F_1: bez zmian w rozwoju	METI 2008a
Szczur, ♀ ♂ Crl: CD(SD), 24/płeć/ dawkę	100 300 1000	16 tyg. ♂, 17 tyg. ♀ (10 tyg. przed kojarzeniem, zapłodnienie, ciąża, laktacja) badania 2-pokoleniowe	bez zmian w F_0 i F_1 bez zmian w F_0 i F_1 (NOAEL) F_0: przejściowe ślinienie się (prawdopodobnie z powodu gorzkiego smaku) po podaniu, wzrost względnej masy wątroby i nerek (u ♀ i ♂), tarczycy, nadnerczy najądrzy (u ♂), wzrost aktywności enzymów metabolicznych; bez zmian w przyroście masy ciała, spożyciu paszy, bez wpływu na płodność i rozrodczość; F_1: nieznacznie zmniejszona żywotność młodych we wczesnym okresie laktacji	*Fujii* i in. 2010
Szczur, ♀ ♂ Sprague--Dawley, 25/płeć/ dawkę	250 500	16 tyg. ♂, 18 tyg. ♀ (10 tyg. przed kojarzeniem, zapłodnienie, ciąża, laktacja) badania 2-pokoleniowe	F_0: nadmierne wydzielania śliny (w zależności od dawki); wzrost względnej masy nerek (o 11% u ♂ i o 6% u ♀); bez wpływu na kojarzenie, płodność, przebieg ciąży, rozwój płodów w okresie ciąży, rozwoju młodych w czasie laktacji F_0 ♂ : brak wpływu na parametry nasienia, zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 29%), wzrost względnej masy wątroby (o 6%) i nerek (o 18%) w 85. ÷ 113. dniu podawania; F_0 ♀ : wzrost względnej masy wątroby (o 8%) i nerek (o 5%) w 85. ÷ 113. dniu podawania; F_1 ♂ : zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 7%), wzrost względnej masy wątroby (o 11%) i nerek (o 19%) w 85. ÷ 113. dniu podawania; F_1 ♀ : wzrost względnej masy wątroby (o 6%) i nerek (o 6%) w 85. ÷ 113. dniu podawania	CIT 2004a

cd. tab. 12.

Gatunek zwierząt	Dawka, mg/kg/dz.	Czas narażenia	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
	1000		F_0 ♂ : zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 22%), wzrost względnej masy wątroby (o 24%) i nerek (o 28%) w 85. ÷ 113. dniu podawania; umiarkowane zmiany histopatologiczne w nerkach; F_0 ♀ : wzrost względnej masy wątroby (o 4%) i nerek (o 3%) w 85. ÷ 113. dniu podawania; F_1 ♂ : zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 13%), wzrost względnej masy wątroby (o 25%) i nerek (o 58%) w 85. ÷ 113. dniu podawania; umiarkowane zmiany histopatologiczne w nerkach; nasilenie wydzielania śliny u połowy zwierząt, bez zmian rozwojowych i neurobehawioralnych; F_1 ♀ : wzrost względnej masy wątroby (o 9%) i nerek (o 10%) w 85. ÷ 13. dniu podawania; nasilenie wydzielania śliny u połowy zwierząt; bez zmian rozwojowych i neurobehawioralnych	

W 2-pokoleniowych badaniach szczurów, którym podawano (przez 16 ÷ 17 tygodni) dawki 100 lub 300 mg/kg mc./dzień ETBE, nie zanotowano zmian w pokoleniu F_0 i F_1 (*Fujii* i in. 2010). Po największej ze stosowanych dawek ETBE 1000 mg/kg mc./dzień w pokoleniu F_0 obserwowano nadmierne wydzielanie śliny w krótkim czasie po podaniu związku, spowodowane prawdopodobnie gorzkim smakiem podawanego związku. Nie zanotowano zmian w: przyroście masy ciała, spożyciu paszy oraz w parametrach reprodukcyjnych. Stwierdzono: wzrost względnej masy wątroby, nerek, tarczycy oraz najądrzy. W pokoleniu F_1 zaobserwowano (tab. 12.) nieznacznie obniżoną aktywność ruchową młodych we wczesnym okresie laktacji (*Fujii* i in. 2010).

W innym doświadczeniu 2-pokoleniowym, w którym szczury otrzymywały (przez 16 ÷ 18 tygodni) dożołądkowo dawki 250 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień ETBE, nie zanotowano wpływu związku na: kojarzenie, płodność, przebieg ciąży, rozwój płodów i młodych w okresie karmienia mlekiem matki (CIT 2004a). Jedynymi niekorzystnymi zmianami, oprócz zwiększonego wydzielania śliny, były: zmniejszenie przyrostu masy ciała (w pokoleniu F_0) oraz wzrost względnej masy wątroby i nerek (w pokoleniach F_0 i F_1). Po dawce 1000 mg/kg mc./dzień ETBE stwierdzono umiarkowane zmiany histopatologiczne w nerkach samców w pokoleniach F_0 i F_1 (tab. 12). Autorzy opracowania zaproponowali przyjęcie dawki 1000 mg/kg mc./dzień ETBE za wartość NOAEL dla skutków związanych z płodnością i rozrodem, a za wartość LOAEL dla zmian w nerkach przyjęto dawkę 250 mg/kg mc./dzień (CIT 2004a).

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Wchłanianie eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) i jego rozmieszczenie w organizmie człowieka i szczurów przebiega podobnie. Badania dotyczące toksykoninetyki związku wykonano po narażeniu inhalacyjnym ludzi i szczurów (*Nihlen* i in. 1998b; *Amberg* i in. 2000; *Dekant* i in. 2001a).

Po 2-godzinnym narażeniu inhalacyjnym ochotników (8 mężczyzn) na ETBE o stężeniach: 21; 106 lub 212 mg/m^3 (5; 25 lub 50 ppm) zaobserwowano szybkie wchłanianie związku przez płuca. Retencja w drogach

oddechowych w ciągu 2 h narażenia wynosiła 32 ÷ 34% podanej dawki (*Nihlen* i in. 1998b). W ciągu pierwszych 30 min narażenia stężenie ETBE we krwi bardzo szybko rosło, osiągając maksymalny poziom po 2 h (pod koniec okresu narażenia). Stężenie związku we krwi było zależne od stężenia ETBE, na które byli narażeniu ochotnicy, i wynosiło odpowiednio: 1,1; 5,4 oraz 10 µmol/l (tab. 13). W doświadczeniu tym zanotowano prostoliniową zależność wzrostu wartości AUC (pole powierzchni pod krzywą zmian stężenia substancji we krwi a poziomem narażenia) w zakresie stosowanych stężeń (5 ÷ 50 ppm, czyli 21 ÷ 212 mg/m^3). Po zakończeniu narażenia stężenie ETBE we krwi szybko spadało.

Nihlen i in. (1998b) zaproponowali cztery fazy eliminacji ETBE z krwi ludzi: dwie szybkie (o $t_{1/2}$ = 2 i 18 min), jedną średnio szybką, o $t_{1/2}$=1,7 h oraz jedną fazę powolną o $t_{1/2}$ = 28 h (wartości uśrednione na podstawie wyników uzyskanych po narażeniu ludzi na ETB o trzech różnych stężeniach).

W badaniach wykonanych przez *Amberga* (*Amberg* i in. 2000) na ochotnikach (3 kobietach i 3 mężczyznach) stwierdzono, po 4-godzinnym narażeniu inhalacyjnym na ETBE o stężeniu 19 mg/m^3 (4,5 ppm) lub 172 mg/m^3 (40,6 ppm), że maksymalne stężenie związku we krwi zostało osiągnięte pod koniec okresu narażenia i wynosiło odpowiednio do poziomu narażenia: 1,3 oraz 12 µmol/l. Autorzy ci zaproponowali (tab. 13. i 14.) 2-fazowy przebieg eliminacji ETBE z krwi (po większym stężeniu). Różnica w porównaniu z badaniami wykonanymi przez *Nihlena* (*Nihlen* i in. 1998b) była spowodowana inną metodą pobierania krwi. W badaniach kierowanych przez *Amberga* (*Amberg* i in. 2000) pobierano krew od ochotników po zakończeniu narażenia, przez co nie udało się wychwycić dwóch pierwszych, bardzo szybkich faz eliminacji ETBE z krwi.

Tabela 13.
Wybrane parametry kinetyczne po inhalacyjnym narażeniu ludzi na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE)

Osoby narażane, czas i rodzaj narażenia	Stężenia		Wybrane parametry kinetyczne	Piśmiennictwo
	mg/m^3	ppm		
Ochotnicy – 8 mężczyzn, 2 h narażenia, lekki wysiłek fizyczny	21	5	ETBE we krwi: C_{max} = 1 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 1,8 ± 0,1 min (1. faza); $t_{1/2}$: 20 ± 11 min (2. faza); $t_{1/2}$: 2,1 ± 0,6 h (3. faza); $t_{1/2}$: 33 ± 6 h (4. faza) TBA[a] we krwi: C_{max} – nie mierzone	*Nihlen* i in. 1998b
	106	25	ETBE we krwi: C_{max} = 5,4 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 1,2 ± 0,8 min (1. faza); $t_{1/2}$: 15 ± 9,1 min (2. faza); $t_{1/2}$: 1,5 ± 0,5 h (3. faza); $t_{1/2}$: 24 ± 9,7 h (4. faza) TBA we krwi: C_{max} – 6,9 µmol/l; 0,5 h po zakończeniu narażenia $t_{1/2}$: 12 ± 2,2 h	
	212	50	ETBE we krwi: C_{max} = 10,2 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 2 ± 1,3 min (1. faza); $t_{1/2}$: 19 ± 9,3 min (2. faza); $t_{1/2}$: 1,5 ± 0,2 h (3. faza); $t_{1/2}$: 27 ± 11 h (4. faza) TBA we krwi: C_{max} = 12 µmol/l; 0,5 h po zakończeniu narażenia $t_{1/2}$: 12 ± 1,2 h	

cd. tab. 13.

Osoby narażane, czas i rodzaj narażenia	Stężenia		Wybrane parametry kinetyczne	Piśmiennictwo
	mg/m^3	ppm		
Ochotnicy – 3 mężczyzn, 3 kobiety, 4 h narażenia	19	4,5	ETBE we krwi: C_{max} = 1,3 ± 0,7 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 1,1 ± 0,2 h TBA we krwi: C_{max} = 1,8±0,2 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 8,2 ± 2,2 h	*Amberg* i in. 2000
	172	40,6	ETBE we krwi: C_{max} = 12,1±0,7 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 1,1 ± 0,1 h (1. faza); $t_{1/2}$: 6,2 ± 3,3 h (2. faza) TBA we krwi: C_{max} = 13,9±2,2 µmol/l pod koniec okresu narażenia $t_{1/2}$: 9,8 ± 1,4 h	

Objaśnienia:

[a] TBA – alkohol *tert*-butylowy, *tert*-butanol.

Tabela 14.

Wybrane parametry kinetyki eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) po narażeniu inhalacyjnym ludzi oraz szczurów przez 4 h (*Amberg* i in. 2000)

Parametry kinetyczne	Ludzie (3 kobiety, 3 mężczyzn)		Szczury (5 samców, 5 samic)	
	19 mg/m^3 (4 ppm)	172 mg/m^3 (40 ppm)	19 mg/m^3 (4 ppm)	172 mg/m^3 (40 ppm)
Stężenie ETBE we krwi po zakończeniu narażenia, µmol/l	1,3 ± 0,7	12,1 ± 4	1 ± 0,7	5,3 ± 1,2
Stężenie TBA we krwi po zakończeniu narażenia, µmol/l	1,8 ± 0,2	13,9 ± 2,2	5,7 ± 0,8	21,7 ± 4,9
$t_{1/2}$ TBA we krwi, h	8,2 ± 2,2	9,8 ± 1,4		
$t_{1/2}$ eliminacji metabolitów z moczem, h	10,2 ÷ 28,3		2,6 ÷ 4,7	
$t_{1/2}$ wydalania ETBE z moczem, h	3,5 ÷ 5,6		nie wykryto	
Wydalanie z moczem metabolitów, % dawki	41 ÷ 43		50 ÷ 53	

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat rozmieszczenia związku w poszczególnych tkankach organizmu. W badaniach wykonanych w warunkach in vitro wyznaczono dla ETBE współczynniki podziału: krew/powietrze = 11,7, olej/ powietrze = 190. ETBE ulega bardzo szybkiemu metabolizmowi do alkoholu *tert*-butylowego (TBA), który ma niski współczynnik podziału olej/woda(krew) = 0,36, co powoduje, że jest on lepiej rozpuszczalny w wodzie w organizmie (*Johanson* i in. 1995).

W innym doświadczeniu współczynniki podziału wynosiły: krew/mózg – 2,34, krew/ mięśnie – 1,78, krew/tkanka tłuszczowa – 11,6, krew/płuca – 0,835, krew/nerki – 1,42 oraz krew/wątroba – 1,44 (*Nihlen* i in. 1995).

Objętość dystrybucji ETBE u ludzi wynosiła 6,4±1,4 l/kg, a klirens we krwi – 0,6 ÷ 0,87 l/h/kg (*Nihlen* i in. 1998b).

Z powodu bardzo szybkiego metabolizmu ETBE, duże stężenia we krwi osiągał jego metabolit – TBA. Po inhalacyjnym narażeniu ochotników oraz szczurów na ETBE o stężeniu 19 lub 172 mg/m^3 (4,5 lub 40,6 ppm) przez 4 h, stężenia TBA we krwi po zakończeniu narażenia wynosiły odpowiednio: u ludzi 1,8±0,2 oraz 13,9±2,2 µmol/l, a u szczurów 5,7±0,8 i 21,7± 4,9 µmol/l (tab. 13. i 14.). Wartość $t_{1/2}$ dla TBA we krwi ludzi wynosiła 8,2 ÷ 9,8 h (*Amberg* i in. 2000).

Po narażeniu inhalacyjnym ludzi na ETBE o stężeniach 21 ÷ 212 mg/m^3 (5 ÷ 50 ppm) przez 2 h (tab. 15.) uśredniony półokres eliminacji TBA we krwi po zakończeniu narażenia wynosił 12 h (*Nihlen* i in. 1998b).

Tabela 15.

Parametry kinetyczne dla eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) i jego metabolitu alkoholu *tert*-butylowego (TBA) po narażeniu inhalacyjnym ochotników (8 mężczyzn) przez 2 h (*Nihlen* i in. 1998b)

Parametry kinetyczne dla ETBE	Wartości parametrów
Retencja w płucach	34 ± 2,7% dawki
Wydalanie z powietrzem wydychanym	47 ± 3,1% dawki
Klirens metaboliczny	0,39 ± 0,06 l/h/kg
Klirens wydychania	0,35 ± 0,06 l/h/kg
Objętość dystrybucji	6,4 ± 1,4 l/kg
$t_{1/2}$ eliminacji we krwi (ostatniej fazy)	29 ± 5,4 h
$t_{1/2}$ w moczu (1. faza)	0,14 ± 0,04 h
$t_{1/2}$ w moczu (2. faza)	8,6 ± 1,7 h
Wydalanie z moczem	0,08 ± 0,02% dawki
Parametry kinetyczne dla TBA (metabolitu)	**Wartości parametrów**
Wydalanie z powietrzem wydechowym	2,9 ± 1% dawki
$t_{1/2}$ we krwi	12 ± 1,5 h
$t_{1/2}$ w moczu	7,9 ± 1,5 h
Wydalanie z moczem	0,76 ± 0,22% dawki
Klirens nerkowy	0,00080 ± 0,00034 l/h/kg

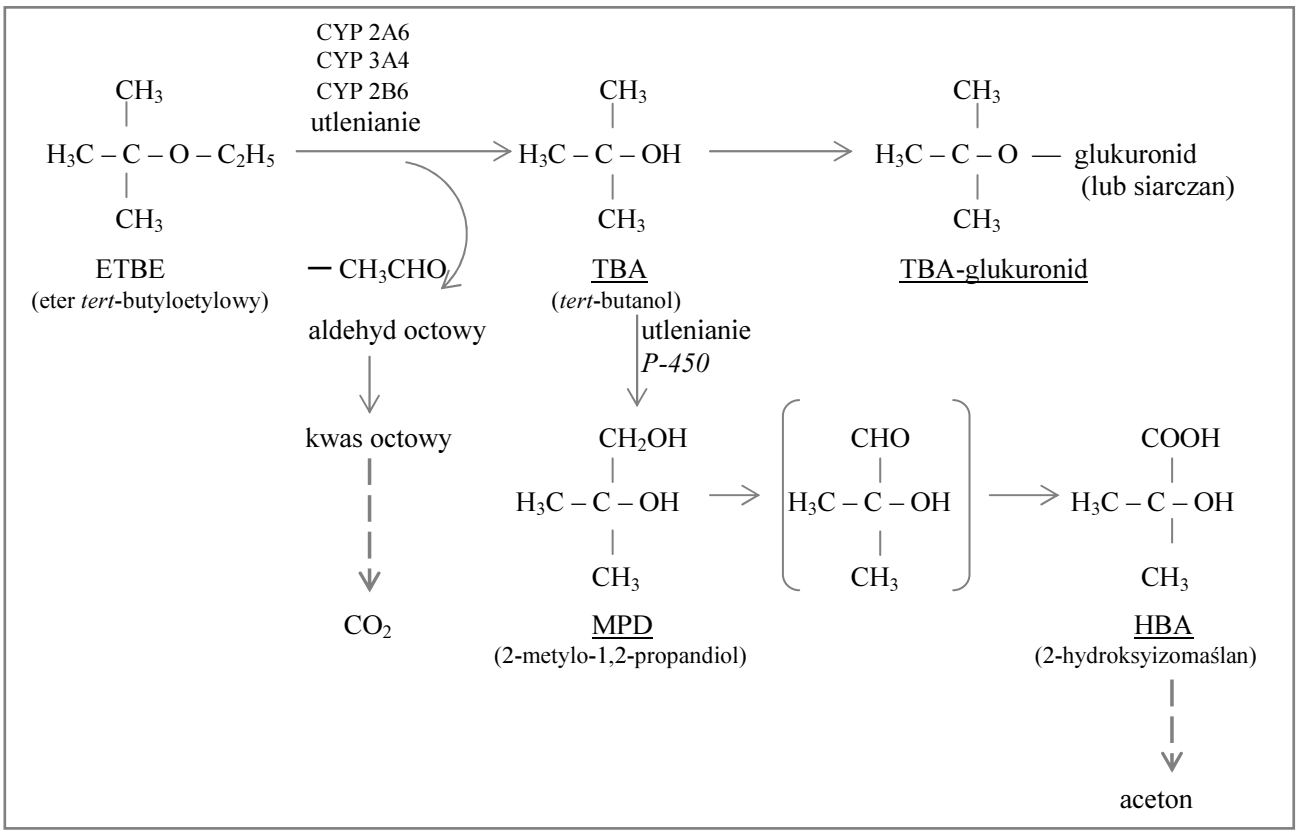
Metabolizm i wydalanie

Z danych piśmiennictwa wynika, że metabolizm eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) u ludzi i szczurów jest podobny, przebiega bardzo szybko i nie jest zależny od płci (*Nihlen* i in. 1998b; *Amberg* i in. 2000; *Dekant* i in. 2001a; 2001b; *Bernauer* i in. 1998). ETBE podlega w organizmie utlenieniu przy udziale monooksygenaz związanych z cytochromem P-450. Największą aktywność w tej reakcji wykazuje izomer CYP 2A6, a także CYP 2B6 i CYP 3A4 (*Hong* i in. 1999). Bardzo dużą aktywność metaboliczną (37 razy większą niż w wątrobie) CYP 2A6 zanotowano w części wydechowej błony śluzowej nosa (*Dekant* i in. 2001b). W wyniku utleniania ETBE powstaje TBA, który podlega sprzęgnięciu z aktywnym siarczanem i glukuronianem (rys. 2.). Po narażeniu szczurów na ETBE o stężeniu 8360 mg/m^3 (2000 ppm) zanotowano znaczne zwiększenie ilości metabolitów wydalanych w postaci glukuronianów (*Dekant* i in. 2001b). TBA może być także dalej utleniany przy udziale cytochromów P-450 do 2-metylo-1,2-propandiolu (MPD), który następnie przechodzi w kwas 2-hydroksyizo-masłowy (2-hydroksymaślan, HBA). Metabolizm ETBE nie zależy ani od gatunku czy płci narażanych, ani od drogi narażenia (*Dekant* i in. 2001a; 2001b).

Metabolizm i wydalanie ETBE są procesem szybkim, nie ma więc kumulacji ETBE w organizmie ludzi i zwierząt (*Dekant* i in. 2001b).

Wydalanie ETBE może zachodzić z powietrzem wydychanym, z którym jest usuwane 45 ÷ 50% dawki (*Nihlen* i in. 1998b). Tą samą drogą może być także wydalany TBA (2,9±1% przyjętej dawki).

Powstałe metabolity, stanowiące u ludzi około 40 ÷ 70% wchłoniętej dawki, mogą być wydalane z moczem ($t_{1/2}$ poniżej 20 h), (*Dekant* i in. 2001a). W moczu ludzi stwierdzono obecność niezmienionego ETBE (w ilości 0,08% przyjętej dawki), a także: TBA, 2-metylo-1,2-propandiolu, 2-hydroksyizomaślanu i nieznaczne ilości acetonu (*Nihlen* i in. 1998b). Śladowe ilości tych związków mogą być pochodzenia endogennego (*Dekant* i in. 2001b). Wydalanie ETBE z kałem jest nieistotne.



Rys. 2. Schemat metabolizmu eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) u ssaków; podkreślone metabolity w moczu (*Dekant* i in. 2001a)

Wśród metabolitów wydalanych z moczem przeważają 2-hydroksyizomaślan (HBA) i 2-metylo-1,2-propandiol (MPD). Molowe współczynniki wydalania ETBE i jego metabolitów (ETBE: TBA: MPD: HBA) u ludzi wynosiły: 1: 17: 45: 435 (po 19 mg/m^3, 4,5 ppm) oraz 1: 25: 107: 580 (po 172 mg/m^3, 40,6 ppm), (*Amberg* i in. 2000).

Wydalane z moczem metabolity u ludzi stanowiły około 41 ÷ 43%, a u szczurów – 50 ÷ 53% przyjętej dawki. Półokres eliminacji ($t_{1/2}$) ETBE z moczem ludzi wynosi 3,5÷ 5,6 h. Dla metabolitów w moczu $t_{1/2}$ u ludzi to 10,2 ÷ 28,3 h, a u szczurów – 2,6 ÷ 4,7 h (*Amberg* i in. 2000).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji o mechanizmie toksycznego działania eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) na układ nerwowy i wątrobę.

Niekorzystne działanie ETBE na nerki jest związane z gromadzeniem się α_2-mikroglobuliny w komórkach kanalików nerkowych. α_2-Mikroglobulina to niskocząsteczkowe białko, które w dużych ilościach (około 50 mg/dzień) jest syntetyzowane w wątrobie szczurów (*McGregor* 2007). Białko to jest wydzielane do krwi pod wpływem testosteronu. α_2-Mikroglobulina podlega filtracji kłębkowej, a później jest resorbowana (w około 60%) w kanalikach nerkowych. W komórkach kanalików nerkowych białko jest przekształcane do aminokwasów i peptydów. Proces katabolizmu przebiega dość wolno (w prawidłowo funkcjonujących nerkach). Wiele związków chemicznych może łączyć się z α_2-mikroglobuliną, tworząc kompleks, który jest oporny na działanie enzymów proteolitycznych. Może to prowadzić do gromadzenia się α_2-mikroglobuliny w komórkach kanalików nerkowych (w formie kompleksu z hialiną). Skutkiem tego nagromadzenia może być śmierć komórek kanalikowych (martwica, mineralizacja w brodawkach nerkowych, złuszczanie komórek nabłonka światła kanalików nerkowych) oraz zaburzenia w proliferacji komórek. Nefropatia związana z gromadzeniem kompleksu α_2-mikroglobuliny była obserwowana tylko u samców (*McGregor* 2007).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

Przegląd danych w piśmiennictwie na temat łącznego narażenia na eter *tert*-butylowo-etylowy (ETBE) i inne związki chemiczne odnosi się tylko do łącznego narażenia z benzyną (Toxicol. Review. … 2009). Łączne narażenie na benzynę i ETBE (B/ETBE) zostało przebadane przez Huntingdon Life Science (2002). Doświadczenia dotyczyły podprzewlekłej toksyczności inhalacyjnej (13 tygodni, 5 dni w tygodniu, 6 h/dzień) oraz wykonanych w jej trakcie (po 4 tygodniach narażenia) badań oceniających działanie immunotoksyczne (*White* 2002) i genotoksyczne (*Gudi, Brown* 2002; *Mason* 2002). Mieszanina, na którą były narażane szczury (samce i samice Sprague-Dawley), była przygotowana w taki sposób, by skład fazy gazowej był zbliżony do składu fazy gazowej znad paliwa w zbiorniku samochodowym, w temperaturze optymalnej dla pracy silnika. W ten sposób uzyskane stężenia mieszaniny benzyna/ETBE przyjęto jako: 2000; 10 000 lub 20 000 mg/m^3.

Na podstawie pola powierzchni pod krzywą (metoda chromatografii gazowej – *headspace*) autorzy eksperymentu oszacowali stężenie ETBE, które stanowiło 16,3%, oraz benzenu i innych węglowodorów o wysokich temperaturach wrzenia – 2,1% całego składu mieszaniny. Po 13 tygodniach narażenia szczurów na mieszaninę benzyna/ETBE o stężeniu 10 000 mg/m^3 nie stwierdzono żadnych skutków działania toksycznego (wartość NOAEL). Po narażeniu na mieszaninę o stężeniu 20 000 mg/m^3 u zwierząt nie zanotowano zaburzeń neurologicznych i zmian w aktywności ruchowej. U samic stwierdzono przejściowy spadek przyrostu masy ciała (między 4. a 12. tygodniem narażenia), a u samców wzrost względnej masy nerek (który ustępował w 4. tygodniu po zakończeniu narażenia) oraz zmiany histopatologiczne w nerkach związane z gromadzeniem się α_2-mikroglobuliny w komórkach kanalików proksymalnych nerek. Autorzy opracowania zastrzegli jednak, że benzyna bezołowiowa jest substancją nefrotoksyczną, więc trudno jednoznacznie stwierdzić, że w mieszaninie benzyna/ETBE za niekorzystny wpływ na nerki odpowiada sam ETBE (Huntingdon… 2002).

Po 4 tygodniach narażenia szczurów (samców i samic, SD) na mieszaninę benzyna/ETBE ocena działania immunotoksycznego wykazała, że bezpiecznym stężeniem było stężenie 2000 mg/m^3 (wartość NOAEL). Po narażeniu na mieszaninę o stężeniu 10 000 lub 20 000 mg/m^3 zanotowano zmniejszenie produkcji przeciwciał przeciwko SRBCs (erytrocytom owiec, które wstrzyknięto szczurom dożylnie w celu wywołania uczulenia) oraz zmniejszenie aktywności limfocytów śledziony. Nie zanotowano wtedy jednak zmian w masie śledziony i grasicy oraz w całkowitej liczbie leukocytów śledziony (*White* 2002).

Badania oceniające genotoksyczność mieszaniny benzyna/ETBE wykonano po 4-tygodniowym inhalacyjnym narażeniu szczurów (samców i samic, Sprague-Dawley) na ETBE o stężeniu 2000 ÷ 20 000 mg/m^3, wykorzystując krew obwodową (a nie szpik kostny). Analizy wykonano, stosując test mikrojądrowy (*Mason* 2002) i wymianę chromatyd siostrzanych (*Gudi, Brown* 2002). Nie zaobserwowano istotnych zmian w SCE. W teście mikrojądrowym zanotowano wzrost liczby mikrojąder w erytrocytach samic (3,8 wobec 0,8 w grupie kontrolnej po narażeniu na mieszaninę o stężeniu 10 000 mg/m^3) i samców (2,0 wobec 0,8 w grupie kontrolnej po narażeniu na mieszaninę o stężeniu wynoszącym 20 000 mg/m^3; wyniki nieznamienne statystycznie). Uzyskane wyniki trudno jednoznacznie zinterpretować, bowiem w benzynie, którą stosowano w badanej mieszaninie, był obecny także benzen (w ilości 2,1%). Nie wiadomo więc, czy tylko ETBE był odpowiedzialny za działanie genotoksyczne.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚĆI NARAŻENIA

Dane o toksycznym działaniu eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) u ludzi są ograniczone do jednego eksperymentu, w którym po inhalacyjnym narażeniu ochotników przez 2 h badano losy związku w organizmie, oceniając przy okazji skutki toksyczne (*Nihlen* i in. 1998a). Z danych tych wynika, że po narażeniu ochotników na ETBE o stężeniu 21 mg/m^3 (5 ppm) jedynym objawem działania toksycznego było zwiększenie częstości mrugania powiekami (przez autorów pracy określone jako objaw nieistotny statystycznie). Po narażeniu ochotników na ETBE o większych stężeniach: 106 lub 212 mg/m^3 (25 lub 50 ppm) obserwowano: podrażnienie błon śluzowych oczu, nosa i górnych dróg oddechowych oraz niewielkie zaburzenia funkcji płuc (ze zmianami mierzonych parametrów zbliżonymi do poziomów fizjologicznych). Tylko po narażeniu na ETBE o największym stężeniu (212 mg/m^3) obserwowane u ochotników objawy działania drażniącego w postaci dyskomfortu w gardle oraz drogach oddechowych były istotne statystycznie.

Więcej informacji o toksycznym działaniu ETBE pochodzi z doświadczeń wykonanych na zwierzętach laboratoryjnych. Analiza różnych poziomów narażenia, przy których występowały niekorzystne skutki, wykazuje, że oprócz zmniejszenia przyrostu masy ciała narażanych zwierząt, narządem szczególnie podatnym na działanie związku były u samców nerki oraz – w mniejszym stopniu – wątroba (tab. 16.).

W doświadczeniach krótkoterminowych na zwierzętach, niezależnie od drogi narażenia (dożołądkowej lub inhalacyjnej), notowano, zależny od wielkości dawki (600 ÷ 1800 mg/kg mc./dzień, przez 14 dni), (*de Peyster* i in. 2009) lub stężenia (2090 ÷ 16 720 mg/m^3, przez 4 tygodnie), (*White* i in. 1995) wzrost względnej masy wątroby i nerek, ale bez zmian histopatologicznych w tych narządach.

Po podprzewlekłym inhalacyjnym narażeniu szczurów na ETBE o stężeniach 2090 ÷ 20 900 mg/m^3 skutkami działania związku były zależne od wielkości stężenia następujące zmiany: zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz zwiększenie mas wątroby i nerek. W nerkach samców notowano także zmiany histopatologiczne. Uszkodzenie nerek było spowodowane gromadzeniem się α_2-mikroglobuliny w komórkach kanalików proksymalnych (*Medinsky* i in. 1999).

W 13-tygodniowych doświadczeniach wykonanych u myszy zanotowano zależny od stężenia (7315 ÷ 20 900 mg/m^3) wzrost względnej masy wątroby i zmiany histopatologiczne w niej (po narażeniu na ETBE o stężeniu 20 900 mg/m^3). Obserwowane zwiększenie poziomu azotu mocznikowego (BUN) we krwi świadczyło także o zaburzeniu funkcji nerek (*Medinsky* i in. 1999).

Tabela 16.

Proponowane wartości NOAEL i LOAEL dla eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE), (dane na podstawie wyników doświadczeń pochodzących z piśmiennictwa)

Gatunek zwierząt, płeć	Czas narażenia	Wartość NOAEL	Wartość LOAEL		Piśmiennictwo
			LOAEL	Skutki działania toksycznego dla LOAEL	
Narażenie drogą pokarmową i inhalacyjną – doświadczenia krótkoterminowe					
Szczur, ♀♂	4 tyg.	2090 mg/m^3	8360 mg/m^3	wzrost względnej masy wątroby, spadek liczby leukocytów u ♀	*White* i in. 1995
Szczur, ♀	28 dni	1000 mg/kg/dz.	–	bez działania immunotoksycznego	*Banton* i in. 2011
Szczur, ♂	14 dni	600 mg/kg/dz.	1200 mg/kg/dz.	wzrost względnej masy wątroby i nerek	*de Peyster* i in. 2009
Narażenie drogą inhalacyjną – podawanie wielokrotne					
Szczur, ♀♂	13 tyg.	2090 mg/m^3	7315 mg/m^3	♂ : zmiany w wątrobie, zaburzenia funkcji nerek.	*Wolf* i in. 1997
Szczur, ♀♂	13 tyg.	–	2090 mg/m^3	♂ : zaburzenia funkcji nerek (α_2-mikroblobulina w moczu) ♀ : wzrost masy serca, spadek poziomu bilirubiny w surowicy	*Medinsky* i in. 1999
Szczur, ♀♂	90 dni	–	2090 mg/m^3	działanie neurotoksyczne: zaburzenia siły przyczepności tylnych kończyn (u ♂) i chwytu kończyn przednich (u ♀)	*Dorman* i in. 1997
Mysz, ♀♂	13 tyg.	2090 mg/m^3	7315 mg/m^3	♂ : uszkodzenie wątroby i zaburzenia funkcji nerek	*Wolf* i in. 1997
Mysz, ♀♂	13 tyg.	–	2090 mg/m^3	niewielkie zaburzenia układu odpornościowego	*Li* i in. 2011
Mysz, ♀♂	13 tyg.	2090 mg/m^3	7315 mg/m^3	♂ : zmiany hematologiczne ♀ : wzrost względnej masy wątroby, zaburzenia funkcji nerek	*Medinsky* i in. 1999
		–	2090 mg/m^3	♂ : spadek stężenia jonów Cl^- w surowicy	
Szczur, ♀♂	104 tyg.	–	28 mg/kg/dz. (♂)	♂ : uszkodzenie nerek (wzrost BUN[a] we krwi)	*Suzuki* i in. 2012
		–	46 mg/kg/dz. (♀)	♀ : wzrost względnej masy nerek	
Szczur, ♂	104 tyg.	–	1000 mg/kg/dz.	wzrost: względnej masy wątroby, nerek, tarczycy, nadnerczy, jader	*Hagiwara* i in. 2011

cd. tab. 16.

Gatunek zwierząt, płeć	Czas narażenia	Wartość NOAEL	Wartość LOAEL		Piśmiennictwo
			LOAEL	Skutki działania toksycznego dla LOAEL	
Toksyczność prenatalna – drogą dożołądkową					
Szczur, ♀	5. ÷ 19. dzień ciąży	1000 mg/kg/dz.	–	NOAEL dla matek i płodów	*Aso* i in. 2013
Szczur, ♀	5. ÷ 19. dzień ciąży	500 mg/kg/dz. 1000 mg/kg/dz.	1000 mg/kg/dz. –	matki: spadek przyrostu masy ciała NOAEL dla płodów	CIT 2004b
Szczur, ♀	5. ÷ 19. dzień ciąży	1000 mg/kg/dz.	–	NOAEL dla matek i płodów	METI 2008b
Królik, ♀	6. ÷ 27. dzień ciąży	300 mg/kg/dz. 1000 mg/kg/dz.	1000 mg/kg/dz. –	matki: spadek przyrostu masy ciała NOAEL dla płodów	*Asanto* i in. 2011; METI 2008d
Królik, ♀	6. ÷ 27. dzień ciąży	1000 mg/kg/dz.	–	NOAEL dla matek i płodów	METI 2008c
Toksyczność rozrodcza dla samców					
Szczur, ♂	13 tyg.	2090 mg/m^3	7315 mg/m^3	uszkodzenie jąder (wzrost odsetka zmienionych splenocytów)	*Medinsky* i in. 1999
Szczur, ♂	90 dni	6270 mg/m^3	20900 mg/m^3	niewielkie zwyrodnienie nabłonka w pęcherzykach nasiennych	METI 2008e
Szczur, ♂	12 tyg.	1000 mg/kg/dz.	–	bez zmian w narządach płciowych	CIT 2003
Szczur, ♂	14 dni	– 600 mg/kg/dz.	600 mg/kg/dz. 1200 mg/kg/dz.	wzrost poziomu estradiolu w osoczu spadek poziomu testosteronu w osoczu	*de Peyster* i in. 2009
Szczur, ♂	28 dni	16720 mg/m^3	–	bez zmian	IIT 1991; *White* i in. 1995
Szczur, ♂	90 dni	20900 mg/m^3	–	bez zmian	METI 2008e; *Medinsky* i in. 1999
Mysz, ♂	90 dni	20900 mg/m^3	–	bez zmian	*Medinsky* i in. 1999; CIIT 1996b

Objaśnienia:
[a] BUN – azot mocznikowy we krwi (*blood urea nitrogen*).

Po 2-letnich eksperymentach, w których ETBE podawano szczurom w wodzie do picia (o stężeniach 625 ÷ 10 000 ppm, czyli 625 ÷ 10 000 µg/l), zanotowano zależne od wielkości dawki zmniejszenie przyrostu masy ciała. Po dwóch największych stężeniach ETBE (2500 lub 10 000 ppm w wodzie) stwierdzono ponadto wzrost względnej masy nerek. Po największym stężeniu ETBE u samców obserwowano także zwiększenie stężenia BUN we krwi, a także zaburzenia w gospodarce lipidowej. W doświadczeniu tym za wartość LOAEL można przyjąć najmniejsze stężenie związku w wodzie (625 ppm, czyli 625 µg/l), które powodowało pierwsze objawy uszkodzenia nerek i odpowiadało u samców dawce 28 mg/kg mc./dzień, a u samic – 46 mg/kg mc./dzień (*Suzuki* i in. 2012).

Z doświadczeń oceniających wpływ ETBE na rozrodczość samców wynika, że zmiany związane z uszkodzeniem jąder i zwiększeniem liczby zmienionych splenocytów zaobserwowano po narażeniu na ETBE o dużych stężeniach w powietrzu (równych lub większych od 7315 mg/m^3), na które szczury narażano przez 13 tygodni (*Medinsky* i in. 1999; METI 2008e).

Po dożołądkowym podawaniu ETBE szczurom przez 12 tygodni lub 180 dni w dawkach 5 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień nie zanotowano

wpływu związku na płodność samców i samic (CIT 2003; METI 2008f).

ETBE nie powodował działania embriotoksycznego i teratogennego u szczurów i królików, które były narażone w okresie ciąży na dawki ETBE 30 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień (tab. 11.). U matek notowano jedynie zmniejszenie przyrostu masy ciała (u szczurów i królików) oraz spożycia paszy (u królików) po dawce 1000 mg/kg mc./dzień (tab. 11. i 16.).

Na podstawie wyników badań 2-pokoleniowych, w których szczurom podawano dożołądkowo przez 16 ÷ 18 tygodni dawki 250 ÷ 1000 mg/kg mc./dzień ETBE, notowano jedynie zależny od dawki wzrost względnej masy wątroby i nerek oraz zmniejszenie przyrostu masy ciała (w pokoleniu F_0). Po dwóch największych dawkach (500 lub 1000 mg/kg mc./dzień) skutki takie, choć słabiej zaznaczone, obserwowano także w pokoleniu F_1 (CIT 2004a).

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Najwyższe dopuszczalne stężenia eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) w powietrzu (wartość NDS i NDSCh) przedstawiono w tabeli 17. Wartości te wyznaczyło tylko kilka państw.

W Belgii oraz w Hiszpanii wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia TLV-TWA przyjęto na poziomie 21 mg/m^3 (5 ppm), a w Finlandii na poziomie 25 mg/m^3. W 2001 r. w ACGIH przyjęto za podstawę do ustalenia wartości TLV (*threshold limit value*) dla eteru stężenie 21 mg/m^3 (5 ppm), na podstawie m.in. obserwacji ludzi i zwierząt.

W 2013 r. ACGIH podwyższyło wartość TLV dla eteru do 105 mg/m^3 (25 ppm), przyjmując za podstawę normatywu:

- zaburzenia w układzie nerwowym u szczurów narażanych inhalacyjnie na ETBE przez 4 tygodnie oraz wartość NOAEL ustaloną w tym badaniu na poziomie 2090 mg/m^3 (500 ppm), (*White* i in. 1995)
- zmiany w wątrobie u szczurów narażanych inhalacyjnie na ETBE przez 90 dni oraz wartość NOAEL ustaloną w tym badaniu na poziomie 2090 mg/m^3 500 ppm (*Medinsky* i in. 1999)
- podrażnienie błon śluzowych oczu, nosa i górnych dróg oddechowych u ochotników po narażeniu na ETBE o stężeniu 212 mg/m^3 przez 2 h.

Biorąc pod uwagę powyższe dane, w 2013 r. ACGIH przyjęło stężenie 105 mg/m^3 (25 ppm) za wartość TLV-TWA dla eteru.

Zwiększenie częstości występowania gruczolaków wątroby (guzy niezłośliwe) obserwowano u samców szczurów narażonych inhalacyjnie na ETBE o stężeniu 5000 ppm przez dwa lata (JPEC 2010). Zmian takich nie zanotowano u samic. Po podawaniu dożołądkowym ETBE samcom i samicom szczurów przez 2 lata nie stwierdzono działania rakotwórczego związku. Również wyniki badań działania genotoksycznego związku w warunkach in vivo oraz in vitro dały wyniki ujemne. Na tej podstawie w ACGIH zaliczono związek do grupy A4 rakotwórczości, czyli do związków nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi.

Zgodnie z rozporządzeniem REACH, dla związku ustalono wartości DNEL – pochodne

poziomy niepowodujące zmian w stanie zdrowia człowieka (GESTIS Substance Database, dostęp: [http://dnel-en.itrust.de/nxt/ gateway.dll/dnel_en/000000.xml?f= templates$fn = default. htm$vid =dneleng:ddbeng$3.0)]:

– dla narażenia inhalacyjnego długotrwałego, działanie miejscowe DNEL: 105 mg/m^3
– dla narażenia inhalacyjnego długotrwałego, działanie układowe DNEL: 352 mg/m^3.

Inne wartości DNEL dla eteru umieszczone w bazie ECHA:

– DNEL: 352 mg/m^3 dla toksyczności powtarzanej wyprowadzony z NOAEC (*UF* = 3)
– DNEL: 1680; 2800 mg/m^3 dla neurotoksyczności
– DNEL: 105 mg/m^3 dla działania drażniącego na układ oddechowy wyprowadzony z wartości NOAEC = 105 mg/m^3 (*UF* = 1)
– DNEL: 6767 mg/kg mc./dzień narażenie przez skórę (z NOAEL, *UF* = 12)
– DNEL: 6 mg/kg mc./dzień dla podania drogą pokarmową (z NOAEL, *UF* = 20).

Tabela 17.

Wartości dopuszczalnych stężeń eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) przyjęte w różnych państwach (ACGIH 2001; 2013; HSDB 2013; RTECS 2013; IUCLID 2000)

Państwo	Wartości NDS		Wartości NDSCh		Uwagi
	mg/m^3	ppm	mg/m^3	ppm	
Belgia (2002)	21	5	–	–	
Finlandia (2011)	25	5	–	–	
Hiszpania (2012)	21	5	–	–	
USA:			–	–	
– ACGIH (2013)	105	25	–	–	A4[a]

Objaśnienia:
[a] Grupa A4 rakotwórczości wg ACGIH – związki nieklasyfikowane jako rakotwórcze dla ludzi.

Podstawy proponowanej wartości NDS

Za podstawę do wyznaczenia wartości NDS dla eteru *tert*-butylowo-etylowego (ETBE) proponujemy przyjęcie wyników badań *Nihlena* i in. (1998a). Ochotnicy byli narażeni inhalacyjnie na ETBE o stężeniach: 21; 106 lub 212 mg/m^3 przez 2 h. Stężenie 212 mg/m^3 ETBE przyjęto za wartość LOAEL, ponieważ po narażeniu na związek o tym stężeniu u ochotników obserwowano objawy podrażnienia: błon śluzowych oczu, nosa i górnych dróg oddechowych oraz niewielkie zaburzenia funkcji płuc, mieszczące się w granicach wartości fizjologicznych.

Po wprowadzeniu do wzoru przyjętych wartości współczynników niepewności obliczamy wartości NDS ETBE:

$$\mathrm{NDS} = \frac{\mathrm{LOAEL}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{212\ \mathrm{mg/m^3}}{1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 1} = \frac{212\ \mathrm{mg/m^3}}{2} = 106\ \mathrm{mg/m^3} \approx 100\ \mathrm{mg/m^3},$$

gdzie:

A = 1 – współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi,
B = 1 – różnice międzygatunkowe i droga podania,
C = 1 – współczynnik dla badań przewlekłych (z uwagi na fakt, że działanie drażniące ujawnia się w krótkim czasie od rozpoczęcia narażenia, nie ma potrzeby wprowadzania innej wartości tego współczynnika),

D = 2 – zastosowanie wartości LOAEL,
E = 1 – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych na temat toksyczności oraz potencjalnych długoterminowych skutków narażenia ludzi).

Na podstawie zastosowanych obliczeń zaproponowano przyjęcie stężenia 100 mg/m^3 eteru *tert*-butylowo-etylowego za wartość NDS związku, co jest zgodne z wartością przyjętą w ACGIH oraz z wartością DNEL (105 mg/m^3) ustaloną przez producentów ETBE dla zmian miejscowych w drogach oddechowych przy narażeniu inhalacyjnym długotrwałym. Ze względu na działanie drażniące eteru *tert*-butylowo-etylowego zaproponowano również przyjęcie wartości NDSCh na poziomie 200 mg/m^3 oraz oznakowanie związku literą „I" (substancja o działaniu drażniącym). Ze względu na brak danych o wchłanianiu ETBE przez skórę nie ma podstaw do oznakowania normatywu literami „Sk" (substancja wchłania się przez skórę).

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

dr n. med. EWA WĄGROWSKA-KOSKI
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na górne drogi oddechowe i błony śluzowe oczu.
Badania pomocnicze: w zależności od wskazań.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na górne drogi oddechowe i błony śluzowe oczu.
Badania pomocnicze: w zależności od wskazań.

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 pracownika lub osoby przyjmowanej.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na górne drogi oddechowe i błony śluzowe oczu.
Badania pomocnicze: w zależności od wskazań.

Narządy (układy) krytyczne

Górne drogi oddechowe oraz spojówki oczu.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przewlekłe przerostowe i zanikowe zapalenie błon śluzowych górnych dróg oddechowych oraz przewlekłe stany zapalne błon śluzowych oczu.

U w a g a

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

PIŚMIENNICTWO

ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Ethyl *tert*-butyl ether (2001).

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Ethyl *tert*-butyl ether (2013).

Amberg A., Rosner E., Dekant W. (2000) Biotransformation and kinetics of excretion of ethyl *tert*-butyl ether in rats and humans. Toxicol. Sci. 53, 194–201.

Asano Y., Ishikura T., Kudoh K., Haneda R., Endoh T. (2011) Prenatal development al toxicity study of ethyl *tertiary*-butyl ether in rabbits. Drug Chem. Toxicol. 34(3), 311–317.

Aso S., Miyata K., Takakura S., Hoshuyama S., Muroi T., Kusune Y., Ajimi S., Furukawa K. (2014) Prenatal development al toxicity study of ethyl *tertiary*-butyl ether in rats. Drug Chem. Toxicol. 37(1), 17–24.

Banton M.I., Peachee V.L., White K.L., Padgett E.L. (2011) Oral subchronic immunotoxicity study of ethyl tertiary butyl ether in the rat. J. Immunotoxicol. 8(4), 298–304.

Berger T., Horner C.M. (2003) *In vivo* exposure of female rats to toxicants may affect oocyte quality. Reprod. Toxicol. 17, 273–281.

Bernauer U., Amberg A., Scheutzow D., Dekant W. (1998) Biotransformation of ^{12}C- and 2-^{13}C-labeled methyl *tert*-butyl ether, ethyl *tert*-butyl ether, and *tert*-butyl alcohol in rats: identification of metabolites in urine by ^{13}C nuclear magnetic resonance and gas chromatography/mass spectrometry. Chem. Res. Toxicol. 11, 651–658.

CCRIS, Chemical Carcinogenesis Research Information System (2013).

CIIT, Chemical Industry Institute of Toxicology (1996a) Ethyl *tertiary* butyl ether (ETBE): ninety-day vapor inhalation toxicity study in Fischer 344 rats. Chemical Industry Institute of Toxicology final report 95029 for ARCO Chemical Company, PA, Research Triangle Park, NC [cyt. za: *de Peyster* 2010].

CIIT, Chemical Industry Institute of Toxicology (1996b) Ethyl *tertiary* butyl ether (ETBE): ninety-day vapor inhalation toxicity study in CD-1 mice. Chemical Industry Institute of Toxicology final report 95030 for ARCO Chemical Company, PA, Research Triangle Park, NC [cyt. za: *de Peyster* 2010].

CIT, Centre Industry de Toxicologie (2003) Ether *tertiary* butyl ether (ETBE), CAS nr 637-92-3: reproduction/developmental toxicity dose-range finding/probe study by the oral (gavage) route in two strains of rat. CIT Study nr 24168 RSR. Unpublished study for Totalfinaelf on behalf of the ETBE Producers' Consortium, Evreux, France [cyt. za: *de Peyster* 2010].

CIT, Centre Industry de Toxicologie (2004a) Ether *tertiary* butyl ether (ETBE): Two-generation study (reproduction and fertility effects) by the oral route (gavage) in rat. CIT Study nr 24859 RSR. Unpublished study for Totalfinaelf on behalf of the ETBE Producers' Consortium, Evreux, France [cyt. za: *de Peyster* 2010].

CIT, Centre Industry de Toxicologie (2004b) Ether *tertiary* butyl ether (ETBE): Prenatal developmental toxicity study by the oral route (gavage) in rats. CIT Study nr 24860 RSR. Unpublished study for Totalfinaelf on behalf of the ETBE Producers' Consortium, Evreux, France [cyt. za: *de Peyster* 2010].

de Peyster A. (2010) Ethyl t-butyl ether: review of reproductive and developmental toxicity. Birth Defects Res. (Part B) 89, 239–263.

de Peyster A., Stanard B., Westover C. (2009) Effect of ETBE on reproductive steroids in male rats and rat Leydig cell cultures. Toxicol. Lett. 190, 74–80.

Dekant W., Bernauer U., Rosner E., Amberg A. (2001a) Biotransformation of MTBE, ETBE, and TAME after inhalation or ingestion in rats and humans. Res. Rep. Health Eff. Inst. 102, 29–71, discussion 95–109.

Dekant W., Bernauer U., Rosner E., Amberg A. (2001b) Toxicokinetics of ether used as fuel oxygenates. Toxicol. Lett. 124, 37–45.

Dorman D.C., Struve M.F., Wong B.A., Morgan K.T., Janszen D.B., Gross E.B., Bond J.A. (1997) Neurotoxicological evaluation of ethyl *tertiary*-butyl ether following subchronic (90-day) inhalation in the Fischer 344 rat. J. Appl. Toxicol. 17(4), 235–242.

Drogos D.L., Diaz A.F. (2002) Appendix A: physical properties of fuel oxygenates and additives. [W:] Oxygenates in gasoline: environmental aspects. [Red.] A.F. Diaz, D.L. Drogos. Washington, D.C., American Chemical Society/Oxford University Press 258–279 [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

Durand M.L., Dietrich A.M. (2007) Contributions of silane cross-linked PEX pipe to chemical/solvent odours in drinking water. Water Sci. Technol. 55(5), 153–160 [cyt. za: Toxicological Review … 2009].

Fujii S., *Yabe K., Furukawa M., Matsuura M., Aoyama H.* (2010) A one-generation reproductive toxicity study of ethyl *tertiary* butyl ether in rats. Reprod. Toxicol. 30; 414–421.

Gudi R., Brown C.M. (2002) *In vivo-in vitro* rat peripheral lymphocyte sister chromatid exchance assay in gasoline RTBE vapour condensate. BioReliance under control Huntingdon Life Sciences, Rockville, MD. AA40NY.130.BTL, Sponsor 006129. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

Hagiwara A., Doi Y., Imai N., Nakashima H., Ono T., Kawabe M., Furukawa F., Tamano S., Nagano K., Fukushima S. (2011) Medium-term multi-organ carcinogenesis bioassay of ethyl *tertiary*-butyl ether in rats. Toxicology 289, 160–166.

Hong J.-Y., Wang Y.-Y., Bondoc F.Y., Lee M., Yang C.S., Hu W.-Y., Pan J. (1999) Metabolism of methyl *tert*-butyl ether and other gasoline ethers by human liver microsomes and heterologously expressed human cytochromes P450: identification of CYP2A6 as a major catalyst. Toxicol. Appl. Pharmacol. 160, 43–48.

HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2013) National Library of Medicine, Bethseda, Maryland.

Huntingdon Life Sciences (2002) Gasoline ETBE vapour condensate: a 13-week whole-body inhalation toxicity study in rats with neurotoxicity assessments and 4-week in vitro genotoxicity and immunotoxicity assessments. Huntingdon Life Sciences under contract to American Petroleum Institute, East Millstone, NJ, Study No. 00-6129, Sponsor No. 211-ETBE-S. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review … 2009].

IIT Research Institute (Illinois Institute of Technology Research Institute) (1991) Four-week inhalation toxicity study of ethyl *tert*-butyl ether (ETBE) in rats. IIT Research Institute, Life Sciences Research under contact to Amoco Corporation, Chicago, IL; Study No. 1544. Unpublished report [cyt. za: *de Peyster* 2010].

IIT Research Institute (Illinois Institute of Technology Research Institute) (1989) Acute dermal toxicity study of ethyl *tert*-butyl ether (ETBE) in rabbits. IIT Research Institute, Life Sciences Research under contact to Amoco Corporation, Chicago, IL; Study No. 1495. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

Institut Pasteur de Lille (1992a) Recherché de mutagenicite sur *Salmonella typhimurium His* selon la technique de BN Ames. Report IPL-R 920506 for Total Raffinage Distribution, 25 May [cyt. za: *McGregor* 2007].

Institut Pasteur de Lille (1992b) Etude de l'activite genotoxique par la technique du micronucleus chez la souris sur le produit ether ETBE. Report IPL-R 921009 for Total Raffinage Distribution, 30 October [cyt. za: *McGregor* 2007].

IUCLID (2000) IUCLID Dataset, 2-ethoxy-2-methylpropane. European Commission, European Chemical Bereau.

Johanson G., Nihlén A., Löf A. (1995) Toxicokinetics and acute effects of MTBE and ETBE in male volunteers. Toxicol. Lett. 82/83, 713–718.

JPEC, Japanese Petroleum Energy Center (2010) Micronucleus tests and carcinogenicity studies with ETBE (cyt. za ACGIH 2013).

Li Q., Kobayashi M., Inagaki H., Hirata Y., Hirata K., Shimizu T., Wang R.S., Suda M., Kawamoto T., Nakajima T., Kawada T. (2011) Effects of subchronic inhalation exposure to ethyl *tertiary* butyl ether on splenocytes in mice. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 24(4), 837–847.

LOTOS (2009) Raport roczny 2009. Dostępny on-line: [www:2009.raportroczny.lotos. pl/index. php?option=content&view=article&id=305&Item id=288&lang=pl].

Maltoni C., *Belpoggi F., Soffritti M., Minardi F.* (1999) Comprehensive long-term experimental project of carcinogenicity bioassays on gasoline oxygenated additives: plan and first report of results from the study on etyl-tertiary-butyl ether (ETBE). Eur. J. Oncol. 4; 493–1508 [cyt. za: *McGregor* 2007; Toxicological Review … 2009].

Manson C.E. (2002) Satellite procedure gasoline ETBE vapour condensate rat micronucleus test. Huntingdon Life Sciences under contract to American Petroleum Institute, East Millstone, NJ, Study No. 00-6129, ERC Report No. APT 007/022682. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review … 2009].

*Marsh D.*F., *Leake C.D.* (1950) Comparative anaesthetic activity of the aliphatic ethers. Anesthesiology 11; 455–1463.

MB Research Laboratories, Inc. (Millenium Bioresearch Research Laboratories) (1988 a) Single dose oral toxicity in rats/LD_{50} in rats. MB Research Laboratories, Inc. under contact to ARCO Chemical Company, Spinnerstown, PA; Laboratory Project ID MB 88-9137A. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

MB Research Laboratories, Inc. (Millenium Bioresearch Research Laboratories) (1988 b) Acute dermal toxicity in rabbits/LD_{50} in rabbits. MB Research Laboratories, Inc. under contact to ARCO Chemical Company, Spinnerstown, PA; Laboratory Project ID MB 88-9107B. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

MB Research Laboratories, Inc. (Millenium Bioresearch Research Laboratories) (1988 c) Primary dermal irritation in rabbits. MB Research Laboratories, Inc. under contact to ARCO Chemical Company, Spinnerstown, PA; Laboratory Project ID MB 88-9107C. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

MB Research Laboratories, Inc. (Millenium Bioresearch Research Laboratories) (1988 d) Eye irritation in rabbits. MB Research Laboratories, Inc. under contact to ARCO Chemical Company, Spinnerstown, PA; Laboratory Project ID MB 88-9107D. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

McGregor D. (2007) Ethyl *tertiary*-butyl ether: A toxicological review. Crit. Rev. Toxicol. 37, 287–312.

Medinsky M.A., Wolf D.C., Cattley R.C., Wong B., Janszen D.B., Farris G.M., Wright G.A., Bond J.A. (1999) Effects of thirteen-week inhalation exposure to ethyl tertiary butyl ether on Fischer-344 rats and CD-1 mice. Toxicol. Sci. 51, 108–118.

METI, Ministry of Economy, Trade and Industry (2008a) Single generation oral toxicity study in rats. [W:] Risk Assessment of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). Full report in Japanese can be accessed through the Japan Petroleum Energy Center website [cyt. za: *de Peyster* 2010].

METI, Ministry of Economy, Trade and Industry (2008b) Prenatal developmental toxicity test in rats. [W:] Risk Assessment of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). Full report in Japanese can be accessed through the Japan Petroleum Energy Center website [cyt. za: *de Peyster* 2010].

METI, Ministry of Economy, Trade and Industry (2008c) Preliminary prenatal developmental toxicity test in rabbits. [W:] Risk Assessment of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). Full report in Japanese can be accessed through the Japan Petroleum Energy Center website [cyt. za: *de Peyster* 2010].

METI, Ministry of Economy, Trade and Industry (2008d) Final prenatal developmental toxicity test in rabbits. [W:] Risk Assessment of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). Full report in Japanese can be accessed through the Japan Petroleum Energy Center website [cyt. za: *de Peyster* 2010].

METI, Ministry of Economy, Trade and Industry (2008e) 90-day repeated inhalation toxicity test in rats. [W:] Risk Assessment of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). Full report in Japanese can be accessed through the Japan Petroleum Energy Center website [cyt. za: *de Peyster* 2010].

METI, Ministry of Economy, Trade and Industry (2008f) 180-day repeated oral toxicity test in rats. [W:] Risk Assessment of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). Full report in Japanese can be accessed through the Japan Petroleum Energy Center website [cyt. za: *de Peyster* 2010].

Montgomery C.R. (1994) n-Octanol/water partition co-efficent (K_{ow}) for ethyl tertiary butyl ether (ETBE) at 25°C +/- 1°C. Biodevelopment Laboratories, inc. under contract to ARCO Chemical Company, Cambridge, M.A., Project Identification 57374-2. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review … 2009].

Nagano K., Nishizawa T., Yamazaki K., Noguchi T., Hagiwara A., Nishimaki F., Iida S., Komiya K., Fukushima S. (2011) Hepatotumorigenicity of ethyl *tertiary*-butyl ether (ETBE) by inhalation exposure but not oral administration in F344 rats. SOT, Annual Meeting, 332.

Neste Oil (2013) Safety data sheet, ETBE (Ethyl *tert*-butyl ether), ETBEZ. 07.02.2013, Finland.

Nihlén A., Löf A., Johanson G. (1995) Liquid/air coefficients of methyl and ethyl t-butyl ethers, t-amyl methyl ether, and t-butyl alcohol. J. Expo Anal. Environ. Epidemiol. 5(4), 573–582 [cyt. za: Toxicological Review … 2009].

Nihlén A., Löf A., Johanson G. (1998a) Controlled ethyl *tert*-butyl ether (ETBE) exposure to male

volunteers. II. Acute effects. Toxicol. Sci. 46, 143–150.

Nihlén A., Löf A., Johanson G. (1998b) Controlled ethyl *tert*-butyl ether (ETBE) exposure to male volunteers. I. Toxicokinetics. Toxicol. Sci. 46, 1–110.

ORLEN S.A. (2010) Karta charakterystyki, benzyny silnikowe bezołowiowe, 25.11.2010.

ORLEN w liczbach (2010), dostępny on-line: [www: raportroczny.orlen.pl/pub/files/PL_2010/ORLEN_w_liczbach_PL.pdf].

Pharmakon Europe (1994a) Test article: ETBE. Test to elevate sensitising potential in the guinea pig. Pharmakon Europe, Luxemburg. Report No. 76393 for Elf Aquitaine [cyt. za: *Tiesjema, Baars* 2009].

Pharmakon Europe (1994b) Test article: ETBE. *Salmonella typhimurium*/mammalian microsome plate incorporation assay (Ames test). Report nr 76593 for Elf, 18 April [cyt. za: *McGregor* 2007].

Roudabush R.L. (1966) Toxicity and health hazard summary. Laboratory of Industrial Medicine of Eastman Kodak Company, Rochester, NY, ACC nr 907320; Lab nr 59-516. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

RTECS, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (2013) National Institutes for Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio.

Sax N.I. (1963) Dangerous properties of industrial materials. 2nd ed. Reinhold Publishing Corporation, New York.

Suzuki M.,Yamazaki K., Kano H., Aiso S., Nagano K., Fukushima S. (2012) No carcinogenicity of ethyl *tertiary*-butyl ether by 2-year oral administration in rats. J. Toxicol. Sci. 37(6), 1239–1246.

Tiesjema B., *Baars A.J.* (2009) Re-evaluation of some human-toxicological Maximum Permissible Risk levels earlier evaluated in the period 1991-2001. Appendix A7: Ethyl-*tertiary*-butylether (ETBE). RIVM Report 711701092/2009, 49-57. National Institute for Public Health and the Environment, RIVM 2009.

Toxicological Review of ethyl tertiary butyl ether (CAS nr 637-92-3) (2009). In support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS), U.S. EPA. IRIS, Toxicological review of ethyl tertiary butyl ether (ETBE), U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/635/R-08/019A. Dostęp on-line: [http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=199331].

UBTL, Utah Biomedical Testing Laboratory, Inc. (1994) Twenty-eight (28) day dermal toxicity in rats administered test article F-266. UBTL, Inc. under contact to ARCO, Salt City, UT; UBTL Study nr 66894, Protocol No. ATX-92-0114, 1-174. Unpublished report [cyt. za: *de Peyster* 2010; Toxicological Review … 2009].

Vegnes J.S. (1995) Ethyl tertiary butyl ether: *in vitro* chromosome aberrations assay in Chinese hamster ovary cells. Bush Run Research Center, Union Carbide Corporation under contract to ARCO Chemical Company, Export, PA, Laboratory Project ID 94N1425. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009; McGregor 2007].

Vegnes J.S., Kubena M.F. (1995a) Ethyl tertiary butyl ether: bone marrow micronucleus test in mice. Bush Run Research Center, Union Carbide Corporation under contract to ARCO Chemical Company, Export, PA, Laboratory Project ID 94N1426. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

Vegnes J.S., Kubena M.F. (1995b) Ethyl tertiary butyl ether: mutagenic potential in the CHO/HGPRT forward mutation assay. Bush Run Research Center, Union Carbide Corporation under contract to ARCO Chemical Company, Export, PA, Laboratory Project ID 94N1424. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009; *McGregor* 2007].

Vetrano K.M. (1993) Final report to ARCO Chemical Company on the odor and taste threshold studies performed with methyl *tertiary*-butyl ether (MTBE) and ethyl *tertiary*-butyl ether (ETBE). TRC Environmental Corporation under contract to ARCO Chemical Company, Windsor, CT, Project 13442-M31. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

Weng Z., Suda M., Ohtani K., Mei N., Kawamoto T., Nakajima T., Wang R.S. (2013) Subchronic exposure to ethyl tertiary butyl ether resulting in genetic damage in Aldh2 knockout mice. Toxicology 311(3), 107–114.

Weng Z., Suda M., Ohtani K., Mei N., Kawamoto T., Nakajima T., Wang R.-S. (2012) Differential genotoxic effects of subchronic exposure to ethyl tertiary butyl ether in the livers of Aldh2 knockout and wild-type mice. Arch. Toxicol. 86, 675–682.

White K.L. (2002) Immunotoxicological evaluation of gasoline ETBE vapour condensate in female Sprague-Dawley rats using the plaque forming cell assay. ImmunoTox, Inc. under contact to Huntingdon Life Sciences, Richmond, VA. Project nr ITI

901. Unpublished report [cyt. za: Toxicological Review… 2009].

White R.D., Daughtrey W.C., Wells M.S. (1995) Health effects on inhaled tertiary amyl methyl ether end ethyl tertiary butyl ether. Toxicol. Lett. 82/83, 719–724.

Wolf D.C., Wong B., Medinsky M.A., Bond J.A. (1997) Cell proliferation in F344 rat kidney and CD-1 mouse liver following inhalation of ethyl tertiary butyl ether (ETBE). SOT, Annual Meeting, 338.

Zeiger E., Anderson B., Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K. (1992) *Salmonella* mutagenicity tests.
V. Results from the testing of 311 chemicals. Environ. Mol. Mutagen. 19 (suppl. 21), 2–141 [cyt. za: CCRIS 2013; Toxicological Review … 2009; *McGregor* 2007].

Wykaz skrótów stosowanych w dokumentacji

BUN	azot mocznikowy we krwi (ang.: *blood urea nitrogen*)
ETBE	eter *tert*-butylowo-etylowy
FEV_1	natężona objętość oddechowa pierwszosekundowa (ang.: *forced expiratory volume in 1 second*)
FVC	natężona pojemność życiowa (ang.: *forced vital capacity*)
HBA	kwas 2-hydroksyizomasłowy (2-hydroksymaślan)
MCHC	średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach (ang.: *mean corpuscular hemoglobin concentration*)
MCV	wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej (ang.: *mean corpuscular volume*)
MPD	2-metylo-1,2-propandiol
MTBE	eter *tert*-butylowo-metylowy
NK	komórki NK (ang.: *natural killer* – naturalni zabójcy)
SD	Sprague-Dawley (szczep szczurów)
TBA	*tert*-butanol (alkohol *tert*-butylowy)
TLV	najwyższe dopuszczalne stężenia (USA), (ang.: *threshold limit value*)
VC	pojemność życiowa (ang. *vital capacity*)