

Kwas nitrylotrioctowy i jego sole – frakcja wdychalna

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

Nitritoltriacetic acid and its salts – inhalable fraction

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

dr hab. ELŻBIETA BRUCHAJZER, prof. UM
<https://orcid.org/0000-0002-4494-5722>
dr BARBARA FRYDRYCH
<https://orcid.org/0000-0002-9383-5319>
prof. dr hab. JADWIGA SZYMAŃSKA
<https://orcid.org/0000-0002-3320-008X>
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Medical University of Lodz, Poland

NDS	3 mg/m ³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25-27.06.2019 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 23.06.2020 r.

Streszczenie

Kwas nitrylotrioctowy (NTA) i jego sole sodowe to białe ciała stałe, bez zapachu. NTA słabo rozpuszcza się w wodzie, w przeciwieństwie do jego soli trisodowej (Na₃NTA), (najczęściej produkowanej i stosowanej). Kwas nitrylotrioctowy i jego sole (głównie Na₃NTA) mają właściwości chelatujące i są stosowane jako zamienniki EDTA i wypełniacze w środkach czyszczących, wybielających i dezynfekujących.

Na podstawie zgłoszonych do ECHA zidentyfikowanych zastosowań NTA i jego sole zaliczono do TOP 50 substancji rakotwórczych.

Narażenie ludzi na NTA i jego sole może być związane z ich produkcją, przetwarzaniem i stosowaniem. W ekspozycji zawodowej największe stężenia NTA mieściły się w zakresie 0,24 ÷ 3,7 mg/m³. U ludzi nie notowano wtedy żadnych objawów działania toksycznego związku. W Polsce nie ma danych dotyczących narażenia ludzi na NTA i jego sole. Sól trisodową kwasu nitrylotrioctowego zaliczono do kategorii 4 toksyczności ostrej, dla której wartość DL₅₀ po podaniu dożołądkowym mieści się w granicach 1 300 ÷ 1 600 mg/kg mc. (u szczurów).

¹ Wartość NDS kwasu nitrylotrioctowego i jego soli została w dniu 23.06.2020 przyjęta na 95. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona Ministrowi Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej (wniosek nr 110) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

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

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

Kwas nitrylotrioctowy i jego sole nie działają drażniąco i uczulająco.

Narządem krytycznym działania NTA i jego soli u zwierząt są nerki. W toksyczności przewlekłej narażenie szczurów na stężenia $0,03 \div 1\%$ Na_3NTA w paszy powodowało objawy uszkodzenia nerek, a po stężeniach $1,5 \div 2\%$ w paszy stwierdzono nowotwory układu moczowego.

W IARC zaliczono NTA i jego sole do grupy 2B (czynniki przypuszczalnie rakotwórcze dla ludzi), a Unia Europejska zakwalifikowała Na_3NTA do kategorii 2 z przypisem „H351 – podejrzewa się, że powoduje raka” i adnotacją „przy stężeniach $> 5\%$ ”.

Nie ma wiarygodnych dowodów na mutagenność NTA i jego soli.

Kwas nitrylotrioctowy bardzo szybko wchłania się do organizmu, osiągając największe stężenia po $1 \div 2$ h, z okresem półtrwania ok. 3 h. Wydala się głównie w postaci niezmienionej.

Mechanizm działania toksycznego NTA jest związany z zaburzeniami w poziomie niektórych pierwiastków w nerkach, co prowadzi do uszkodzeń komórek, procesów proliferacyjnych i powstawania nowotworów pochodzenia nabłonkowego w układzie moczowym.

Kwas nitrylotrioctowy i jego sole nasilają rakotwórcze działanie nitrozoamin w nerkach.

Podstawą do ustalenia wartości NDS dla NTA były doświadczenia wykonane na zwierzętach, w wyniku których stwierdzono, że NTA i jego sole działają toksycznie na nerki (narząd krytyczny). Za wartość NDS przyjęto stężenie 3 mg/m^3 . Nie ma podstaw do wyznaczenia najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) oraz dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB).

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

Słowa kluczowe: kwas nitrylotrioctowy i jego sole, narażenie zawodowe, toksyczność, NDS, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

Nitrilotriacetic acid (NTA) and its sodium salts are white and odourless solids. NTA is poorly soluble in water, unlike its trisodium salt (Na_3NTA) (the most commonly produced and used). Nitrilotriacetic acid and its salts (Na_3NTA) have chelating properties and they are used as EDTA replacement and fillers in cleaning, bleaching and disinfecting agents. On the basis of the identified uses reported to ECHA, NTA and its salts were included in the TOP50 carcinogenic substances. Human exposure to NTA and its salts may be related to their production, processing and use. In occupational exposure, the highest concentrations of nitrilotriacetic acid ranged between 0.24 and 3.7 mg/m^3 . No symptoms of a toxic effect were noted in humans at these concentrations. There are no data on human exposure to NTA and its salts in Poland. Trisodium nitrilotriacetate is classified as acute toxicity category 4, for which the LD_{50} value after intragastric administration is $1300 - 1600 \text{ mg/kg b.w.}$ (in rats). The kidneys are the critical organs. Rats exposed chronically to Na_3NTA at concentrations of $0.03\% - 1\%$ in feed caused symptoms of kidney damage, and at concentrations of $1.5\% - 2\%$ in feed – cancer of the urinary system was observed. IARC includes NTA and its salts to group 2B (presumably carcinogenic to humans), and the European Union has classified Na_3NTA to category 2 with the footnote “H351 – suspected of causing cancer” and the annotation “at concentrations $> 5\%$ ”. There is no reliable evidence of mutagenicity of NTA and its salts. Nitrilotriacetic acid is very quickly absorbed into the body, reaching the highest concentrations after $1 - 2$ hour, with a half-life of about 3 hours. It is excreted mainly unchanged. The mechanism of the toxic action of NTA is associated with disturbances in the level of certain elements in the kidneys, which lead to cell damage, proliferative processes, and the formation of epithelial neoplasms in the urinary tract. Nitrilotriacetic acid and its salts increase the carcinogenic effect of nitrosamines in the kidneys. The basis for determining the maximum acceptable concentration (MAC; TLV-TWA) for NTA were experiments performed on animals, in which NTA and its salts were found to be nephrotoxic. The concentration of 3 mg/m^3 was assumed as the MAC value. There are no bases to determine the short-term exposure limit (STEL) and the biological limit value (BLV). This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: nitrilotriacetic acid and its salts, occupational exposure, toxicity, MAC, health sciences, environmental engineering.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Kwas nitrylotrioctowy (NTA), (CAS: 139-13-9) i jego sole to związki syntetyczne. Komercyjnie w sprzedaży są dostępne: kwas nitrylotrioctowy (NTA), (CAS: 139-13-9) oraz jego sole sodowe: sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego (Na_2NTA), (CAS: 15467-20-6), sól trisodowa (Na_3NTA), (CAS: 5064-31-3) i sól trisodowa jednowodna ($\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$), (CAS: 18662-53-8). Związki te mają odpowiednie numery WE (EINECS) oraz RTECS (tab. 1.).

Pozostałe możliwe sole kwasu nitrylotrioctowego: sól sodowa (NaNTA), (CAS: 10042-84-9), sól monosodowa (NaNTA), (CAS: 18994-66-6) oraz sól disodowa jednowodna ($\text{Na}_2\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$) (CAS: 23255-03-0) są znane w piśmiennictwie chemicznym, lecz nie są dostępne w komercyjnej sprzedaży (tab. 1.).

Zarówno kwas nitrylotrioctowy, jak i większość jego soli nie są umieszczone w wykazach substancji stwarzających zagrożenie. W tabeli 3.1. załącznika VI do rozporządzenia 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 dyrek-

tywy 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., z późn. zm.) umieszczono jedynie sól trisodową kwasu nitrylotrioctowego (Na_3NTA), (tab. 2.; rys. 1.).

Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego (CAS: 5064-31-3) jest sklasyfikowana pod względem zagrożeń dla zdrowia:

- jako substancja rakotwórcza kategorii 2, z przypisanym zwrotem H351 – podejrzewa się, że powoduje raka;
- do kategorii 4 toksyczności ostrej, z przypisanym zwrotem H302 – działa szkodliwie po połknięciu;
- do kategorii 2 działania drażniącego na oczy, z przypisanym zwrotem H319 – działa drażniąco na oczy.

Producenci pozostałych trzech związków obecnych w handlu w kartach charakterystyki swoich produktów umieszczają te same piktogramy (GHS08 i GHS07) oraz przypis „Uwaga!”.



Zagrożenie dla człowieka, kategoria zagrożenia 2 (GHS08),
podejrzewa się, że powoduje raka

Zagrożenie dla zdrowia – działanie drażniące na oczy (GHS07).
Uwaga!

Rys. 1. Piktogramy określone w załączniku do rozporządzenia WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Tabela 1.
Ogólna charakterystyka kwasu nitrylotrioctowego i jego soli (HSDB 2019; IARC 1990; 1999; MAK 2014; NTA Canada 1990; RoC 14th ed.; SCCS 2010)

Wzór sumaryczny	$C_6H_9NO_6$	$C_6H_8NO_6 \cdot Na$	$C_6H_8NO_6 \cdot Na$	$C_6H_7NO_6 \cdot 2Na$	$C_6H_7NO_6 \cdot 2Na \cdot H_2O$	$C_6H_6NO_6 \cdot 3Na$	$C_6H_6NO_6 \cdot 3Na \cdot H_2O$
Wzór strukturalny							
Nazwa chemiczna	kwas nitrylotrioctowy	sól sodowa kwasu nitrylotrioctowego nitriolotriacetic acid sodium salt	sól monosodowa kwasu nitrylotrioctowego monosodium nitriolotriacetate	sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego nitriolotriacetic acid disodium salt	sól disodowa jednowodnego kwasu nitrylotrioctowego disodium nitriolotriacetate monohydrate	sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego nitriolotriacetic acid monohydrate	sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego nitriolotriacetic acid monohydrate
Numer CAS	139-13-9	10042-84-9	18994-66-6	15467-20-6	23255-03-0	5064-31-3	18662-53-8
Nazwa w rejestrze CAS	<i>N,N</i> -bis-(karboksymetylo)-glicyna <i>N,N</i> -bis(carboxymethyl)-glycine	<i>N,N</i> -bis-(karboksymetylo)-glicyny sól sodowa <i>N,N</i> -bis-(carboxymethyl)glycine sodium salt	<i>N,N</i> -bis-(karboksymetylo)-glicyny sól sodowa <i>N,N</i> -bis(carboxymethyl)-glycine disodium salt	<i>N,N</i> -bis(karboksymetylo)-glicyny sól disodowa <i>N,N</i> -bis(carboxymethyl)-glycine disodium salt	<i>N,N</i> -bis(karboksymetylo)-glicyny disodium salt monohydrate	<i>N,N</i> -bis(karboksymetylo)glicyny sól trisodowa, <i>N,N</i> -bis(carboxymethyl)glycine trisodium salt	<i>N,N</i> -bis(carboxymethyl)-glycine, trisodium salt, monohydrate
Nazwa wg IUPAC	kwas 2,2',2''-nitrylotrioctowy kwas 2-[bis(karboksymetylo)-amino]octowy	2-[bis(karboksymetylo)-amino]octan sodowy nitriolotriacetamide acid sodium salt	nitriolotriacetamide acid sodium salt	nitriolotriacetic acid, disodium salt	nitriolotriacetic acid disodium salt, monohydrate	nitriolotriacetic acid trisodium salt	nitriolotriacetic acid, trisodium salt, monohydrate
Nazwa zwyczajowa	kwas nitrylotrioctowy	sól sodowa kwasu nitrylotrioctowego	sól sodowa kwasu nitrylotrioctowego	sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego	sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego	sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego	sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego
Numer WE (EINECS)	205-355-7			239-484-5		225-768-6	225-768-6

cd. tab. 1.

Wzór sumaryczny	C ₆ H ₉ NO ₆	C ₆ H ₈ NO ₆ ·Na	C ₆ H ₈ NO ₆ ·Na	C ₆ H ₇ NO ₆ ·2Na	C ₆ H ₇ NO ₆ ·2Na·H ₂ O	C ₆ H ₆ NO ₆ ·3Na	C ₆ H ₆ NO ₆ ·3Na·H ₂ O
Numer indeksowy (EC)	brak	brak	brak	brak	brak	607-620-00-6	brak
Numer w rejestrze RTECS	AJ0175000			AJ0350000		MB8400000	AJ1070000
Synonimy	NTA tris(karboksymetylo)-amina tri(karboksymetylo)-amina NTA acid triglicyna triglicyna triglicolamic acid N,N-bis(karboksymetylo)glicyna kwas aminotrioctowy	sodium NTA nitrylotrioctan sodu aminotrioctan sodu NTA sodium salt sodium aminotriacetate sodium nitrylotriacetate	monosodium NTA NTA monosodium salt	disodium NTA N,N-bis(carboxymethyl)-glycine disodium salt NTA trilycollamic acid NTA 2Na disodium nitrylotriacetate Na ₂ NTA NTA disodium salt	NTA disodium salt monohydrate N,N-bis(carboxymethyl)-glycine, disodium salt	trisodium NTA NTA 3Na trisodium nitrylotriacetate	trisodium NTA trisodium nitrylotriacetate monohydrate N,N-bis(carboxymethyl)-glycine trisodium salt monohydrate nitrylo-2,2',2''-triacetic acid trisodium salt monohydrate NTA trisodium salt, monohydrate
Nazwy handlowe	Complexon I Trilon A Titrplex I Versene NTA acid Chel 300 Idranal® I Hampshire® NTA acid	Chelest NTA		Chelest NTB Kiresute NTB		Hampshire NTA 150 Syntron A Masquol NP 140 Versene NTA 150 Versene NTA 335 Chemcolox 365 Powder Trilon A Trilon A 50	Hampshire NTA Na3 Crystals Perma Kleer NTA Na3 crystals Trilon A92 NTA Powder

Tabela 2.
Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008, z późn. zmianami w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 790/2009 z dnia 10 sierpnia 2009 r., L 235)

Między- narodowa terminologia chemiczna	Numer indeksowy	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie		Specyficzne stężenia graniczne i współ- czynniki „M”	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazu- jących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegaw- czych	kody zwrotów wskazu- jących rodzaj zagrożenia		
Trisodium nitrilotri- acetate	607-620-00-6	225-768-6	5064-31-3	Carc. 2 Acute Tox. 4* Eye Irrit. 2	H351 H302 H319	GHS08 GHS07 Wrg	H351 H302 H319	Carc 2; H351:C ≥ 5%	

Objaśnienia:
Carc. 2 – rakotwórczość, kategoria 2, H351 – podejrzewa się, że powoduje raka.
GHS07 – zagrożenie dla zdrowia – działanie drażniące na oczy.
GHS08 – zagrożenie dla zdrowia – kategoria zagrożenia 2 (podejrzewa się, że powoduje raka).
Acute Tox. 4* – toksyczność ostra – kategoria 4; H302 – działa szkodliwie po połknięciu.
Eye Irrit. 2 – działanie drażniące na oczy – kategoria 2; H319 – działa drażniąco na oczy.
Wrg – Warning – uwaga (ostrzeżenie).

Ponadto (wg danych ECHA) w kartach tych można znaleźć opisy przedstawione w tabeli 3.

Tabela 3.
Oznakowania substancji wytwarzanych przez różnych producentów (wg ECHA 2019)

Nazwa związku, numer CAS	Oznakowania producentów	Stosowane przez % producentów
Kwas nitrylotrioctowy CAS: 139-13-9	H319 – działa drażniąco na oczy (kategoria 2) H351 – podejrzewa się, że powoduje raka (rakotwórczość – kategoria 2) H302 – działa szkodliwie po połknięciu (toksyczność ostra doustna)	98% 78% 27%
Sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego CAS: 15467-20-6	H302 – działa szkodliwie po połknięciu (toksyczność ostra doustna) – kategoria 4 H351 – podejrzewa się, że powoduje raka (rakotwórczość – kategoria 2)	100% 89%
Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego, monohydrat CAS: 18662-53-8	H302 – działa szkodliwie po połknięciu (toksyczność ostra doustna, kategoria 4) H319 – działa drażniąco na oczy (kategoria 2) H351 – podejrzewa się, że powoduje raka (rakotwórczość – kategoria 2)	100% 98% 96%

Właściwości fizykochemiczne

Kwas nitrylotrioctowy i jego sole sodowe to zwykłe białe, krystaliczne ciała stałe, bez zapachu (tab. 4.).
Najwięcej informacji o właściwościach fizykochemicznych jest dostępnych dla dwóch najczęściej stosowanych związków: kwasu nitrylotrioctowego (NTA; CAS: 139-13-9) oraz jego soli trisodowej (Na₃NTA; CAS: 5064-31-3). Są to związki o temperaturach topnienia odpowiednio: 245 i 300 °C, zbliżonych gęstościach (1,67

i 1,77 g/cm³) oraz bardzo niskich prężnościach par. Kwas nitrylotrioctowy w niewielkim stopniu rozpuszcza się w wodzie, zaś jego sól trisodowa jest w niej rozpuszczalna bardzo dobrze (tab. 4.).
Na podstawie obliczonych wartości log P_{o/w} wynoszących dla kwasu nitrylotrioctowego i jego soli trisodowej odpowiednio: -2,6 i -3,81 można oczekiwać, że związki te będą miały niewielki potencjał do biokumulacji (LOUS 2014).

Tabela 4.
Właściwości fizykochemiczne kwasu nitrylotrioctowego i jego soli (HSDB 2019; IARC 1990; 1999; LOUS 2014; MAK 2014; NTA Canada 1990; RoC 14th ed.; SCCS 2010)

Nazwa chemiczna	Kwas nitrylotrioctowy	Sól sodowa kwasu nitrylotrioctowego	Sól monosodowa kwasu nitrylotrioctowego	Sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego	Sól disodowa jednowodnego kwasu nitrylotrioctowego	Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego	Sól sodowa kwasu nitrylotrioctowego, jednowodna
Numer CAS	139-13-9	10042-84-9	18994-66-6	15467-20-6	23255-03-0	5064-31-3	18662-53-8
Masa cząsteczkowa	191,14	213,12	213,12	235,10	253,12	257,08	275,10
Postać	białe lub prawie białe, krystaliczne ciało stałe, bez zapachu	> 300 °C	> 300 °C	ciąło stałe	bd.	bezbabarwne lub białe, krystaliczne ciało stałe	białe ciało stałe
Temp. topnienia	245 ÷ 246 °C	bd.	bd.	300 °C	bd.	300 °C	> 300 °C
Temp. wrzenia	429 °C	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.
Temp. rozkładu	240 ÷ 242 °C	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.
Gęstość względna (masa właściwa) d ₄ ²⁰	1,67 g/cm ³ (w 20 °C)	bd.	bd.	bd.	bd.	1,77 g/cm ³ (w 20 °C)	1,782 g/cm ³
Prężność par	> 1 g/cm ³ (w 20 °C) 7 · 10 ⁻⁹ mmHg (9,33 · 10 ⁻⁷ Pa, w 25 °C) 3 · 10 ⁻⁵ mmHg (4 · 10 ⁻³ Pa, w 25 °C)	bd.	bd.	bd.	bd.	8,08 · 10 ⁻¹⁰ mmHg (1,1 · 10 ⁻⁷ Pa, w 25 °C)	bd.
Względna prężność par (powietrze = 1)	brak danych	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.
Temp. zapłonu	100 °C (tygiel zamknięty)	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.
Temp. samozapłonu	> 400 °C (w 1013 hPa)	bd.	bd.	bd.	bd.	> 200 °C (w 1013 hPa)	bd.
Granice wybuchowości	brak danych	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.
Współczynnik podziału n-oktanol/woda (log P _{ow})	-3,81	bd.	bd.	bd.	bd.	-2,62	bd.
Rozpuszczalność w wodzie	< 0,1 g/l w 23 °C 1,28 g/l w 22,5 °C 5,91 g/l w 25 °C	bd.	bd.	bd.	bd.	ok. 640 g/l w 20 °C 1 000 g/l w 25 °C	500 g/l w 25 °C 1 000 g/l w 25 °C
Rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach	rozpuszcza się w etanolu; słabo w DMSO; nierozpuszczalny w większości rozpuszczalników organicznych	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.
Współczynniki przeliczeniowe w warunkach normalnych (w temp. 25 °C; ciśn. 101,3 kPa)	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	bd.	1 mg/m ³ = 7,82 ppm 0,128 mg/m ³ = 1 ppm (IARC 1999)

Objaśnienie:
bd. – brak danych.

Występowanie, otrzymywanie, zastosowanie, narażenie

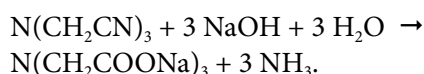
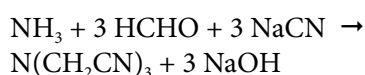
Kwas nitrylotrioctowy (NTA; CAS: 139-13-9) jest syntetycznym związkiem, który nie występuje w przyrodzie. Po raz pierwszy został zsyntetyzowany w 1862 r. przez *Heinricha Heintza*, a w 1865 r. opisano jego właściwości fizykochemiczne (*Anderson i in.* 1985). Związek początkowo był stosowany jako czynnik zapobiegający osadzaniu się kamienia kotłowego. Food and Drug Administration (FDA) dopuściła wykorzystanie kwasu nitrylotrioctowego (w ilości 5 mg/kg) jako dodatek do wody w bojlerach z parą wodną stosowaną w produkcji żywności, z wyjątkiem przemysłu mleczarskiego (FDA 1987; IARC 1990).

Od 1930 r. kwas nitrylotrioctowy stosowano w przemyśle tekstylnym przy farbowaniu tkanin. Wykorzystuje się go do kompleksowania jonów metali powodujących niejednolite barwienie. Kwas nitrylotrioctowy zapobiega także rozkładowi nadtlenu i wodorosiarczku (katalizowanemu przez śladowe ilości metali), co wykorzystuje się w przemyśle papierniczym (*Jędra, Malanowska* 1995).

Od ponad 50 lat kwas nitrylotrioctowy jest stosowany także jako zamiennik EDTA w środkach wybielających i dezynfekcyjnych zawierających podchloryn i IV-rzędowe sole aminowe. Producenci soli $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ podają, że stosowanie ich produktów jest skuteczniejsze niż stosowanie innych środków chelatujących – ten sam skutek można osiągnąć po stosowaniu o 32% mniejszych ilości Na_3NTA niż EDTA (*Ascend* 2017).

Obecnie kwas nitrylotrioctowy wykorzystuje się do produkcji proszków do prania (jako środek chelatujący i wypełniacz). Jest to spowodowane jego zdolnością chelatowania jonów metali ziem rzadkich, wapnia i magnezu (składników tzw. twardej wody) i przeprowadzaniu ich w kompleksy rozpuszczalne w wodzie (DOW 2011; IARC 1990; *Jędra, Malanowska* 1995; LOUS 2014).

Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego (Na_3NTA) jest otrzymywana przemysłowo z formaldehydu, cyjanku sodu (lub cyjanowodoru) i wodorotlenku sodu według reakcji (DOW 2011; LOUS 2014):



Otrzymany produkt ma wysoką czystość (98 ÷ 99%), jest stosowany bezpośrednio, w postaci 40-procentowego roztworu lub służy do wytwarzania soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego w postaci proszku, a zakwaszony do pH 1 ÷ 2 – do uzyskania kwasu nitrylotrioctowego (*Anderson i in.* 1985; Risk assessment 2008).

Podczas rozkładu termicznego soli trisodowych kwasu nitrylotrioctowego mogą być emitowane toksyczne pary NO_x , CN^- , NaO oraz Na_2O (*Lewis* 2004). W środowisku naturalnym kwas nitrylotrioctowy rozkłada się ostatecznie do ditlenku węgla, wody i związków azotu nieorganicznych (tlenków azotu). Szybka biotransformacja kwasu nitrylotrioctowego i jego soli w środowisku sprawiła, że związki te uznano za bezpieczne i zaczęto stosować zamiast EDTA i DTPA (innych związków chelatujących) oraz fosforanów w proszkach do prania i czyszczenia (*Means i in.* 1980).

W latach 80. XX wieku moce produkcyjne dla kwasu nitrylotrioctowego i jego soli w Europie oszacowano na 50 000 t, a w USA – na 30 000 t/rok (IARC 1990). Dane z 1995 r. podają, że kwas nitrylotrioctowy i jego sole produkowano w 10 krajach (IARC 1999). Według CEFIC (2001) w krajach Europy Zachodniej w 1999 r. wprowadzono na rynek ok. 27 000 t soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego. Około 67% wykorzystano w środkach czyszczących do użytku domowego i przemysłowego, 3,7% – do czyszczenia tekstyliów w przemyśle i gospodarstwie domowym, a pozostałe 29% w innych dziedzinach przemysłu (uzdatnianie wody, obróbka gumy, przemysł włókienniczy, papierniczy, laboratoria chemiczne i materiały fotograficzne), (Risk assessment 2008).

W 2009 r. światowe użycie soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego osiągnęło 38 000 t, z czego 80% wykorzystano do produkcji związków czyszczących, 5,6% – do produkcji tekstyliów, 2,1% – do uzdatniania wody, po 0,5% – do produkcji papieru i gumy, a ok. 11% – w innych gałęziach przemysłu (DOW 2011).

Narażenie zawodowe ludzi na kwas nitrylotrioctowy i jego sole może być związane z ich produkcją, dalszym przetwarzaniem oraz stosowaniem preparatów je zawierających. W handlu dostępna jest najczęściej sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego w postaci białego, krystalicznego proszku (o czystości $98 \div 99\%$) oraz 40-procentowych roztworów wodnych. Ze względu na właściwości fizykochemiczne (ciało stałe w temperaturze pokojowej, niskie ciśnienie par) zakłada się, że narażenie inhalacyjne na pary podczas postępowania z roztworami (bez tworzenia aerozoli) jest znikome. W czasie ekspozycji na Na_3NTA w postaci proszku należy spodziewać się narażenia na pył podczas produkcji oraz napełniania i ładowania opakowań (najczęściej worków po min. 25 kg) do transportu. Podczas stosowania preparatów wodnych pod wysokim ciśnieniem możliwe jest narażenie na aerozol drogą inhalacyjną. Roztwory kwasu nitrylotrioctowego i jego soli to płyny o niskiej lepkości, które po rozlaniu stają się śliskie (Risk assessment 2008).

W Polsce nie ma danych o liczbie pracowników ekspozowanych na kwas nitrylotrioctowy i jego sole.

Narażenie zawodowe próbowano określić w USA u 2 600 pracowników narażonych na sole kwasu nitrylotrioctowego w czasie ich produkcji i stosowania (przy produkcji detergentów). Pracownicy ładujący kwas nitrylotrioctowy na samochody samowyladowcze byli narażeni na największe stężenia związków. W jednym z pomiarów średnie stężenie NTA w miejscu pracy (podczas produkcji) wynosiło $0,033 \text{ mg/m}^3$, a w okolicy ładowarki samochodowej – $0,82 \text{ mg/m}^3$ (EPA 1979; IARC 1990; UAREP 1985).

Inne źródła podają, że przy produkcji środków czyszczących/myjących w obszarze opróżniania worków z soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego stężenia pyłu całkowitego (mierzone w latach 1979-1997) mieściły się w granicach $0,24 \div 3,7 \text{ mg/m}^3$ (średnio $1,6 \text{ mg/m}^3$), (Risk assessment 2008).

Według badań z lat 1981-1983, dotyczących oceny ekspozycji zawodowej w USA, potencjalnie narażonych na kwas nitrylotrioctowy było 25 216 pracowników (w tym ponad 7 169 kobiet), (NIOSH/OSHA 1998), a na jego sól trisodową – 249 479 osób (RoC 14th ed.)

Na początku lat 70. XX wieku zanotowano możliwość narażenia na związek pracowników oczyszczalni ścieków (Anderson i in. 1985; IARC 1990).

Szacuje się, że pracownicy mający kontakt z detergentami są narażeni na dawki do $4,6 \text{ } \mu\text{g}$ NTA/kg mc./dzień (UAREP 1985), a średnie dawki w ciągu całego życia oszacowano na mniej niż $1 \text{ } \mu\text{g}$ /kg mc./dzień dla wszystkich robotników pracujących przy formulacji lub stosujących produkty zawierające $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (CanTox 1996). Oszacowano także, że dzienna ekspozycja konsumentów (populacji generalnej) w USA na kwas nitrylotrioctowy i jego sole ze wszystkich możliwych źródeł (woda pitna, prysznic, kąpiel, pozostałości związków na upranej odzieży i naczyniach kuchennych, wdychanie detergentów, kontakt z wodą w czasie prania i mycia naczyń) nie przekracza $1 \text{ } \mu\text{g}$ /kg mc. (HSDB 2019; IARC 1999).

W latach 1971-1972 w Kanadzie średni poziom kwasu nitrylotrioctowego w detergentach wynosił 6%, a w latach 1973-1975 wzrósł do 15% (IARC 1990). Obecnie stosuje się preparaty czyszczące zawierające 25% NTA (DOW 2011). Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego jest także składnikiem kosmetyków (w ilości do 5%), (SCCS 2010).

Według szacunków Komisji Europejskiej użycie środków czyszczących w sprayu (do mycia szyb, kuchenek, łazienek), zawierających w składzie ok. $7,5 \div 8\%$ Na_3NTA , może spowodować narażenie konsumentów na ten związek w formie aerozolu w stężeniu ok. 4 mg/m^3 . Narażenie dermalne na płynne środki czyszczące stosowane w gospodarstwie domowym może spowodować dodatkowe wchłonięcie tą drogą ok. $0,059 \text{ mg}$ NTA/kg mc./dzień. Przy czyszczeniu myjkami ciśnieniowymi ekspozycja przez skórę konsumentów może osiągnąć $0,69 \text{ mg/kg}$ mc./dzień. Ponadto kwas nitrylotrioctowy i jego sole pozostałe na upranej odzieży i po myciu naczyń mogą dostarczyć drogą dermalną i pokarmową kwas nitrylotrioctowy w dawkach odpowiednio: $1,7$ i $0,05 \text{ } \mu\text{g}$ /kg mc./dobę (EC 2008a).

W 1993 r. WHO ustaliła międzynarodowy normatyw dla kwasu nitrylotrioctowego w wodzie pitnej na poziomie $200 \text{ } \mu\text{g/dm}^3$ (IARC 1999).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne

Jedyne dostępne dane na temat toksyczności soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na_3NTA) pochodzą z badania przeprowadzonego na 66 ochotnikach. Stwierdzono, że 0,5 ml 20-procentowego roztworu związku (nanoszonego na 24 h) nie powodowało działania uczulającego (Nixon 1971).

Dane epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie i toksykologicznych bazach komputerowych brakuje dokładnych danych epidemiologicznych związanych z narażeniem zawodowym na kwas nitrylotrioctowy i jego sole.

Od 1979 r. na zlecenie producentów, agencji międzynarodowych i rządowych oraz organizacji naukowych są prowadzone oceny (na podstawie obserwacji ludzi i piśmiennictwa światowego) bezpieczeństwa stosowania kwasu nitrylotrioctowego i jego soli dla konsumentów. Na ich podstawie w 1979 r. Agencja Ochrony Środowiska (EPA) Stanów Zjednoczonych oceniająca ryzyko dla konsumentów stosujących preparaty do prania z kwasem nitrylotrioctowym stwierdziła, że nie ma potrzeby podejmowania działań regulacyjnych (EPA 1979). Żadnego ryzyka dla populacji generalnej nie stwierdzili także w 1985 r. eksperci z 15 amerykańskich uniwersytetów stowarzyszonych w UAREP (LOUS 1985; UAREP 1985).

W 1993 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO 1993) ustanowiła zasady dotyczące obecności kwasu nitrylotrioctowego i jego soli w wodzie

pitnej. Ustanowiona norma – $200 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ – znacznie przewyższała stężenie związków w środowisku ($< 10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) notowane w 1996 r. (LOUS 2014).

W 1994 r. w Kalifornii (OEHHA) za bezpieczny (NSRL – *no significant risk level*) uznano poziom kwasu nitrylotrioctowego i jego soli wynoszący $70 \mu\text{g}/\text{dzień}$ (LOUS 2014). W 1996 r. firma Monsanto zleciła ocenę ryzyka, która wykazała, że przy czyszczeniu twardych powierzchni (podłóg) środkami zawierającymi 25% Na_3NTA największy poziom narażenia wynosił $42,4 \mu\text{g}/\text{dzień}$ (Ascend 2017).

W 1994 r. Akademia Rolnicza w Wageningen (Holandia) zleciła badania dotyczące bezpieczeństwa stosowania kwasu nitrylotrioctowego w detergentach. Stwierdzono, że nie należy spodziewać się niekorzystnego wpływu kwasu nitrylotrioctowego i jego soli na ludzi. Użycie środków do mycia i zmywania naczyń prowadzi do ekspozycji, które są ponad 100 000 razy mniejsze niż poziomy związane w ryzykiem działania toksycznego. Stwierdzono również, że nie było znaczącego ryzyka dla pracowników podczas produkcji kwasu nitrylotrioctowego i formułacji produktów, które go zawierały (Brouwer, Terpstra 1995).

Przeprowadzona w Niemczech w 2008 r. ocena ryzyka stosowania kwasu nitrylotrioctowego i jego soli dla zdrowia ludzi wykazała, że w czasie niektórych rodzajów narażenia zawodowego wymagana jest odpowiednia kontrola, ale nie ma potrzeby prowadzenia dalszych prac w celu zmniejszenia ryzyka dla konsumentów (Risk assessment 2008).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Po jednorazowym podaniu dożołądkowym najczęściej stosowanych związków: kwasu nitrylotrioctowego (NTA), soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na_3NTA) i jej postaci uwodnionej ($\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$) wartości DL_{50} dla zwierząt laboratoryjnych wahają się w granicach $1\ 100 \div$

$> 6\ 400 \text{ mg}/\text{kg mc.}$ (najczęściej $1\ 300 \div 1\ 600 \text{ mg}/\text{kg mc.}$), (tab. 5.).

Sól trisodową kwasu nitrylotrioctowego (Na_3NTA) według CLP zaliczono do kategorii 4 toksyczności ostrej, czyli związków, dla których po dożołądkowym podaniu wartość DL_{50} mieści się w granicach $300 \div 2\ 000 \text{ mg}/\text{kg mc.}$, co obserwowano u szczurów (BASF 1978a; 1978b; HSDB

2019; MAK 2014), królików (HSDB 2019) i psów (HSDB 2019; MAK 2014; SCCS 2010). Wartość DL₅₀ dla małpy była mniejsza i wynosiła ok. 750 mg/kg mc. Objawy obserwowane u małp

wskazywały na neurotoksyczność związku, której nie zanotowano u szczurów i psów (Risk assessment 2008).

Tabela 5.
Wartości DL₅₀ i CL₅₀ dla kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli dla zwierząt laboratoryjnych

Gatunek zwierząt	Droga podania	Wartość DL ₅₀ , mg/kg mc.	Wartość CL ₅₀ , mg/m ³	Piśmiennictwo
Kwas nitrylotrioctowy – NTA (CAS: 139-13-9)				
Szczur	dożołądkowa	1 100 1 470 5 340 > 6 400		Angewandte Chemie 1975 HSDB 2019; NTA Canada 1990 Anderson i in. 1985 BASF 1968
Mysz	dożołądkowa dootrzewnowa	3 160 325		Lewis 2004; NTA Canada 1990 CRC 1989
Sól sodowa kwasu nitrylotrioctowego – NaNTA (CAS: 10042-84-9, CAS: 18994-66-6)				
Mysz	dootrzewnowa	460		Revue d'Epidemiologie 1962
Sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego – Na ₂ NTA (CAS: 15467-20-6)				
Szczur	dożołądkowa	1 460		Sigma Aldrich 2019
Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego – Na ₃ NTA (CAS: 5064-31-3)				
Szczur	dożołądkowa	1 100 ÷ 3 500 1 470 ♀ 2 220 ♂ 1 680 2 700 ÷ 3 900		HSDB 2019 MAK 2014; SCCS 2010
	dootrzewnowa	254 ÷ 444		MAK 2014 BASF 1978a; 1978b HSDB 2019
	inhalacyjna		> 5 g/m ³ /4 h	EPA 1980; HSDB 2019; SCCS 2010
Mysz	dożołądkowa dootrzewnowa	681 300 ÷ 680		HSDB 2019 HSDB 2019
Królik	dożołądkowa	> 3 500		HSDB 2019
Pies	dożołądkowa	> 5 000		HSDB 2019; MAK 2014; SCCS 2010
Małpa	dożołądkowa	ok. 750		HSDB 2019; MAK 2014; SCCS 2010
Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego, monohydrat – Na ₃ NTA • H ₂ O (CAS: 18662-53-8)				
Szczur	dożołądkowa	1 300 ♀ 1 600 ♂ 3 800 ♀ 5 300 ♂ 3 710		MAK 2014 MAK 2014 MAK 2014
Mysz	dootrzewnowa	500		Lewis 2004

Objaśnienia:

♀ – samica.

♂ – samiec.

W doświadczeniu, w którym ustalono przybliżoną dawkę śmiertelną dla małp (rezus) wynoszącą 750 mg/kg mc., zostosowano 50-procentową zawiesinę wodną soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego u pięciu zwierząt. Jedna małpa otrzymała dawkę 500 mg/kg mc., dwie – po 1 000 mg/kg mc. oraz dwie – po 2 000 mg/kg mc. Dwie małpy (otrzymujące dawki 500 lub 1 000 mg/kg mc.) zwymiotowały po 1 min od podania, po następnych 10 ÷ 15 min zachowywały się normalnie. Małpa, która otrzymała daw-

kę 1 000 mg/kg mc., padła po 70 min, wcześniej obserwowano u niej niewielki spadek aktywności ruchowej, potem paraliż i padnięcie. Podobne skutki, ale występujące wcześniej, zanotowano u dwóch małp, które otrzymały związek w dawce 2 000 mg/kg mc., a ich padnięcie nastąpiło po 30 min. W czasie autopsji stwierdzono u nich obszary krwotoczne w żołądku (Nixon 1971).

Po jednorazowym dożołądkowym podaniu szczurom Na₃NTA w wodzie w dawkach: 625; 1 250; 2 500 lub 5 000 mg/kg mc. wszystkie

zwierzęta otrzymujące dwie największe dawki padły w ciągu 4 h. Wcześniej zanotowano u nich: ataksję, drżenia mięśniowe, niedotlenienie, hipotermię, wydzielinę z jamy ustnej, nosa i oczu. Autopsja wykazała zmiany w płucach i przewodzie pokarmowym (działanie drażniące pozostałości związku). U zwierząt, które dostały Na_3NTA w dawkach 625 lub 1 250 mg/kg mc., stwierdzono luźny stolec i zabarwienie moczu i/lub kału (w ciągu 24 h od podania). Po dawce 625 mg/kg mc. nie obserwowano innych zmian, zaś u zwierząt, które przeżyły dawkę 1 250 mg/kg mc., zanotowano zmniejszenie spożycia pokarmu następnego dnia. Dwa dni później wszystko wróciło do normy (Monsanto Company 1986).

Jedynie dane na temat toksyczności ostrej po narażeniu zwierząt drogą inhalacyjną dotyczą badań przeprowadzonych na myszach i szczurach. U myszy eksponowanych przez 5 min na aerozol kwasu nitrylotrioctowego o stężeniach: 220; 1 090 lub 1 410 mg/m³ stwierdzono od lekkich poprzez umiarkowane do ciężkich objawy podrażnienia płuc (EPA 1980). U szczurów ($n = 10$), które narażano na NTA o stężeniach 3 300 lub 3 600 mg/m³ przez 4 h, nie zanotowano zmian przez 14 dni obserwacji. Przy użyciu cyklonowego generatora pyłu udało się osiągnąć maksymalne stężenie NTA wynoszące 5 000 mg/m³. Po 4 h narażania szczurów na to stężenie u zwierząt obserwowano wydzielinę z pyska, zwolnienie oddechu oraz częściowo zamknięte oczy. Po zakończeniu ekspozycji zmiany ustąpiły (EPA 1980).

Dane dotyczące toksyczności inhalacyjnej wskazują na niską toksyczność ostrą, która nie wymaga klasyfikacji i oznakowania. W badaniu opisanym przez EPA (1980) podano wartość

LC_{50} dla NTA wynoszącą powyżej 5 000 mg/m³.

W badaniach oceniających narażenie inhalacyjne na NTA stwierdzono, że wartość NOAEC dla działania narządowego dla szczurów i małych wynosi 0,21 mg/l (210 mg/m³). Poprzeliczeniu odpowiada to dawce 60,9 mg/kg mc./dzień (210 mg/m³ NTA · 0,29 m³/kg mc. (objętość oddechowa szczurów w ciągu 6 h)). Wartość NOAEC dla świnek morskich oceniono na 0,34 mg/l (340 mg/m³), (EPA 1980), (tab. 6.).

Dane toksyczności ostrej skórnej dotyczyły 25-procentowego wodnego roztworu $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ nanoszonego na skórę królików w dawkach: 1 000; 1 580; 2 510; 3 980; 6 310 lub 10 000 mg/kg mc. Stwierdzono, że minimalna dawka śmiertelna przekracza 10 000 mg/kg mc. Po większych dawkach (nie podano konkretnie których) u zwierząt obserwowano zmniejszony apetyt i zmniejszenie aktywności ruchowej. Nie zanotowano żadnych zmian miejscowych na skórze. W doświadczeniu nie wykonano badań patomorfologicznych (Monsanto Company 1968).

W testach *Draize'a* oceniających działanie drażniące Na_3NTA na oczy i skórę królików, związek w postaci nawilżonego, drobno zmiełonego proszku nie powodował zmian skórnych po 24-godzinnej ekspozycji (obserwacje prowadzono przez 7 dni), (Monsanto Company 1968). Łagodne podrażnienie skóry (całkowicie ustępujące po 5 dniach) zanotowano w teście *Draize'a* po zastosowaniu 25-procentowego roztworu $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$, który naniesiono na 24 h na uszkodzoną i nieuszkodzoną skórę królików. Obserwowane zmiany (rumień, niewielki obrzęk) ustąpiły w ciągu 3 dni (Monsanto Company 1968).

Tabela 6.
Wpływ kwasu nitrylotrioctowego (NTA) na zwierzęta laboratoryjne po narażeniu inhalacyjnym (EPA 1980)

Gatunek zwierząt	Czas narażenia	Stężenie		Objawy działania toksycznego
		mg/l	mg/m ³	
Szczur, ♂ $n = 10$	4 dni 6 h/dzień	0,002	2	14 dni obserwacji; brak padnięć, badań morfologicznych i histopatologicznych brak zmian; NOAEC podrażnienie błon śluzowych dróg oddechowych (nosa) i oczu
		0,02	20	
		0,2	200	
		2	2 000	
Szczur, $n = 12$ /dawkę; świnka morska, $n = 12$ /dawkę; małpa, $n = 4$ /dawkę	4 tyg. 5 dni/tyg. 6 h/dzień	0,013	13	4 tygodnie narażenia + 2 tygodnie obserwacji – brak śmiertelności NOAEC dla szczurów i małych – brak zmian NOAEC dla świnek morskich (brak zmian); u 1/12 szczurów: duszność podczas pierwszych 2 tyg. ekspozycji; małpy: biegunka, brak działania drażniącego na układ oddechowy
		0,137	137	
		0,21	210	
		0,34	340	

Objaśnienia:

♂ – samiec. n – liczba zwierząt.

Po naniesieniu 0,1 ml 38-procentowej soli Na_3NTA (płyn Trilon A) do worka spojówkowego oka królika po 24 ÷ 48 h stwierdzono zaczerwienienie spojówek, które ustąpiło po 8 dniach. Nie zanotowano zmian rogówki i tęczówki (BASF 1982).

Umiarkowane podrażnienie oczu zanotowano w teście *Draize’a* z użyciem 100 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$, który w postaci drobno zmielonej próbki umieszczono w worku spojówkowym u trzech królików. Zaraz po jej podaniu u zwierząt pojawił się znaczny dyskomfort. Po 1 h obserwowano łzawienie, obrzęk z częściowym wywinięciem powiek, umiarkowane zaczerwienienie i przekrwienie tęczówki. Obrzęk ustąpił po 5 dniach, łagodne zaczerwienienie i zmiany w rogówce notowano jeszcze po 7 dniach (Monsanto Company 1968).

W teście *Buechlera* na świnkach morskich, w którym zastosowano 50-procentowy preparat substancji Trilon A92 (Na_3NTA , czystość 92,4%, biały proszek) w wodzie, nie zanotowano żadnych zmian, co wskazuje, że związek nie działał uczulająco (BASF 1997a).

Wniosek: Kwas nitrylotrioctowy i jego sole nie działały drażniąco na skórę. Zanotowano działanie drażniące związków na błonę śluzową oczu. Nie stwierdzono działania uczulającego.

Toksyczność po podawaniu wielokrotnym

W tabeli 7. przedstawiono wyniki badań krótkoterminowych kwasu nitrylotrioctowego i jego soli po podawaniu szczurom. Zwierzęta były narażane drogą dożołądkową przez okres 21 dni ÷ 7 tygodni. Badania przeprowadzono, podając szczurom sam kwas nitrylotrioctowy oraz jego sól trisodową bezwodną (Na_3NTA) lub jednowodną ($\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$).

W doświadczeniu, w którym szczurom podawano NTA sondą do żołądka przez 21 dni w dawkach 150 ÷ 1 500 mg/kg mc./dzień, skutków toksycznych nie notowano po dawce 150 mg/kg mc./dzień. Po dawkach 500 lub 1 500 mg/kg mc./dzień stwierdzono niekorzystne działanie związku na nerki (zwiększenie względnej masy nerek, zmiany w komórkach kanalików nerkowych). Po dawce 1 500 mg/kg mc./dzień uszkodzenie nerek było wyraźne (BASF 1997b), (tab. 7.).

Pozostałe doświadczenia wykonano na szczurach, którym NTA i jego sole trisodowe podawano w ilościach 150 lub 20 000 mg/kg paszy lub o stężeniach 0,5 ÷ 2%. Wartości te, wyrażone także w mg NTA/kg mc./dzień, przedstawiono w tabeli 7. Najmniejszą dawką $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$, na jaką szczury były narażone w paszy (150 mg/kg paszy) przez 4 tygodnie, było 9 mg Na_3NTA /kg mc./dzień (co odpowiadało dawce 6,7 mg NTA/kg mc./dzień). Wartość tę przyjęto za NOAEL. Po znacznie większej dawce (20 000 mg/kg paszy, czyli 926 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg mc./dzień, co odpowiadało dawce 688 mg NTA/kg mc./dzień) oprócz zmniejszenia masy ciała szczurów zanotowano zmiany w nerkach i moczu, które wskazywały na uszkodzenie nerek, choć bez zmian nowotworowych (Bahnmann i in. 1998; Leibold i in. 2002).

Po narażeniu szczurów na 0,5-procentowy NTA (375 mg NTA/kg mc./dzień) lub 0,5-procentową sól $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (co odpowiadało dawce 260 mg NTA/kg mc./dzień) w paszy obserwowano objawy zaburzenia funkcji nerek (zmniejszenie objętości moczu) oraz zmniejszenie przyrostu masy ciała (Anderson, Kanerva 1978a), (tab. 7.). Wyniki pozostałych doświadczeń czterotygodniowych wskazują na uszkodzenie nerek u szczurów narażonych na kwas nitrylotrioctowy i jego sole trisodowe w paszy (1,5 ÷ 2% w paszy, co odpowiadało dużym dawkom NTA – w granicach 1 040 ÷ 1 125 mg/kg mc./dzień). Obserwowane skutki toksyczne były zbliżone (zmniejszenie masy ciała i spożycia paszy, zwiększenie względnej masy nerek, zmiany histopatologiczne w kanalikach i miedniczkach nerkowych), (Alden i in. 1981; Anderson, Kanerva 1979; Fukushima i in. 1985; Kanerva i in. 1984; Michael, Wakim 1973), (tab. 7.).

Tabela 7.
Toksyczność kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli po wielokrotnym podawaniu zwierzętom laboratoryjnym

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/ wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
NTA (czystość 98 ÷ 99%)	szczur Wistar, ♂, ♀ n = 5 /pleć	sonda dożołądkowa	21 dni	150 mg NTA/kg mc.	brak skutków toksycznych – NOAEL	BASF 1997b
				500 mg NTA/kg mc.	dawka 500 mg/kg mc. i większa: ♂, ♀: wakuolizacja w cytoplazmie proksymalnych kanalików nerkowych, regeneracja kanalików ♂: degradacja kanalików nerkowych (u 1/5 samców) ♀: zwiększenie względnej masy nerek	
				1 500 mg NTA/kg mc.	♂, ♀: zmniejszenie spożycia paszy i masy ciała, objawy kliniczne zatrucia, zwiększenie względnej masy nerek i stężenia mocznika w surowicy, zwiększenie liczby komórek nabłonkowych w kanalikach nerkowych i nabłonku przejściowym, kryształki CaNaNTA w moczu, degradacja kanalików nerkowych, biegunka ♂: rozrost kanalików (u 2/5 samców), krwiomoc ♀: zwiększenie eliminacji komórek nabłonkowych z moczem	
Na ₃ NTA • H ₂ O	szczur Wistar, ♂ n = 5/grupę	150 mg/kg paszy (0,15% w paszy) 20 000 mg/kg paszy (2% w paszy)	4 tygodnie	9 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień (6,7 mg NTA/kg mc./dzień)	2-krotne (nieistotne statystycznie) zwiększenie wydalania Zn z moczem	Bahnmann i in. 1998; Leibold i in. 2002
				926 mg Na ₃ NTA/kg mc./ dzień (688 mg NTA/kg mc./dzień)	NOAEL NOAEL dla działania rakotwórczego; zwiększone spożycie wody (max. 2-krotne), zmniejszenie spożycia paszy i zmniejszenie masy ciała (o 26% w porównaniu z kontrolą); moc: nieprzezroczysty, o barwie czerwono-brunatnej, krwiomoc, zwiększenie objętości i liczby komórek nabłonkowych, zmniejszenie stężenia kreatyniny (po 8 dniach), zwiększenie aktywności LDH (po 2, 4 i 8 dniach), Zn (zwiększenie 30-krotne); nerki: zwiększenie bezwzględnej i względnej masy nerek, zwiększenie peroksydacji lipidów (2,6 razy większe stężenie MDA), wakuolizacja w cytoplazmie, zwyrodnienie i rozrost w bliższych cewkach nerkowych, rozszerzenie miedniczek nerkowych, zwiększenie syntezy DNA w kanalikach proksymalnych i dystalnych kory i rdzenia zewnętrznego (po 1. tygodniu narażenia)	
				375 mg NTA/kg mc./dzień 560 mg NTA/kg mc./dzień 1 125 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie objętości moczu, zmniejszenie przyrostu masy ciała zmniejszenie objętości moczu, obecność kryształów CaNaNTA w moczu zmniejszenie masy ciała i pH moczu, zmniejszenie objętości moczu, obecność kryształów CaNaNTA w moczu, zwiększenie wydalania Ca z moczem	
Na ₃ NTA • H ₂ O	szczur Sprague-Dawley, ♀ n = 5 ÷ 9/ grupę	0,5% w paszy 0,75% w paszy 1,5% w paszy	4 tygodnie	260 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie masy ciała i pH moczu, zmniejszenie objętości moczu, zwiększenie wydalania Ca z moczem	Anderson, Kanerva 1978a
				390 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie masy ciała i pH moczu, zmniejszenie objętości moczu, zwiększenie wydalania Ca z moczem, kryształki CaNaNTA w moczu	
				780 mg NTA/kg mc./dzień 1 040 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie masy ciała i pH moczu, zwiększenie objętości moczu, zwiększenie wydalania Ca z moczem, kryształki CaNaNTA w moczu, zwiększenie stężenia hemoglobiny w moczu	

cd. tab. 7.

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/ wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
NTA	szczur Sprague-Dawley, ♂, ♀ n = 5/grupę	1,5% w paszy	4 tygodnie	1 125 mg NTA/kg mc./dzień	♂, ♀: kryzstały CaNaNTA w moczu, zwiększenie wydalania Ca z moczem, zmniejszenie pH moczu ♂: hematuria, wodonercze	Anderson, Kanerva 1979
		2% w paszy		1 040 mg NTA/kg mc./dzień	♂, ♀: kryzstały CaNaNTA w moczu, zwiększenie wydalania moczu i pH moczu, względniej masy nerek; hematuria, wodonercze ♀: zwiększenie wydalania Ca z moczem ♂: zmniejszenie masy ciała	
NTA	szczur F344, ♂, ♀ n = 10/grupę	1,5% w paszy	4 tygodnie	1 125 mg NTA/kg mc./dzień	♂, ♀: zmniejszenie spożycia paszy, masy ciała i pH moczu, zwiększenie względnej masy nerek i wydalania Ca z moczem, kryzstały CaNaNTA w moczu, krwiomocz ♂: zmniejszenie objętości moczu	Anderson, Kanerva 1979
		2% w paszy		1 040 mg NTA/kg mc./dzień	♂, ♀: zwiększenie względnej masy nerek, pH moczu i wydalania Ca z moczem, kryzstały CaNaNTA w moczu, krwiomocz ♂: zmniejszenie spożycia paszy i masy ciała ♀: zwiększenie objętości moczu	
Na ₃ NTA • H ₂ O	szczur Sprague-Dawley, ♂, ♀ n = 5/grupę	2% w paszy	4 tygodnie	1 040 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie przyrostu masy ciała, zwiększenie: objętości moczu, pH moczu, względnej masy nerek, wydalania CaNaNTA z moczem, wodonercze; mineralizacja i wakuolizacja w cytoplazmie komórek nabłonkowych kanalików proksymalnych nerek; zwyrodnienie i rozrost nabłonka przejściowego w miedniczkach nerkowych z reakcją zapalną	Alden i in. 1981
		2% w paszy (szczep CD)		1 040 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie masy ciała, zwiększenie względnej masy nerek; rozszerzenie miedniczki nerkowej (wodonercze) i moczowodu, pogrubienie nabłonka moczowodu	
	szczur F344, ♂ n = 5/grupę/szczep	3,5% w paszy (szczep F344)	4 tygodnie	1 820 mg NTA/kg mc./dzień		Kanerva i in. 1984
		2% w paszy			brak nowotworów; zwiększenie ilości i pH moczu, zwiększenie wydalania Zn z moczem, zmniejszenie osmolarności moczu i poziomu elektrolitów (K, Ca, Cl) w moczu	
Na ₃ NTA	szczur Sprague-Dawley, ♂, ♀ n = 10/grupę	2% w paszy	30 dni	1 040 mg NTA/kg mc./dzień	♂, ♀: zmniejszenie spożycia paszy i masy ciała, zwiększenie pH moczu, zwiększenie wydalania: Ca (5,3-krotnie u samic, 5-krotnie u samców), Zn (17,6-krotnie u samic, 16,6-krotnie u samców) i Na (1,7-krotnie u samic, 3,9-krotnie u samców) z moczem, zmniejszenie wydalania Ca i P z kałem	Michael, Wakim 1973
					♀: zmniejszenie wydalania Zn z kałem (o 50%), zwiększenie stężenia Na i Zn w surowicy	
Na ₃ NTA • H ₂ O	szczur Sprague-Dawley	0,73 mmol /kg mc./dzień p.o., w wodzie zgłębnikiem	30 dni	187,6 mg/kg mc./dzień	dwa zwierzęta z każdej grupy zabijano 24 h po podaniu w 9., 13., 16., 20., 23., 27. i 30. dniu po 9 dniach – wakuolizacja cytoplazmatyczna i rozrost proksymalnych kanalików krętych po 13 dniach – zmiany w nabłonku miedniczki nerkowej, ogniskowy krwotok, martwica, przerost miedniczki nerkowej	Merski 1982
		7,3 mmol/kg mc./dzień p.o., w wodzie zgłębnikiem		1 876 mg/kg mc./dzień	toksyczność kwasu nitrylotrioctowego – uszkodzenie nerek	

cd. tab. 7.

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/ wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
NTA	szczur Sprague-Dawley, ♂ $n = 4 \div 10$ grupę	1,5% w paszy (79 mmol/kg paszy)	5 tygodni	1125 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie: masy ciała, pH moczu; zwiększenie: względnej masy nerek, stężenia Na, K, Mg i wody w kale; hemoglobinuria	Anderson, Kanerva 1978b
Na ₃ NTA • H ₂ O		2% w paszy (73 mmol/kg paszy)		1040 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie masy ciała, hemoglobinuria; zwiększenie: względnej masy nerek, pH moczu, stężenia Na, Zn i Ca w moczu, Na, K, Mg i wody w kale	
NTA	szczur Sprague-Dawley, ♂ $n = 6 \div 8$ grupę	1,5% w paszy	7 tygodni	1125 mg NTA/kg mc./dzień	skutki odwracalne: - wakuolizacja w cytoplazmie komórek nabłonkowych i hiperplazją proksymalnych kanalików nerkowych; - rozrost guzkowy (zasadochłonny) kanalików nerkowych; - rozrost nabłonka przejściowego miedniczki nerkowej	Myers i in. 1982
Na ₃ NTA • H ₂ O		2% w paszy		1040 mg NTA/kg mc./dzień	skutki odwracalne: - wakuolizacja w cytoplazmie komórek nabłonkowych i hiperplazją proksymalnych kanalików nerkowych; - rozrost guzkowy (zasadochłonny) kanalików nerkowych; - rozrost nabłonka przejściowego miedniczki nerkowej; - powiększenie miedniczki nerkowej/nadżerka z zapaleniem (u 4/7 szczurów) efekt nieodwracalny: wodonercze	

Objaśnienia:
♂ – samica.
♂ – samiec.

Toksyczność podprzewlekła

Informacje o toksyczności podprzewlekłej kwasu nitrylotrioctowego i jego soli trisodowej pochodzą z badań wykonanych na: szczurach, myszach i psach (tab. 8.).

Po narażeniu dwóch szczepów szczurów (Sprague-Dawley i CD Charles River) na Na_3NTA w wodzie o stężeniach $0,01 \div 1\%$ (co odpowiadało dawkom $7,4 \div 740$ mg NTA/kg mc./dzień) zanotowano zwiększenie stężenia glukozy we krwi szczurów Sprague-Dawley już po najmniejszej dawce ($7,4$ mg NTA/kg mc./dzień). U szczurów CD Charles River dawkę $7,4$ mg NTA/kg mc./dzień ($0,01\%$ w wodzie) przyjęto za wartość NOAEL. Po większych dawkach (37 lub 74 mg NTA/kg mc./dzień) zanotowano nasilające się zmiany – zwiększenie względnej masy nerek, wakuolizację w kanalikach nerkowych, zwiększenie stężenia glukozy we krwi i glikozurię. Po największej dawce (740 mg NTA/kg mc./dzień) u szczurów Sprague-Dawley stwierdzono także zmniejszenie masy ciała, zwiększenie śmiertelności oraz zmiany histopatologiczne w nerkach (Mahaffey, Goyer 1972), (tab. 8.).

W doświadczeniu, w którym Na_3NTA podawano przez 90 dni szczurom w paszy (w stężeniach $2\,000 \div 20\,000$ mg/kg paszy), stwierdzono brak skutków toksycznych po dawce 110 mg NTA/kg mc./dzień ($2\,000$ mg/kg paszy), co przy-

jęto za wartość NOAEL. Po większych dawkach ($420 \div 1\,125$ mg NTA/kg mc./dzień) zanotowano zmiany w nerkach nasilające się wraz z dawką (Nixon 1971), (tab. 8.).

Narażenie myszy na NTA i $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w paszy (stężenie 1%) przez 12 tygodni spowodowało oprócz zmian w nerkach także hepatotoksyczność związków (zwiększenie aktywności LDH, AST i ALT we krwi), (Matsuki i in. 1992), (tab. 8.).

W doświadczeniu wykonanym na psach, którym Na_3NTA podawano w diecie (stężenia: $0,03$; $0,15$ lub $0,5\%$) przez 90 dni, dawkę najmniejszą ($5,6$ mg NTA/kg mc./dzień) uznano za wartość NOAEL. W eksperymencie tym autorów interesowały głównie zmiany związane z gospodarką Zn w organizmie. Zanotowali zwiększenie wydalania Zn z moczem oraz niewielkie depozyty Zn w kościach. Nawet po podawaniu największej dawki 87 mg NTA/kg mc./dzień ($0,5\%$ w diecie) u zwierząt nie zanotowano zmian hematologicznych i histopatologicznych (Budny i in. 1973), (tab. 8.).

Tabela 8.
Toksyczność podprzewlekła kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli dla zwierząt laboratoryjnych

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Źródło
Na ₃ NTA	szczur Sprague-Dawley, ♂ n = 9/grupę	0,01% w wodzie pitnej	10 tygodni	7,4 mg NTA/kg mc./dzień	nerka – narząd docelowy, uszkodzenie szybko indukowane; zwiększenie stężenia glukozy we krwi	Mahaffey, Goyer 1972
		0,1% w wodzie pitnej		74 mg NTA/kg mc./dzień	zwiększenie stężenia glukozy we krwi, zwiększenie względnej masy nerek	
		1% w wodzie pitnej		740 mg NTA/kg mc./dzień	zwiększenie stężenia glukozy we krwi, zwiększenie względnej masy nerek, zmniejszenie mc., zwiększenie śmiertelności (6/9 szczurów padło w 4. tygodniu, reszta została uśmiercona); wakuolizacja kanalików nerkowych, glikozuria (u 5/7 szczurów)	
	szczur CD Charles River, ♂ n = 25/grupę	0,01% w wodzie pitnej	10 tygodni	7,4 mg NTA/kg mc./dzień	NOAEL (badanie ograniczone do masy ciała oraz stężeń mocznika i glukozy we krwi)	Mahaffey, Goyer 1972
		0,05% w wodzie pitnej		37 mg NTA/kg mc./dzień	zwiększenie stężenia glukozy we krwi	
		1% w wodzie pitnej		740 mg NTA/kg mc./dzień	wakuolizacja kanalików nerkowych, duża śmiertelność, brak zmian masy ciała i histopatologicznych	
	szczur Sprague-Dawley, ♂, ♀ n = 10/grupę	2 000 ppm w paszy (2 000 mg/kg paszy), (0,2% w paszy)	90 dni	110 mg NTA/kg mc./dzień	brak zmian w nerkach – NOAEL	Nixon 1971
		7 500 ppm w paszy (7 500 mg/kg paszy), (0,75% w paszy)		420 mg NTA/kg mc./dzień	łagodne zwyrodnienie komórek kanalka nerkowego u 4/10 samców, atrofia kanalików nerkowych u 2/10 samców	
		10 000 ppm w paszy (10 000 mg/kg paszy), (1% w paszy)		560 mg NTA/kg mc./dzień	zmiany w nerkach nasiliły się; ♂, ♀: zmniejszenie masy ciała, zwiększenie względnej masy nerek, u 63% zwierząt wodonercze, zmniejszenie liczby erytrocytów ♂: wakuolizacja, degeneracja komórek nabłonkowych w kanalikach nerkowych, rozszerzenie kanalików	
NTA	mysz C3H/He, ♂ n = 10	20 000 ppm w paszy (20 000 mg/kg paszy), (2% w paszy)	12 tygodni	1125 mg NTA/kg mc./dzień	♂, ♀: zwiększenie względnej masy nerek, wodonercze ♂: wakuolizacja, degeneracja komórek nabłonkowych w kanalikach nerkowych, rozszerzenie kanalików, zmniejszenie hemoglobiny we krwi	Matsuki i in. 1992
		1% w paszy		1 500 mg NTA/kg mc./dzień	zwiększenie masy ciała i bezwzględnej masy nerek, rozrost nerek (u 1/10 myszy), zwiększenie stężenia azotu mocznikowego we krwi oraz zwiększenie aktywności LDH, AST i ALT we krwi	
		1% w paszy		1 000 mg NTA/kg mc./dzień	zwiększenie stężenia azotu mocznikowego we krwi oraz zwiększenie aktywności LDH, AST i ALT we krwi	

cd. tab. 8.

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Na ₃ NTA	pies beagle, 16♂, 16♀	0,03% w diecie (300 mg/kg)	90 dni	5,6 mg NTA/kg mc./dzień (8 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień)	♂, ♀: brak zmian w wydalaniu Zn z moczem (NOAEL)	Budnyi in. 1973
		0,15% w diecie (1 500 mg/kg)		24,6 mg NTA/kg mc./dzień (38 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień)	♂: zwiększenie (1,75-krotne) wydalania Zn z moczem ♀: zwiększenie (6-krotne) wydalania Zn z moczem depozyty Zn w kościach	
		0,5% w diecie (5 000 mg/kg)		87 mg NTA/kg mc./dzień (125 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień)	♂, ♀: depozyty Zn w kościach, brak zmian w badaniach hematologicznych i histopatologicznych ♀: zwiększenie (3,4-krotne) wydalania Zn z moczem ♂: zwiększenie (2,5-krotne) wydalania Zn z moczem	

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.

Toksyczność przewlekła

Wyniki przewlekłego narażenia szczurów na kwas nitrylotrioctowy i jego sole przedstawiono w tabeli 9. Umieszczono tam wyniki eksperymentów, w których szczury były ekspozowane przez okres minimum 28 ÷ 30 tygodni. Najmniejszą dawką, jaką wtedy badano, było 26 mg NTA/kg mc./dzień (500 mg Na₃NTA · H₂O/kg paszy). Zanotowano rozrost nabłonka przejściowego w miedniczkach nerkowych – skutek ten nasilał się wraz ze zwiększaniem dawki (*Hiasa i in.* 1984).

W innych trwających 28 ÷ 30 tygodni doświadczeniach szczurom podawano znacznie większe dawki NTA i jego soli Na₃NTA · H₂O (520 ÷ 1 560 mg NTA/kg mc./dzień). Obserwowano wtedy rozrost komórek pęcherza moczowego, zmniejszenie masy ciała i nerek oraz zmiany histopatologiczne w nerkach (*Hiasa i in.* 1985a; 1985b; *Kitahori i in.* 1988), (tab. 9.).

W innym badaniu najmniejszy poziom, na jaki narażano szczury przez 2 lata, wynosił 200 mg Na₃NTA · H₂O/kg paszy (200 ppm w paszy). Odpowiadało to dawce 6,9 mg NTA/kg mc./dzień (*Alden, Kanerva* 1982a; NCI 1977), (tab. 9.). U samców obserwowano wtedy rozrost tkanki nabłonkowej pęcherza moczowego. Przy większych poziomach narażenia – 2 000 mg Na₃NTA · H₂O/kg paszy (czyli 70 mg NTA/kg mc./dzień) – zmiany rozrostowe (u samic i samców) i dysplastyczne nasilały się. Dawkę 2 000 mg Na₃NTA · H₂O/kg paszy (70 mg NTA/kg mc./dzień) podawaną szczurom przez 2 lata uznano za wartość NOAEL dla działania rakotwórczego (NCI 1977). Po największej dawce – 20 000 mg Na₃NTA · H₂O/kg paszy, czyli 700 mg NTA/kg mc./dzień – zanotowano zmiany rakotwórcze w nerkach (opisane w tab. 17.), (*Alden, Kanerva* 1982a; NCI 1977).

Narażenie szczurów na NTA i Na₃NTA · H₂O w paszy (7 500 lub 15 000 ppm, czyli 7 500 lub 15 000 mg/kg paszy, co odpowiadało dawkom 260 ÷ 520 mg NTA/kg mc./dzień) przez 18 miesięcy z późniejszym 6-miesięcznym okresem bez ekspozycji powodowało zależne od dawki zmniejszenie przyrostu masy ciała, przewlekłe zapalenie nerek oraz występowanie nowotworów układu moczowego (opisane w tabelach 15. i 16.), (*Alden, Kanerva* 1982b; NCI 1977), (tab. 9.).

Duże poziomy Na₃NTA (20 000 mg/kg paszy, które po tygodniu zmniejszono do 15 000 mg/kg paszy, co odpowiadało dawkom 716 ÷ 805 mg NTA/kg mc./dzień) podawane szczurom przez 2 lata wywołały m.in.: zmniejszenie masy ciała i spożycia paszy, zwiększenie względnej i bezwzględnej masy nerek, zapalenie i zanik jąder, zmiany w nerkach samców (tab. 9.). Zmiany nowotworowe (w nerkach i komórkach Leydiga) obserwowane w tym doświadczeniu opisano w tabeli 21. (BASF 2006).

W czasie narażania myszy na Na₃NTA · H₂O (5 000 mg/l wody pitnej) przez 26 tygodni autorzy stwierdzili, że związek nie był rakotwórczy dla myszy (*Greenblatt, Lijinsky* 1974). Inni eksperci byli zdania, że dawka była stosunkowo mała, a ekspozycja zbyt krótka do oceny działania rakotwórczego (Risk assessment 2008).

W doświadczeniach trwających 18 miesięcy (oraz dodatkowe 3 miesiące bez narażenia) u samców myszy ekspozowanych na Na₃NTA · H₂O w dawkach 260 lub 520 mg NTA/kg mc./dzień (2 500 lub 5 000 ppm w paszy) zanotowano zmniejszenie przyrostu masy ciała oraz nowotwory układu krwiotwórczego (opisane w tab. 19.). Po większych dawkach – 1 125 lub 2 250 mg NTA/kg mc./dzień (7 500 lub 15 000 ppm w paszy) – oprócz zależnego od dawki zmniejszenia przyrostu masy ciała, stwierdzono także zwiększenie masy nerek, wodonercze i guzy nerek (opisane w tab. 18.), (NCI 1977), (tab. 9.).

Tabela 9.
Toksyczność przewlekle kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli dla zwierząt doświadczalnych

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy / wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Na ₃ NTA • H ₂ O	szczur Wistar, ♂ n = 24	500 mg/kg paszy (0,05% w paszy)	30 tygodni	26 mg NTA/kg mc. /dzień (35,5 mg Na ₃ NTA/kg mc. /dzień)	rozrost nabłonka przejściowego w miedniczkach nerkowych	Hiasa i in. 1984
		1000 mg/kg paszy (0,1% w paszy)		52 mg NTA/kg mc. /dzień	rozrost nabłonka przejściowego w miedniczkach nerkowych, zmniejszenie masy ciała, zwiększenie częstości ognisk atypowych komórek w kanalikach nerkowych	
NTA	szczur Wistar, ♂ n = 15	1% w paszy	30 tygodni	720 mg NTA/kg mc. /dzień	rozrost komórek pęcherza moczowego (u 1/15 szczurów)	Kitahori i in. 1988
		1% w paszy		520 mg NTA/kg mc. /dzień	rozrost komórek pęcherza moczowego (u 11/15 szczurów)	
Na ₃ NTA • H ₂ O	szczur Wistar, ♂ n = 19 ÷ 20	10 000 mg/kg paszy (1% w paszy)	28 tygodni	520 mg NTA/kg mc. /dzień	rozrost komórek pęcherza moczowego (u 7/19 szczurów, kontrola 0/20), zmniejszenie masy ciała i bezwzględnej masy nerek	Hiasa i in. 1985a
		3 000 mg/kg paszy (0,3% w paszy)		156 mg NTA/kg mc. /dzień	hiperplazja kanalików nerkowych, niewielkie torbielowate rozszerzenie kanalików nerkowych	
NTA	szczur Fischer, ♂, ♀ n = 50/grupę kontrola: n = 20	10 000 mg/kg paszy (1% w paszy)	30 tygodni	520 mg NTA/kg mc. /dzień	hiperplazja kanalików nerkowych, niewielkie torbielowate rozszerzenie kanalików nerkowych	Hiasa i in. 1985b
		30 000 mg/kg paszy (3% w paszy)		1 560 mg NTA/kg mc. /dzień	hiperplazja kanalików nerkowych, niewielkie torbielowate rozszerzenie kanalików nerkowych, wodonercze	
NTA (czystość 99,5%)	szczur Fischer, ♂, ♀ n = 50/grupę kontrola: n = 20	7 500 ppm w paszy (7 500 mg/kg paszy), (0,75% w paszy)	18 miesięcy + 6 miesięcy (bez narażenia)	375 mg NTA/kg mc. /dzień	♂, ♀: zależne od dawki zmniejszenie przyrostu masy ciała, przewlekłe zapalenie nerek, rozszerzenie kanalików nerkowych	Alden, Kanerva 1982b; NCI 1977
		15 000 ppm w paszy (15 000 mg/kg paszy), (1,5% w paszy)		750 mg NTA/kg mc. /dzień	♂, ♀: zależne od dawki zmniejszenie przyrostu masy ciała, nasilenie zmian zapalnych w nerkach, rozszerzenie kanalików nerkowych i zwłóknienie śródmiąższowe nerek	

cd. tab. 9.

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy / wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Na ₃ NTA • H ₂ O (czystość 99,5%)	szczur Fischer, ♂, ♀ n = 50/grupę kontrola: n = 20	7 500 ppm w paszy (7 500 mg/kg paszy), (0,75% w paszy)	18 miesięcy + 6 miesięcy (bez narażenia)	375 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (260 mg NTA/kg mc./dzień)	♂, ♀: zmniejszenie przyrostu masy ciała, przewlekłe zapalenie nerek ♀: rozrost komórek nabłonka pęcherza moczowego	Alden, Kanerva 1982b; NCI 1977
		15 000 ppm w paszy (15 000 mg/kg paszy), (1,5% w paszy)		750 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (520 mg NTA/kg mc./dzień)	♂, ♀: zależne od dawki zmniejszenie przyrostu masy ciała, przewlekłe zapalenie nerek; zwiększenie liczby przypadków nowotworów układu moczowego (opisane w tab. 15.)	
	szczur Fischer 344, ♂, ♀ n = 24/grupę	200 mg/kg paszy (200 ppm), (0,02% w paszy)	2 lata	10 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (6,9 mg NTA/kg mc./dzień)	♂: rozrost nabłonka pęcherza moczowego (u 3/23 szczurów), (LOAEL)	Alden, Kanerva 1982a; NCI 1977
		2 000 mg/kg paszy (2 000 ppm), (0,2% w paszy)		100 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (70 mg NTA/kg mc./dzień)	NOAEL dla działania rakotwórczego ♂: rozrost nabłonka przejściowego w moczowodzie (u 4/24) i pęcherzu (3/24) ♀: rozrost (13/24) i dysplazja (3/24) komórek nabłonka pęcherza moczowego	
Na ₃ NTA • H ₂ O (czystość 92,2%)		20 000 mg/kg paszy (20 000 ppm), (2% w paszy)		1 000 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (700 mg NTA/kg mc./dzień)	♂, ♀: zmniejszenie masy ciała (o 10 ÷ 20%), zmiany w nerkach między 60. a 64. tygodniem narażenia: u 59% samców i 9% samic (rozrost komórek nabłonka cewkowego i nabłonka przejściowego w miedniczkach nerkowej); umiarkowane lub ciężkie zapalenie nerek, wodonercze ♂: zwiększenie śmiertelności, nasilenie (związane z wiekiem) nerczy, wakuolizacja w cytoplazmie komórek nabłonkowych kanalików nerkowych (100%, kontrola = 0%) ♀: przejściowy rozrost nabłonka i dysplazja w moczowodzie; nowotwory układu moczowego opisano w tabeli 17.	Nixon i in. 1972
		0,03% w paszy (300 mg/kg paszy)		15 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (11,2 mg NTA/kg mc./dzień)	brak zmian; NOAEL dla działania na nerki	
	szczur CD Charles River, ♂, ♀ n = 50/grupę kontrola: n = 100	0,15% w paszy (1 500 mg/kg paszy)	2 lata (sekcje po 6, 12, 19 i 24 miesiącach)	75 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (56 mg NTA/kg mc./dzień)	łagodna nerczyca po 6 miesiącach narażenia, zwiększenie (2-krotne) wydalanía Zn z moczem, zwiększenie częstości zapalenia nerek i nerczy; brak guzów nerek	
		0,5% w paszy (5 000 mg/kg paszy)		250 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (186 mg NTA/kg mc./dzień)	nerczyca po 6 miesiącach narażenia, wyraźne uszkodzenie nerek (zapalenie nerek); zwiększenie względnej masy nerek u samic (po 12 miesiącach); zwiększenie śmiertelności samców; brak guzów nerek	

cd. tab. 9.

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Na ₃ NTA	szczur Sprague-Dawley, ♂	0,1% w wodzie pitnej (1 000 ppm), (1 000 mg/l wody)	2 lata (704 dni) 7 dni/tyg.	74 mg NTA/kg mc./dzień (100 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień)	zwiększenie śmiertelności w okresie pierwszych 550 dni narażenia (19,7% wobec 11,2% w grupie kontrolnej); 85% zwierząt (kontrolnych i narażanych) przeżyło okres badania, rozrost kanałków nerkowych (u 37% szczurów badanych i 24% kontrolnych); działanie nowotworowe opisano w tabeli 20.	Goyer i in. 1981
Na ₃ NTA • H ₂ O (czystość > 99,5%)	szczur Wistar, ♂, ♀ n = 50/grupę	20 000 mg/kg paszy (2% w paszy), po 1 tygodniu zmniejszona do 15 000 mg/kg paszy (1,5% w paszy)	2 lata	♂: 805 mg NTA/kg mc./dzień (1 170 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień) ♀: 716 mg NTA/kg mc./dzień (1 040 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień)	zwiększenie spożycia wody, zmniejszenie spożycia paszy, zmniejszenie przyrostu masy ciała i masy ciała; nerek; zwiększenie bezwzględnej i względnej masy nerek; zwiększenie częstości występowania i nasilenia przewlekłej nefropatii; wakuolizacja w cytoplazmie cewkowych komórek nabłonkowych, złogi pigmentowe, rozrost, torbiele, zapalenie miedniczek, mineralizacja brodawek, rozszerzenie i rozłany rozrost miedniczek nerkowych i moczowodów; ♂: zwiększenie śmiertelności, wodonercze, zapalenie tętnic krezkowych i jąder, zanik jąder, hipospermia, guzy komórek Leydiga, naczyniaki krwionośne w nerkach, rozłany rozrost gruczołów przytarczycowych; ♀: zmiany w drogach żółciowych; zmiany nowotworowe opisano w tabeli 21.	BASF 2006
Na ₂ NTA	szczur MRC, ♂, ♀ n = 15/pleć	0,5% w wodzie pitnej	84 tygodnie 5 dni/tyg	400 mg Na ₂ NTA/kg mc./dzień (325 mg NTA/kg mc./dzień)	po 104 tygodniach nie zanotowano różnic w toksyczności i zwiększenia częstości występowania nowotworów w porównaniu z grupą kontrolną	Lijinsky i in. 1973
Na ₂ NTA • H ₂ O	mysz Swiss, ♂, ♀ n = 40/grupę	5 g/l wody pitnej (5 000 mg/l)	26 tygodni		myszy zabijano po 35 ÷ 36 tygodniach; zwiększenie liczby gruczolaków płuc po łącznym narażeniu na kwas nitrylotrioctowy i NaNO ₂ (1000 mg/l); według autorów badania kwas nitrylotrioctowy nie był rakotwórczy dla myszy; czas trwania eksperymentu był zbyt krótki, a dawka była stosunkowo mała	Greenblatt, Lijinsky 1974

cd. tab. 9.

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/wodzie	Czas narażenia	Dawka	Objawy działania toksycznego	Źródło
Na ₃ NTA • H ₂ O (czystość 99,5%)	mysz B6C3F ₁ , ♂, ♀ n = 50/grupę kontrola: n = 20	2 500 ppm w paszy (2 500 mg/kg paszy), (0,25% w paszy)	18 miesięcy + 3 miesiące (bez narażenia)	375 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (260 mg NTA/kg mc./dzień)	zmniejszenie przyrostu masy ciała u samic i samców	NCI 1977
		5 000 ppm w paszy (5 000 mg/kg paszy), (0,5% w paszy)		750 mg Na ₃ NTA • H ₂ O/kg mc./dzień (520 mg NTA/kg mc./dzień)	zmniejszenie przyrostu masy ciała u samic i samców (zależne od dawki); wodonercze u samic i samców; zmiany nowotworowe opisano w tabeli 19.	
NTA (czystość 99,5%)	mysz B6C3F ₁ , ♂, ♀ n = 50/grupę kontrola: n = 20	7 500 ppm w paszy (7 500 mg/kg paszy), (0,75% w paszy)	18 miesięcy + 3 miesiące (bez narażenia)	1 125 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie przyrostu masy ciała (zależne od dawki); zwiększenie bezwzględnej masy nerek; wodonercze (u samic i samców)	NCI 1977
		15 000 ppm w paszy (15 000 mg/kg paszy), (1,5% w paszy)		2 250 mg NTA/kg mc./dzień	zmniejszenie przyrostu masy ciała (u samic i samców); wodonercze u samic; zmiany rakotwórcze opisano w tabeli 18.	
Na ₃ NTA	pies beagle n = 2	woda pitna	7 miesięcy (28 tygodni)	1,7 mg NTA/kg mc./dzień (2,5 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień)	zakłócenie (zmniejszenie) procesów mineralizacji kości	Anderson, Dany/chuk 1979

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Dane na temat działania mutagennego i genotoksycznego kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli, pochodzące z doświadczeń wykonanych w warunkach *in vitro*, przedstawiono w tabelach 10. ÷ 12. W tabeli 10. przedstawiono wyniki badań wykonanych dla kwasu nitrylotrioctowego, w tabeli 11. – dla jego soli disodowej (Na₂NTA), a w tabeli 12. – dla soli trisodowej (Na₃NTA) kwasu nitrylotrioctowego.

Kwas nitrylotrioctowy nie indukował mutacji powrotnych u *Salmonella Typhimurium*, *Esche-*

richia coli, *Saccharomyces cerevisiae* i *Schizosaccharomyces pombe*. Nie wywoływał dominujących mutacji letalnych ani śmiertelności związanej z płcią, ale indukował aneuploidię u *Drosophila melanogaster*. Kwas nitrylotrioctowy nie indukował częstości wymian chromatyd siostrzanych i aberracji chromosomalnych w komórkach chomika chińskiego. Dodatnie wyniki testu mikrojądrowego wystąpiły przy dużych stężeniach kwasu nitrylotrioctowego (tab. 10.).

Tabela 10.

Działanie genotoksyczne kwasu nitrylotrioctowego (NTA) w badaniach w warunkach *in vitro*

Typ badania	Gatunek/szczep/typ	Dawka/stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
Mutacje genowe	<i>Salmonella Typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1337, TA1538	54 ÷ 870 µg/plytkę	–	–	Zeiger i in. 1992
	<i>Salmonella Typhimurium</i> TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1538	33 ÷ 2 000 µg/plytkę	–	–	Loprieno i in. 1985
	<i>Salmonella Typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1537	312,5 ÷ 5 000 µg/plytkę	–	–	Nesslany i in. 2008
Mutacje powrotne	<i>Escherichia coli</i> WP2	do 4 000 µg/ml (do 21 mM)	–	NT	Zetterberg 1970
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	do 4 000 µg/ml (do 21 mM)	–	NT	Zetterberg 1970
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	do 4 000 µg/ml (do 21 mM)	–	NT	Zetterberg 1970
Aberracje chromosomowe	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	5 µg/ml	–	–	Loveday i in. 1989
Test mikrojądrowy (MN)	komórki nerki szczura	5 600 µM	+	–	Robbiano i in. 1999
	komórki nerki ludzkiej	(1 800 ÷ 5 600 µM)	+	–	Nesslany i in. 2008
	komórki limfatyczne L5178Y myszy	78,125 ÷ 2 500 µg/ml	+	–	Nesslany i in. 2008
Wymiana chromatyd siostrzanych (SCE)	komórki limfatyczne CTLL-2T myszy	625 ÷ 2 500 µg/ml	+	–	Nesslany i in. 2008
	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	5 µg/ml (0,5 ÷ 5 µg/ml) (2,6 ÷ 26,2 µM)	–	–	Loveday i in. 1989
	limfocyty ludzkie	0,001 ÷ 1 mM	–	–	Ved Brat, Williams 1984
Pęknięcie nici DNA	komórki nerki szczura	1 800 ÷ 5 600 µM	+	–	Robbiano i in. 1999
Aneuploidy	komórki nerki ludzkiej	(1,8 ÷ 5,6 mM)	+	–	Ramel, Magnusson 1979
	<i>Drosophila melanogaster</i> komórki zarodkowe	4 000 µg/ml	+	–	Costa i in. 1988a
	<i>Drosophila melanogaster</i> komórki zarodkowe	9 600 µg/ml	+	–	

Objaśnienia:

– – wynik ujemny.

+ – wynik dodatni.

NT – nie testowano.

Sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego nie indukowała mutacji genowych u *Salmonella* Typhimurium i w komórkach chłoniaka myszy. Nie powodowała także wymiany chromatyd siostrzanych oraz pęknięć nici DNA w komórkach płuca chomika chińskiego w warunkach *in vitro* (tab. 11.).

Tabela 11.
Działanie genotoksyczne soli disodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na₂NTA) w badaniach w warunkach *in vitro*

Typ badania	Badany gatunek	Dawka/stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
Mutacje genowe	<i>Salmonella</i> Typhimurium	1 ÷ 600 µg/płytkę	–	NT	Nakatsuka i in. 1989
Wymiana chromatyd siostrzanych (SCE)	komórki płuc V79 chomika chińskiego	358 µg/ml (0,5 ÷ 1,5 mM)	–	NT	Hartwig i in. 1993
Pęknięcie nici DNA	komórki płuc V79 chomika chińskiego	1 mM	–		Hartwig i in. 1993

Objaśnienia:
– – wynik ujemny.
NT – nie testowano.

Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego nie indukowała mutacji genów u *Salmonella* Typhimurium oraz *Escherichia coli* (z aktywacją metaboliczną i bez niej). Nie działała genotoksycznie (brak zmian w konwersji genów, mutacji, aneuloidii) u drożdży i grzybów bez aktywacji metabolicznej (tab. 12.). Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego wykazała dodatni wynik w teście mikrojądrowym i aberracji chromosomowej w komórkach roślinnych, ale nie zwiększała liczby mikrojąder w komórkach płuc chomika chińskiego. Ujemne wyniki zanotowano w testach oceniających nieplanową syntezę DNA w hepatocytach szczurów (bez aktywacji metabolicznej), w testach mutacji genowych w komórkach płuc chomika chińskiego i komórkach chłoniaka myszy, w testach wymiany chromatyd siostrzanych w komórkach jajnika chomika chińskiego i limfocytach myszy *in vitro*. Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego indukowała aberracje chromosomalne w komórkach nerki szczura (bez aktywacji metabolicznej) oraz mutacje genów w komórkach ludzkich. Nie indukowała wymiany chromatyd siostrzanych i aberracji chromosomalnych w ludzkich limfocytach (tab. 12.).

Tabela 12.
Działanie genotoksyczne soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na₃NTA) w badaniach w warunkach *in vitro*

Typ badania	Gatunek/szczep/typ	Dawka/stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
Mutacje powrotne	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 97, TA 98, TA 100, TA 1535	100 ÷ 10 000 µg/płytkę	–	NT	Zeiger i in. 1992
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538	10 000 µg/płytkę (3 ÷ 3 333 µg/płytkę)	–	–	Dunkel i in. 1985
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538	54 ÷ 870 µg/płytkę (8 ÷ 128,6 µM)	–	–	Venier i in. 1985
	<i>Escherichia coli</i> WP2 uvr A	10 000 µg/płytkę	–	–	Dunkel i in. 1985
Mutacje genowe	komórki V79 płuc chomika chińskiego HPRT test	1,5 µg/ml (0,1 ÷ 15 mM)	–	NT	Celotti i in. 1987
	komórki L5178Y chłoniaka myszy, HPRT, tk locus	2 350 µg/ml (2,4 ÷ 9,1 mM)	–	–	Mitchell i in. 1988
	<i>Aspergillus nidulans</i>	1,8 ÷ 72 mM	–		Crebelli i in. 1986

cd. tab. 12.

Typ badania	Gatunek/szczep/typ	Dawka/stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
Krzyżowanie genetyczne (<i>genetic crossing-over</i>)	<i>Aspergillus nidulans</i>	10 930 µg/ml (10,6 ÷ 42,5 mM)	–	NT	<i>Crebelli</i> i in. 1986
Aneuploidy	<i>Aspergillus nidulans</i>	10 930 µg/ml (10,6 ÷ 42,5 mM)	–	NT	<i>Crebelli</i> i in. 1986
Mutacje genowe	komórki ludzkie EUE DR [®] (<i>human epithelial-like cell</i>)	3 µg/ml (0,002 ÷ 11 mM)	+	NT	<i>Grilli, Capucci</i> 1985
Konwersja genów	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	do 40 µg/ml (ok. 0,16 mM)	–	–	<i>Loprieno</i> i in. 1985
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	(8 ÷ 128,6 µM)	–	–	
Mutacje somatyczne (i rekombinacja) (<i>somatic mutation (and recombination)</i>)	<i>Drosophila melanogaster</i>	1 336 µg/ml	(+)		<i>Zordan</i> i in. 1991
Aberracje chromosomowe	komórki PT K1 nerki szczura	688 µg/ml (5 ÷ 20 mM)	+	NT	<i>Kihlman, Sturelid</i> 1970
	<i>Vicia faba</i>	1 336 µg/ml	+	NT	<i>Zordan</i> i in. 1991
	limfocyty ludzkie	2 063 µg/ml	–	NT	<i>Montaldi</i> i in. 1988
	limfocyty ludzkie	2 ÷ 6 mM	–		<i>Montadi</i> i in. 1987
Test mikrojądrowy (MN)	limfocyty ludzkie	0,1 ÷ 10 mM	–	NT	MAK 2014
	komórki Cl-1 płuca chomika chińskiego	2 ÷ 3 mM	+	NT	<i>Modesti</i> i in. 1995
	<i>Alium cepa</i>	550 µg/ml	+	NT	<i>De Marco</i> i in. 1986
Wymiana chromatyd siostrzanych (SCE)	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	54 ÷ 870 µg/płytkę	–	NT	<i>Loprieno</i> i in. 1985
	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	1 µg/ml	–	NT	<i>Venier</i> i in. 1985
	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	275 µg/ml (0,001 ÷ 1 mM)	–	NT	<i>Ved Brat, Williams</i> 1984
	komórki jajnika chomika chińskiego (CHO)	514 µg/ml (0,001 ÷ 2 mM)	–	NT	<i>Montaldi</i> i in. 1985
	limfocyty mysie	275 µg/ml (0,001 ÷ 1 mM)	–	NT	<i>Montaldi</i> i in. 1985
	limfocyty ludzkie	275 µg/ml (0,001 ÷ 1 mM)	–	NT	<i>Ved Brat, Williams</i> 1984
Naprawa/ nieplanowana synteza DNA (UDS)	limfocyty ludzkie	1 ÷ 10 mM (<i>sodium salt of NTA</i>)	(?)		<i>Celotti</i> i in. 1988

Objaśnienia:
– – wynik ujemny.
+ – wynik dodatni.
(+) – wynik słabo zaznaczony.
(?) – wynik niejednoznaczny.
NT – nie testowano.

Kwas nitrylotrioctowy nie indukował dominujących mutacji letalnych, ale indukował aneuploidię u myszy w testach w warunkach *in vivo* (tab. 13.). Dożołądkowe jednorazowe podanie kwasu nitrylotrioctowego w dawce 735 mg/

kg mc. lub trzykrotne w dawce 490 mg/kg mc. spowodowało dodatni wynik testu kometowego w komórkach nerki szczura. Wyniki testu oceniającego pęknięcie nici DNA oraz testu mikrojądrowego były niepewne (Robbiano i in. 1999).

Tabela 13.
Działanie genotoksyczne kwasu nitrylotrioctowego (NTA) w badaniach w warunkach *in vivo*

Typ badania	Gatunek zwierząt	Rodzaj narażenia	Materiał biologiczny	Dawka	Wynik doświadczenia	Piśmiennictwo
Test mikrojądrowy (MN)	szczur, Sprague-Dawley	1 × p.o.	komórki nerki	735 mg/kg mc. (1/2 DL ₅₀)	(?)	Robbiano i in. 1999
		3 × p.o.		490 mg/kg mc. (1/3 DL ₅₀)	(?)	
Test kometowy	szczur, Sprague-Dawley	1 × p.o.	komórki nerki	735 mg/kg mc. (1/2 DL ₅₀)	+	Robbiano i in. 1999
		3 × p.o.		490 mg/kg mc. (1/3 DL ₅₀)	+	
	szczur	1 × p.o.	komórki nerki	1 000 mg/kg mc.	+	Nesslanyi i in. 2008
				2 000 mg/kg mc.	+	
Pęknięcie nici DNA	szczur, Sprague-Dawley	1 × p.o.	komórki nerki	735 mg/kg mc. (1/2 DL ₅₀)	(?)	Robbiano i in. 1999
		3 × p.o.		490 mg/kg mc. (1/3 DL ₅₀)	(?)	
Recesywne mutacje letalne związane z płcią (SLRL test)	<i>Drosophila melanogaster</i>	iniekcja (1 ÷ 3 dni), (10 ÷ 50 mM)	komórki rozrodcze	1 900 mg/kg mc.	–	Kramers 1976
Test dominujących mutacji letalnych (DLT)	mysz ICR/Ha Swiss, ♂, n = 10	1 × i.p.	komórki rozrodcze	125 mg/kg mc. (0,7 mmol/kg)	–	Epstein i in. 1972
		5 × p.o.		1 000 mg/kg mc. (5,2 mmol/kg)	–	
Aneuploidy	<i>Drosophila melanogaster</i> (stadium larwalne)		komórki rozrodcze	4 000 ppm w substracie (4 mg/ml; 21 mM w substracie)	+	Ramel, Magnusson 1979
	mysz		komórki rozrodcze	275 mg/kg	+	Costa i in. 1988b

Objaśnienia:
– – wynik ujemny.
+ – wynik dodatni.
(?) – wynik niejednoznaczny.
i.p. – podanie dootrzewnowe.
p.o. – podanie dożołądkowe.

Po dootrzewnowym podaniu Na₃NTA myszom nie stwierdzono zmian w szpiku kostnym (test mikrojądrowy, wymiana chromatyd siostrzanych, aneuploidia). Dane o aneuploidii w spermatocytach myszy są sprzeczne: po poda-

niu dootrzewnowym obserwowano je (Costa i in. 1988a; Zordan i in. 1990), a po podaniu dożołądkowym – nie występowały (BASF 2000), (tab. 14.).

Tabela 14.
Działanie genotoksyczne soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na₃NTA) w badaniach w warunkach *in vivo*

Typ badania	Gatunek zwierząt	Rodzaj narażenia	Materiał biologiczny	Dawka	Wynik doświadczenia	Piśmiennictwo
Test mikrojądrowy (MN)	mysz CD1 Swiss, n = 3 ♂	1 × i.p.	komórki szpiku kostnego	200 ÷ 400 mg/kg mc. (0,8 ÷ 1,6 mmol/kg)	–	Montaldi i in. 1988
	mysz NMRI, n = 5 ♂	2 × p.o.	komórki szpiku kostnego	500; 1 000; 2 000 mg/kg mc.	–	BASF 2004
Wymiana chromatyd siostrzanych (SCE)	mysz, n = 3 ÷ 5 ♂	1 × i.p.	komórki szpiku kostnego	138; 275 mg/kg mc. (0,5 ÷ 1,1 mmol/kg mc.)	–	Russo i in. 1989
Aneuploidy	mysz, n = 3 ÷ 5 ♂	1 × i.p.	komórki szpiku kostnego	138; 275 mg/kg mc. (0,5 ÷ 1,1 mmol/kg)	–	Russo i in. 1989
	mysz, 2 szczepy n = 3 ♂/szczep	1 × i.p.	spermatocyty	138; 275 mg/kg (0,5 ÷ 1,1 mmol/kg)	+	Costa i in. 1988a
	mysz Balb/c n = 5 ♂	1 × i.p.	spermatocyty	275 mg/kg mc. (1,1 mmol/kg)	+	Zordan i in. 1990
	mysz NMRI n = 8 ÷ 12 ♂	1 × p.o.	spermatocyty	100; 330; 1 000 mg/kg mc.	–	BASF 2000

Objaśnienia:
– – wynik ujemny.
+ – wynik dodatni.
i.p. – podanie dootrzewnowe.
p.o. – podanie dożołądkowe.

Podsumowując wyniki działania mutagenego i genotoksycznego, można stwierdzić, że sole sodowe kwasu nitrylotrioctowego w testach na bakteriach nie wykazywały zwykle takiego działania. W badaniach w warunkach *in vitro* na komórkach ssaków sole sodowe kwasu nitrylotrioctowego nie indukowały mutacji genowych, wymian chromatyd siostrzanych (SCE), nieplanowej syntezy DNA (UDS) i pęknięć nici DNA. Wydaje się, że NTA ma słaby potencjał do indukowania aberracji chromosomowych i tworzenia dodatkowych mikrojąder.

W badaniach w warunkach *in vivo* u ssaków sole sodowe kwasu nitrylotrioctowego nie wywoływały skutków genotoksycznych w komórkach szpiku kostnego (powstawania mikrojąder, aneuploidii, wymiany chromatyd siostrzanych). Nie ma wiarygodnych dowodów na mutagenność kwasu nitryloriactowego i jego soli w badaniach w warunkach *in vivo*. Substancje te nie powinny być klasyfikowane jako mutageny.

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

Obserwacje u ludzi narażonych zawodowo na kwas nitrylotrioctowy i/lub jego sole nie pozwo-

liły na udowodnienie, że związki te wykazują działanie rakotwórcze.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Pierwsze badania nad rakotwórczym działaniem kwasu nitrylotrioctowego przeprowadzono na szczurach i myszach, które narażano na związek w wodzie do picia (Lijinsky i in. 1973; Greenblatt, Lijinsky 1974). Samcom i samicom szczurów (MRC, n = 15/płeć) podawano 0,5-procentowy roztwór Na₃NTA w wodzie (co odpowiadało dawce 400 mg Na₃NTA/kg mc./dzień, czyli 325 mg NTA/kg mc./dzień) przez 84 tygodnie (5 dni w tygodniu). Po 104 tygodniach nie zanotowano różnic w toksyczności i występowaniu nowotworów w grupie narażanej w porównaniu z grupą kontrolną. Wydaje się jednak, że zastosowano zbyt małą liczbę zwierząt i stosunkowo małą dawkę (tab. 10.), (Lijinsky i in. 1973).

Podobne wady można zarzucić doświadczeniu wykonanemu na myszach (samicach i samcach Swiss, n = 40/grupę), które były narażane na kwas nitrylotrioctowy w wodzie pitnej (5 g/dm³, czyli 0,5%) przez 26 tygodni. W badaniach wykonanych po 35 ÷ 36 tygodniach stwierdzono, że NTA nie był rakotwórczy dla myszy (tab. 10.), (Greenblatt, Lijinsky 1974).

Brak rakotwórczego działania $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ na szczury (CD Charles River, samce i samice) zanotowano także po 2 latach podawania w paszy związku o stężeniach: 0,03; 0,15 lub 0,5%. Odpowiadało to dawkom: 11,2; 56 lub 186 mg NTA/kg mc./dzień (tab. 9.), (Nixon i in. 1972).

W 1977 r. opublikowano wyniki doświadczenia wykonanego na szczurach (tab. 15., 16. i 17.) i myszach (tab. 18. i 19.), którym kwas nitrylotrioctowy i jego sole podawano przez 2 lata w paszy (NCI 1977).

W badaniach wykonanych na szczurach zastosowano dwa rodzaje ekspozycji: przez 18 miesięcy i dodatkowe 6 miesięcy bez narażenia (tab. 15. i 16.) oraz przez 24 miesiące (tab. 17.). W doświadczeniu 18-miesięcznym (+ 6 miesięcy obserwacji) u szczurów zastosowano dwa stężenia NTA i jego soli $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w paszy: 7 500 lub 15 000 mg związków/kg paszy. Mniejsze z tych stężeń odpowiadało dawce 375 mg NTA/kg mc./dzień (w przypadku narażenia na kwas nitrylotrioctowy), (tab. 15.) lub 260 mg NTA/kg mc./dzień (w przypadku $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$), (tab. 16.). W obu przypadkach nie zanotowano istotnych statystycznie zmian w badaniach histopatologicznych tkanek narażanych zwierząt.

Po narażeniu szczurów na większe stężenie – 15 000 mg NTA/kg paszy (czyli 750 mg NTA/kg mc./dzień), (tab. 15.) obserwowano zwiększoną częstość występowania zmian w pęcherzu moczowym (rozrost nabłonka przejściowego oraz raki płaskonabłonkowe i raki nabłonka przej-

ściowego), wątrobie (gruczolaki i guzki nowotworowe) i nadnerczach (guzy chromochłonne) u samic (tab. 15.), (NCI 1977).

Narażanie szczurów na $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ przez 18 miesięcy (+ 6 miesięcy obserwacji) nie spowodowało u zwierząt istotnych zmian świadczących o rakotwórczym działaniu związku (tab. 16.).

W innym doświadczeniu szczury narażano na $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ dodawaną do paszy w stężeniach: 200; 2 000 lub 20 000 mg/kg paszy (200, 2 000 lub 20 000 ppm) przez 24 miesiące, co odpowiadało dawkom: 6,9; 70 lub 700 mg NTA/kg mc./dzień (tab. 17.), (NCI 1977). Zdecydowanie najwięcej zmian przednowotworowych i nowotworowych obserwowano w układzie moczowym zwierząt. Po narażeniu samic na $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w stężeniu 2 000 mg/kg paszy (70 mg NTA/kg mc./dzień) stwierdzono rozrost nabłonka przejściowego w pęcherzu moczowym. Po największej dawce (700 mg NTA/kg mc./dzień, czyli 20 000 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg paszy) u samców zanotowano zmniejszoną przeżywalność oraz zmiany rozrostowe komórek nabłonkowych cewek nerkowych, miedniczki nerkowej, gruczolaki i gruczolakoraki kanalikowe oraz raki miedniczki nerkowej. Obserwowano także rozrost i raki nabłonka przejściowego moczowodu i pęcherza moczowego. U samic stwierdzono rozrost komórek C tarczycy. Wszystkie zanotowane przypadki nowotworów złośliwych, w tym o charakterze przerzutowym, występowały częściej niż w grupie kontrolnej (tab. 17.), (NCI 1977).

Tabela 15.
Rakotwórcze działanie kwasu nitrylotrioctowego (NTA) po przewlekłym narażeniu szczurów (NCI 1977)

NTA (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia 18 miesięcy + 6 miesięcy obserwacji (bez narażenia) szczury F344, 50♂, 50♀; kontrola: 20♂, 20♀				
Działanie		Stężenie w paszy / dawka na kg mc.		
		0	7 500 mg NTA/kg paszy (0,75% w paszy), (375 mg NTA/kg mc./dzień)	15 000 mg NTA/kg paszy (1,5% w paszy), (750 mg NTA/kg mc./dzień)
Przeżywalność (24 miesiące)	♂	18/20 (90%)	39/50 (78%)	41/50 (82%)
	♀	2/20 (30%)	39/50 (78%)	39/50 (78%)
Przerost cewkowy (typ bazofilowy i eozynofilowy)	♂	85%	Nerki nieokreślony	100%
Rozrost	♂	0/20 (0%)	1/50 (2%)	1/49 (2%)
Gruczolaki kanalikowe i gruczolakoraki	♂	0/20 (0%)	1/50 (2%)	5/49 (10%)
Gruczolaki kanalikowe	♀	0/20 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)
Brodawczaki nabłonka przejściowego	♀	0/20 (0%)	0/50 (0%)	1/50 (2%)

cd. tab. 15.

NTA (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia 18 miesięcy + 6 miesięcy obserwacji (bez narażenia) szczury F344, 50♂, 50♀; kontrola: 20♂, 20♀				
Działanie		Stężenie w paszy / dawka na kg mc.		
		0	7 500 mg NTA/kg paszy (0,75% w paszy), (375 mg NTA/kg mc./dzień)	15 000 mg NTA/kg paszy (1,5% w paszy), (750 mg NTA/kg mc./dzień)
Moczowód				
Rozrost nabłonka przejściowego	♂	0/20 (0%)	0/50 (0%)	1/49 (2%)
Brodawczaki nabłonka przejściowego i gruczolaki brodawkowate	♂	0/20 (0%)	0/50 (0%)	3/49 (6%)
Pęcherz moczowy				
Rozrost nabłonka przejściowego	♂	0/20 (0%)	0/50 (0%)	1/49 (2%)
	♀	0/20 (0%)	2/50 (4%)	11/50 (22%)*
Raki płaskonabłonkowe i raki nabłonka przejściowego	♀	0/20 (0%)	2/50 (4%)	12/50 (24%)**
Wątroba				
Gruczolaki/guzki wątrobowokomórkowe	♂	3/20 (15%)	2/50 (4%)	2/49 (4%)
	♀	2/20 (10%)	8/50 (16%)	22/50 (44%)**
Raki wątrobowokomórkowe	♂	0/20 (0%)	3/50 (6%)	0/49 (0%)
Nadnercza				
Guzy chromochłonne	♂	1/20 (5%)	9/50 (18%)	5/49 (10%)
	♀	1/20 (5%)	0/50 (0%)	14/50 (28%)*
Płuca				
Gruczolaki i raki pęcherzykowe/oskrzelikowe	♂	1/20 (5%)	5/50 (10%)	5/49 (10%)
	♀	0/20 (0%)	3/50 (6%)	7/50 (14%)
Przysadka				
Gruczolaki	♂	1/20 (5%)	6/50 (12%)	2/50 (4%)
	♀	6/20 (30%)	10/50 (20%)	12/50 (24%)
Gruczoł napławkowy				
Rozrost nabłonka	♂	0/20 (0%)	0/50 (0%)	2/50 (4%)
Gruczolakoraki	♂	0/20 (0%)	2/50 (4%)	4/50 (8%)
Wszystkie przypadki guzów				
Łagodne	♂	18/20 (90%)	43/50 (86%)	46/50 (92%)
	♀	9/20 (45%)	18/50 (36%)	27/50 (54%)
Złośliwe	♂	5/20 (25%)	13/50 (26%)	12/50 (24%)
	♀	7/20 (35%)	16/50 (32%)	25/50 (50%)

Objaśnienia:

* $p < 0,05$.

** $p < 0,01$.

Tabela 16.

Rakotwórcze działanie jednowodnej soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego ($\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$) po przewlekłym narażeniu szczurów (NCI 1977)

$\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia: 18 miesięcy + 6 miesięcy obserwacji (bez narażenia) szczury F344, 50♂, 50♀; kontrola: 20♂, 20♀				
Działanie		Stężenie w paszy / dawka na kg mc.		
		0	7 500 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg paszy (0,75% w paszy), (260 mg NTA/kg mc./dzień)	15 000 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg paszy (1,5% w paszy), (520 mg NTA/kg mc./dzień)
Przeżywalność	♂	18/20 (90%)	45/50 (90%)	36/50 (72%)
	♀	18/20 (90%)	46/50 (92%)	39/50 (78%)
Nerki				
Rozrost nabłonka przejściowego	♂	0/20 (0%)	0/49 (0%)	3/50 (6%)
Brodawczaki nabłonka przejściowego	♂	0/20 (0%)	0/49 (0%)	1/50 (2%)

cd. tab. 16.

Na ₃ NTA · H ₂ O (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia: 18 miesięcy + 6 miesięcy obserwacji (bez narażenia) szczury F344, 50♂, 50♀; kontrola: 20♂, 20♀				
Działanie		Stężenie w paszy / dawka na kg mc.		
		0	7 500 mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg paszy (0,75% w paszy), (260 mg NTA/kg mc./dzień)	15 000 mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg paszy (1,5% w paszy), (520 mg NTA/kg mc./dzień)
Gruzołakorak kanalikowy	♂	0/20 (0%)	1/49 (2%)	1/50 (2%)
Moczowód				
Brodawczaki	♂	0/20 (0%)	1/49 (2%)	0/50 (0%)
Pęcherz moczowy				
Rozrost nabłonka przejściowego	♂	0/20 (0%)	0/49 (0%)	3/50 (6%)
	♀	0/20 (0%)	4/50 (8%)	4/49 (10%)
Brodawczaki	♀	0/20 (0%)	0/50 (0%)	1/49 (2%)
Raki płaskonabłonkowe i raki nabłonka przejściowego	♀	0/20 (0%)	4/50 (8%)	1/49 (2%)
Płuca				
Gruzołaki i raki pęcherzykowe/ oskrzelikowe	♂	2/20 (10%)	10/49 (20%)	3/50 (6%)
	♀	1/20 (5%)	5/50 (10%)	3/50 (6%)
Przysadka				
Gruzołaki	♂	2/20 (10%)	3/49 (6%)	1/50 (2%)
	♀	6/20 (15%)	16/50 (32%)	13/49 (27%)
Tarczycza				
Rozrost komórek C	♂	1/20 (5%)	12/49 (25%)	4/50 (8%)
	♀	2/20 (10%)	56/50 (10%)	5/49 (10%)
Wszystkie przypadki guzów				
Łagodne	♂	20/20 (100%)	47/49 (96%)	42/50 (84%)
	♀	10/20 (50%)	29/50 (58%)	17/49 (35%)
Złośliwe	♂	5/20 (25%)	15/50 (31%)	13/50 (26%)
	♀	4/20 (20%)	11/50 (22%)	12/49 (25%)

Objaśnienia:

♂ – samiec.

♀ – samica.

Tabela 17.

Rakotwórcze działanie jednowodnej soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na₃NTA · H₂O) po przewlekłym narażeniu szczurów (NCI 1977)

Na ₃ NTA · H ₂ O (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia 24 miesiące szczury F344, 24♂, 24♀; kontrola: 24♂, 24♀					
Działanie		Stężenie w paszy / dawka na kg mc.			
		mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg paszy			
		0	200	2 000	20 000
		% Na ₃ NTA · H ₂ O w paszy			
		0	0,02	0,2	2
		mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg mc./dzień			
		0	10	100	1 000
		mg NTA/kg mc./dzień			
		0	6,9	70	700
Przeżywalność	♂	18/24 (75%)	16/24 (67%)	24/24 (100%)	6/24 (25%)**
	♀	18/24 (75%)	19/24 (79%)	16/24 (67%)	17/24 (71%)
Nerki					
Rozrost komórek nabłonka cewkowego (komórki z wakuolizacją w cytoplazmie)	♂	0%	nieokreślony	nieokreślony	96%
Rozrost komórek nabłonka cewkowego (typ komórek bazofilowych i eozynofilowych)	♂	5/10 (50%)	4/9 (44%)	5/10 (50%)	23/23 (100%)**
Rozrost komórek nabłonka cewek	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	11/23 (46%)**
Rozrost guzkowy (typ komórek wakuolizowanych)	♂	0%	nieokreślony	nieokreślony	57%

cd. tab. 17.

Na ₃ NTA · H ₂ O (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia 24 miesiące szczury F344, 24♂, 24♀; kontrola: 24♂, 24♀					
Działanie		Stężenie w paszy / dawka na kg mc.			
		mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg paszy			
		0	200	2 000	20 000
		% Na ₃ NTA · H ₂ O w paszy			
		0	0,02	0,2	2
		mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg mc./dzień			
		0	10	100	1 000
		mg NTA/kg mc./dzień			
		0	6,9	70	700
Rozrost guzkowy (typ bazofilowy i eozynofilowy)	♂	0%	nieokreślony	nieokreślony	74%
Rozrost gruczolakopodobny	♂	0%	nieokreślony	nieokreślony	17%
Gruczolaki kanalikowe i gruczolakoraki	♂	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	4/24 (17%)*
Rozrost nabłonka przejściowego miedniczki nerkowej	♂	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	4/24 (17%)*
	♀	1/24 (4%)	0/23 (0%)	3/24 (13%)	7/24 (29%)*
Raki nabłonka przejściowego miedniczki nerkowej	♂	1/24 (4%)	2/24 (8%)	0/24 (0%)	10/24 (42%)**
	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	4/24 (17%)*
Moczowód					
Rozrost nabłonka przejściowego	♂	0/24 (0%)	1/24 (4%)	4/24 (17%)	3/24 (13%)
	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	5/24 (21%)*
Dysplazja	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	2/24 (8%)
Raki nabłonka przejściowego	♂	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	8/24 (33%)**
	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	6/24 (25%)**
Pęcherz moczowy					
Rozrost nabłonka przejściowego	♂	0/24 (0%)	3/24 (13%)	3/24 (13%)	8/24 (33%)**
	♀	1/24 (4%)	1/24 (4%)	13/24 (54%)*	14/24 (58%)**
Dysplazja nabłonka przejściowego	♂	0/24 (0%)	1/24 (4%)	4/24 (17%)	0/24 (0%)
	♀	0/24 (0%)	1/24 (4%)	3/24 (13%)	8/24 (33%)**
Raki nabłonka przejściowego	♂	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	1/24 (4%)
	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)	5/24 (21%)*
Brodawczaki	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	1/24 (4%)	0/24 (0%)
Tarczycza					
Rozrost komórek C	♂	0/24 (0%)	1/23 (4%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)
	♀	0/24 (0%)	0/24 (0%)	1/24 (4%)	5/24 (21%)*
Gruczolaki komórek C	♂	0/24 (0%)	1/24 (4%)	4/24 (17%)	0/24 (0%)
	♀	0/24 (0%)	1/24 (4%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)
Raki komórek C	♂	0/24 (0%)	3/24 (13%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)
	♀	0/24 (0%)	2/24 (8%)	0/24 (0%)	0/24 (0%)
Wszystkie przypadki guzów					
Łagodne	♂	8/24 (33%)	15/23 (65%)*	9/24 (38%)	18/24 (75%)**
	♀	13/24 (54%)	17/23 (74%)	15/24 (63%)	19/24 (79%)
Złośliwe	♂	4/24 (17%)	8/24 (33%)	2/24 (8%)	11/24 (24%)*
	♀	9/24 (38%)	8/24 (33%)	10/24 (42%)	16/24 (67%)*

Objaśnienia:
* $p < 0,05$.
** $p < 0,01$.
♂ – samiec.
♀ – samica.

W doświadczeniu, w którym kwas nitrylotrioctowy podawano w paszy myszom obu płci, za maksymalną dawkę tolerowaną (MTD) uznano 15 000 ppm w paszy (1,5% w paszy, czyli 15 000 mg NTA/kg paszy), co odpowiadało dawce 2 250 mg NTA/kg mc./dzień, podawanej przez 18 miesięcy. Po kolejnych 3 miesiącach (okres obserwacji, bez narażenia) przeprowadzono analizy, w których u samców stwierdzono zwiększoną częstotliwość występowania gruczolakoraków w kanalikach nerkowych i rozrost torbielowaty prostaty. Nastąpiło także istotne statystycznie zwiększenie częstości występowania nowotworów złośliwych (tab. 18.), (NCI 1977).

W podobnym badaniu z wykorzystaniem $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ zastosowano MTD wynoszącą 5 000 ppm w paszy (5 000 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg paszy), co wytłumaczono większą toksycznością dla myszy kwasu nitrylotrioctowego w postaci soli niż kwasu (tab. 19.). Nie obserwowano wtedy guzów układu moczowego. U narażanych samców myszy zanotowano jednak zależne od dawki zwiększenie częstości występowania złośliwych nowotworów układu krwiotwórczego (NCI 1977).

Tabela 18.
Rakotwórcze działanie kwasu nitrylotrioctowego (NTA) po przewlekłym narażeniu szczurów (NCI 1977)

NTA (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia 18 miesięcy + 3 miesiące obserwacji (bez narażenia) myszy B6C3F1, 50♂, 50♀; kontrola: 20♂, 20♀				
Działanie		Stężenie w paszy / dawka w mg na kg mc.		
		0	7 500 mg NTA/kg paszy (0,75% w paszy), (1 125 mg NTA/kg mc./dzień)	15 000 mg NTA/kg paszy (1,5% w paszy), (2 250 mg NTA/kg mc./dzień)
Przeżywalność	♂	19/20 (95%)	44/50 (88%)	39/50 (78%)
	♀	19/20 (95%)	35/50 (70%)	47/50 (94%)
Nerki				
Rozrost nabłonka przejściowego	♀	0/20 (0%)	0/38 (0%)	1/49 (2%)
Brodawczaki nabłonka przejściowego	♂	0/20 (0%)	0/49 (0%)	1/44 (2%)
Gruczolakoraki kanalikowe	♂	0/20 (0%)	5/49 (10%)	22/44 (50%)**
	♀	0/20 (0%)	0/39 (0%)	4/50 (8%)
Układ krwiotwórczy				
Chłoniaki złośliwe	♀	1/20 (5%)	3/39 (8%)	5/50 (10%)
Rozrost limfatyczny śledziony	♀	0/20 (0%)	5/38 (13%)	5/49 (10%)
Prostata				
Rozrost torbielowaty	♂	3/20 (15%)	9/48 (19%)	19/44 (43%)*
Wszystkie przypadki guzów				
Łagodne	♂	5/20 (25%)	5/49 (10%)	5/44 (11%)
	♀	0/20 (0%)	4/39 (10%)	4/50 (8%)
Złośliwe	♂	5/20 (25%)	11/49 (22%)	28/44 (64%)**
	♀	4/20 (20%)	10/39 (26%)	16/50 (32%)

Objaśnienia:

* $p < 0,05$.

** $p < 0,01$.

♂ – samiec.

♀ – samica.

Tabela 19.
Rakotwórcze działanie jednowodnej soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na₃NTA · H₂O) po przewlekłym narażeniu szczurów (NCI 1977)

Na ₃ NTA · H ₂ O (czystość 99,5%) w paszy, czas narażenia 18 miesięcy + 3 miesiące obserwacji (bez narażenia) myszy B6C3F1, 50♂, 50♀; kontrola: 20♂, 20♀				
Działanie		Stężenie Na ₃ NTA · H ₂ O/kg w paszy		
		0	2 500	5 000
		Procent Na ₃ NTA · H ₂ O w paszy		
		0	0,25	0,5
		Dawka mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg mc./dzień		
		0	375	700
		Dawka mg NTA/kg mc./dzień		
		0	260	520
Przeżywalność	♂	20/20 (100%)	43/50 (86%)	46/50 (92%)
	♀	17/20 (85%)	43/50 (86%)	44/50 (88%)
Białaczka	♂	0/20 (0%)	0/48 (0%)	4/50 (8%)
	♀	3/20 (15%)	7/48 (15%)	4/50 (8%)
Nowotwory złośliwe układu krwiotwórczego	♂	0/20 (0%)	4/47 (9%)	9/50 (18%)*
Raki pęcherzykowe/oskrzelikowe	♂	1/20 (5%)	6/48 (13%)	0/50 (0%)
Raki wątrobowokomórkowe	♂	1/20 (5%)	5/48 (10%)	3/50 (6%)
Wszystkie nowotwory złośliwe	♂	3/20 (15%)	15/48 (31%)	12/50 (24%)
	♀	6/18 (33%)	11/46 (24%)	13/47 (28%)

Objaśnienia:
* $p < 0,05$.
♂ – samiec.
♀ – samica.

Rakotwórcze działanie Na₃NTA · H₂O badano także u samców szczurów, które były narażane na związek w wodzie pitnej (0,1-procentowy roztwór Na₃NTA · H₂O, czyli 74 mg NTA/kg mc./dzień) przez 704 dni (Goyer i in. 1981). Zanotowano m.in. zwiększenie śmiertelności w okresie pierwszych 550 dni narażenia (19,7% wobec 11,2%

w grupie kontrolnej). Tylko 42 ÷ 43% zwierząt przeżyło doświadczenie. U zwierząt obserwowano zwiększenie częstości przypadków nowotworów nerek (gruczolaki i gruczolakoraki kanalikowe) – 16% wobec 3% w grupie kontrolnej. Stwierdzono także częstsze występowanie wszystkich guzów, w tym trzewnych (tab. 20.).

Tabela 20.
Rakotwórcze działanie soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego (Na₃NTA) po przewlekłym narażeniu szczurów (Goyer i in. 1981)

Na ₃ NTA w wodzie pitnej, czas narażenia: 704 dni; 7 dni/tyg. szczury Sprague-Dawley, 195♂, kontrola: 193♂			
Działanie		Stężenie w wodzie pitnej	
		0	0,1% Na ₃ NTA w wodzie: (1 000 mg Na ₃ NTA/dm ³)
		Dawka na kg mc.	
		0	100 mg Na ₃ NTA/kg mc./dzień (74 mg NTA/kg mc./dzień)
Przeżywalność	♂	80/193 (42%)	83/195 (43%)
Nerki: gruczolaki i gruczolakoraki kanalikowe	♂	5/186 (3%)	29/183 (16%)**
Nowotwory przysadki	♂	34/188 (18%)	43/183 (23%)
Wszystkie guzy	♂	111/188 (59%)	131/183 (71%)**
Wszystkie guzy bez gruczolaków nerek	♂	109/188 (58%)	117/183 (64%)
Wszystkie guzy trzewne	♂	39/186 (21%)	59/183 (32%)**
Guzy trzewne bez gruczolaków nerek	♂	35/186 (19%)	37/183 (20%)

Objaśnienia:
* $p < 0,05$. ♂ – samiec.
** $p < 0,01$. ♀ – samica.

W dwuletnim doświadczeniu, w którym szczurom podawano $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w paszy (1,5%, czyli 15 000 mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg paszy), związek działał silniej toksycznie na samce, co widać było

w przeżywalności zwierząt. U samców zanotowano także guzy złośliwe nerek i gruczolaki komórek Leydiga w jądrach (tab. 21.), (BASF 2006).

Tabela 21.
Rakotwórcze działanie jednowodnej soli trisodowej kwasu nitrylotriooctowego ($\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$) po przewlekłym narażeniu szczurów (BASF 2006)

Na ₃ NTA · H ₂ O (czystość > 99,5%) w paszy, czas narażenia: 24 miesiące szczury Wistar, 50♂, 50♀; kontrola: 50♂, 50♀			
Działanie		Stężenie w paszy	
		0	15 000 mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg paszy (1,5% w paszy)
		Dawka na kg mc.	
		0	♂: 1 170 mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg mc./dzień (805 mg NTA/kg mc./dzień) ♀: 1 040 mg Na ₃ NTA · H ₂ O/kg mc./dzień (714 mg NTA/kg mc./dzień)
Przeżywalność	♂ ♀	38/50 (76%) 36/50 (72%)	23/50 (46%) 36/50 (72%)
		Nerki	
Guzy mezenchymalne	♂	0/50 (0%)	6/50 (12%)*
łagodne		0/50 (0%)	1/50 (2%)
złośliwe		0/50 (0%)	5/50 (10%)*
hemangiosarkomy		0/50 (0%)	3/50 (6%)
		Jądra	
Gruczolaki komórek Leydiga	♂	0/50 (0%)	7/50 (14%)**

Objaśnienia:
* $p < 0,05$.
** $p < 0,01$.
♂ – samiec.
♀ – samica.

Podsumowanie działania rakotwórczego kwasu nitrylotriooctowego i jego soli na zwierzęta
Na podstawie badań przeprowadzonych na szczurach i myszach stwierdzono występowanie w układzie moczowym pierwotnych guzów pochodzenia nabłonkowego, które notowano w grupach zwierząt otrzymujących duże dawki NTA i $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ – guzów tych nie obserwowano w drogach moczowych myszy kontrolnych i rzadko występowały one spontanicznie u szczurów. U szczurów otrzymujących 20 000 ppm (2%) $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w diecie zanotowano u samców i samic nowotwory nerki i moczowodów oraz u samic nowotwory pęcherza moczowego. Po stężeniu 15 000 ppm (1,5%) NTA w paszy guzy pęcherza moczowego wystąpiły u samic szczurów, a nowotwory nerek – u samców myszy. U samców i samic szczurów guzy dróg moczowych zanotowano po stężeniu 15 000 lub 7 500 ppm (1,5 i 0,75% w paszy) $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ oraz po 15 000 ppm (1,5%) NTA

u samic i po 7 500 ppm (0,75% w paszy) u samców myszy. Guzy przerzutowe powstały prawdopodobnie z pierwotnych guzów układu moczowego – notowano je u samców i samic szczurów, które dostawały 20 000 ppm (2% w paszy) $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ i u samca po 15 000 ppm (1,5%) kwasu nitrylotriooctowego. Guzów przerzutowych nie stwierdzono u myszy.
Wniosek: Kwas nitrylotriooctowy i jego sól $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ powodowały nowotwory dróg moczowych u szczurów i myszy po dużych dawkach (15 000 lub 20 000 ppm w paszy, czyli 1,5 i 2%). Nie ma wystarczających dowodów na rakotwórcze działanie kwasu nitrylotriooctowego i jego soli na ludzi.
Jakościowa ocena działania rakotwórczego
Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) w 1991 r. zaliczyła kwas nitrylotriooctowy i jego sole do grupy 2B (czynniki przypuszczalnie rakotwórcze dla ludzi, dla którego

istnieją wystarczające dowody na występowania nowotworów w badaniach na zwierzętach, ale brakuje dowodów na takie działanie u ludzi), (IARC 2019). Unia Europejska zgodnie z klasyfikacją GHS sól trisodową kwasu nitrylotrioctowego (CAS: 5064-31-3) zaliczyła do kategorii kancerogenności 2 z przypisem „H351 – podejrzewa się, że powoduje raka” i adnotacją: „przy stężeniach > 5%”. W Niemczech kwas nitrylotrioctowy i jego sole sodowe zaliczono do kategorii 3A (substancje, co do których podejrzewa się, że mogą wykazywać działanie rakotwórcze u ludzi, ale ostateczna ocena nie jest możliwa ze względu na brak wystarczających danych do wyznaczenia wartości MAK (*Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen* – najwyższe dopuszczalne stężenie w powietrzu strefy roboczej)), (ACGIH 2018).

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

W doświadczeniu oceniającym toksyczność podprzewlekłą (90 dni), w którym Na_3NTA podawano samcom i samicom szczurów (Sprague-Dawley) w dawkach $2\,000 \div 20\,000$ ppm ($0,2 \div 2\%$) w paszy ($2\,000 \div 20\,000$ mg/kg paszy, czyli $110 \div 1\,125$ mg NTA/kg mc./dzień), nie stwierdzono niekorzystnego wpływu związku na płodność zwierząt (tab. 8.), (Nixon 1971). Brak zaburzeń płodności zanotowano także po 2 latach narażenia szczurów na $0,03\text{--}0,5\%$ procentową $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w paszy (czyli na dawki $11,2 \div 186$ mg NTA/kg mc./dzień), (tab. 9.), (Nixon i in. 1972).

W doświadczeniach dwuletnich, oceniających m.in. działanie rakotwórcze $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$, obserwowano, że po dużej dawce związku ($20\,000$ ppm, czyli 2% w paszy), którą po tygodniu zmniejszono do $15\,000$ ppm ($1,5\%$) w paszy (czyli $15\,000$ mg $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ /kg paszy, co odpowiadało dawce 805 mg NTA/kg mc./dzień dla samców i 714 mg NTA/kg mc./dzień dla samic), wystąpiły zaburzenia płodności u samców szczurów Wistar (BASF 2006). Stwierdzono zapalenie tętnic krezkowych i jąder, zanik jąder, hipospermię (tab. 9.) oraz gruczolaki komórek Leydiga (tab. 21.), (BASF 2006).

Wpływ Na_3NTA na płodność oceniano także w dwupokoleniowym doświadczeniu przeprowadzonym na samcach i samicach ($n = 20/\text{płeć}$)

szczurów Charles River CD (Nolen i in. 1971). Zwierzęta otrzymywały związek o stężeniach $0,1$ lub $0,5\%$ w paszy, co odpowiadało dawkom: 90 mg Na_3NTA /kg mc./dzień (czyli 67 mg NTA/kg mc./dzień) oraz 450 mg Na_3NTA /kg mc./dzień (czyli 335 mg NTA/kg mc./dzień). Nie podano, kiedy rozpoczęto narażenie (prawdopodobnie po kryciu). Wiadomo, że pokolenie F0 było eksponowane przez 10 miesięcy, a F1 – 7 miesięcy. Z pierwszego narażanego pokolenia (F0) uzyskano trzy mioty (F1a, F1b i F1c). Każdy następny miot pochodził od osobników coraz dłużej eksponowanych na Na_3NTA w paszy. W pokoleniu F0 stwierdzono nieznaczne zmniejszenie spożycia paszy u obu płci otrzymujących większą dawkę związku. Istotnie statystycznie zmniejszenie tego parametru zanotowano u samców w pokoleniu F1. W pokoleniu F1a i F1b nie obserwowano zmian świadczących o działaniu embriotoksycznym i teratogennym Na_3NTA . Oceniano między innymi zmiany w liczebności płodów, liczbę żywych i martwych urodzeń w miocie, liczbę żywych młodych w 4 . dniu po urodzeniu oraz w czasie odsadzania od matek. Autorzy doświadczenia nie podali wartości NOAEL. Dla ogólnoustrojowej toksyczności rodziców (matek i ojców) za wartość NOAEL można przyjąć dawkę mniejszą (67 mg NTA/kg mc./dzień, czyli $0,1\%$ Na_3NTA w paszy). Po większym stężeniu związku ($0,5\%$ w paszy) zanotowano zmniejszenie przyrostu masy ciała szczurów pokolenia F0 (samice) i F1b (samce). Dawkę większą (335 mg NTA/kg mc./dzień, czyli $0,5\%$ Na_3NTA w paszy) można jednak uznać za wartość NOAEL dla skutków związanych z płodnością, działaniem embriotoksycznym i teratogennym (Nolen i in. 1971).

W badaniach wykonanych przez Nolen i in. (1971; 1972a; 1972b) na ciężarnych zwierzętach laboratoryjnych nie zanotowano działania toksycznego Na_3NTA podawanej w paszy i wodzie pitnej szczurom (Nolen i in. 1971; 1972a; 1972b) oraz sondą do żołądka królików (Nolen i in. 1971). Sól trisodowa kwasu nitrylotrioctowego nie była toksyczna dla matek i płodów (tab. 22.).

W doświadczeniach wykonanych na ciężarnych szczurach podawano dawki kwasu nitrylotrioctowego w zakresie $0,08 \div 335$ mg/kg mc./dzień (Nolen i in. 1971; 1972a; 1972b). Ciężarne króliki były narażane w okresie organogenezy na

dawki 2,5 ÷ 250 mg Na₃NTA/kg mc./dzień (Nolen i in. 1971), zaś myszy – na duże dawki 400 mg NTA/kg mc./dzień (Tjälve 1972). W doświadczeniach tych badano m.in. liczbę ciałek żółtych, liczbę resorpcji, liczbę martwych i żywych płodów, liczbę płodów w miocie, średnie masy płodów męskich i żeńskich, proporcje płodów według płci w miocie, rozwojowe wady trzewne

i szkieletowe. W żadnym z tych parametrów nie zanotowano zmian, co świadczy o braku działania embriotoksycznego, fetotoksycznego i teratogennego Na₃NTA na zwierzęta laboratoryjne mimo stosowania bardzo szerokiego zakresu dawkowania (tab. 22.).

Tabela 22.
Wpływ kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli na przebieg ciąży u zwierząt laboratoryjnych

Badany związek	Gatunek zwierząt	Droga narażenia/ stężenie w paszy/ wodzie	Czas narażenia	Dawka		Wynik doświadczenia	Piśmiennictwo
				mg Na ₃ NTA/kg mc. /dzień	mg NTA/kg mc. /dzień		
Na ₃ NTA	szczur Charles River, 20♀	0,1% w paszy	między 6. a 15. dniem ciąży	90	67	brak zmian	Nolen i in. 1971
		0,5% w paszy		450	335	brak zmian, NOAEL dla toksyczności rozwojowej	
	szczur Charles River, 20♀	w wodzie pitnej	między 6. a 14. dniem ciąży	0,11	0,08	brak zmian	Nolen i in. 1972b
				25,3	18,8	brak zmian, NOAEL dla toksyczności rozwojowej	
	szczur ♀	w wodzie pitnej	między 6. a 15. dniem ciąży	20	14,9	brak zmian	Nolen i in. 1972a
	królik New Zealand, 20♀/grupę	sondą do żołądka	między 7. a 16. dniem ciąży	2,5		brak działania embriotoksycznego i teratogennego	Nolen i in. 1971
				25			
				100			
				250		brak zmian, NOAEL dla toksyczności rozwojowej	
NTA	mysz, 10♀	0,2% w wodzie pitnej	między 6. a 18. dniem ciąży		400	brak zmian u matek i płodów	Tjälve 1972

Objaśnienie:
♀ – samice.

TOKSYKOKINETYKA

Badania losów kwasu nitrylotrioctowego (NTA) w organizmie wykonano u ludzi (ochotników), (Budny, Arnold 1973), na szczurach (Michael, Wakim 1971), myszach (Chu i in. 1978), psach (Budny 1972; Michael, Wakim 1971), królikach oraz małpach (Michael, Wakim 1971).

Wchłanianie

W doświadczeniach, w których ochotnikom (Budny, Arnold 1973) oraz zwierzętom labora-

toryjnym (tab. 23., 24. i 25.) podawano znakowany izotopowo kwas nitrylotrioctowy lub jego sól disodową drogą dożołądkową, stwierdzono bardzo szybki obrót związków w organizmie.

Tabela 23.
Dystrybucja [¹⁴C]-NTA po jednorazowym dożołądkowym podaniu związku szczurom (Sprague-Dawley, samce) w dawce 10 mg/kg mc. (Michael, Wakim 1971)

Próba	Czas po podaniu, h						
	1	6	12	24	48	72	168
	Procent podanej dawki						
Mocz	31±2	49±7	56±3	73±8	94±3	95	98±5
Kał	–	6±2	7±3	15±8	2±0,5	2	7±5
Żołądek i światło jelita	29±9	30±6	15±7	2±0,8	0,03	0,02	0,008
Wątroba	0,4	0,2	0,2	0,07	0,04	0,03	< 0,02
Serce	0,04	0,009	0,006	< 0,002	< 0,003	< 0,002	< 0,002
Nerki	2±0,06	0,5	0,3	0,1	0,04	0,003	0,02
Układ pokarmowy	19±2	2±0,6	0,7	0,2	0,04	0,02	0,01
Pozostałe tkanki	14±2	6±1	4±0,3	2±0,3	1±0,1	1	1±0,2
Całkowity odzysk	95±3	94±3	83±8	92±1	98±3	98	106±1
Stężenia [¹⁴ C]-NTA w wybranych tkankach							
Piszczel, µg/g	29±4	9±1	8±2	6±3	5±0,3	4	5±0,3
Mięśnie, µg/g	7±3	0,5	0,5	0,2	< 0,1	< 0,08	< 0,08
Krew, µg/ml	9±1	1±0,2	0,5	0,1	0,06	0,07	0,06

Tabela 24.
Stężenia [¹⁴C]-NTA we krwi w różnym czasie po jednorazowym dożołądkowym podaniu związku szczurom, królikom, psom i małpom w dawce 50 mg/kg mc. (Michael, Wakim 1971)

Czas po podaniu związku	Stężenie, µg [¹⁴ C]-NTA/ml krwi			
	szczur (Sprague-Dawley, samce)	królik (New Zealand, samiec)	pies (beagle, samiec)	małpa (rezus, samica)
1 h	8,7±1,6	1,7	22,5	1,7
24 h	0,1±0,03	0,74	0,35	0,44
48 h	0,07±0,01	0,76	0,22	0,34
72 h	0,07±0,01	0,80	0,22	0,41

Wyjątkiem był królik. Po 72 h od podania dożołądkowego [¹⁴C]-NTA w dawce 50 mg/kg mc. zanotowano jeszcze 26% dawki związku w jego przewodzie pokarmowym, co wskazuje na powolne wchłanianie w porównaniu z innymi gatunkami (szczur, pies, małpa), (tab. 25.), (Michael, Wakim 1971).

Tabela 25.
Dystrybucja [¹⁴C]-NTA po 72 h od jednorazowego dożołądkowego podania związku królikom, psom i małpom w dawce 50 mg/kg mc. (Michael, Wakim 1971)

Próba	Procent podanej dawki		
	królik (New Zealand, samiec)	pies (beagle, samiec)	małpa (rezus, samica)
Mocz	23	69	14
Kał	33	5	65
Przewód pokarmowy i jego zawartość	26	0,07	0,1
Popłuczyny po myciu klatki	0,5	0,2	1
Wątroba	0,3	0,07	0,06
Nerki	0,05	0,04	0,01
Pozostałe tkanki	4	3	1
Całkowity odzysk	87	77	81

Według niepublikowanych danych wchłanianie nieoznakowanej izotopowo soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego w przewodzie pokarmowym szczurów (po podaniu sondą) oceniono na ok. 50% podanej dawki. Przyjęto wtedy, że $t_{1/2}$ dla wydalania z moczem wynosi $5 \div 6$ h (EC 2008).

Na podstawie dostępnych danych można zaproponować kolejność w odniesieniu do poziomów wchłaniania kwasu nitrylotrioctowego, która byłaby następująca: mysz = szczur > pies > królik > człowiek = małpa. Trzeba jednak zaznaczyć, że doświadczenia przeprowadzono tylko na jednym króliku i jednej małpie, dawka zastosowana u ludzi była bardzo mała ($0,11 \div 0,17$ mg/kg mc.) w porównaniu z dawkami dla innych gatunków, a myszy (w przeciwieństwie do innych gatunków) nie były na czczo (Budny 1972; Budny, Arnold 1973; Chu i in. 1978; Michael, Wakim 1971).

Z przewodu pokarmowego ludzi wchłaniało się ok. 20% podanej dawki związku, a przez skórę ok. 1% (LOUS 2014).

Rozmieszczenie

Po szybkim wchłonięciu do organizmu kwas nitrylotrioctowy i jego sól disodowa szybko rozmieszczały się w organizmach ludzi oraz zwierząt laboratoryjnych.

Po jednorazowym podaniu $[^{14}\text{C}]$ -NTA szczurom maksymalne stężenie związku we krwi zanotowano po 1 h (tab. 23. i 24.). W tym czasie prawie 60% dawki pozostawało jeszcze w przewodzie pokarmowym, żołądku i jelitach, ale $31 \pm 2\%$ dawki wydaliło się z moczem. W innych narządach (wątroba, serce, nerki, mięśnie) największe ilości znacznika również zanotowano po 1 h (tab. 23.), (Michael, Wakim 1971).

Tabela 26.
Dystrybucja tkankowa $[^{14}\text{C}]$ - Na_2NTA po 72 h od jednorazowego dożołądkowego podania związku psom w dawce 20 mg/kg mc. (Budny 1972)

Próba	Dystrybucja znacznika izotopowego, $\mu\text{g Na}_2\text{NTA/g}$ próby
Prawa kość udowa (trzon)	$1,81 \pm 0,66$
Prawa kość udowa (nasada)	$2,00 \pm 0,59$
Żuchwa	$2,98 \pm 0,60$
Nerki	$0,43 \pm 0,15$
Krew	$0,02 \pm 0,1$

Po jednorazowym podaniu psom $[^{14}\text{C}]$ - Na_2NTA drogą pokarmową największe stężenie związku we krwi obserwowano po $60 \div 75$ min ($15 \div 16$ $\mu\text{g/ml}$), (Budny 1972).

Chu i in. (1978) przeprowadzili doświadczenie, w którym $[^{14}\text{C}]$ -NTA podali jednorazowo samcom myszy ($n = 5/\text{grupę}$) drogą dożołądkową (w dawce 180 mg/kg mc.) i dożylną (w dawce 45 mg/kg mc.). Po podaniu dożołądkowym maksymalne stężenie związku zanotowano po $0,5 \div 1$ h, po 3 h zmniejszyło się ono do ok. 20% stężenia maksymalnego. Największe stężenie kwasu nitrylotrioctowego we krwi po dożylnym podaniu stwierdzono już po 4 min. Po 20; 30 i 60 min stężenie to zmniejszyło się do odpowiednio: 60; 40 i 20% stężenia maksymalnego. Największe stężenia znacznika w pęcherzu, kościach i nerkach obserwowano po 1 h (zarówno po podaniu dożołądkowym, jak i dożylnym).

Kwas nitrylotrioctowy wydalał się bardzo szybko – po 8 h w organizmie myszy nie stwierdzono już obecności znacznika izotopowego (Chu i in. 1978).

Podsumowując, można stwierdzić, że u ludzi, szczurów, myszy oraz psów maksymalne stężenia kwasu nitrylotrioctowego w osoczu były osiągnięte po $1 \div 2$ h po podaniu dożołądkowym. Później następowało zmniejszenie stężenia związku z $t_{1/2}$ wynoszącym ok. 3 h. Można założyć więc, że związek nie powinien być kumulowany w tkankach miękkich (nerki, płuca), (Budny 1972; Budny, Arnold 1973; Chu i in. 1978; Michael, Wakim 1971).

Odkładanie się kwasu nitrylotrioctowego wykazano w kościach szczurów (tab. 23.), (Michael, Wakim 1971) i psów (tab. 26.), (Budny 1972).

W doświadczeniu wykonanym napsach (*Budny* 1972) stwierdzono, że $[^{14}\text{C}]$ - Na_2NTA może gromadzić się w pewnym stopniu w kościach (tworząc kompleksy z dwuwartościowymi kationami, takimi jak Ca). Po 72 h od dożołądkowego podania Na_2NTA w dawce 20 mg/kg mc. stężenie związku w kościach wynosiło $2 \div 3 \text{ }\mu\text{g/g}$ próby (tab. 26.), podczas gdy w nerkach było wtedy ok. $0,43 \text{ }\mu\text{g/g}$, a w pozostałych tkankach (mięśnie, żołądek, jelita, serce, płuca, wątroba, śledziona, mózg, trzustka, nadnercza, jajniki, pęcherz moczowy) – poniżej $0,3 \text{ }\mu\text{g/g}$ tkanki (*Budny* 1972).

Odkładanie się kwasu nitrylotrioctowego w kościach zanotowano także u innych zwierząt laboratoryjnych. Po jednorazowej dawce dożołądkowej 10 mg stężenie NTA w kości piszczelowej szczurów zmniejszyło się dość szybko z $29 \text{ }\mu\text{g/g}$ kości po 1 h do $5 \text{ }\mu\text{g/g}$ po 48 h (tab. 23.), (*Michael, Wakim* 1971). *Michael* i *Wakim* (1971) ocenili, że $8 \text{ }\mu\text{g}$ NTA/g kości nie powinno powodować zmian w rozwoju kości.

W doświadczeniu wykonanym na ośmiu ochotnikach (mężczyźni) 10 mg $[^{14}\text{C}]$ -NTA (co odpowiadało dawkom $0,11 \div 0,17 \text{ mg/kg}$ mc.) podano na czczo (doustnie) w kapsułkach żelatynowych (tab. 28.). Maksymalne stężenie znacznika izotopowego w osoczu (wynoszące $6,5 \text{ }\mu\text{g/l}$) stwierdzono 2 h po spożyciu związku. Poziom ten zmniejszył się znacząco po następ-

nych 30 min, a po 12 h stężenie w surowicy było poniżej $0,1 \text{ }\mu\text{g/l}$ (*Budny, Arnold* 1973).

Metabolizm

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych u ludzi (ochotników) oraz na zwierzętach laboratoryjnych wykazały, że kwas nitrylotrioctowy i jego sól disodowa nie ulegały metabolizmowi w organizmie.

Wydalanie

Wspólną cechą w przemianach kwasu nitrylotrioctowego i jego disodowej soli u ludzi i u różnych zwierząt było szybkie wydalenie tych substancji z organizmu. Stwierdzono jednak różnice pod względem ilości wydalanego związku z moczem i kałem.

W doświadczeniu, w którym $[^{14}\text{C}]$ -NTA podawano szczurom w dawce 10 mg, ponad 90% znacznika wydzieliło się w ciągu 24 h, głównie z moczem. Po $48 \div 72 \text{ h}$ szczury wydzieliły 98% związku: $94 \div 95\%$ z moczem, a tylko 2% z kałem (tab. 23.), (*Michael, Wakim* 1971). Po jednorazowym podaniu $[^{14}\text{C}]$ -NTA szczurom w mniejszych dawkach (0,01; 0,1 lub 1 mg) wydalenie z kałem było większe – stanowiło $24 \div 29\%$ podanej dawki (tab. 27.).

Tabela 27.

Dystrybucja $[^{14}\text{C}]$ -NTA po 72 h od jednorazowego dożołądkowego podania związku szczurom (*Sprague-Dawley*, samce) w różnych dawkach (*Michael, Wakim* 1971)

Próba	Dawka, mg			
	0,01	0,1	1	10
	procent podanej dawki			
Mocz	70	63	59	95
Kał	24	27	29	3
Przewód pokarmowy i jego zawartość	0,1	0,05	0,07	0,2
Pozostałe tkanki	3	2	1	0,9
Całkowity odzysk	97	92	89	99

Po 72 h od jednorazowego podania $[^{14}\text{C}]$ -NTA różnym gatunkom zwierząt laboratoryjnych stwierdzono, że związek w znacznej ilości był jeszcze obecny w przewodzie pokarmowym królika (26% podanej dawki), podczas gdy u psa, szczura i małpy ilości te były śladowe ($0,05 \div 0,2\%$ podanej dawki), (tab. 25.), (*Michael, Wakim* 1971).

Po jednorazowej dawce $[^{14}\text{C}]$ - Na_2NTA (20 mg/kg mc.) podanej psom wydalenie zachodziło głównie z moczem: po 72 h od podania dożołądkowego wydzieliło się 80% podanej dawki, a od podania dożylnego – 96% (tab. 28.), (*Budny* 1972).

Tabela 28.
Stężenia [¹⁴C]-Na₂NTA po 72 h od jednorazowego dożołądkowego i dożylnego podania związku psom w dawce 20 mg/kg mc. (Budny 1972)

Próba	Procent dawki dożołądkowej	Procent dawki dożylniej
Mocz	80,01±16,19	96,0±5,2
Kał	3,03±1,26	0,7±0,3
Światło jelita	0,04±0,03	
Wątroba	0,06±0,05	
Nerki	0,12±0,19	
Roztwór po umyciu klatki	0,69±0,35	0,4±0,5
Wymioty	1,39±0,95	
Całkowity odzysk	89,34±13,13	97,0±5,1

Po 72 h od dożołądkowego podania [¹⁴C]-NTA królikowi i małpie w dawce 50 mg/kg mc. stwierdzono, że główną drogą wydalania znacznika był kał (33% podanej dawki u królika i 65% u małpy). U psa przeważało wydalanie z moczem (69%, z kałem tylko 5% podanej dawki), (tab. 25.), (Michael, Wakim 1971).

U ochotników, którzy otrzymali 10 mg [¹⁴C]-NTA, w ciągu 120 h od podania (całkowity odzysk wynosił wtedy 89%) większość znacznika izotopowego wydalała się z kałem (77%), a tylko 12% – z moczem. Znaczne wydalanie związku

z kałem wiązało się prawdopodobnie z niewielkim wchłanianiem z przewodu pokarmowego – na poziomie ok. 20% (LOUS 2014). Około 87% znacznika w moczu wydaliło się w ciągu pierwszych 12 h, w drugim dniu – 8%, w trzecim – 2,5%, a w czwartym i piątym dniu – w moczu stwierdzono zaledwie ślady związku. Niewielka część kwasu nitrylotrioctowego (poniżej 0,1%) wydalała się z wydychanym powietrzem (tab. 29.), (Budny, Arnold 1973).

Tabela 29.
Wydalanie znacznika izotopowego po 120 h od doustnego podania ochotnikom (mężczyźni) dawki 10 mg [¹⁴C]-NTA (Budny, Arnold 1973)

Próba	Procent podanej dawki
Mocz	12,33±7,41
Kał	76,99±11,37
Wydalanie ¹⁴ CO ₂ z powietrzem wydychanym	0,1
Całkowity odzysk	89,32±12,38

Podsumowując, można stwierdzić, że u szczurów, myszy i psów eliminacja zachodziła głównie z moczem – odpowiednio: 70 ÷ 95% podanej dawki u szczurów (Michael, Wakim 1971), 96% u myszy (Chu i in. 1978) i 67 ÷ 80% u psów (Michael, Wakim 1971). Około 75% dawki 20 mg Na₂NTA/kg mc. podanej psom wydaliło się w ciągu pierwszych 4 h, a pozostałe 15 ÷ 20% – po następnych 20 h (Budny 1972).

U ludzi, małpy i królika większość kwasu nitrylotrioctowego wydalała się z kałem, wydalanie z moczem było znacznie mniejsze, odpowiednio: 12 (tab. 29.), (Budny, Arnold 1973); 23 i 14% (tab. 25.), (Michael, Wakim 1971). Dane te mogą także świadczyć o mniejszym wchłanianiu związku z przewodu pokarmowego u ludzi i małp niż u myszy, szczurów i psa.

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Dokładny mechanizm działania toksycznego kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli nie jest do końca wyjaśniony. Jako czynniki chelatujące związki te mogą zmieniać stężenie metali w organizmie. Przewlekła toksyczność i rakotwórczość kwasu nitrylotrioctowego może być konsekwencją zmian stężeń oraz dystrybucji m.in. Zn^{2+} i Ca^{2+} w nerkach, szczególnie po stosowaniu dużych dawek, co sugerowałoby istnienie dawki progowej dla działania rakotwórczego (Anderson i in. 1985; Nesslany i in. 2008). W doświadczeniach wykonanych na szczurach i myszach notowano zwiększone wydalanie cynku i wapnia z moczem (Alden i in. 1981; Anderson, Kanerva 1978a; 1978b; 1979; Bahnemann i in. 1998; BASF 1997c; Budny i in. 1973; Fukushima i in. 1985; Leibold i in. 2002; Michael, Wakim 1973; Nixon i in. 1972).

Obserwowana u zwierząt nefrotoksyczność wiązała się ze zmianami wczesnymi (tab. 30. i 31.), do których można zaliczyć cytotoksyczność kwasu nitrylotrioctowego prowadzącą do zmian regeneracyjnych (prolifracji i hiperplazji). Wczesnymi zmianami (mającymi charakter odwracalny) były także (zależne od dawki i czasu narażenia): wakuolizacja (najpierw w komórkach kanalik bliższego, później także moczowodów i miedniczki nerkowej) oraz postępujące owrzodzenie i nadżerki nabłonka przejściowego w miedniczkach nerkowych, co również prowadziło do zmian regeneracyjnych i rozrostu komórek. Skutki takie obserwowano u szczurów narażonych (przez 28 dni i dłużej) na kwas nitry-

lotrioctowy i jego sole o stężeniu 0,15% (i większym) w paszy (Alden i in. 1981; Alden, Kanerva 1982b; Anderson i in. 1985; Mahaffey, Goyer 1972; Merski 1982; Nixon 1971; Nixon i in. 1972) oraz u myszy po narażeniu na stężenie 0,5% (i większe) w paszy, (NCI 1977). Po zakończeniu narażenia zmiany te cofały się (Alden, Kanerva 1982b; Myers i in. 1982).

Wydłużenie okresu narażenia na duże dawki kwasu nitrylotrioctowego i jego soli prowadziło do powstania nowotworów układu moczowego. W zależności od lokalizacji występowały one z różną częstotliwością. Analiza danych literaturowych pokazuje, że powstawanie nowotworów u szczurów (tab. 30.) było poprzedzone działaniem cytotoksycznym, wakuolizacją i zmianami degeneracyjnymi w kanalikach nerkowych, które były najbardziej wrażliwe. W miedniczkach nerkowych notowano także zmiany martwicze, owrzodzenia i nadżerki. Hiperplazja występowała we wszystkich badanych częściach układu moczowego (kanalikach nerkowych, miedniczkach, moczowodach i pęcherzu moczowym) szczurów. Ponadto jako zmiany przednowotworowe można zakwalifikować wakuolizację i zmiany rozrostowe komórek bazofilnych, obserwowane w kanalikach nerkowych. Zmianami nowotworowymi w kanalikach były gruczolaki i gruczolakoraki, w miedniczkach nerkowych, moczowodach i pęcherzu moczowym – brodawczaki i raki z komórek przejściowych, a w pęcherzu moczowym dodatkowo także raki płaskonabłonkowe (tab. 30.).

Tabela 30.
Miejsca docelowe i skutki działania kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli podanych drogą pokarmową na układ moczowy szczurów (Risk assessment 2008)

Miejsce docelowe	Kanaliki nerkowe	Miedniczki nerkowe	Moczowód	Pęcherz moczowy
Działanie	komórki nabłonkowe kanalików	nabłonek komórek przejściowych		
Uszkodzenia wczesne	cytotoksyczność: wakuolizacja, zwyrodnienie kanalików proksymalnych [3; 11; 12; 13; 15; 16]	cytotoksyczność: martwica, owrzodzenia, nadżerki, krwawienia [2; 12; 13], wodonercze [2; 13; 14; 15]	cytotoksyczność: dylatacja, nadżerki [1]	brak danych / nie zgłaszano zmian
Zmiany przedrakowe	hiperplazja [7; 14], wakuolizacja komórek [2; 3; 12; 13], hiperplazja komórek bazofilowych [3; 12; 13]; wyraźny przerost komórek [3]	hiperplazja [2; 5; 12; 13; 14]	hiperplazja [5; 8; 14]	hiperplazja [6; 8; 9; 14]

cd. tab. 30.

Miejsce docelowe Działanie	Kanaliki nerkowe	Miedniczki nerkowe	Moczowód	Pęcherz moczowy
	komórki nabłonkowe kanalików	nabłonek komórek przejściowych		
Atypia/ dysplazja	ogniska komórek atypowych [5]	dysplazja [13]	dysplazja [14]	dysplazja [14]
Zmiany nowotworowe	guzy: gruczolaki i gruczolakoraki kanalikowe [4; 14]	guzy: raki i brodawczaki z komórek przejściowych [14]	guzy: raki i brodawczaki z komórek przejściowych[14]	guzy: raki i brodawczaki z komórek przejściowych, raki płaskonabłonkowe [14]

Objaśnienia:
[1] – Alden i in. 1981; [2] – Anderson, Kanerva 1979; [3] – BASF 1997b; [4] – Goyer i in. 1981; [5] – Hiasa i in. 1984; [6] – Hiasa i in. 1985a; [7] – Hiasa i in. 1985b; [8] – Kanerva i in. 1984; [9] – Kitahori i in. 1985; [10] – Kitahori i in. 1988; [11] – Mahaffey, Goyer 1972; [12] – Merski 1982; [13] – Myers i in. 1982; [14] – NCI 1977; [15] – Nixon 1971; [16] – Nixon i in. 1972.

U myszy miejscem docelowym działania toksycznego kwasu nitrylotrioctowego i jego soli były komórki kanalików nerkowych, w których obserwowano cytotoksyczność i zwyrodnienia (bez zmian rozrostowych) oraz gruczolaki i gruczolakoraki. W miedniczkach nerkowych i moczowodzie myszy zanotowano jedynie zmiany przednowotworowe (hiperplazję), (tab. 31.).

Tabela 31.
Miejsca docelowe i skutki działania na układ moczowy myszy kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli podanych drogą pokarmową (Risk assessment 2008; NCI 1977)

Miejsce docelowe Działanie	Kanaliki nerkowe	Miedniczki nerkowe	Moczowód	Pęcherz moczowy
	komórki nabłonkowe kanalików	nabłonek komórek przejściowych		
Uszkodzenia wczesne	cytotoksyczność: zwyrodnienie cewkowe	cytotoksyczność: wodonercze	brak danych / nie zgłaszano zmian	brak danych / nie zgłaszano zmian
Zmiany przedrakowe	nie obserwowano hiperplazji	hiperplazja	hiperplazja	brak danych / nie zgłaszano zmian
Zmiany nowotworowe	guzy: gruczolaki i gruczolakoraki kanalikowe	guzy (?), brodawczaki z komórek przejściowych (1/94)	brak danych / nie zgłaszano zmian	brak danych / nie zgłaszano zmian

Zmiany nowotworowe w badaniach na zwierzętach laboratoryjnych obserwowano jednak po długotrwałym narażeniu (18 ÷ 24 miesięcy) i tylko po bardzo dużych dawkach (u szczurów

przyjęto za ten próg 1-procentowy kwas nitrylotrioctowy w paszy, a u myszy – 0,75-procentowy w paszy), (Anderson i in. 1985).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W doświadczeniach na szczurach stwierdzono, że kwas nitrylotrioctowy (NTA) może nasilać rakotwórcze działania nitrozoamin na nerki (Fukushima i in. 1985; Hiasa i in. 1985a; 1991; Kitahori i in. 1985; Shimoyama 1986).
Szczurom Wistar (samce, n = 21/grupę) podawano (w wodzie pitnej) 0,05-procentową NHBBA (N-nitrozo(4-hydroksybutylo)aminę)

przez 4 tygodnie, a później przez 28 tygodni kwas nitrylotrioctowy (o stężeniach: 0,3; 0,5 lub 1% w paszy). Łączne narażenie szczurów na oba związki zwiększyło częstość występowania przerostu brodawkowego lub guzkowego komórek pęcherza moczowego, brodawczaków i nowotworów z komórek przejściowych pęcherza moczowego (Kitahori i in. 1985).

W podobnym badaniu u szczurów Fisher 344 (samce, $n = 25 \div 26$ /grupę) zwierzęta otrzymywały przez 4 tygodnie NHBBA (o stężeniach 0,01 lub 0,05% w wodzie pitnej), a przez następne 32 tygodnie – paszę z 2-procentowym kwasem nitrylotrioctowym. Obserwowano zwiększoną częstość przerostu brodawkowego lub guzkowego komórek pęcherza moczowego i brodawczaków z komórek przejściowych w pęcherzu moczowym (Fukushima i in. 1985).

Znaczne zwiększenie częstości występowania guzów komórek kanalików nerkowych stwierdzono u szczurów Wistar (samce, $n = 24$ /grupę), które były karmione przez pierwsze 2 tygodnie dietą zawierającą (1 000 ppm w paszy, czyli 0,1% w paszy) NEHEA (N-nitrozoetylohydroksyetyloaminę), a później przez 30 tygodni kwas nitrylotrioctowy o stężeniach w paszy 10 000 ppm (1% w paszy) lub 30 000 ppm (3% w paszy). U szczurów otrzymujących sam kwas nitrylotrioctowy guzów w kanalikach nerkowych nie zanotowano (Hiasa i in. 1985a).

W innym badaniu tych samych autorów (Hiasa i in. 1991) szczurom Wistar (samce) podawano przez 2 tygodnie EHEN (N-etylohydroksyetylonitrozoaminę) o stężeniu 1 000 ppm (0,1%) w paszy, a później przez 18 tygodni 10 000 ppm kwasu nitrylotrioctowego (1% w paszy). Jako zmianę przednowotworową obserwowano zwiększenie częstości przerostu gruczolakowego. Kwas nitrylotrioctowy uznano za promotora nowotworów wywołanych przez EHEN.

W innym doświadczeniu szczurom Wistar (samce, $n = 15 \div 20$ /grupę) podawano przez 2 tygodnie NDHP (N-nitrozobis(2-hydroksypropylo)aminę) w wodzie do picia (o stężeniu 0,2%). Następnie przez 30 tygodni zwierzęta karmiono paszą zawierającą 1-procentowy kwas nitrylotrioctowy. Stwierdzono zwiększoną częstość występowania guzów (głównie brodawczaków) moczowo-pęcherzykowych oraz guzów komórek nerkowych (Shimoyama 1986).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Analiza dostępnych danych literaturowych wskazuje, że doświadczenia wykonane na szczurach, którym kwas nitrylotrioctowy (NTA) lub jego sól uwodnioną $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ podawano w paszy przez 4 tygodnie, nie pozwalają na określenie zależności dawka–skutek (tab. 7.). Wynika to z faktu, że podawane dawki związków były na zbliżonym, bardzo wysokim poziomie – najczęściej 1,5 $\div$ 2% w paszy, co odpowiadało dawkom 1 040 $\div$ 1 125 mg NTA/kg mc./dzień. Obserwowano po nich objawy uszkodzenia nerek (Alden i in. 1984; Anderson, Kanerva 1978b; 1979; Fukushima i in. 1985; Michael, Wakim 1973; Myers i in. 1982). W doświadczeniach, w których NTA lub $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ podawano szczurom przez 4 tygodnie w paszy w szerszych zakresach stężeń – 0,5 $\div$ 2% w paszy, uwagę autorów skupiło zagadnienie związane z wydalaniem CaNaNTA z moczem (tab. 7.), (Anderson, Kanerva 1978a).

Dane z doświadczeń podprzewlekłych (przedstawione w tab. 8.) wskazują, że trzy eksperymenty wykonane na: szczurach Charles River (10 tygodni narażenia), (Mahaffey, Goyer 1972),

szczurach Sprague-Dawley (90 dni podawania), (Nixon 1971) oraz psach (90 dni ekspozycji), (Budny i in. 1973) mogą posłużyć do analiz stwierdzających, że istnieje zależność typu dawka–skutek. We wszystkich tych doświadczeniach najmniejsze ze stosowanych dawek Na_3NTA nie powodowały objawów toksycznych. Przyjęto je za wartość NOAEL (tab. 32.). Dla szczurów Charles River wynosiła ona 0,01% w wodzie pitnej (7,4 mg NTA/kg mc./dzień), (Mahaffey, Goyer 1972). Większe dawki (0,05 i 1% w wodzie, czyli 37 i 740 mg NTA/kg mc./dzień) spowodowały zwiększenie stężenia glukozy we krwi oraz zmiany w kanalikach nerkowych.

Podobny poziom dawek zanotowano u psów, którym w diecie podawano Na_3NTA o stężeniach: 0,03; 0,15 lub 0,5% (co odpowiadało dawkom NTA: 5,6; 24,6 lub 87 mg/kg mc./dzień), (Budny i in. 1973). Najmniejsza dawka (5,6 mg NTA/kg mc./dzień) nie powodowała objawów toksycznych (NOAEL), po większych – wystąpiły zależne od dawki zaburzenia gospodarki Zn w organizmie (tab. 8.).

Po 90 dniach podawania Na₃NTA szczurom Sprague-Dawley najmniejszą ze stosowanych dawek (2 000 mg/kg paszy, czyli 0,2% w paszy, co odpowiadało 110 mg NTA/kg mc./dzień) można uznać za wartość NOAEL (tab. 32.). Po większych dawkach (7 500; 10 000 lub 20 000 mg/kg paszy, czyli 0,75; 1 i 2% w paszy, co odpowiadało dawkom: 420; 560 lub 1 125 mg NTA/kg mc./dzień) zanotowano zmiany w nerkach, które nasilały się wraz z zastosowaną dawką (tab. 8.), (Nixon 1971).

Ocena zależności dawka–skutek z doświadczeń przewlekłych wskazuje, że najbardziej przydatne są eksperymenty dwuletnie wykonane na szczurach, którym Na₃NTA · H₂O podawano w paszy w dawkach 6,9 ÷ 700 mg NTA/kg mc./dzień (Alden, Kanerva 1982a; NCI 1977) lub 11,2

÷ 186 mg NTA/kg mc./dzień (Nixon i in. 1972), (tab. 9.). Najmniejsza dawka: 6,9 mg NTA/kg mc./dzień (0,02% w paszy) podawana szczurom Fisher 344 spowodowała rozrost nabłonka pęcherza moczowego (LOAEL), po większych dawkach (0,2% w paszy, czyli 70 mg NTA/kg mc./dzień) zmiany te nasilały się i obejmowały także moczowód. Po największej dawce (700 mg NTA/kg mc./dzień, czyli 2% w paszy) zanotowano także stany zapalne nerek, przewlekłą nerczycę (tab. 9.) oraz nowotwory dróg moczowych (tab. 17.).

W innym doświadczeniu szczurom Charles River podawano Na₃NTA · H₂O w stężeniach 0,03 ÷ 0,5% w paszy (czyli w dawkach 11,2 ÷ 186 mg NTA/kg mc./dzień) przez 2 lata. Dawkę 11,2 mg NTA/kg mc./dzień (0,03% w paszy) przyjęto za wartość NOAEL (Nixon i in. 1972), (tab. 32.).

Tabela 32.
Wartości NOAEL i LOAEL (na podstawie danych zamieszczonych w dokumentacji, pochodzących z wyników dostępnych w piśmiennictwie)

Gatunek, płeć zwierząt	Czas	Droga narażenia	Wartość NOAEL, mg/kg mc./dzień	Wartość LOAEL		Piśmiennictwo
				LOAEL, mg/kg mc./dzień	objawy działania toksycznego dla LOAEL	
Szczur, ♂	4 tygodnie	p.o., z paszą	6,7	688	uszkodzenie nerek	Bahnmann i in. 1998; Leibold i in. 2002
			688		działanie rakotwórcze na nerki	
Szczur	30 dni	p.o., sondą (w wodzie)	–	187,6	uszkodzenie kanalików i cewki nerkowej	Merski 1982
Szczur Sprague-Dawley, ♂	10 tygodni	p.o., w wodzie pitnej	–	7,4	uszkodzenie nerek	Mahaffey, Goyer 1972
Szczur Charles River, ♂			7,4	37	zwiększenie stężenia glukozy we krwi	
Szczur Sprague-Dawley, ♂, ♀	90 dni	p.o., z paszą	110	420	łagodne zwyrodnienie komórek kanalików nerkowego	Nixon 1971
Pies, ♂, ♀	90 dni	p.o., w diecie	5,6	24,6	zwiększenie wydalania Zn z moczem, depozyty Zn w kościach	Budnyi i in. 1973
Szczur Wistar, ♂	30 tygodni	p.o., z paszą		26	rozrost nabłonka w miedniczkach nerkowych	Hiasa i in. 1984
Szczur F344, ♂, ♀	2 lata	p.o., z paszą	–	6,9	rozrost nabłonka pęcherza moczowego	Alden, Kanerva 1982a; NCI 1977
			6,9	70	działanie rakotwórcze na nerki	
Szczur Sprague-Dawley, ♂, ♀	2 lata	p.o., w paszy	11,2	56	łagodna nerczyca	Nixon i in. 1972
			186	–	brak nowotworów nerek	

Objaśnienia:
♂ – samiec.
♀ – samica.
p.o. – podanie dożołądkowe.

Po większych dawkach (56 lub 186 mg NTA/kg mc./dzień) zanotowano zmiany zależne od poziomu narażenia (nerczycę, zapalenie nerek, zwiększenie masy nerek). Nawet po największej ze stosowanych dawek (0,5% w paszy, czyli 186 mg NTA/kg mc./dzień) nie notowano zwiększenia częstotliwości występowania nowotworów (tab. 9.).

W innych doświadczeniach przewlekłych stwierdzono obecność nowotworów u szczurów i myszy. Istotnie statystycznie zwiększenie częstotliwości występowania nowotworów obserwowano jednak po bardzo dużych dawkach. U szczurów F344 otrzymujących kwas nitrylotrioctowy przez 18 miesięcy (+ 6 miesięcy obserwacji, bez narażenia) nowotwory (głównie pęcherza moczowego) stwierdzono po dawce 750 mg NTA/kg

mc./dzień (1,5% w paszy), (tab. 15.), (NCI 1977). Po 24 miesiącach nowotwory nerek, moczowodu i pęcherza moczowego zanotowano po narażeniu na $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w dawce 700 mg NTA/kg mc./dzień (2% w paszy), (tab. 17.), (NCI 1977).

U samców szczurów Sprague-Dawley nowotwory nerek i przysadki stwierdzono po 704 dniach podawania soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego w wodzie pitnej o stężeniu 0,1% (czyli 74 mg NTA/kg mc./dzień), (tab. 20.), (Goyer i in. 1981).

U samców myszy nowotwory nerek i jąder zanotowano po 24 miesiącach narażenia na $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w paszy (1,5% w paszy, czyli w dawce 805 mg NTA/kg mc./dzień), (tab. 21.), (BASF 2006).

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

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

W żadnym państwie nie ustalono wartości NDS dla kwasu nitrylotrioctowego (NTA) i jego soli. Wartości normatywnych nie wprowadził także SCOEL.

Niektóre z państw, m.in.: Australia, Chiny, Japonia i Tajwan, dopuszczają nieograniczone stosowanie kwasu nitrylotrioctowego i jego soli w preparatach przez wszystkich producentów i konsumentów. W Korei Południowej związki te znajdują się na „liście obserwacyjnej” (Ascend 2017).

W dyrektywie Unii Europejskiej z 2009 r. (EU Directive 2009/2/EC) ustalono, że po przekroczeniu 5% kwasu nitrylotrioctowego w produkcie powinno być ostrzeżenie o podejrzeniu działania rakotwórczego produktu, po przekroczeniu 20% – ostrzeżenie dotyczące działania drażniącego na oczy, a powyżej 25% – informacja: „szkodliwe po połknięciu”.

W rozporządzeniu Unii Europejskiej w sprawie klasyfikacji i oznakowania (rozporządzenie Komisji (WE) nr 790/2009, będące zmianą rozporządzenia nr 1272/2008 (CLP)) zachowano próg 5% związany z działaniem rakotwórczym związku.

Jeden z amerykańskich producentów kwasu nitrylotrioctowego i jego soli (Monsanto Company 1985) przyjął dla produkowanych przez siebie produktów maksymalny normatyw dla pyłu całkowitego równy 1 mg/m^3 dla 8-godzinnej ekspozycji (średnia ważona czasem – TLV-TWA) oraz 2 mg/m^3 jako stężenie chwilowe (STEL), (IARC 1990).

W 2010 r., wykorzystując metody zalecane przez REACH do oceny ryzyka i obliczenia wartości DNEL (*derived no-effect level*, pochodny poziom niepowodujący zmian), jeden z producentów soli trisodowej kwasu nitrylotrioctowego przyjął za najbardziej krytyczną drogę narażenia wchłanianie przez płuca związku w postaci pyłu. Uzyskano wartości graniczne dla przewlekłego narażenia: zawodowego – $3,2 \text{ mg/m}^3$, a dla populacji ogólnej – $0,8 \text{ mg/m}^3$ (4 razy mniejszą), (Ascend 2017).

Wykonane na zlecenie Komisji Europejskiej pomiary stężeń kwasu nitrylotrioctowego i jego soli w powietrzu miejsca 8-godzinnej pracy robotników napełniających worki wykazały poziom $0,02 \div 5,6 \text{ mg/m}^3$ (EC 2008b; LOUS 2014). Na poziomie wspólnotowym w UE nie ustalono oficjalnego limitu narażenia zawodowego

(OEL – *occupational exposure limit*). Komisja Europejska (EC 2008b) zaleciła, aby do oceny ryzyka wynikającego z narażenia inhalacyjnego na sproszkowaną sól trisodową kwasu nitrylotrioctowego w miejscu pracy z wentylacją miejscową stosowano poziom narażenia $2 \div 5 \text{ mg/m}^3$ (i 95 percentyl $3,9 \text{ mg/m}^3$). Jeśli w pomieszczeniu brakuje wentylacji, ocenę ryzyka zaleca się prowadzić dla stężeń w zakresie $5 \div 50 \text{ mg/m}^3$ (EC 2008b; LOUS 2014).

Podstawy proponowanej wartości NDS

Do chwili obecnej nie ma danych o liczbie osób narażonych zawodowo na kwas nitrylotrioctowy i jego sole w Polsce. Konieczność opracowania dokumentacji i zaproponowania wartości normatywnych wynika m.in. z faktu, że kwas nitrylotrioctowy i jego sole zaliczono do TOP 50 substancji rakotwórczych (na podstawie zgłoszonych do ECHA zidentyfikowanych zastosowań), (*Puts, ter Burg* 2015).

Analiza wyników badań dotyczących toksycznego działania kwasu nitrylotrioctowego i jego soli na zwierzęta laboratoryjne wykazała, że narządem krytycznym działania tych substancji są nerki. Do wyznaczenia wartości normatywnych można posłużyć się danymi uzyskanymi z badań na szczurach, którym związki te podawano przez 10 tygodni (*Mahaffey, Goyer* 1972) lub 2 lata (toksyczność przewlekła), (*Alden, Kanerva* 1982a; NCI 1977), (tab. 30.).

(a) W doświadczeniu, w którym szczury (Charles River, samce) narażano na sól trisodową kwasu nitrylotrioctowego (Na_3NTA) w wodzie do picia o stężeniu 0,01% przez 10 tygodni, co odpowiadało dawce $7,4 \text{ mg}$ kwasu nitrylotrioctowego/kg mc./dzień, nie obserwowano uszkodzenia nerek, więc wartość tę można przyjąć za wartość NOAEL (*Mahaffey, Goyer* 1972).

Po uwzględnieniu masy ciała człowieka (70 kg) można przyjąć, że dawce $7,4 \text{ mg/kg}$ mc. u szczura będzie u człowieka odpowiadać wartość:

$$7,4 \text{ mg/kg mc.} \cdot 70 \text{ kg} = 518 \text{ mg.}$$

Po uwzględnieniu 10 m^3 powietrza, którym oddycha człowiek w czasie 8-godzinnej zmiany roboczej, otrzymamy stężenie:

$$\frac{518 \text{ mg}}{10 \text{ m}^3} = 51,8 \text{ mg/m}^3.$$

Wychodząc od tej wartości ($51,8 \text{ mg/m}^3$), proponowana wartość NDS wynosiłaby:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \frac{\text{NOAEL}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{51,8 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2} = \\ &= \frac{51,8 \text{ mg/m}^3}{16} = 3,24 \text{ mg/m}^3 \cong \\ &\cong 3,2 \text{ mg/m}^3, \end{aligned}$$

gdzie:

A = 2 – współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi;

B = 2 – różnice międzygatunkowe i droga podania;

C = 2 – przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych;

D = 1 – zastosowano NOAEL;

E = 2 – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych na temat toksyczności oraz potencjalnych długoterminowych skutków narażenia ludzi – obserwowane w doświadczeniach przewlekłych na zwierzętach nowotwory nerek i dróg moczowych występowały po bardzo dużych dawkach związku).

(b) W doświadczeniu, w którym szczury (F344) narażano przez 2 lata na $\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$ w paszy o stężeniu 200 mg/kg paszy, co odpowiadało dawce $6,9 \text{ mg NTA/kg mc./dzień}$, obserwowano rozrost nabłonka pęcherza moczowego, więc wartość tę można przyjąć za LOAEL (*Alden, Kanerva* 1982a; NCI 1977). Po uwzględnieniu masy ciała człowieka (70 kg) można przyjąć, że dawce $6,9 \text{ mg/kg}$ mc. u szczura będzie u człowieka odpowiadać wartość:

$$6,9 \text{ mg/kg mc.} \cdot 70 \text{ kg} = 483 \text{ mg.}$$

Po uwzględnieniu 10 m^3 powietrza, którym oddycha człowiek w czasie 8-godzinnej zmiany roboczej, otrzymamy stężenie:

$$\frac{483 \text{ mg}}{10 \text{ m}^3} = 48,3 \text{ mg/m}^3.$$

Wychodząc od tej wartości ($48,3 \text{ mg/m}^3$), proponowana wartość NDS wynosiłaby:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \frac{\text{LOAEL}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \frac{48,3 \text{ mg/m}^3}{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 2} = \\ &= \frac{48,3 \text{ mg/m}^3}{16} = 3 \text{ mg/m}^3, \end{aligned}$$

gdzie:

A = 2 – współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi;

B = 2 – różnice międzygatunkowe i droga podania;

C = 1 – przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych;

D = 2 – przejście z wartości LOAEL na NOAEL;

E = 2 – współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych na temat

toksyczności oraz potencjalnych długoterminowych skutków narażenia ludzi – obserwowane w doświadczeniach przewlekłych na zwierzętach nowotwory nerek i dróg moczowych występowały po bardzo dużych dawkach związku).

Wartość NDS zaproponowano na poziomie 3 mg/m³. Wartość ta powinna zabezpieczać pracowników przed niekorzystnym działaniem związku na nerki. Brak podstaw do wyznaczenia wartości chwilowej, NDSCh oraz dopuszczalnej w materiale biologicznym, DSB.

Wykaz skrótów stosowanych w dokumentacji

♀	samica	EHEN	N-etylo-N-
♂	samiec		-hydroksyetylonitrozoamina
ACGIH	Amerykańska Konferencja Państwowych Higienistów Przemysłowych (ang. <i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i>)	EPA	Agencja Ochrony Środowiska (ang. <i>Environmental Protection Agency</i>)
ALT	aminotransferaza alaninowa	FDA	Agencja ds. Żywności i Leków (ang. <i>Food and Drug Administration</i>)
AST	aminotransferaza asparaginianowa	GHS	Globalny Zharmonizowany System Klasyfikacji i Oznakowania Chemikaliów (ang. <i>Global Harmonised System</i>)
bd.	brak danych		
CaNaNTA	kryształy kwasu nitrylooctowego połączonego z wapniem i sodem, wydalone z moczem	i.p.	podanie dootrzewnowe (ang. <i>intraperitoneal</i>)
CAS	międzynarodowy rejestr związków chemicznych (ang. <i>Chemical Abstracts Service</i>)	IARC	Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. <i>International Agency for Research on Cancer</i>)
CLP	Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania oraz pakowania substancji i mieszanin... (ang. <i>Classification, Labelling and Packaging</i>)	IUPAC	Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (ang. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
		LC ₅₀	mediana stężenia śmiertelnego (dla 50% osobników)
		LD ₅₀	mediana dawki śmiertelnej (dla 50% osobników)
DNA	kwas dezoksyrybonukleinowy	LDH	dehydrogenaza mleczanowa
DNEL	pochodny poziom niepowodujący zmian (ang. <i>derived no-effect level</i>)	LOAEL	najniższy poziom, przy którym obserwuje się efekty szkodliwe (ang. <i>lowest observed adverse effect level</i>)
DSB	dopuszczalne stężenie biologiczne	mc.	masa ciała
DTPA	kwas pentetynowy, dietylenotriaminopentaocetan	MAK	najwyższe dopuszczalne stężenie w powietrzu strefy roboczej (niem. <i>Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen</i>)
EC	Komisja Europejska (ang. <i>European Commission</i>)		
ECHA	Europejska Agencja ds. Chemikaliów (ang. <i>European Chemical Agency</i>)	MN	test mikrojądrowy (ang. <i>micronucleus test</i>)
EDTA	kwas (etylenodiamino)-tetraoctowy; kwas wersenowy	MTD	maksymalna dawka tolerowana (ang. <i>maximum tolerated dose</i>)

<i>n</i>	liczebność w grupie		Wykazie Istniejących
Na ₂ NTA	sól disodowa kwasu nitrylotriooctowego		Substancji o Znaczeniu
Na ₃ NTA	sól trisodowa kwasu nitrylotriooctowego		Komercyjnym (EINECS
NaNTA	sól sodowa kwasu nitrylotriooctowego		– <i>European Inventory of Existing Chemical Substances</i>)
NCI	Narodowy Instytut Raka w Stanach Zjednoczonych (ang. <i>National Cancer Institute</i>)	OEHHA	lub w Europejskim Wykazie Notyfikowanych Substancji Chemicznych (ELINCS – <i>European List of Notified Chemical Substances</i>)
NDHP	N-nitrozobis(2-hydroksypropylo)amina		Biuro Oceny Zagrożeń dla Zdrowia Środowiskowego w Kalifornii (ang. <i>California Office of Environmental Health Hazard Assessment</i>)
NDS	najwyższe dopuszczalne stężenie	OEL	poziom ekspozycji
NDSCh	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe		w środowisku pracy, odpowiadający polskiemu NDS (ang. <i>occupational exposure limit</i>), (TWA; TLV-TWA)
NHBBA	N-nitrozo(4-hydroksybutylo)amina		
NEHEA	N-nitrozoetylohydroksyetyloamina	OSHA	Ministerstwo Bezpieczeństwa Zawodowego i Zdrowia Stanów Zjednoczonych (ang. <i>Occupational Safety and Health Administration</i>)
NIOSH	Narodowy Instytut Bezpieczeństwa Zawodowego i Zdrowia w Stanach Zjednoczonych (ang. <i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>)	p.o.	podanie dożołądkowe (łac. <i>per os</i>)
		ppm	części na milion (ang. <i>part per milion</i>)
NOAEC	najwyższe stężenie, przy którym nie obserwuje się efektów szkodliwych (ang. <i>no observed adverse effect concentration</i>)	REACH	rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 regulujące kwestie stosowania chemikaliów poprzez ich rejestrację i ocenę oraz udzielanie zezwoleń i wprowadzanie do obrotu, zmienione przez rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP), (ang. <i>Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals</i>)
NOAEL	najwyższy poziom, przy którym nie obserwuje się efektów szkodliwych (ang. <i>no observed adverse effect level</i>)		
NSRL	poziom niepowodujący istotnego ryzyka (ang. <i>no significant risk level</i>)		
NT	nie testowano		
NTA	kwas nitrylotriooctowy		
Numer indeksowy EC	ang. <i>European Community number</i>	RTECS	rejestr toksycznych efektów substancji chemicznych (ang. <i>Registry of Toxic Effects of Chemical</i>
Numer WE	numer przypisany substancji chemicznej w Europejskim		

	<i>Substances</i>) – baza danych substancji toksycznych	UAREP	stowarzyszone amerykańskie uniwersytety (ang. <i>Universities Associated with Research and Education in Pathology</i>)
SCE	wymiana chromatyd siostrzanych (ang. <i>sister chromatid exchange</i>)		
SCOEL	Komitety Naukowy ds. Dopuszczalnych Norm Zawodowego Narażenia (ang. <i>Scientific Committee for Occupational Exposure Limits</i>)	UDS	nieplanowa synteza DNA (ang. <i>unscheduled DNA synthesis</i>)
		WHO	Światowa Organizacja Zdrowia (ang. <i>World Health Organization</i>)
STEL	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (ang. <i>short-term exposure limit</i>)		
$t_{1/2}$	biologiczny okres półtrwania		
TLV, TLV-TWA	najwyższe dopuszczalne stężenie ważone czasem (ang. <i>threshold limit value – time-weighted average exposure</i>)		

PIŚMIENNICTWO

ACGIH (2018). Occupational exposure value. Nitrilotriacetic acid 139-13-9 (p. 149).

Alden C.L., Kanerva R.L. (1982a). The pathogenesis of renal cortical tumours in rats fed 2% trisodium nitrilotriacetate monohydrate. *Food Chem. Toxicol.* 20(4), 441–450 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].

Alden C.L., Kanerva R.L. (1982b). Reversibility of renal cortical lesions induced in rats by high doses of nitrilotriacetate in chronic feeding studies. *Food Chem. Toxicol.* 20(6), 935–937 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; NTA Canada 1990].

Alden C.L., Kanerva R.L., Anderson R.L., Adkins A.G. (1981). Short-term effects of dietary nitrilotriacetic acid in the male Charles River rat kidney. *Vet. Pathol.* 18(4), 549–559.

Anderson C., Danylchuk K.D. (1979). The effect of chronic administration of trisodium nitrilotriacetate (Na_3NTA) on the Haversian remodelling system in dogs. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 3(1-2), 413–420 [cyt. za: Anderson i in. 1985; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].

Anderson R.L., Bishop W.E., Campbell R.L. (1985). A review of the environmental and mammalian toxicology of nitrilotriacetic acid. *Crit. Rev. Toxicol.* 15(1), 1–102 [cyt. za: IARC 1990; 1999; LOUS 2014; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].

Anderson R.L., Kanerva R.L. (1978a). Hypercalcinuria and crystalluria during ingestion of dietary nitrilotriacetate. *Food Cosmet. Toxicol.* 16(6), 569–574 [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008; SCCS 2010].

Anderson R.L., Kanerva R.L. (1978b). Effect of nitrilotriacetate (NTA) on cation balance in the rat. *Food Cosmet. Toxicol.* 16(6), 563–568.

Anderson R.L., Kanerva R.L. (1979). Comparisons of response of Fischer-344 and Charles River rats to 1.5% nitrilotriacetic acid and 2% trisodium nitrilotriacetate, monohydrate. *Food Cosmet. Toxicol.* 17(2), 137–140 [cyt. za: IARC 1990; MAK 2014; Risk assessment 2008].

Angewandte Chemie (1975). International edition in English, Vol. 15, p. 94 [cyt. za: Toxnet Database ChemIDplus 2019, dostęp 4.04.2019].

Ascend (2017). Flexatrac-NTA. Produkt stewardship summary. Version 5. Ascend Performance Materials 2017 [www.ascendmaterials.com, dostęp 14.04.2019].

Bahnemann R., Leibold E., Kittel B., Mellert W., Jäckh R. (1998). Different patterns of kidney toxicity after subacute administration of Na-nitrilotriacetic acid and Fe-nitrilotriacetic acid to Wistar rats. *Toxicol. Sci.* 46(1), 166–175.

BASF (1968). Trilon AS. Versuchsnummer XVIII/7, 01. März 1968, BASF AG, Gewerbehygienisches und pharmakologisches Institut der BASF AG, Ludwigshafen (Trilon AS. Test Number XVIII/7, 1 March 1968, Institute for

Occupational Hygiene and Pharmacological Institute of the BASF AG, Ludwigshafen) [German] unpublished report [cyt. za: MAK 2014].

BASF (1978a). Bericht über die gewerbetoxikologische Vorprüfung von Trilon-A-Pulver. Bericht Nr. XXVI 289, 05. Januar 1978, BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie, Ludwigshafen (Report on occupational toxicological pretesting of Trilon A Powder, Report No. XXVI 289, 05 January 1978, BASF AG, Occupational Hygiene and Toxicology, Ludwigshafen) [German] unpublished [cyt. za: MAK 2014].

BASF (1978b). Bericht über die gewerbetoxikologische Vorprüfung von Trilon A flüssig. Bericht Nr. XXVI 320, 13. Januar 1978, BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie, Ludwigshafen (Report on occupational toxicological pretesting of Trilon A liquid, Report No. XXVI 320, 13 January 1978, BASF AG, Occupational Hygiene and Toxicology, Ludwigshafen) [German] unpublished [cyt. za: MAK 2014].

BASF (1982). Prüfung der akuten Reizwirkung am Auge weißer Kaninchen gemäß OECD; Trilon A flüssig. Substanz Nr. 81/396, 18. Februar 1982, BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie, Ludwigshafen (Test for acute irritation in the eyes of white rabbits according to OECD; Trilon A liquid, Substance No. 81/936, 18 February 1982, BASF AG, Occupational Hygiene and Toxicology, Ludwigshafen) [German] unpublished report [cyt. za: MAK 2014].

BASF (1997a). Department of Toxicology. Trilon A 92 – Buehler test in guinea pigs. Unpublished report 32H0061/952192, 11 December 1997 [cyt. za: Risk assessment 2008; SCCS 2010].

BASF (1997b). Screening test for kidney toxicity with Trilon AS in Wistar rats. Administration by gavage for 3 weeks. Project No. 25S0109/94021, BASF AG, Department of Toxicology, Ludwigshafen unpublished report [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008; SCCS 2010].

BASF (2000). Hyperhaploidy-aneuploidy determination in secondary spermatocytes of mice after oral treatment with nitrilotriacetic acid (trisodium salt). RCC Cytotest Cell Research GmbH, RCC-CCR Project No. 560100, BASF AG, Ludwigshafen unpublished report [cyt. za: MAK 2014].

BASF (2004). Cytogenetic study in vivo with Trilon A 92 R in the mouse micronucleus test after two oral administrations. Project No. 26M0192/024031, 22 June 2004, BASF AG, Department of Experimental Toxicology and Ecology, Ludwigshafen unpublished report [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008].

BASF (2006). Trilon ES 9964/Pulver (Powder) – Combined chronic toxicity/carcinogenesis study in CrLGlxBr/Han:WI-rats; administration in the diet up to 24 months. Project No. 82S0059/95121, BASF AG, Ludwigshafen unpublished report [cyt. za: MAK 2014].

Brouwer N.M., Terpstra P.M.J. (1995). Ecological and toxicological properties of nitrilotriacetic acid (NTA) as a deter-

- gent builder. Tenside Surfactants Deterg. 32, 225–228 [cyt. za: Ascend 2017].
- Budny J.A. (1972). Metabolism and blood pressure effects of disodium nitrilotriacetate (Na_2NTA) in dogs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 22(4), 655–660.
- Budny J.A., Arnold J.D. (1973). Nitrilotriacetate (NTA): human metabolism and its importance in the total safety evaluation program. Toxicol. Appl. Pharmacol. 25(1), 48–53.
- Budny J.A., Niewenhuis R.J., Buehler E.V., Goldenthal E.I. (1973). Subacute oral toxicity of trisodium nitrilotriacetate (Na_3NTA) in dogs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 26(1), 148–153.
- CanTox (1996). Assessment of the human exposure to sodium nitrilotriacetate monohydrate from the use of various industrial/institutional and consumer products. Mississauga, Ontario [cyt. za: IARC 1999].
- CEFIC (2001). NTA sales into Western Europe 1999 and 2000 [cyt. za: Risk assessment 2008].
- Celotti L., Furlan D., Ferraro P., Levis A.G. (1988). DNA damage and repair induced in vitro by nitrilotriacetic acid (NTA) in human lymphocytes. Mutat. Res. 209(3–4), 149–154 [cyt. za: MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].
- Celotti L., Furlan D., Seccati L., Levis A.G. (1987). Interactions of nitrilotriacetic acid (NTA) with Cr(IV) compounds in the induction of gene mutations in cultured mammalian cells. Mutat. Res. 190(1), 35–39. [cyt. za: IARC 1990; 1999; Risk assessment 2008, SCCS 2010].
- Chu I., Becking G.C., Villeneuve D.C., Viau A. (1978). Metabolism of nitrilotriacetic acid (NTA) in the mouse. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19, 417–422.
- Costa R., Russo A., Zordan M., Pacchierotti F., Tavella A., Levis A.G. (1988a). Nitrilotriacetic acid (NTA) induces aneuploidy in *Drosophila* and mouse germ-line cells. Environ. Mutagen. 12(4), 397–407 [cyt. za: IARC 1990; 1999; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2014].
- Costa R., Strolego G., Levis A.G. (1988b). Mutagenicity of lead chromate in *Drosophila melanogaster* in the presence of nitrilotriacetic acid (NTA). Mutat. Res. 204(2), 257–261 [cyt. za: IARC 1990].
- CRC (1989). CRC Critical reviews in toxicology, Vol. 20, p. 83 [cyt. za: Toxnet Database ChemIDplus 2019, dostęp 4.04.2019].
- Crebelli R., Bellincampi D., Conti G., Conti L., Morpurgo G., Carere A. (1986). A comparative study on selected chemical carcinogens for chromosome malsegregation, mitotic crossing-over and forward mutation induction in *Aspergillus nidulans*. Mutat. Res. 172(2), 139–149 [cyt. za: IARC 1990; 1999; MAK 2014; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- De Marco A., Romanelli M., Stazi M.A., Vitagliano E. (1986). Induction of micronucleated cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* root tips treated with nitrilotriacetic acid (NTA). Mutat. Res. 171(1), 145–148 [cyt. za: IARC 1990; 1999; SCCS 2010].
- DOW (2011). DOW™ Trisodium nitrilotriacetate-based chalcants. Product safety assessment. [www.dow.com/productsafetyfinder/, dostęp 10.05.2019].
- Dunkel V.C., Zeiger E., Brusick D., McCoy E., McGregor D., Mortelmans K., Rosenkranz H.S., Simmon V.F. (1985). Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. Environ. Mutagen. 7(Suppl. 5), 1–248 [cyt. za: IARC 1990, Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- EC (2008a). Risk assessment report: trisodium nitrilotriacetate (CAS: 5064-31-3). European Commission, European Union Human Health [cyt. za: LOUS 2014].
- EC (2008b). European Commission. Strategy for limiting risk. Human Health Draft of 16.09.2008 [cyt. za: LOUS 2014].
- EC Directive 2009/2/EC (2009). European Commission. Official Journal of the European Union, L11, 2009, 52, 6–82 [cyt. za: Ascend 2017].
- EC No 790/2009 (2009). European Commission Regulation (EC) No 790/2009. Official Journal of the European Union, L235, 52, 1–439 [http://eur-lex.europa.eu, dostęp 14.04.2019].
- ECHA (2019) [http://echa.europa.eu, dostęp 20.04.2019].
- EPA (1979). US Environmental Protection Agency. Chemical technology and economics in environmental perspective. Task IV – Potential worker and customer exposures to nitrilotriacetic acid (NTA) in detergents. EPA-560/11-79-008; NTIS PB-297-753, Washington DC [cyt. za: Ascend 2017; IARC 1990].
- EPA (1980). Final report. NTA. Washington DC [cyt. za: Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Epstein S.S., Arnold E., Andrea J., Bass W., Bishop Y. (1972). Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. Toxicol. Appl. Pharmacol. 23(2), 288–325 [cyt. za: IARC 1990; 1999; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].
- FDA (1987). US Food and Drug Administration. Boiler water additives. US Code Fed. Regul., Title 21, Part 173.310, pp. 117–120 [cyt. za: IARC 1990].
- Fukushima S., Kurata Y., Tamano S., Inoue K., Ito N. (1985). Promoting effect of trisodium nitrilotriacetate monohydrate on urinary bladder carcinogenesis in rats. Jpn. J. Cancer Res. 76(9), 823–827.
- Goyer R.A., Falk H.L., Hogan M., Feldman D.D., Richter W. (1981). Renal tumors in rats given trisodium nitrilotriacetic acid in drinking water for 2 years. J. Natl. Cancer Inst. 66(5), 869–880 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; LOUS 2014; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Greenblatt M., Lijinsky W. (1974). Carcinogenesis and chronic toxicity of nitrilotriacetic acid in Swiss mice. J. Natl. Cancer Inst. 52(4), 1123–1126 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].

- Grilli M.P., Capucci A. (1985). Mutagenic effect of nitrilotriacetic acid on cultured human cells. *Toxicol. Lett.* 25(2), 137–141.
- Hartwig A., Klyszcz-Nasko H., Schlepegrell R., Beyersmann D. (1993). Cellular damage by ferric nitrilotriacetate and ferric citrate in V79 cells: interrelationship between lipid peroxidation, DNA strand breaks and sister chromatid exchanges. *Carcinogenesis* 14(1), 107–112 [cyt. za: IARC 1999; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Hiasa Y., Kitahori Y., Konishi N., Enoki N., Shimoyama T., Miyashiro A. (1984). Trisodium nitrilotriacetate monohydrate: promoting effects on the development of renal tubular cell tumors in rats treated with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.* 72(2), 483–489 [cyt. za: Anderson i in. 1985; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].
- Hiasa Y., Kitahori Y., Konishi N., Shimoyama T. (1985a). Dose-related effect of trisodium nitrilotriacetate monohydrate on renal tumorigenesis initiated with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine in rats. *Carcinogenesis* 6(6), 907–910 [cyt. za: IARC 1990; MAK 2014; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Hiasa Y., Kitahori Y., Konishi N., Shimoyama T., Miyashiro A. (1985b). Trisodium nitriloacetate monohydrate: promoting effect in urinary bladder carcinogenesis in rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.* 74(1), 235–239 [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008].
- Hiasa Y., Konishi N., Nakaoka S., Nakamura M., Nishii S., Kitahori Y., Ohshima M. (1991). Possible application to medium-term organ bioassays for renal carcinogenesis modifiers in rats treated with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine and unilateral nephrectomy. *Jpn. J. Cancer Res.* 82(12), 1385–1390.
- HSDB (2019). Hazardous Substances Data Bank – komputerowa baza danych. Nitrilotriacetic acid, CAS no. 139-13-9. Trisodium nitrilotriacetate, CAS no. 5064-31-3. National Library of Medicine, Bethesda, MD (dostęp 5.04.2019).
- IARC (1990). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 48. Nitrilotriacetic acid and its salts. [In:] Some flame retardants and textile chemicals, and exposure in the textile manufacturing industry, pp. 181–212, WHO, IARC, Lyon, France.
- IARC (1999). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 73. Nitrilotriacetic acid and its salts. [In:] Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances, pp. 385–399, WHO, IARC, Lyon, France.
- IARC (2019). List of classification (Monographs 1–123) – klasyfikacja czynników rakotwórczych (marzec 2019).
- Jędra M., Malanowska M. (1995). Kwas nitrylotrioctowy (NTA) – właściwości i zastosowanie w środowisku. Cz. I. Właściwości chemiczne i toksykologiczne. *Roczn. Panstw. Zakł. Hig.* 46(3), 251–263.
- Kanerva R.L., Francis W.R., Lefever F.R., Dorr T., Alden C.L., Anderson R.L. (1984). Renal pelvic and ureteral dilatation in male rats ingesting trisodium nitrilotriacetate. *Food Chem. Toxicol.* 22(9), 749–753 [cyt. za: IARC 1990; MAK 2014; Risk assessment 2008].
- Kihlman B.A., Sturelid S. (1970). Nitrilotriacetic acid (NTA) and chromosome breakage. *Environ. Mutagen. Soc. Newslett.* 3, 32–33 [cyt. za: IARC 1999; Risk assessment 2008].
- Kitahori Y., Konishi N., Shimoyama T., Hiasa Y. (1985). Dose-dependent promoting effect of trisodium nitrilotriacetate monohydrate on urinary bladder carcinogenesis in Wistar rats pretreated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Jpn. J. Cancer Res.* 76(9), 818–822 [cyt. za: IARC 1990; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Kitahori Y., Shimoyama T., Ohshima M., Matsuki H., Hashimoto H., Minami S., Konishi N., Hiasa Y. (1988). Effects of trisodium nitrilotriacetate monohydrate, nitrilotriacetic acid and ammonium chloride on urinary bladder carcinogenesis in rats pretreated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Lett.* 43(1–2), 105–110 [cyt. za: NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].
- Kramers P.G.N. (1976). Mutagenicity studies with nitrilotriacetic acid and Citrex S-5 in *Drosophila*. *Mutat. Res.* 40(3), 277–280 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; 1999; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Leibold E., Deckardt K., Mellert W., Potthoff-Karl B., Grundler O., Jäckh R. (2002). NTA and Fe(III) NTA: differential patterns of renal toxicity in subchronic studies. *Hum. Exp. Toxicol.* 21(8), 445–452.
- Lewis R.J. (2004). Sax's dangerous properties of industrial materials. 11th ed., p. 2647, Wiley Interscience, A John Wiley & Sons, Inc. Publication.
- Lijinsky W., Greenblatt M., Kommineni C. (1973). Brief communication: feeding studies of nitrilotriacetic acid and derivatives in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 50(4), 1061–1063 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Loprieno N., Boncristiani G., Venier P., Montaldi A., Mojone F., Bianchi V., Pagliarunga S., Levis A.G. (1985). Increased mutagenicity of chromium compounds by nitrilotriacetic acid. *Environ. Mutagen.* 7(2), 185–200 [cyt. za: IARC 1990; 1999; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- LOUS (2014). Survey of trisodium nitrilotriacetate. A LOUS review report. Environmental Project No. 1545, 2014. Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency, Copenhagen, Denmark.
- Loveday K.S., Lugo M.H., Resnick M.A., Anderson B.E., Zeiger E. (1989). Chromosome aberration and sister chromatid exchange tests in Chinese hamster ovary cells *in vitro*: II. Results with 20 chemicals. *Environ. Mol. Mutag.* 13(1), 60–94 [cyt. za: IARC 1990; 1999; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Mahaffey K.R., Goyer R.A. (1972). Trisodium nitrilotriacetate in drinking water; metabolic and renal effects in rats. *Arch. Environ. Health* 25(4), 271–275.

- MAK (2014). Nitrilotriacetic acid and its sodium salt. The MAK-Collection Part I, MAK Value Documentations 2014, DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Matsuki H., Ozono S., Yamaguchi H., Tsunemi K., Hirao Y., Okajima E. (1992). Effects of various chemicals on the development of mouse urinary bladder tumors induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine. *J. Toxicol. Pathol.* 5(1), 55–60 [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008].
- Means G.L., Kucak T., Crerar D.A. (1980). Relative degradation rates of NTA, EDTA and DTPA and environmental implications. *Environ. Poll. Ser. B, Chem. Phys.* 1(1), 45–60 [cyt. za: Anderson i in. 1985].
- Merski J.A. (1982). Alterations of renal tissue structure during a 30-day gavage study with nitrilotriacetate. *Food Cosmet. Toxicol.* 20(4), 433–440 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Michael W.R., Wakim J.M. (1971). Metabolism of nitrilotriacetic acid (NTA). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 18(2), 407–416.
- Michael W.R., Wakim J.M. (1973). Effect of trisodium nitrilotriacetate (Na_3NTA) on the metabolism of selected metal ions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 24(4), 519–529.
- Mitchell A.D., Rudd C.J., Caspary W.J. (1988). Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International. *Environ. Mol. Mutag.* 12(Suppl. 13), 37–101 [cyt. za: IARC 1990; 1999; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Modesti D., Tanzarella C., Degrassi F. (1995). Genotoxic activity of nitrilotriacetic acid in Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 343(1), 1–6.
- Monsanto Company (1985). Material Safety Data Sheet: NTA powder and NTA 40% solution. St. Lois, MO [cyt. za: Ascend 2017; IARC 1990].
- Monsanto Company, Bio/dynamics Inc. (1986). Acute oral toxicity in rats. Test material NTA. Unpublished report Bio/dynamics Project No. 6083-85, Monsanto reference No BD-85-230, 17 March 1986 [cyt. za: Risk assessment 2008].
- Monsanto Company, Younger Laboratories (1968). Toxicological investigation of: Trisodium Nitrilotriacetate (NTA). Unpublished report Monsanto Project No. Y-68-13, 2 February 1968 [cyt. za: Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Montaldi A., Zentilin L., Venier P., Gola I., Bianchi V., Pagliarunga S., Levis A.G. (1985). Interaction of nitrilotriacetic acid with heavy metals in the induction of sister chromatid exchanges in cultured mammalian cells. *Environ. Mutagen.* 7(3), 381–390 [cyt. za: IARC 1990; 1999; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Montaldi A., Mariot R., Zordan M., Paleologo M., Levis A.G. (1988). Nitrilotriacetic acid (NTA) does not induce chromosomal damage in mammalian cells either *in vitro* or *in vivo*. *Mutat. Res.*, 208, 95–100 [cyt. za: IARC 1990; MAK 2014; Risk assessment 2008].
- Myers M.C., Kanerva R.L., Alden C.L., Anderson R.L. (1982). Reversibility of nephrotoxicity induced in rats by nitrilotriacetate in subchronic feeding studies. *Food Chem. Toxicol.* 20(6), 925–934 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Nakatsuka S., Arimoto S., Kawabata T., Tanaka H., Namba M. (1989). Non-mutagenicity of Fe^{3+} -NTA and NTA in the Ames Salmonella Test. *Kawasaki Med. J.* 15, 25–28 [cyt. za: Risk assessment 2008].
- NCI (1977). National Cancer Institute. Bioassay of nitrilotriacetic acid (NTA) and nitrilotriacetic acid, trisodium salt, monohydrate ($\text{Na}_3\text{NTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$) for possible carcinogenesis. Technical report series No. 6, DHEW Publication No. (NIH) 77–806, NCI, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.
- Nesslany F., Simar-Meintières S., Watzinger M., Talahari I., Marzin D. (2008). Characterization of the genotoxicity of nitrilotriacetic acid. *Environ. Mol. Mutag.* 49(6), 439–452.
- NIOSH/OSHA (1998). National Institute for Occupational Safety and Health (1998) National Occupational Exposure Survey (1981–1983), Cincinnati, OH [cyt. za: IARC 1999].
- Nixon G.A. (1971). Toxicity evaluation of trisodium nitrilotriacetate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 18(2), 398–406 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; LOUS 2014; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Nixon G.A., Buehler E.V., Niewenhuis R.J. (1972). Two-year rat feeding study with trisodium nitrilotriacetate and its calcium chelate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 21(2), 244–252.
- Nolen G.A., Bohne R.L., Buehler E.V. (1972a). Effects of trisodium nitrilotriacetate, trisodium citrate and a trisodium nitrilotriacetate-ferrous chloride mixture on cadmium and methyl mercury toxicity and teratogenesis in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 23(2), 238–250 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].
- Nolen G.A., Buehler E.V., Geil R.G., Goldenthal E.I. (1972b). Effects of trisodium nitrilotriacetate on cadmium and methyl mercury toxicity and teratogenicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 23(2), 222–237 [cyt. za: Anderson i in. 1985; IARC 1990; MAK 2014; NTA Canada 1990; Risk assessment 2008].
- Nolen G.A., Klusman L.W., Back D.L., Buehler E.V. (1971). Reproduction and teratology studies of trisodium nitrilotriacetate in rats and rabbits. *Food Cosmet. Toxicol.* 9(4), 509–518.
- NTA Canada (1990). Nitrilotriacetic acid (NTA) [canada.ca/content/dam/canada/heath-canada/migration/helthy-canadiens/publications/helthy-living-vie-saine/water-nitrilotriacetic-nitrilotriaceticque-eau/alt/water-nit, dostęp 5.04.2019].
- Puts C., ter Burg W. (2015). Identifying prevalent carcinogens at the workplace in Europe. RIVM Letter Report 2015-0107.

- Ramel C., Magnusson J. (1979). Chemical induction of nondisjunction in *Drosophila*. *Environ. Health Perspect.* 31, 59–66 [cyt. za: IARC 1990; 1999; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- REACH registration data [http://echa.europa.eu/information-on-chemicals/registered-substances;jsessionid] [cyt. za: LOUS 2014].
- Revue d'Epidemiologie (1962). *Medicine Societe et Santa Publique*, Vol. 10, p. 391 [cyt. za: Toxnet Database ChemID-plus 2019, dostęp 4.04.2019].
- Risk assessment (2008). Trisodium nitrilotriacetate. CAS-No.: 5064-31-3. EINECS-No 225-768-6. Draft of 20.08.2008. trd_rar_germany_NTA_en.
- Robbiano L., Carrozzino R., Puglia C.P., Corbu C., Brambilla G. (1999). Correlation between induction of DNA fragmentation and micronuclei formation in kidney cells from rats and humans and tissue-specific carcinogenic activity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 161(2), 153–159 [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008].
- RoC (Report on Carcinogens) 14th (2011). U.S. National Toxicology Program, Department of Health and Human Services. Report on Carcinogens.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. Dz. Urz. UE, L 353 z 31.12.2008. (z późn. zmianami w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 790/2009 z dnia 10 sierpnia 2009 r., L 235) [Regulation (EC) No 1271/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006].
- Russo A., Pacchierotti F., Bassani B., Levis A.G. (1989). Lack of induction of somatic aneuploidy in the mouse by nitrilotriacetic acid (NTA). *Mutat. Res.* 226(2), 111–114 [cyt. za: IARC 1999; MAK 2014; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- SCCS (2010). Scientific Committee on Consumer Safety. Opinion on trisodium nitrilotriacetate (NTA). SCCS/1391/10, European Union, 2010.
- Shimoyama T. (1986). Effects of trisodium nitrilotriacetate monohydrate, nitrilotriacetic acid and ammonium chloride on urinary bladder and renal tumorigenesis in rats treated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine [Japanese]. *J. Nar. Med. Assoc.* 37, 610–632 [cyt. za: IARC 1990; SCCS 2010].
- Sigma-Aldrich (2019). Sól disodowa kwasu nitrylotrioctowego – karta charakterystyki.
- Tjälve H. (1972). A study of the distribution and teratogenicity of nitrilotriacetic acid (NTA) in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 23(2), 216–221.
- Toxnet Database ChemIDplus (2019). Komputerowa baza danych toksykologicznych.
- UAREP (1985). Universities Associated for Research and Education in Pathology. Assessment of the practical risk to human health from the use of nitrilotriacetic acid (NTA) in household laundry products. Bethesda, MD [cyt. za: IARC 1990; 1999; LOUS 2014].
- Ved Brat S., Williams G.M. (1984). Nitrilotriacetic acid does not induce sister-chromatid exchanges in hamster or human cells. *Food Chem. Toxicol.* 22(3), 211–215 [cyt. za: IARC 1990; 1999; NTA Canada 1990; SCCS 2010].
- Venier P., Montaldi A., Gava C., Zentilin L., Tecchio G., Bianchi V., Paglialunga S., Levis A.G. (1985). Effects of nitrilotriacetic acid on the induction of gene mutations and sisterchromatid exchanges by insoluble chromium compounds. *Mutat. Res.* 156(3), 219–228 [cyt. za: IARC 1990; 1999; SCCS 2010].
- WHO (1993). Guidelines for drinking water quality. 2nd ed., Vol. 1. Recommendations. Geneva pp. 74–75 [cyt. za: IARC 1999].
- 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: MAK 2014; Risk assessment 2008].
- Zetterberg G. (1970). Negative results with nitrilotriacetic acid (NTA) as an inducer of gene mutation in some microorganisms. *Environ. Mutat. Soc. Newsl.* 3, 31–32 [cyt. za: IARC 1990; 1999; SCCS 2010].
- Zordan M., Graf U., Singer D., Bfeltrame C., Valle L.D., Osti M., Costa R., Levis A.G. (1991). The genotoxicity of nitrilotriacetic acid (NTA) in a somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 262(4), 253–261 [cyt. za: IARC 1999; Risk assessment 2008; SCCS 2010].
- Zordan M., Russo A., Costa R., Bianco N., Beitrane C., Levis A.G. (1990). A concerted approach to the study of the aneuploidogenic properties of two chelating agents (EDTA and NTA) in the germ and somatic cell lines of *Drosophila* and the mouse. *Environ. Mol. Mutagen.* 15(4), 205–213 [cyt. za: MAK 2014; Risk assessment 2008].

Adres do korespondencji/Contact details:

dr hab. ELŻBIETA BRUCHAJZER
e-mail: elzbieta.bruchajzer@umed.lodz.pl
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź, ul. J. Muszyńskiego 1
POLAND

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU NA KWAS NITRYLOTRIOCTOWY I JEGO SOLE

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

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: nerki i spojówki.

Badania pomocnicze: badanie ogólne moczu, stężenie kreatyniny w surowicy.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: nerki i spojówki.

Badania pomocnicze: badanie ogólne moczu, stężenie kreatyniny w surowicy.

Częstotliwość badań okresowych: co 24 – 36 miesięcy.

U w a g a

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

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: nerki i spojówki.

Badania pomocnicze: badanie ogólne moczu, stężenie kreatyniny w surowicy.

Narządy (układy) krytyczne

Narządem krytycznym w narażeniu na kwas nitrylotriooctowy i jego sole są nerki.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na kwas nitrylotriooctowy i jego sole są:

- przewlekłe choroby dróg moczowych i pęcherza,
- przewlekłe choroby nerek przebiegające z uszkodzeniem mięszu.

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.

Kwas nitrylotriooctowy i jego sole są zaklasyfikowane jako substancja rakotwórcza kategorii 2 i podejrzewa się, że powodują nowotwory układu moczowego.

W narażeniu na kwas nitrylotriooctowy i jego sole nie powinni być zatrudniani pracownicy młodociani, kobiety w ciąży i karmiące piersią.

Należy zwrócić uwagę na fakt, że kwas nitrylotriooctowy i jego sole nasilają rakotwórcze działanie nitrozoamin w nerkach.