

Печникова И.А., Федотова Л.А., Потапченко Т. Д., Манаева Е.С., Лебедь-Шарлевич Я.И.

## Оценка токсичности и опасности хелатообразующего агента на основе смеси ди- и триаммонийной солей нитрилотриуксусной кислоты в воде и атмосферном воздухе

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»  
Федерального медико-биологического агентства, 119121, г. Москва, Российская Федерация

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** В статье оценивается токсичность и опасность хелатообразующего агента на основе смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты. Актуальность исследования связана с оценкой воздействия этого вещества на воду и атмосферный воздух, особенно в контексте его использования в нефтедобыче и потенциального попадания в окружающую среду и воздействия на человека.

**Материал и методы.** Исследования включали оценку влияния смеси на органолептические характеристики воды, процессы самоочищения водных объектов, а также на проведение острых и подострого токсикологических испытаний для изучения влияния смеси на организм теплокровных животных.

**Результаты.** Для смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в качестве пороговой концентрации по органолептическому показателю вредности рекомендовано значение 70 мг/л, лимитирующий показатель — запах. Смесь не оказывает влияния на процессы самоочищения воды водных объектов в максимальной исследованной концентрации. Токсикологические исследования показали, что по острой токсичности смесь относится к 3-му классу опасности ( $LD_{50}$   $2250 \pm 250$  мг/кг) и обладает сильной степенью кумуляции. Кроме того, она оказывает умеренно выраженное раздражающее действие на слизистую оболочку глаза и неповреждённую кожу при многократном нанесении, не обладает кожно-резорбтивным действием. При длительном воздействии смесь влияет на показатели крови животных, а также на функциональное состояние печени и почек.

**Ограничения исследования.** Исследования проведены в соответствии с требованиями МУ 2.1.5.720–98 и МУ № 2630–82. Результаты исследований применимы при обосновании гигиенических нормативов в воде водных объектов и атмосферном воздухе.

**Заключение.** Таким образом, на основании данных литературы, а также проведённых собственных исследований, для смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты можно рекомендовать величину 0,8 мг/л в качестве ориентировочного допустимого уровня (ОДУ) в воде водных объектов (лимитирующий показатель вредности — санитарно-токсикологический, 2-й класс опасности), а величину 0,1 мг/м<sup>3</sup> — в качестве ориентировочного безопасного уровня воздействия (ОБУВ) в атмосферном воздухе населённых мест.

**Ключевые слова:** хелатообразующий агент; смесь солей нитрилотриуксусной кислоты; гигиенические нормативы; токсичность

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование выполнено в соответствии с общепринятыми правилами этического обращения с лабораторными животными и одобрено Биоэтической комиссией ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина» Минздрава России 06.02.2017 г.

**Для цитирования:** Печникова И.А., Федотова Л.А., Потапченко Т.Д., Манаева Е.С., Лебедь-Шарлевич Я.И. Оценка токсичности и опасности хелатообразующего агента на основе смеси ди- и триаммонийной солей нитрилотриуксусной кислоты в воде и атмосферном воздухе. *Токсикологический вестник*. 2024; 32(5): 281–291. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-5-281-291>

**Для корреспонденции:** Печникова Ирина Александровна, e-mail: IPechnikova@cspmz.ru

**Участие авторов.** Все соавторы внесли равнозначный вклад в исследование и подготовку статьи к публикации.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила в редакцию: 23 мая 2023 / Поступила после доработки: 22 августа 2024 / Принята в печать: 20 сентября 2024 / Опубликовано: 30 октября 2024

Irina A. Pechnikova, Lionella A. Fedotova, Timur D. Potapchenko, Elizaveta S. Manaeva,  
Yana I. Lebed-Sharlevich

# Assessment of the toxicity and hazard of a chelating agent based on a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid in water and atmospheric air

Federal State Budgetary Institution “Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks” of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, 119121, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction.** The article evaluates the toxicity and danger of a chelating agent based on a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid.

**The relevance of the study** is related to the assessment of the impact of this substance on water and atmospheric air, especially in the context of its use in oil production and potential release into the environment and impact on humans.

**Material and methods.** The studies included assessing the effect of the substance on the organoleptic characteristics of water, the process of self-purification of water bodies, as well as conducting acute and subacute toxicological tests to study the effect of the mixture on the body of warm-blooded animals.

**Results.** For a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid, a value of 70 mg/L is recommended as the threshold concentration for the organoleptic indicator, the limiting indicator is odor. The mixture does not affect the processes of self-purification of water in water bodies at the maximum studied concentration. Toxicological studies have shown that the mixture is classified in the 3<sup>rd</sup> hazard class ( $LD_{50}$  2250±250 mg/kg) and has a high degree of accumulation. In addition, it has a moderate irritant effect on the mucous membrane of the eye and intact skin upon repeated application, and does not have a skin-resorptive effect. After prolonged exposure, the mixture affects the blood parameters of animals, as well as the functional state of the liver and kidneys.

**Limitations.** The studies were carried out in accordance with the requirements of Methodological instructions 2.1.5.720–98 and Methodological instructions 2630–82. The research results are applicable in substantiating hygienic standards in the water of water bodies and atmospheric air.

**Conclusion.** Thus, based on literature data, as well as our own research, for a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid, we can recommend a value of 0.8 mg/L as the approximate permissible level in the water of water bodies (hazard indicator – sanitary-toxicological, hazard class – 2), and a value of 0.1 mg/m<sup>3</sup> as the tentative safe exposure level in the atmospheric air of populated areas.

**Keywords:** *chelating agent; mixture of nitrilotriacetic acid salts; hygienic standards; toxicity*

**Compliance with ethical standards.** The study was carried out in accordance with generally accepted rules for the ethical treatment of laboratory animals and was approved by the Bioethical Commission of the Federal State Budgetary Institution “Scientific Research Institute of Human Ecology and the Environment named after A.N. Sysin” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation 06.02.2017.

**For citation:** Pechnikova I.A., Fedotova L.A., Potapchenko T.D., Manaeva E.S., Lebed-Sharlevich Ya.I. Assessment of the toxicity and danger of a chelating agent based on a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid in water and atmospheric air. *Toksikologicheskii vestnik / Toxicological Review*. 2024; 32(5): 281–291. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-5-281-291>

**For correspondence:** Irina A. Pechnikova, e-mail: [IPechnikova@cspmrz.ru](mailto:IPechnikova@cspmrz.ru)

**Authors contribution.** All co-authors made an equal contribution to the research and preparation of the article for publication.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The study had no sponsorship.

Accepted: May 23, 2023 / Revised: August 22, 2024 / Received: September 20, 2024 / Published: October 30, 2024

## Введение

В процессе нефтедобычи используют различные типы бурового раствора, представляющего из себя сложную систему жидкостей. Для придания буровому раствору требуемых качеств в его состав входят добавки разного свойства. Одной из таких добавок является хелатообразующий агент, состоящий из ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты, формирующих растворимый в воде комплекс с железом с целью уменьшения реакционной способности железа. Эта смесь может попадать в воду водных объектов и атмосферный воздух в результате нарушений хранения и транспортировки, а также в результате аварии в процессе нефтедобычи.

Данная смесь является производными солями нитрилотриуксусной кислоты (НТК), хорошо изученной за рубежом и в России. Для нитрилотриуксусной кислоты в России установлена предельно допустимая концентрация (ПДК) в воде на уровне 0,2 мг/кг (лимитирующий показатель вредности — санитарно-токсикологический, 2-й класс опасности). Однако для аммонийных производных НТК гигиенические нормативы в воде, атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны не установлены.

Нитрилотриуксусная кислота в основном используется в качестве хелатирующего и элюирующего (при очистке редкоземельных элементов) агента. Является заменителем для полифосфатов в средствах бытовой химии. Кроме того, НТК используется в целлюлозно-бумажной, кожевенной и фармацевтической отраслях, входит в состав удобрений для сельскохозяйственных культур [1].

Экспозиция населения с учётом поступления из всех возможных источников, а именно питьевой воды, воды для принятия душа или ванны, ношение вещей, постиранных с использованием моющих средств, содержащих нитрилотриуксусную кислоту или её соли, накожное действие при контакте с водой при стирке или мойке посуды с использованием таких моющих средств, пероральное поступление при пользовании мытой посуды, сохранившей следы моющего средства, составляет менее 1 мкг/л, по данным NTP<sup>1</sup> (США). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), экспозиция НТК с питьевой водой составляет несколько мкг/л, однако в некоторых случаях НТК была обнаружена в концентрации порядка 30 мкг/л [2]. По данным департамента

Таблица 1 / Table 1

### Значения ЛД<sub>50</sub> при пероральном поступлении различных комплексов НТК для крыс LD<sub>50</sub> values for oral administration of various nitrilotriacetic acid complexes for rats

| Комплексы НТК с металлами | Острая токсичность (ЛД <sub>50</sub> ), мг/кг |
|---------------------------|-----------------------------------------------|
| CuNaNTA                   | 810                                           |
| Na <sub>3</sub> NTA       | 1900                                          |
| ZnNaNTA                   | 18600                                         |
| CaNaNTA                   | >20000                                        |
| NiNaNTA                   | >22500                                        |

Канады ЕССС (Окружающая среда и изменение климата Канады), экспозиция НТК в питьевой воде в среднем составляет 2,82 мкг/л (содержание от 0,2 до 30,4 мкг/л). В питьевой воде НТК присутствует преимущественно в виде комплексов с металлами. Количество таких комплексов зависит от концентрации ионов металлов, концентрации ионизированной НТК и pH воды, а также от констант образования комплексов [3].

Токсичность нитрилуksусной кислоты хорошо изучена за рубежом. Так, в ряде экспериментов установлено, что она не образует метаболиты при воздействии на млекопитающих (грызуны, собаки, человек) и быстро выводится из организма с мочой и калом, причём у грызунов доля выделения с мочой больше, чем у человека. Однако некоторая часть НТК задерживается в костях, образуя комплексы с кальцием.

Полулетальная доза свободной нитрилотриуксусной кислоты при пероральном введении составляет для крыс 1470 мг/кг и для мышей 3160 мг/кг. Значения острой токсичности комплексов нитрилотриуксусной кислоты с металлами при пероральном поступлении для крыс различаются (табл. 1) [4].

В ряде подострых экспериментов установлено, что органом-мишенью НТК являются почки, установлена положительная зависимость доза-ответ. Кроме того, выявлен гипергликемический эффект при поступлении тринатриевой соли НТК в дозах 7, 37 и 70 мг/кг (в пересчёте на НТК), что может быть связано с уменьшением доступности эндогенных металлов как кофакторов инсулина из-за хелатирующих свойств НТК [5].

При длительном поступлении тринатриевой соли НТК установлен NOAEL<sup>2</sup> по нефротоксическому эффекту (нефроз и нефрит) у животных на уровне 30 мг/кг для крыс-отъёмышей

<sup>1</sup> NTP (Network Time Protocol) — Протокол сетевого времени. сетевой протокол для синхронизации внутренних часов компьютера с использованием сетей с переменной задержкой.

<sup>2</sup> NOAEL (No-Observed Adverse Effect Level) — доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта.

и 15 мг/кг для подросших животных, или в пересчёте на НТК 20 и 10 мг/кг соответственно.

Кроме того, добавление тринатриевой соли НТК крысам в питьевую воду в концентрации 1000 мг/л в течение 2 лет вызывало повышение случаев рака почек, включая аденомы и аденокарциномы [6]. Международным агентством по изучению рака (МАИР) НТК отнесена к группе 2В [7]. Возникновение злокачественных новообразований определяется цитотоксичностью НТК и её солей в результате образования хелатных комплексов с двухвалентными катионами цинка и кальция в мочевыводящих путях [8]. Образование хелатов приводит к развитию гиперплазии и новообразований.

Поскольку НТК не генотоксична, безопасный уровень в питьевой воде определён ВОЗ исходя из NOAEL по нефротоксическому эффекту в 2-годичных экспериментах (10 мг/кг) с введением коэффициента запаса 1000, что приводит к значению допустимой суточной дозы (TDI) 10 мкг/кг. Принимая во внимание, что поступление с питьевой водой составляет 50%, получают величину безопасного уровня 0,2 мг/л для питьевой воды.

Департаментом по охране окружающей среды Канады Health Canada безопасный уровень обоснован на уровне 0,4 мг/л. Различие обусловлено особенностями оценки суточного потребления человеком воды и доли питьевой воды в общей допустимой суточной дозе.

Таким образом, компоненты исследуемой смеси хорошо изучены за рубежом, тринатриевая соль НТК обладает токсическими эффектами (преимущественно в отношении выделительной системы) и является опасным канцерогеном в дозе выше 100 мг/кг, относится к группе 2В по МАИР. Установлена допустимая суточная доза (TDI) на уровне 0,1 мг/кг. Вместе с тем постановка экспериментов не всегда соответствовала методическим подходам, установленным как МУ 2.1.5.720–98<sup>3</sup>, так и требованиями Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР). Исследования проведены в основном на высоких дозах. Кроме того, зарубежные исследования токсичности и опасности не подразумевают обоснование пороговых концентраций по органолептическому и общесанитарному показателям вредности.

*Цель исследования* — обоснование гигиенического норматива хелатообразующего агента на основе смеси ди- и триаммонийных солей нитрилтриуксусной кислоты в воде водных объектов и атмосферном воздухе.

## Материал и методы

Токсикологические и гигиенические исследования проводились в соответствии с МУ 2.1.5.720–98<sup>3</sup>, МУ 2630–82<sup>4</sup>, «Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду» [9], «Общая токсикология» [10].

Исследования включали оценку влияния вещества на органолептические характеристики воды, процесс самоочищения водных объектов, а также проведение острых и подострых токсикологических испытаний для изучения влияния смеси на организм теплокровных животных. Кроме того, провели эксперименты по определению раздражающего действия смеси на слизистые оболочки, местно-раздражающего действия на кожу и кожно-резорбтивного действия на экспериментальных животных.

Проведение исследования острого интратрахеального воздействия смеси не представлялось возможным из-за выделения аммиака из аммониевой группы, вследствие чего наблюдалась мгновенная смерть подопытных животных.

Изучение влияния на органолептические свойства воды проводили с целью установления пороговых концентраций смеси в воде по органолептическому показателю вредности.

Эксперименты проводили бригадным методом с уточняющими исследованиями в «закрытых» опытах методом треугольника. Оценивали влияние веществ на такие параметры воды, как запах, привкус, образование пены и плёнки, окрашивание, изменение прозрачности и реакция среды (рН) водных растворов. Опыты осуществляли на дехлорированной московской водопроводной воде, которую использовали также в качестве контроля.

Изучение влияния вещества на процессы самоочищения воды водных объектов осуществляли в соответствии с МУ 2.1.5.720–98<sup>3</sup> и в соответствии с требованиями РД 52.24.420–2019<sup>5</sup> на основе наблюдений за динамикой биохимиче-

<sup>3</sup> Методические указания МУ 2.1.5.720–98 «Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 15 октября 1998 г.). М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 1999.

<sup>4</sup> МУ 2630–82. «Методические указания по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населённых мест». Утверждены Минздравом СССР 25 ноября 1982 года. N 2630–82.

<sup>5</sup> РД 52.24.420–2019 Руководящий документ «Биохимическое потребление кислорода в водах». Методика измерений титриметрическим и амперометрическим методами. Ростов-на-Дону; 2020.

ского потребления кислорода (БПК). Исследовали концентрации смеси от 0,1 до 40 мг/л.

Экспериментальные исследования по оценке острой токсичности проводили в соответствии с п. 8 МУ 2.1.5.720–98 с использованием нелинейных животных (белых крыс с начальной массой тела 120–150 г) для определения средней смертельной дозы ( $DL_{50}$ ) и класса опасности смеси (ГОСТ 12.1.007–76<sup>6</sup>).

Каждая группа включала 6 животных, прошедших 15-дневный карантин. Контрольные животные содержались и обслуживались в соответствии с теми же стандартами, что и опытные животные. В экспериментах животные контрольной группы получали эквивалентное количество дехлорированной водопроводной воды. Кормление животных проводили согласно стандартам.

Изучение токсичности в опыте проводили в дозах 1500, 2250 и 3000 мг/кг, поскольку данные литературы свидетельствуют о низкой токсичности вещества. Наблюдение за общим состоянием животных, клиническими проявлениями отравления и сроками гибели продолжалось в течение 14 сут. По окончании опыта крысы были подвержены эвтаназии методом цервикальной дислокации и вскрыты.

С целью изучения общетоксического действия, токсикодинамики и кумулятивных свойств изучаемой смеси был проведён подострый опыт. В эксперименте использованы 40 белых половозрелых крыс-самцов с исходной массой тела 250–290 г. При выборе экспериментальных доз ориентировались на класс опасности исследуемого соединения согласно данным об острой токсичности и данным литературы о его кумулятивных свойствах.

Исследуемое вещество в виде водного раствора вводили в течение 30 дней (5 дней в неделю на протяжении 6 нед) внутрижелудочно. Образцы биоматериала отбирали на 15-е и 30-е сутки эксперимента. Взятие крови осуществлялось путём пункции подъязычной вены.

При выборе показателей, позволяющих оценить токсическое действие смеси на организм теплокровных животных, была поставлена задача по возможности более полно отразить состояние целостного организма и функции отдельных органов и систем.

В качестве интегрального показателя функционального состояния организма в течение всего подострого эксперимента оценивали общее со-

стояние животных, включая поведение, двигательную активность, аппетит, состояние шерсти и массу тела.

Анализ показателей красной крови провели с использованием прибора AbacusJuniorVet+ (США) в соответствии с протоколом производителя. Выбранные параметры включали следующие показатели: количество эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците, гематокрит.

Для оценки общего состояния организма лабораторных животных выбрали следующие биохимические маркеры: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), креатинин, мочевины, холинэстераза, щелочная фосфатаза. Исследования выполняли на биохимическом анализаторе Chemwell (США) с использованием реактивов Spinreact (Испания). В качестве исследуемого материала использовали сыворотку крови лабораторных животных.

В конце подострого эксперимента крысы были умерщвлены методом цервикальной дислокации и вскрыты. Внутренние органы животных были подвергнуты макроскопическому анализу. Оценивали токсичность смеси по изменению массы внутренних органов – печени, почек, селезёнки, семенников – опытной группы относительно контрольной.

Для определения раздражающего действия на слизистые оболочки глаза однократно вносили 50 мг исследуемой смеси в конъюнктивальный мешок глаза каждого из 3 экспериментальных кроликов, контролем служил противоположный глаз. Срок наблюдения за реакцией слизистой глаза составлял 14 дней.

Местное раздражающее действие на кожу изучали при эпикутанных аппликациях 500 мг исследуемой смеси на эпилированную кожу спины каждого из 3 кроликов на 4 ч ежедневно в течение 2 нед (5 раз в 1 нед), затем наблюдали за состоянием кожи ещё 2 нед. Контролем служил контралатеральный участок кожи спины тех же животных.

Кожно-резорбтивное действие смеси изучали на двадцати нелинейных белых мышах-самках «пробирочным методом». Хвосты десяти подопытных животных на 2/3 их длины погружали в 25% крахмальный гель смеси на 2 ч ежедневно в течение 2 нед (5 дней в 1 нед), хвосты десяти контрольных животных погружали в воду. Во время эксперимента регистрировали общее состояние животных (внешний вид, поведение, пищевая активность, динамика массы тела). Данные показатели являлись оценкой возможного

<sup>6</sup> Межгосударственный стандарт ГОСТ 12.1.007–76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» (утв. постановлением Госстандарта СССР от 10 марта 1976 г. N 579).

поступления вещества в организм через кожу. По окончании опыта за животными продолжали наблюдение в течение 2 нед.

Результаты экспериментов по оценке токсичности обрабатывались с использованием компьютерной программы Statistica for Windows. Статистическая достоверность различий между группами определялась с помощью *t*-критерия Стьюдента и непараметрических методов статистики. Различия между опытными и контрольными группами считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

Соблюдение этических стандартов: содержание и кормление лабораторных животных осуществляли в соответствии с требованиями РД-АПК 3.10.07.02-09 от 15.12.2009 г. «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений».

## Результаты

Смесь 10–30% диаммонийной соли нитрилотриуксусной кислоты (синоним — глицин, N,N-бис(карбоксиметил)-, аммонийной соли (1:2), CAS 71264-32-9) и 10–30% триаммонийной соли нитрилотриуксусной кислоты (синоним — глицин, N,N-бис(карбоксиметил)-, аммонийной соли (1:3), CAS 32685-17-9) представляет собой слабо окрашенную жидкость с характерным аммиачным запахом, относительная плотность раствора 1,15 кг/м<sup>3</sup>.

В концентрации 1000 мг/л смесь хорошо растворима в воде, обладала стойким запахом аммиака, не изменяла прозрачность воды и не образовывала пену и плёнку на её поверхности, pH 7,4. В более высоких концентрациях исследования не проводили.

По влиянию на запах величина EC<sub>50</sub> исследуемой смеси составила 79,3 ± 10 мг/л. Однако при обосновании пороговой концентрации учитывали нижнюю доверительную границу средней величины, то есть 70 мг/л.

В этой концентрации влияния смеси на привкус воды не выявили.

Значения пороговых концентраций по воздействию исследуемого вещества на органолептические свойства воды приведены в табл. 2.

Как следует из табл. 2, наименьшей среди приведённых концентраций является 70 мг/л. Следовательно, на основании обобщённых результатов исследования, для смеси в качестве пороговой концентрации по органолептическому показателю вредности рекомендовано значение 70 мг/л, лимитирующий показатель — запах.

Таблица 2 / Table 2

**Величины пороговых концентраций по влиянию смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты на органолептические показатели воды, мг/л**  
**Threshold concentrations for the effect of a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid on organoleptic parameters of water, mg/L**

| Показатель | Значение |
|------------|----------|
| Запах      | 70       |
| Пена       | > 1000   |
| Привкус    | > 80     |
| pH         | > 1000   |
| Мутность   | > 1000   |

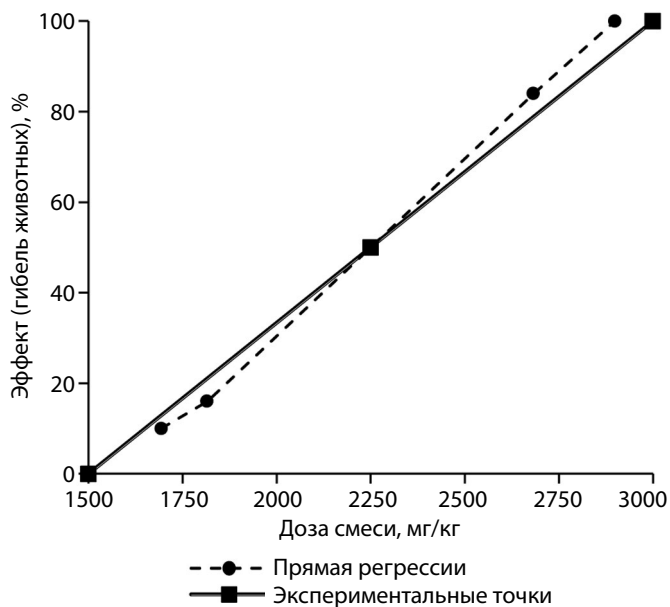
Изучение влияния на процессы самоочищения воды водных объектов показало, что смесь ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты не вызывает достоверных изменений процессов БПК даже в максимальной исследованной концентрации (40 мг/л), поэтому величина ПК<sub>сан</sub> составила >40 мг/л.

Исследование местного раздражающего действия на слизистые оболочки глаза показало, что внесение смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в конъюнктивальный мешок глаза вызывало блефароспазм, слезотечение, гиперемию слизистой оболочки после введения. Через 12 ч указанные симптомы затихали, а через сутки проявления раздражения слизистой оболочки исчезали полностью. Таким образом, исследуемая смесь обладает умеренно выраженным раздражающим действием на слизистую оболочку глаза.

Повторные аппликации смеси на неповреждённую кожу кроликов в течение двух недель вызвали кратковременное появление слабой гиперемии, возникающей сразу после каждодневного нанесения смеси и полностью отсутствующей утром следующего дня, то есть оказывали умеренно выраженное действие.

Кроме того, смесь ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты не обладает кожно-резорбтивным действием, что было доказано в эксперименте на белых мышах.

С целью определения острой токсичности изучаемой смеси провели эксперимент на белых беспородных крысах-самцах, разделённых на 4 группы (3 группы опытные, 1 — контрольная) по 6 животных в каждой. Вводимые дозы составили 1500, 2250 и 3000 мг/кг соответственно.



**Рис. 1.** Зависимость «доза–ответ» после однократного введения в желудок белых крыс-самцов смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в различных дозах (метод пробит-анализа).

**Fig. 1.** Dose-response relationship after a single injection into the stomach of white male rats with a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid in various doses (probit analysis method).

В течение первых двух часов с момента воздействия вещества у опытных животных наблюдали нарушение координации, снижение двигательной активности и тактильной чувствительности, а в группе, получившей дозу 3000 мг/кг, животные приняли положение «лягушки». При первом кормлении через 2 ч после введения наблюдали снижение аппетита у экспериментальных животных по сравнению с контрольными.

Графическое выражение зависимости «доза–ответ» (% гибели) представлено на рис. 1 (расчёт произведен методом пробит-анализа).

В течение первых 24 ч после введения исследуемой смеси в группе крыс, получивших дозу 3000 мг/кг, умерли 3 животных; а в группе, получившей дозу 2250 мг/кг, — 2. Спустя 96 ч умерли ещё 3 крысы из группы, получившей максимальную дозу, и 1 животное из группы с дозой 2250 мг/кг. В группе, получившей 1500 мг/кг, летальных исходов не было. Наблюдение было продолжено ещё на протяжении 10 дней, за это время больше не было отмечено случаев смерти среди подопытных крыс. Общее состояние, поведенческие реакции и увеличение массы тела у выживших животных из опытной и контрольной групп в этот период не показали значительных отличий.

На основании проведённого расчёта средняя летальная доза ( $LD_{50}$ ) при однократном введении смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в желудок крысам-самцам составила  $2250 \pm 250$  мг/кг. Кроме того, по данным острого эксперимента, рассчитали индекс кумуляции, величина которого составила 0,22 (сильная степень кумуляции), и среднее время смерти животных (27 ч 33 мин).

Таким образом, по данным острого опыта, хелатообразующий агент на основе смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты согласно МУ 2.1.5.720—98<sup>3</sup> относится к веществам 3-го класса опасности. Исходя из времени смерти животных, изучаемое вещество обладает сильной степенью кумуляции.

С целью изучения особенностей влияния исследуемой смеси на организм теплокровных животных в условиях длительного воздействия на основе зависимости «доза–эффект», определение пороговой ( $PD_{пэк}$ ) и недействующей доз, а также оценки характера действия смеси по изменению показателей здоровья подопытных животных был проведён подострый эксперимент.

Вводили дозы 10,0 мг/кг (1-я группа); 1,0 мг/кг (2-я группа) и 0,1 мг/кг (3-я группа). Контрольная группа получала эквивалентное количество дехлорированной водопроводной воды.

В ходе эксперимента ни одно из опытных животных не погибло. На протяжении всего исследования животные, подвергавшиеся воздействию вещества, не отличались по своему внешнему виду, аппетиту, поведению или состоянию шерстяного покрова от контрольных животных.

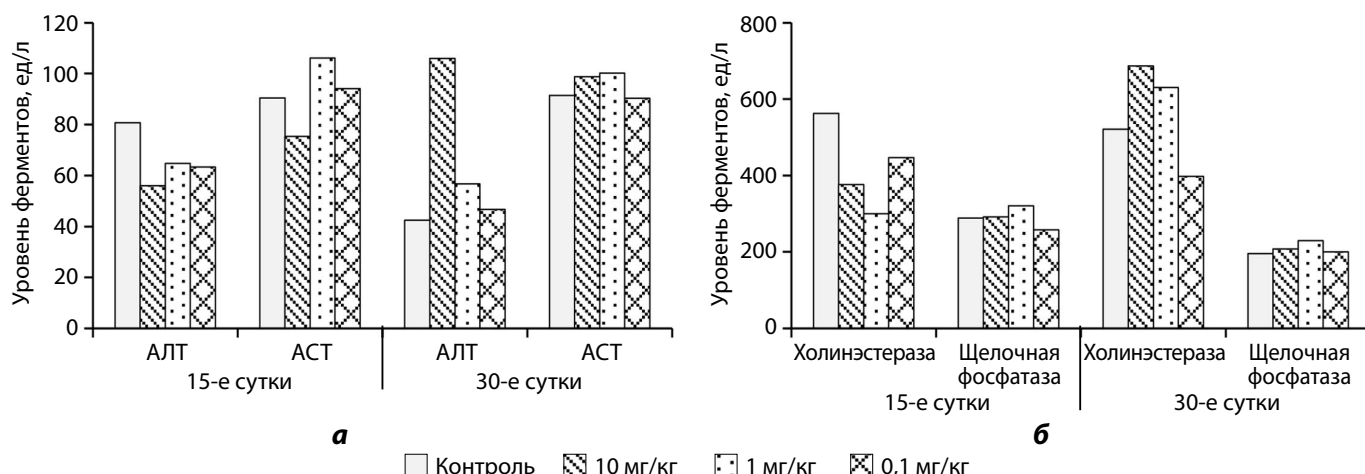
По итогам проведённых исследований показателей периферической системы крови на 15-е сутки было выявлено достоверное снижение показателя «среднее содержание гемоглобина в эритроците» у животных, получавших смесь в дозах 10 и 1 мг/кг. Однако, к 30-м суткам статистически значимых изменений не выявлено ни в одной из опытных групп.

Кроме вышеуказанного, иных изменений в периферической системе крови найдено не было ни в одной группе в течение всего эксперимента.

Для оценки функционального состояния печени изучали активность таких ферментов, как АЛТ, АСТ, холинэстеразы и щелочной фосфатазы (рис. 2, а, б).

Как видно из рис. 2, а, активность ферментов АЛТ и АСТ по сравнению с контрольными животными достоверно изменялась в группе крыс, получавших смесь в дозе 10 мг/кг, на 15-е и 30-е сутки. Активность АЛТ на 15-е сутки





**Рис. 2.** Биохимические показатели крови белых крыс (а – АЛТ и АСТ; б – холинэстераза и щелочная фосфатаза) при воздействии смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в подостром эксперименте ( $n = 6$ ).

**Fig. 2.** Biochemical parameters of the blood of white rats (а – ALT and AST; б – cholinesterase and alkaline phosphatase) by the exposition of a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid in a subacute experiment ( $n=6$ ).

достоверно снижена, но к 30-м суткам становится выше, чем в контрольной группе. Однако отмечали снижение активности АЛТ в группе контроля (с 80,75 до 42,44 Ед/л).

Кроме того, на 30-е сутки отмечали достоверное увеличение активности АЛТ в группе, получавшей исследуемую смесь в дозе 1 мг/кг.

На 15-е сутки эксперимента в группе, получавшей максимальную дозу вещества, отмечали увеличение активности АСТ, но в дальнейшем изменений по отношению к контрольным величинам не выявлено.

Для оценки белково-образующей функции печени изучали активность холинэстеразы (ХЭ) в сыворотке крови (см. рис. 2, б).

В группе, получавшей смесь в дозе 10 мг/кг, на 30-е сутки отмечали достоверно значимое повы-

шение активности этого фермента. В группе животных, получавших исследуемое вещество в дозе 1 мг/кг, выявлено достоверное снижение активности ХЭ только на 15-е сутки.

Активность щелочной фосфатазы во всех опытных группах достоверно не изменялась на протяжении всего эксперимента.

О функциональном состоянии почек судили по уровням креатинина и мочевины в сыворотке крови (табл. 3).

Как видно из табл. 3, концентрация креатинина достоверно снижалась на 15-е сутки эксперимента в группах животных, получавших смесь в дозах 10 и 1 мг/кг, однако на 30-е сутки изменений не обнаружено.

Уровень мочевины достоверно по сравнению с контрольной группой животных повышался на

Таблица 3 / Table 3

**Биохимические показатели мочевины и креатинина в крови белых крыс при воздействии смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в подостром эксперименте ( $n = 6$ )**  
**Biochemical parameters of urea and creatinine in the blood of white rats exposed to a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid in a subacute experiment ( $n=6$ )**

| Показатель       | Время, сут | Группы       |                     |                      |              |
|------------------|------------|--------------|---------------------|----------------------|--------------|
|                  |            | контроль     | 10 мг/кг            | 1 мг/кг              | 0,1 мг/кг    |
| Мочевина, мг/дл  | 15-е       | 21,53 ± 1,37 | 19,37 ± 0,92        | 21,45 ± 1,54         | 19,53 ± 0,96 |
|                  | 30-е       | 24,44 ± 1,71 | <b>31,87 ± 2*</b>   | <b>40,85 ± 1,61*</b> | 28,16 ± 1,46 |
| Креатинин, мг/дл | 15-е       | 0,47 ± 0,08  | <b>0,16 ± 0,04*</b> | <b>0,25 ± 0,05*</b>  | 0,36 ± 0,05  |
|                  | 30-е       | 0,45 ± 0,04  | 0,5 ± 0,13          | 0,41 ± 0,05          | 0,35 ± 0,03  |

Примечание. \* – достоверно значимые различия ( $p < 0,05$ ).



30-е сутки в группах, получавших дозы 10 и 1 мг/кг соответственно.

Воздействие смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в дозе 0,1 мг/кг не вызывало изменений ни в одном из исследованных показателей.

В конце эксперимента животные были подвергнуты аутопсии. Макроскопически оценивали состояние почек, печени, желудка, кишечника, селезёнки, семенников, лёгких. Визуально не обнаружено каких-либо патологических изменений внутренних органов у подопытных животных.

Относительная масса печени, почек, селезёнки и семенников в каждой экспериментальной группе была близка к соответствующим контрольным значениям, и значимых отклонений не наблюдали.

Результаты проведённых исследований показывают, что при длительном воздействии смесь ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты в дозе 10 мг/кг оказывает влияние на периферическую систему крови (снижает показатель среднего содержания гемоглобина в эритроцитах на 15-е сутки эксперимента) и на биохимические показатели сыворотки крови животных (к 15-м суткам исследования отмечали достоверное снижение активности АЛТ по сравнению с контрольной группой, сопровождающееся одновременным повышением активности АСТ, а к 30-м суткам — достоверное увеличение активности холинэстеразы). Кроме того, отмечали достоверные изменения показателей функционального состояния почек: на 15-е сутки достоверно снижалась концентрация креатинина, а на 30-е повышался уровень мочевины, что может свидетельствовать о токсическом действии исследуемого вещества на мочевыделительную систему животных.

У животных, получавших дозу 1 мг/кг, также отмечали изменения в периферической системе крови. Кроме того, биохимические параметры крови у животных этой группы продемонстрировали существенные различия в сравнении с контрольными животными. Активность холинэстеразы была достоверно снижена на 15-е сутки, а активность фермента АЛТ на 30-е сутки достоверно возросла. Помимо вышеперечисленных изменений, смесь в дозе 1 мг/кг также оказывает влияние на показатели функционального состояния почек (достоверное снижение концентрации креатинина на 15-е сутки и повышение уровня мочевины на 30-е).

Смесь в дозе 0,1 мг/кг не оказала влияния на исследованные параметры.

## Обсуждение

На основе полученных данных можно сделать вывод, что при введении в организм подопытных животных в условиях подострого токсикологического эксперимента смесь ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты оказывала выраженное влияние на работоспособность печени и почек.

Анализ зависимости «доза-эффект» позволил рекомендовать пороговую дозу на уровне 1 мг/кг.

При определении максимальной недействующей дозы (МНД) и максимальной недействующей концентрации (МНК) использованы как результаты собственных экспериментов, так и опубликованные данные.

С учётом соотношения  $ЛД_{50}/ПД_{пэк}$  ( $2250/1 = 2250$ ) установлено, что смесь ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты обладает высокой способностью к функциональной кумуляции. Для прогнозирования пороговой дозы хронического воздействия был введён коэффициент  $J_1$ , который равен 5. Таким образом, пороговая доза хронического действия для исследуемой смеси была рекомендована на уровне 0,2 мг/кг.

Соотношение  $ЛД_{50}/ПД_{хр}$  указывает на умеренную способность исследуемой смеси к кумуляции (2-й класс опасности). Для расчёта МНД хронического действия использовали коэффициент запаса, равный 5. Таким образом, максимальная недействующая доза смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты может быть определена на уровне 0,04 мг/кг, а максимальная недействующая концентрация — 0,8 мг/л.

Обоснование гигиенического норматива изученной смеси в воде водных объектов проводили на основе сравнительной оценки полученных результатов исследований, представленных в табл. 4.

Таблица 4 / Table 4

**Соотношение пороговых и недействующей концентраций смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотриуксусной кислоты по лимитирующим показателям вредности**  
**The ratio of threshold and inactive concentrations of a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid according to limiting indicators of harmfulness**

| Показатель вредности        | Концентрация, мг/л |
|-----------------------------|--------------------|
| Органолептический           | 70 (запах)         |
| Общесанитарный              | > 40               |
| Санитарно-токсикологический | 0,8                |

Таблица 5 / Table 5

**Предварительные величины ОБУВ смеси ди- и триаммонийных солей  
нитрилотириуксусной кислоты в атмосферном воздухе населённых мест,  
рассчитанные на основе параметров токсикометрии**

**Preliminary values of the concentration of a mixture of di- and triammonium salts of nitrilotriacetic acid  
in the atmospheric air of populated areas, calculated on the basis of toxicometry parameters**

| №№ формулы по МУ | Формула                                             | Величина параметра               | Величина ОБУВ, мг/м <sup>3</sup> |
|------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 26               | $ОБУВ = (0,112 + 0,0649 \cdot \sqrt{ПДК_{р.з.}})^2$ | $ПДК_{р.з.} = 20 \text{ мг/м}^3$ | 0,16                             |
| 28               | $lgОБУВ_{a.b.} = -6,0 + 1,5lgDL_{50}$               | $DL_{50} = 2250 \text{ мг/кг}$   | 0,1                              |

Сравнение пороговых уровней и недействующих концентраций в соответствии с органолептическими, общесанитарными и санитарно-токсикологическими показателями вредности даёт возможность предложить величину 0,8 мг/л в качестве ОДУ для смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотириуксусной кислоты в воде водных объектов, показатель вредности — санитарно-токсикологический, класс опасности — 2-й.

В соответствии с «Методическим указанием по установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населённых мест», наилучшее приближение ОБУВ к экспериментально обоснованным величинам дают расчёты по формулам, в основу которых заложены параметры токсикометрии. Следовательно, обоснование ОБУВ смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотириуксусной кислоты в атмосферном воздухе населённых мест проводили на основании собственных экспериментальных данных с учётом установленных параметров токсикометрии, путём прогноза по уравнениям в соответствии с действующими МУ (табл. 5).

Как следует из табл. 5, полученная прогнозируемая величина ОБУВ составляет 0,1 мг/м<sup>3</sup>. Необходимо отметить, что одним из токсических компонентов при воздействии исследуемой смеси является аммиак, выделяющийся вследствие реакции гидролиза, при этом провести исследования по определению величины LC<sub>50</sub> не представлялось возможным из-за физико-химических свойств данной смеси, а именно выделение аммиака из аммониевой группы приводило к наступлению гибели подопытных животных вследствие воздействия аммиака, а не исследуемой смеси, однако, дополнительно для оценки величины ОБУВ смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотириуксусной кислоты была ис-

пользована формула 26 (МУ 2630–82), которая учитывает величину ПДК<sub>р.з.</sub> аммиака (см. табл. 5) и для которой величина ОБУВ составила 0,16 мг/м<sup>3</sup>, также для аммиака установлена величина ПДК<sub>мр</sub> на уровне 0,2 мг/м<sup>3</sup> в атмосферном воздухе городских и сельских поселений<sup>7</sup>. Однако поскольку прогнозируемая величина ОБУВ, полученная на основе параметров токсикометрии более достоверна, то это даёт основание для рекомендации ОБУВ смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотириуксусной кислоты в атмосферном воздухе с учётом его резорбтивного действия на уровне 0,1 мг/м<sup>3</sup>.

**Ограничения исследования.** Исследования проведены в соответствии с требованиями МУ 2.1.5.720–98<sup>3</sup> и МУ 2630–82<sup>4</sup>. Результаты исследований применимы при обосновании гигиенических нормативов в воде водных объектов и атмосферном воздухе.

## Заключение

Таким образом, на основании данных литературы, а также проведённых собственных исследований, для смеси ди- и триаммонийных солей нитрилотириуксусной кислоты можно рекомендовать величину 0,8 мг/л в качестве ОДУ в воде водных объектов (показатель вредности — санитарно-токсикологический, класс опасности — 2-й), а величину 0,1 мг/м<sup>3</sup> — в качестве ОБУВ в атмосферном воздухе населённых мест.

<sup>7</sup> СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». Утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 2.

## ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 1–8 см. References)

9. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду. Под редакцией Каспарова А.П., Саночко И.В. М.: Центр международных проектов ГКНТ СССР; 1986.
10. Общая токсикология. Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. М.: Медицина, 2002.

## REFERENCES

1. Nitrilotriacetic Acid. CAS No. 139-13-9. NTP Report on Carcinogens, Fifteenth Edition. 2021. Available at: <https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/roc/content/profiles/nitrilotriaceticacid.pdf> (date of application 08.04.2024)
2. Nitrilotriacetic acid in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. 2<sup>nd</sup> ed. Vol. 2. Geneva. Available at: <https://www.who.int/teams/environment-climate-change-and-health/water-sanitation-and-health/chemical-hazards-in-drinking-water/nitrilotriacetic-acid> (date of application 08.04.2024)
3. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document – Nitrilotriacetic Acid (NTA). Available at: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidelines-canadian-drinking-water-quality-guideline-technical-document-nitrilotriacetic-acid-nta.html> (date of application 10.04.2024)
4. Anderson R.L., Bishop W.E., Campbell R.L. A review of the environmental and mammalian toxicology of nitrilotriacetic acid. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 1985; 15: 1–102.
5. Mahaffey K.R., Goyer R.A. Trisodium nitrilotriacetate in drinking water. *Arch. Environ. Health.* 1972; 25: 271.
6. Goyer R.A., Falk H.L., Hogan M., Feldman D.D., Richter W. et al. Renal tumors in rats given trisodium nitrilotriacetic acid in drinking water for two years. *J. Natl. Cancer Inst.* 1981; 66: 869–80.
7. IARC. *Nitrilotriacetic Acid and its Salts. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.* Geneva: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer; 199; Vol.: 383.
8. Jedra M., Malanowska M. Nitrilotriacetic acid (NTA) – properties, distribution and behavior in the environment. I. Chemical and toxicological properties of NTA. *J. Roczniiki Państwowego Zakładu Higieny.* 1995; 46(3): 25–63.
9. *Toxicometry of chemicals polluting the environment [Toksikometriya khimicheskikh veshchestv, zagryaznyayushhix okruzhayushuyu sredu]*. Eds. Kasparov A.P., Sanockij I.V. Moscow: Center for International Projects of the State Committee for Science and Technology of the USSR; 1986.
10. *General toxicology [Obshchaya toksikologiya]*. Eds. B.A. Kurlyandskij, V.A. Filov. Moscow: Medicine, 2002.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Печникова Ирина Александровна**, кандидат мед. наук, ведущий научный сотрудник отдела профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, г. Москва, Российская Федерация. E-mail: IPechnikova@cspmrz.ru

**Федотова Лионелла Айдыновна**, кандидат мед. наук старший научный сотрудник отдела профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, г. Москва, Российская Федерация. E-mail: LFedotova@cspmrz.ru

**Потапченко Тимур Дмитриевич**, кандидат техн. наук, младший научный сотрудник отдела профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, г. Москва, Российская Федерация. E-mail: TPotapchenko@cspmrz.ru

**Лебедь-Шарлевич Яна Ивановна**, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник отдела профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, г. Москва, Российская Федерация. E-mail: YaSharlevich@cspmrz.ru

**Манаева Елизавета Сергеевна**, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник отдела профилактической токсикологии и медико-биологических исследований ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, г. Москва, Российская Федерация. E-mail: EManaeva@cspmrz.ru

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Irina A. Pechnikova**, PhD in Medicine, Leading Researcher, Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research of Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0003-1927-7432> E-mail: IPechnikova@cspmrz.ru

**Lionella A. Fedotova**, PhD in Medicine, Senior Researcher, Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research of Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0003-0089-5177> E-mail: LFedotova@cspmrz.ru

**Timur D. Potapchenko**, PhD in Engineering, Junior Researcher, Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research of Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0002-9458-3184> E-mail: TPotapchenko@cspmrz.ru

**Yana I. Lebed-Charlevich**, PhD in Biology, Senior Researcher, Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research of Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0002-4249-1093> E-mail: YaSharlevich@cspmrz.ru

**Elizaveta S. Manaeva**, PhD in Biology, Senior Researcher, Department of Preventive Toxicology and Biomedical Research of Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. <https://orcid.org/0000-0003-1048-6342> E-mail: EManaeva@cspmrz.ru

