

© АЛЕКСЕЕНКО А.Н., ЖУРБА О.М., 2018

УДК 543.544: 547.281.1: 616.634/.635]: 001.891.5

Алексеевко А.Н., Журба О.М.

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА ПРИ ВЫБОРЕ ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ПАРОФАЗНОГО ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОРМАЛЬДЕГИДА В МОЧЕ

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, Ангарск

Введение. Обоснован способ определения формальдегида парофазным газохроматографическим методом за счёт использования дериватизирующего реагента *o*-(2,3,4,5,6-пентафторбензил) гидроксилламин (ПФБГА).

Материал и методы. Формальдегид в моче дериватизировали в *o*-пентафторбензилоксим и извлекали в паровую фазу путём нагрева пробы мочи с ПФБГА в запечатанном флаконе. Газохроматографический анализ паровоздушной фазы выполняли в режиме градиента температуры на капиллярной колонке HP-5 с пламенно-ионизационным детектором. Идентификацию аналита в виде производного *o*-ПФБоксима формальдегида осуществляли по абсолютному времени удерживания, которое было установлено сравнением хроматограмм модельных смесей формальдегида в моче разных концентраций.

Результаты. Оптимальные условия газовой экстракции выбраны с помощью математического планирования эксперимента. Наиболее важными факторами газовой экстракции в парофазном анализе являются температура и время установления межфазового равновесия при нагревании. Из экспериментально полученных зависимостей аналитического сигнала от температуры и времени нагревания выбраны нулевой уровень и интервал варьирования данных факторов. Построена матрица планирования 2-факторного эксперимента. Определены коэффициенты математической модели. Проведена статистическая обработка опытных данных, которая сводилась к оценке воспроизводимости параметра оптимизации и оценке значимости коэффициента математической модели. Оценена адекватность математической модели, проведена её интерпретация.

Обсуждение. Площадь пика аналита возрастает при увеличении температуры и времени нагрева вследствие увеличения концентрации аналита в паровой фазе. Причём время нагревания вносит больший вклад в формирование аналитического сигнала, чем температура. Рассчитан шаг движения по градиенту и проведены опыты крутого восхождения.

Заключение. По результатам опытов крутого восхождения выбраны оптимальные условия газовой экстракции формальдегида в виде производного.

Ключевые слова: формальдегид; моча; газовая хроматография; математическое планирование; оптимальные условия.

Для цитирования: Алексеевко А.Н., Журба О.М. Применение математического планирования эксперимента при выборе оптимальных условий парофазного газохроматографического определения формальдегида в моче. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(10): 985-989. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-10-985-989>

Для корреспонденции: Алексеевко Антон Николаевич, канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаб. аналитической экотоксикологии и биомониторинга, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665827, Ангарск. E-mail: labchem99@gmail.com

Alekseenko A.N., Zhurba O.M.

APPLICATION OF MATHEMATICAL PLANNING OF THE EXPERIMENT IN THE CHOOSING THE OPTIMUM CONDITIONS OF THE VAPOR-PHASE GAS-CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF FORMALDEHYDE IN THE URINE.

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation

Introduction. There was substantiated a method for the determination of formaldehyde by vapor-phase gas chromatography by the use of derivatizing reagent *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine.

Material and methods. Formaldehyde in urine was derivatized to *o*-pentafluorobenzyl oxime and recovered to the vapor phase by heating the urine sample with *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine in a sealed vial. Gas-chromatographic analysis of the vapor-air phase was performed in a mode of the temperature gradient on a capillary column HP-5 with a flame ionization detector. Identification of the analyte in the form of the derivative-*o*-pentafluorobenzyl oxime of formaldehyde was carried out according to the absolute retention time, which was established by comparing the chromatograms of model formaldehyde mixtures in the urine of different concentrations.

Results. The optimal conditions for gas extraction are selected using mathematical experimental planning. The most important factors of gas extraction in the vapor-phase analysis are the temperature and time of the establishment of the interphase equilibrium with heating. From the experimentally obtained curves of the analytical signal on the temperature and the heating time, the zero level and the interval of variation of these factors are chosen. A matrix for planning a 2-factor experiment was constructed. The coefficients of the mathematical model are determined. There was carried out statistical processing of the experimental data, which was reduced to the estimation of the reproducibility of the optimization parameter and to the evaluation of the significance of the coefficient of the mathematical model. The adequacy of the mathematical model was evaluated, its interpretation was carried out.

Discussion. The peak area of the analyte increases with the elevating the temperature and heating time, due to an increase in the analyte concentration in the vapor phase. Moreover, the heating time makes a greater contribution to the formation of the analytical signal than the temperature. The step of motion along the gradient was calculated and the experiments of steep ascent were carried out.

Conclusion. According to the results of the steep ascent experiments, the optimal conditions for the gas extraction of formaldehyde in the form of a derivative were chosen.

Key words: formaldehyde; urine; gas chromatography; mathematical planning; optimal conditions.

For citation: Alekseenko A.N., Zhurba O.M. Application of mathematical planning of the experiment in the choosing the optimum conditions of the vapor-phase gas-chromatographic determination of formaldehyde in the urine. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(10): 985-989. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-10-985-989>

For correspondence: Anton N. Alekseenko, MD, Ph.D., senior researcher of the Laboratory of analytical toxicology and biomonitoring of the East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation. E-mail: labchem99@gmail.com

Information about authors:

Alekseenko A.N., <https://orcid.org/0000-0003-4980-5304>; Zhurba O.M., <https://orcid.org/0000-0002-9961-6408>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received: 12 July 2018

Accepted: 18 October 2018

Введение

Формальдегид (CH_2O) – один из вредных химических реагентов, широко применяемый в различных сферах деятельности (строительстве, деревообработке, фармацевтике и т. д.), в результате значительное количество людей подвергается воздействию формальдегида в окружающей среде и на рабочем месте [1–5]. Мировое производство формальдегида составляет 21 млн тонн в год [6].

Вследствие своей полярности предельные альдегиды, в частности, формальдегид, могут проникать в различные материалы, организмы животных и человека [7, 8]. Многолетние наблюдения показывают, что формальдегид относится к числу приоритетных загрязнителей [9, 10], вызывает изменения в иммунной системе [11, 12] и обладает общетоксическим, сенсибилизирующим и аллергенным действиями [13–15]. Проведённые исследования у детей выявили психофизиологические признаки ухудшения функционального состояния центральной нервной системы с увеличением концентрации формальдегида в моче [16]. На 2-й Международной конференции по исследованию формальдегида, проходившей в Мадриде в 2012 г., отмечено, что за последние годы появилось значительное количество новых научных данных по токсикологии и эпидемиологии формальдегида [17–19]. Международное агентство по исследованию рака (IARC) и Национальная токсикологическая программа (NTP) классифицируют формальдегид как вероятный канцероген, вызывающий рак носоглотки и лейкомию [20–23].

Определение формальдегида в моче при биологическом мониторинге более актуально, чем его определение в атмосферном воздухе и воздухе жилых помещений, так как отражает степень поглощения химического соединения, нагрузку и индивидуальное поступление. По данным литературы, определение формальдегида в моче и водных средах осуществляется с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) или газовой хроматографии (ГХ), после предварительной дериватизации 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФГ) или *o*-(2,3,4,5,6-пентафторбензил)гидроксиламин гидрохлоридом (ПФБГА) [24–26].

Планирование эксперимента при выборе оптимальных условий – сложная задача [27]. В классическом эксперименте при подборе оптимальных условий изучают действие на объект исследования какого-либо одного фактора (например, температуры), исключив влияние других факторов, затем другого и т. д. (одnofакторный эксперимент). Но действие первого на объект может измениться при влиянии другого фактора (например, времени или давления). Следовательно, нужно поставить очень много опытов,

чтобы получить представление о механизме изучаемого процесса. По этим причинам эффективность таких исследований невелика. Она существенно возрастает при одновременном варьировании факторов, действующих на объект, но не при произвольном варьировании, а по заданному плану (многофакторный эксперимент). При этом исследователь статистическим путём получает теоретическое описание изучаемого объекта, т. е. модель – математическое уравнение, с помощью которого можно предсказать поведение объекта в тех или иных условиях, изменять его свойства [28, 29].

Цель настоящего исследования – применить математическое планирование при выборе оптимальных условий газовой экстракции формальдегида в виде производного ПФБГА из проб мочи.

Материал и методы

Аппаратура. В работе использовали газовый хроматограф Agilent 7890А с пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой HP-5 (30 м × 0,32 мм × 0,25 мкм), парофазным пробоотборником Agilent 7694Е.

Реагенты. *o*-(2,3,4,5,6-пентафторбензил)гидроксиламин гидрохлорид (98%, Aldrich), ГСО 9376–2009 формальдегида в воде с аттестованной концентрацией $1 \pm 0,01$ мг/мл, вода дистиллированная.

Методика анализа. Во флакон вместимостью 20 см³ помещали 1 см³ пробы мочи, вносили 0,1 см³ водного раствора ПФБГА (0,1%). Запечатывали флакон алюминиевой крышкой с тефлоновой сеткой и помещали его в парофазный пробоотборник, где анализируемый образец выдерживали 30 мин при температуре 60 °С. После этого в автоматическом режиме осуществлялся отбор паровой фазы и её ввод в газовый хроматограф. Газохроматографический анализ осуществляли в следующих условиях:

- температура инжектора – 200 °С;
- деление потока – 1/1;
- постоянное давление газа-носителя (азот) – 75,842 кПа;
- температурный режим печи-колоники – 80 °С с выдержкой 1 мин;
- подъём со скоростью 5 °С/мин до 100 °С с выдержкой 1 мин;
- температура ПИД – 300 °С;
- расход водорода – 30 см³/мин;
- расход воздуха – 250 см³/мин;
- расход поддувочного газа – 22 см³/мин.

Идентификацию аналита (производного *o*-ПФБоксима формальдегида) осуществляли по абсолютному времени удерживания, которое было установлено сравнением хроматограмм модельных смесей формальдегида в моче разных концентраций (рис. 1, см. на 3-й стр. обложки).

Методом абсолютной градуировки по аттестованным смесям формальдегида в моче в интервале 20–500 мкг/дм³ с учётом контрольного опыта (моча без добавки формальдегида) получена градуировочная характеристика, описываемая линейным уравнением $y = 0,129x$. Коэффициент корреляции – 0,999.

Поиск оптимальных условий газовой экстракции формальдегида с помощью математического планирования проходил следующие этапы: выбор подобласти факторного пространства, получение матрицы планирования, определение коэффициентов математической модели, статистическая обработка опытных данных с использованием программы Microsoft Excel, оценка адекватности математической модели, интерпретация модели, расчёт шага движения по градиенту, расчёт мысленных опытов [29].

Результаты

В результате исследований получены зависимости площади пика формальдегида (в виде его производного) от температуры и времени нагревания. Парофазный газохроматографический анализ (ПФА-ГХ) стандартной смеси (1 см³) формальдегида в моче с концентрацией 90 мкг/см³ осуществляли в закрытых флаконах ёмкостью 20 см³ с добавлением 0,1 см³ 0,1%-ного водного раствора ПФБГА при однократном отборе паровоздушной фазы (1 см³) с последующим её ГХ-анализом. Зависимости площади пика от продолжительности нагрева при разных температурах показаны на рис. 2.

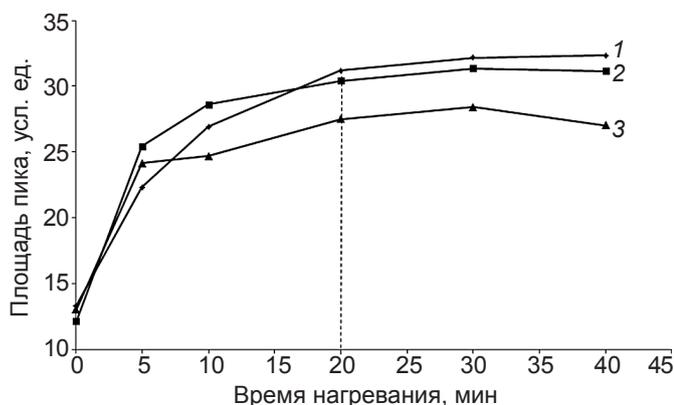


Рис. 2. Зависимости площади пика формальдегида от температуры и продолжительности нагревания.

Температура, °С: 1 – 60, 2 – 80, 3 – 90.

Таблица 1

Условия планирования эксперимента

Фактор	Нулевой уровень x_0	Интервал варьирования J	Нижний уровень фактора	Верхний уровень фактора
x_1 – температура, °C	60	10	50	70
x_2 – время, мин	20	10	10	30

Таблица 2

Матрица планирования для проведения эксперимента и полученные значения параметра оптимизации

№ опыта	Факторы					Параметр оптимизации y_j ($n = 3$)
	натуральные		кодированные			
	x_1	x_2	x_1	x_2	x_1x_2	
1	50	10	–	–	+	9
2	70	10	+	–	–	16
3	50	30	–	+	–	28
4	70	30	+	+	+	38,6

Показано, что площадь пика возрастает с увеличением продолжительности нагрева, но при температуре 90 °C площадь пика падает. Максимальный сигнал пика начинает наблюдаться при температуре 60 °C и продолжительности нагрева 20 мин. Таким образом, данные значения температуры и времени следует принять за нулевой уровень (подобласть определения) (табл. 1).

Так как число варьируемых факторов составляет 2, то выбрана матрица планирования, состоящая из четырёх опытов. За параметр оптимизации y взяли площадь пика аналита. Каждый опыт матрицы планирования, приведённой в табл. 2, повторили трижды ($n = 3$).

Экспериментальные значения параметра оптимизации статистически обработали в программе Excel, рассчитав для каждого опыта дисперсию воспроизводимости $S_{y_j}^2$ и оценив их однородность по критерию Кохрена ($G < G_{таб}$). Затем рассчитали среднюю дисперсию S_y^2 и стандартное отклонение S_y и доверительный интервал Δa . Число степеней свободы составило 8.

Из средних значений параметра оптимизации рассчитали 4 коэффициента (a) математической модели с обязательным учётом знака кодированных значений факторов. Оценили значимость коэффициентов, сравнивая их с доверительным интервалом Δa . При условии, что $a < \Delta a$, сделали вывод, что коэффициент не значим, т. е. приняли его равным нулю (табл. 3).

Таким образом, уравнение математической модели приняло следующий вид:

$$y = 23 + 4,4 x_1 + 10,4 x_2.$$

Адекватность математической модели оценивали, сравнивая дисперсию адекватности $S_{ад}^2$ характеризующую расхождение между экспериментальными (y_j) и теоретическими значениями (y_j) параметра оптимизации с дисперсией воспроизводимости (S_y^2) по критерию Фишера (F) (табл. 4).

Так как $F_{расч} < F_{таб}$ математическая модель, описываемая уравнением, адекватно описывает процесс газовой экстракции производного формальдегида.

Перед переходом к крутому восхождению, дали толкование процесса газовой экстракции, опираясь на модель, т. е. дали интерпретацию математической модели. Площадь пика аналита возрастает при увеличении температуры и времени нагрева вследствие увеличения концентрации аналита в паровой фазе. Причём время нагревания вносит больший вклад в формирование аналитического сигнала, чем температура, так

Таблица 3

Расчёт и оценка значимости коэффициентов математической модели

Коэффициент математической модели	Доверительный интервал коэффициента	Вывод
$a_0 = (y_1 + y_2 + y_3 + y_4) / 4 = 23$	0,91	значим ($a > \Delta a$)
$a_1 = (y_1 + y_2 - y_3 + y_4) / 4 = 4,4$	0,91	значим ($a > \Delta a$)
$a_2 = (-y_1 - y_2 + y_3 + y_4) / 4 = 10,4$	0,91	значим ($a > \Delta a$)
$a_{12} = (y_1 - y_2 - y_3 + y_4) / 4 = 0,88$	0,91	незначим ($a < \Delta a$)

Таблица 4

Оценка адекватности математической модели

№ опыта	x_0	x_1	x_2	y_j	y_m	$S_{ад}^2$	S_y^2	$F_{расч}$	$F_{таб}(0,05;1;8)$
1	+	–	–	9	8,2	6,18	1,88	3,28	5,32
2	+	+	–	16	17,0	6,18	1,88	3,28	5,32
3	+	–	+	28	29,0	6,18	1,88	3,28	5,32
4	+	+	+	38,6	37,8	6,18	1,88	3,28	5,32

Таблица 5

Условия постановки опытов и результаты крутого восхождения

№ опыта	Значение уровней фактора x_2		Значение параметра оптимизации y	
	натуральное	кодированное	теоретическое	экспериментальное
5	22	0,2	25,1	25,3 ± 0,8
6	24	0,4	27,2	–
7	26	0,6	29,2	28,9 ± 0,8
8	28	0,8	31,3	–
9	30	1,0	33,4	34,3 ± 0,8

как коэффициент $a_2 > a_1$ в 2,4 раза. Поэтому расчёт шага движения по градиенту решили сделать только для второго фактора x_2 – времени нагревания. Первый фактор x_1 – температуру – зафиксировали на нулевом уровне. Следовательно, кодированное значение фактора $x_1 = 0$.

Шаг движения по градиенту для фактора x_2 , $L_2 = a_2 J_2 = 104,3$. Видно, что выходим за область определения (10–30 мин). Уменьшив его значение в 200 раз, получим: $L_2 = 104,3 \cdot 0,02 = 2,08 \approx 2$.

Поскольку 4 опыта уже поставлены, то рассчитаны натуральные значения уровней фактора для мысленных опытов 5–9 (опыты крутого восхождения), прибавляя шаг движения по градиенту к нулевому уровню фактора, а затем – к полученному значению мысленного опыта, не выходя за область определения фактора (табл. 5).

Мысленные опыты 5, 7, 9 проверили экспериментально. Причём каждый опыт повторяли 3 раза. Как видно из табл. 5, теоретические значения параметра оптимизации попадают в доверительный интервал экспериментальных значений. Максимального значения площадь пика достигает при времени нагревания 30 мин, что говорит о максимальном насыщении аналита в паровой фазе, т. е. установлении межфазового равновесия.

Представлены результаты апробации методики на образцах мочи детского населения Иркутской области (рис. 3).

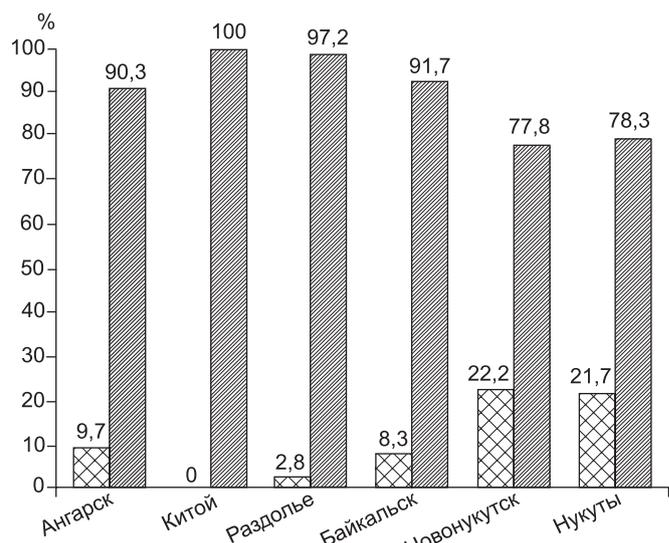


Рис. 3. Соотношение проб мочи детей, превышающих и не превышающих региональный референсный уровень.

Обсуждение

Известная методика определения формальдегида, а также и других альдегидов в моче [25] основана на дериватизации ДНФГ в кислой среде, экстракцией гексаном с последующим упариванием экстракта до сухого остатка и рекстракцией ацетонитрилом. Анализ ацетонитрильного экстракта осуществляется методом ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектированием. Предел обнаружения составляет 1 мкг/дм³ при объёме пробы 50 см³. К недостаткам такой пробоподготовки можно отнести большой объём пробы, трудоёмкость и длительность процедур дериватизации, экстракции, концентрирования экстракта, низкие степени извлечения 2,4-динитрофенилгидразон формальдегида. В литературе нет данных по определению формальдегида в моче методом газовой (газожидкостной) хроматографии с такой пробоподготовкой. Среди других дериватирующих реагентов особого внимания заслуживает ПФБГА [26], который реагирует с соединениями, имеющими карбонильные группы, с образованием соответствующих оксимов. Эти оксимы, по сравнению с производными ДНФГ, – это более летучие соединения, которые дают отличные симметричные пики на газохроматографических колонках. Поэтому определение формальдегида с использованием ПФБГА лучше осуществлять газохроматографическим методом. Особым вариантом метода ГХ является парофазный анализ. Лимитирующей стадией в парофазном ГХ-анализе является газовая экстракция, которая основана на нагревании (термостатировании) анализируемой жидкости в замкнутом объёме в течение определённого времени с последующим ГХ-анализом паровой фазы [30, 31].

Поведённое исследование было направлено на выбор оптимальных условий газовой экстракции при разработке простой и чувствительной методики определения формальдегида в моче методом ГХ-анализа равновесного пара. Предложенный способ пробоподготовки существенно упрощает методику, устраняет необходимость в использовании большого объёма пробы (50 см³), экстрагентов (таких как гексан). Выбор интервала варьирования факторов при планировании эксперимента – задача очень трудная, так как связана в основном с неформализованным принятием решения, опирающимся на априорную информацию и интуицию исследователя [28, 29].

Выбор подобласти факторного пространства для постановки эксперимента подразумевает установление нулевого уровня и интервала варьирования. Самыми важными факторами газовой экстракции в парофазном анализе являются температура и время установления межфазового равновесия при нагревании. В нашем случае при планировании эксперимента интервал варьирования для первого фактора (температуры) – средний – 16,7% от его подобласти определения, а для второго фактора (времени) – более широкий – 50,0%.

Во всех населённых пунктах средние уровни формальдегида в моче детского населения не превышали регионального референсного уровня 68,7 ± 4,2 мкг/дм³ [32]. При этом наибольшие значения отмечались у детей из городов Байкальска, Нукуты и Новонкутска, а наименьшие – у детей из посёлков Китой и Роздолье. Доля проб мочи, превышающих региональный референсный уровень содержания формальдегида, была выше у жителей Нукуты и Новонкутска.

Заключение

С помощью математического планирования эксперимента установлены следующие оптимальные условия газовой экстракции: температура 60 °С и время установления равновесия при нагревании флакона с анализируемым образцом 30 мин.

Выбор оптимальных условий газовой экстракции производного формальдегида методом математического планирования позволил разработать методику определения формальдегида в моче методом газохроматографического анализа равновесного пара для проведения биологического мониторинга.

Разработанная методика определения формальдегида в моче методом парофазного газохроматографического анализа в сравнении с методом ВЭЖХ-УФ отличается более простой пробоподготовкой, малым объёмом анализируемой пробы, меньшей продолжительностью анализа, низким расходом дорогостоящего реагента ПФБГА. Несмотря на то что в методике ПФА-ГХ-ПИД предел количественного определения выше, чем в методе ВЭЖХ-УФ, с помощью предложенной нами методики стало возможным определять концентрации формальдегида в реальных пробах мочи, которые на порядок выше предела количественного определения – 3,5 мкг/дм³.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Малышева А.Г., Рахманин Ю.А. *Физико-химические исследования и методы контроля веществ в гигиене окружающей среды*. СПб: Профессионал; 2014.

2. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Volume 100F A review of human carcinogens; 2012 Available at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-29.pdf>
3. Costa S., Carvalho S., Costa C., Coelho P., Silva S., Santos L.S. et al. Increased levels of chromosomal aberrations and DNA damage in a group of workers exposed to formaldehyde. *Mutagenesis*. 2015; 30(4): 463–73. Doi:10.1093/mutage/gev002.
4. Pierce J.S., Abelmann A., Lotter J.T., Ruestow P. S; Unice K.M. Beckett E.M. et al. An assessment of formaldehyde emissions from laminate flooring manufactured in China. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016; 81: 20–32. Doi: 10.1016/j.yrtph.2016.06.022
5. Hosgood H.D., Zhang L., Tang X., Vermeulen R., Hao Z., Shen M. et al. Occupational exposure to formaldehyde and alterations in lymphocyte subsets // *Am J Ind Med*. 2013; 56(2): 252–7. Doi: 10.1002/ajim.22088.
6. Formaldehyde Market For UF Resins, PF Resins, MF Resins, Polyacetal Resins, Pentaerythritol, MDI, 1,4-Butanediol, And Other Applications—Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends And Forecast; 2012–2018. Available at: <https://www.prnewswire.com/news-releases/formaldehyde-market-for-uf-resins-pf-resins-f-resins-polyacetal-resins-pentaerythritol-mdi-1-4-butanediol-and-other-applications—global-industry-analysis-size-share-growth-trends-and-forecast-2012—2018-20223951.html>
7. Nielsen G.D., Larsen S.T., Wolkoff P.N. Re-evaluation of the WHO (2010) formaldehyde indoor air quality guideline for cancer risk assessment. *Archives of Toxicology*. 2017; 91(1): 35–61. Doi: 10.1007/s00204-016-1733-8.
8. Калетина Н. И., ред. *Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
9. Рукавишников В.С., Ефимова Н.В., Лисецкая Л.Г., Тараненко Н.А., Абраматец Е.А., Катуськая О.Ю. Поиск адекватных биомаркеров для выявления влияния химических факторов на здоровье населения. *Казанский медицинский журнал*. 2009; 90(4): 473–6.
10. Rager J.E., Moeller B.C., Doyle-Eisele M., Kracko D., Swenberg J.A., Fry R.C. et al. Formaldehyde and epigenetic alterations: microRNA changes in the nasal epithelium of nonhuman primates. *Environ. Health Perspect*. 2013; 121(3): 339–44. Doi: 10.1289/ehp.1205582.
11. Seow W.J., Zhang L., Vermeulen R., Tang X., Hu W., Bassig B.A. et al. Circulating immune/inflammation markers in Chinese workers occupationally exposed to formaldehyde. *Carcinogenesis*. 2015; 36(8): 852–7.
12. Aydin S., Canpinar H., Ündeğer Ü., Güç D., Çolakoğlu M., Kars A. et al. Assessment of immunotoxicity and genotoxicity in workers exposed to low concentrations of formaldehyde. *Archives of Toxicology*. 2013; 87(1): 145–53. Doi: 10.1007/s00204-012-0961-9.
13. Маснавиева Л.Б., Кудяева И.В., Ефимова Н.В., Журба О.М. Индивидуальная экспозиционная нагрузка формальдегидом и сенсибилизация организма подростков. *Экология человека*. 2017; 6: 3–8.
14. Дорогова В.Б., Тараненко Н.А., Рычагова О.А. Формальдегид в окружающей среде и его влияние на организм (обзор). *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2010; 1: 32–5.
15. Попкова С.М., Ракова Е.Б., Кичигина Е.Л., Немченко У.М., Ефимова Н.В., Мильникова И.В. и др. Микроэкологический пейзаж у детей Иркутской области на фоне гигиенических характеристик территории. *Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология*. 2012; 5(4): 44–54.
16. Рукавишников В.С., Ефимова Н.В., Мильникова И.В., Журба О.М. Оценка воздействия допустимых концентраций формальдегида на функциональное состояние центральной нервной системы подростков. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(5): 474–8. Doi: 10.18821/0016-9900-2017-96-5-474-478.
17. Bolt H.M. New results on formaldehyde: the 2nd International Formaldehyde Science Conference. *Archives of Toxicology*. 2013; 87(1): 217–22. Doi: 10.1007/s00204-012-0966-4.
18. Michel O. For expert evaluation of a possible connection: formaldehyde and nasopharyngeal cancer. *HNO*. 2016; 64(2):122–4; Doi 10.1007/s00106-015-0097-3.
19. Hara H., Naito M., Harada T., Tsuboi I., Terui T., Aizawa S. Quantitative analysis of formaldehyde-induced fluorescence in paraffin-embedded specimens of malignant melanomas and other melanocytic lesions. *Acta Derm Venereol*. 2016; 96(3): 309–13. Doi: 10.2340/00015555-2238
20. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Volume 100F A review of human carcinogens; 2012 Available at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-29.pdf>
21. Jia X., Jia Q., Zhang Z., Gao W., Zhang X., Niu Y. et al. Effects of formaldehyde on lymphocyte subsets and cytokines in the peripheral blood of exposed workers. *Plos One*. 2014; 9(8): e104069. Doi:10.1371/journal.pone.0104069.
22. Bradman A., Gaspar F., Castorina R., Williams J., Hoang T., Jenkins P.L. Formaldehyde and acetaldehyde exposure and risk characterization in California early childhood education environments. *Indoor Air*. 2017; 27(1): 104–13. Doi:10.1111/ina.12283.
23. Mundt K.A., Gallagher A.E., Dell L.D., Natelson E.A., Boffetta P.,

- Gentry P.R. Does occupational exposure to formaldehyde cause hematotoxicity and leukemia-specific chromosome changes in cultured myeloid progenitor cells? *Crit Rev Toxicol*. 2017; 47(7): 592–602. Doi: 10.1080/10408444.2017.1301878.
24. Кочетков П.П., Малышева А.Г., Глебов В.В. Определение формальдегида в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием твердофазной экстракции. *Гигиена и санитария*. 2017; 3: 281–84. Doi: 10.18821/0016-9900-2017-96-3-281-284.
 25. Зайцева Н.В., Уланова Т.Ю., Карнажицкая Т.Д. Определение массовой концентрации формальдегида, ацетальдегида, пропионового альдегида, масляного альдегида и ацетона в пробах мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии *МУК 4.1.2110-06*. – М.: Медицина, 2006. – 15 с.
 26. Cancilla D.A., Que Hee S. O-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)methyl hydroxylamine hydrochloride: a versatile reagent for the determination of carbonyl-containing compounds. *J. Chromatography*. 1992; 627: 1–16. Doi: 10.1016/0021-9673(92)87181-7.
 27. Вершинин В.И., Перцев Н.В. *Планирование и математическая обработка результатов химического эксперимента*. Омск: Изд-во ОмГУ; 2005.
 28. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.А. *Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий*. М: Наука; 1971.
 29. Смагунова А.Н., Пашкова Г.В., Бельх Л.И. *Математическое планирование эксперимента в методических исследованиях аналитической химии*. Иркутск: Изд-во ИГУ; 2015.
 30. Виттенберг А.Г. Статический парофазный газохроматографический анализ. Физико-химические основы и области применения. *Российский химический журнал*. 2003; 1: 7–22.
 31. Kolb B. Etre L.S. *Static Headspace-Gas Chromatography. Theory and practice*. New-York: Wiley-VCH; 1997.
 32. Ефимова Н.В., Лисецкая Л.Г., Журба О.М. Региональные референсные уровни содержания химических веществ в биосубстратах населения иркутской области (методические рекомендации). Ангарск, 2013. – 28 с.
- Circulating immune/inflammation markers in Chinese workers occupationally exposed to formaldehyde. *Carcinogenesis*. 2015; 36(8): 852–7.
12. Aydin S., Canpinar H., Ündeğer Ü., Güç D., Çolakoğlu M., Kars A. et al. Assessment of immunotoxicity and genotoxicity in workers exposed to low concentrations of formaldehyde. *Archives of Toxicology*. 2013; 87(1): 145–53. Doi: 10.1007/s00204-012-0961-9.
 13. Masnavieva L.B., Kudaeva I.V., Efimova N.V., Zhurba O.M. Individual exposure load of formaldehyde and adolescents' organism sensibilization. *Ekologiya cheloveka*. 2017; 6: 3–8. (in Russian)
 14. Dorogova V.B., Taranenko N.A., Rychagova O.A. Environmental formaldehyde and its organism effects (survey). *Byulleten' VSNTs SO RAMN*. 2010; 1: 32–5. (in Russian)
 15. Popkova S.M., Rakova E.B., Kichigina E.L., Nemchenko U.M., Efimova N.V., Myl'nikova I.V. et al. Microecological landscape in children of the Irkutsk region against of the hygienic characteristics background of territories. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya. Ekologiya*. 2012; 5(4): 44–54. (in Russian)
 16. Rukavishnikov V.S., Efimova N.V., Mylnikova I.V., Zhurba O.M. Assessment of the impact of admissible concentrations of formaldehyde on the functional state of the central nervous system in adolescents. *Gigiena i sanitariya*. 2017; 96(5): 474–8. Doi: 10.18821/0016-9900-2017-96-5-474-478. (in Russian)
 17. Bolt H.M. New results on formaldehyde: the 2nd International Formaldehyde Science Conference. *Archives of Toxicology*. 2013; 87(1): 217–22. Doi: 10.1007/s00204-012-0966-4.
 18. Michel O. For expert evaluation of a possible connection: formaldehyde and nasopharyngeal cancer. *HNO*. 2016; 64(2):122–4; Doi 10.1007/s00106-015-0097-3.
 19. Hara H., Naito M., Harada T., Tsuboi I., Terui T., Aizawa S. Quantitative analysis of formaldehyde-induced fluorescence in paraffin-embedded specimens of malignant melanomas and other melanocytic lesions. *Acta Derm Venereol*. 2016; 96(3): 309–13. Doi: 10.2340/00015555-2238
 20. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Volume 100F A review of human carcinogens; 2012 Available at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-29.pdf>
 21. Jia X., Jia Q., Zhang Z., Gao W., Zhang X., Niu Y. et al. Effects of formaldehyde on lymphocyte subsets and cytokines in the peripheral blood of exposed workers. *Plos One*. 2014; 9(8): e104069. Doi:10.1371/journal.pone.0104069.
 22. Bradman A., Gaspar F., Castorina R., Williams J., Hoang T., Jenkins P.L. Formaldehyde and acetaldehyde exposure and risk characterization in California early childhood education environments. *Indoor Air*. 2017; 27(1): 104–13. Doi:10.1111/ina.12283.
 23. Mundt K.A., Gallagher A.E., Dell L.D., Natelson E.A., Boffetta P., Gentry P.R. Does occupational exposure to formaldehyde cause hematotoxicity and leukemia-specific chromosome changes in cultured myeloid progenitor cells? *Crit Rev Toxicol*. 2017; 47(7): 592–602. Doi: 10.1080/10408444.2017.1301878.
 24. Kochetkov P.P., Malysheva A.G., Glebov V.V. Determination of formaldehyde in water by high performance liquid chromatography with the use of solid phase extraction. *Gigiena i sanitariya*. 2017; 3: 281–84. Doi: 10.18821/0016-9900-2017-96-3-281-284. (in Russian)
 25. *Determination of the mass concentration of formaldehyde, acetaldehyde, propionic aldehyde, oil aldehyde and acetone in urine samples by high-performance liquid chromatography [Opredelenie massovoy koncentracii formal'degida, acetal'degida, propionovogo al'degida, maslyanogo al'degida i acetona v probah mochi metodom vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii MYK 4.1.2110-06]*. Moscow: meditsyna; 2008. (in Russian)
 26. Cancilla D.A., Que Hee S. O-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)methyl hydroxylamine hydrochloride: a versatile reagent for the determination of carbonyl-containing compounds. *J. Chromatography*. 1992; 627: 1–16. Doi: 10.1016/0021-9673(92)87181-7.
 27. Verшинин В.И., Перцев Н.В. *Планирование и математическая обработка результатов химического эксперимента*. Омск: Изд-во ОмГУ; 2005.
 28. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.А. *Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий*. Москва: Наука; 1971. (in Russian)
 29. Смагунова А.Н., Пашкова Г.В., Бельх Л.И. *Математическое планирование эксперимента в методических исследованиях аналитической химии*. Иркутск: Изд-во ИГУ; 2015. (in Russian)
 30. Vitenberg A.G. Static vapor-phase gas chromatographic analysis. Physicochemical basis and applications. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*. 2003; 1: 7–22. (in Russian)
 31. Kolb B. Etre L.S. *Static Headspace-Gas Chromatography. Theory and practice*. New-York: Wiley-VCH; 1997.

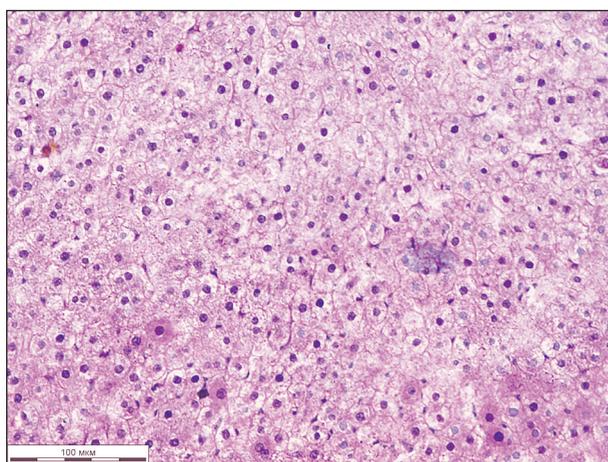


Рис. 1. Ткань печени белой крысы при воздействии ацетата свинца: 1 – ткань печени белой крысы при воздействии ацетата свинца. Гибель гепатоцитов; 2 – увеличение числа звездчатых макрофагов Купфера и числа полиядерных гепатоцитов. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 400$.

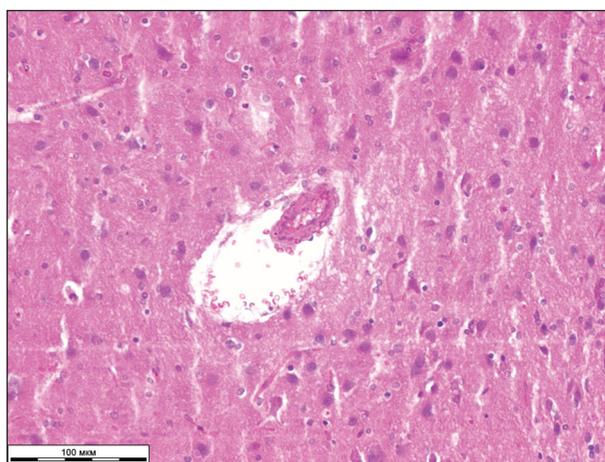


Рис. 2. Ткань головного мозга белой крысы при воздействии ацетата свинца. Формирование кривлюры. Выход эритроцитов в периваскулярное пространство. Увеличение числа актов нейронафагии. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 400$.

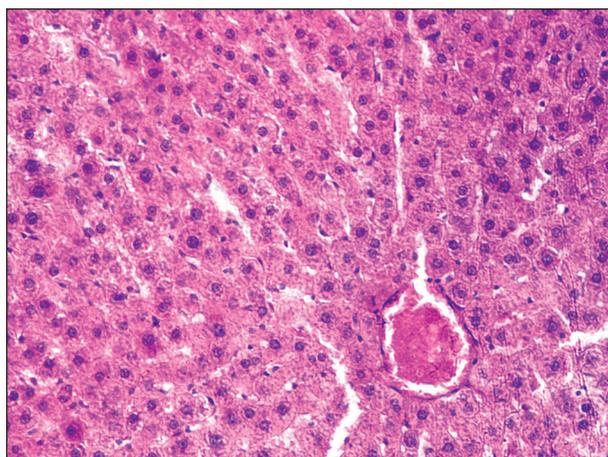


Рис. 3. Ткань печени белой крысы спустя 2 месяца после окончания экспозиции. Селективная гибель гепатоцитов. Увеличение числа звездчатых макрофагов Купфера. Увеличение числа полиядерных гепатоцитов. Стаз крови в сосуде. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. $\times 400$.

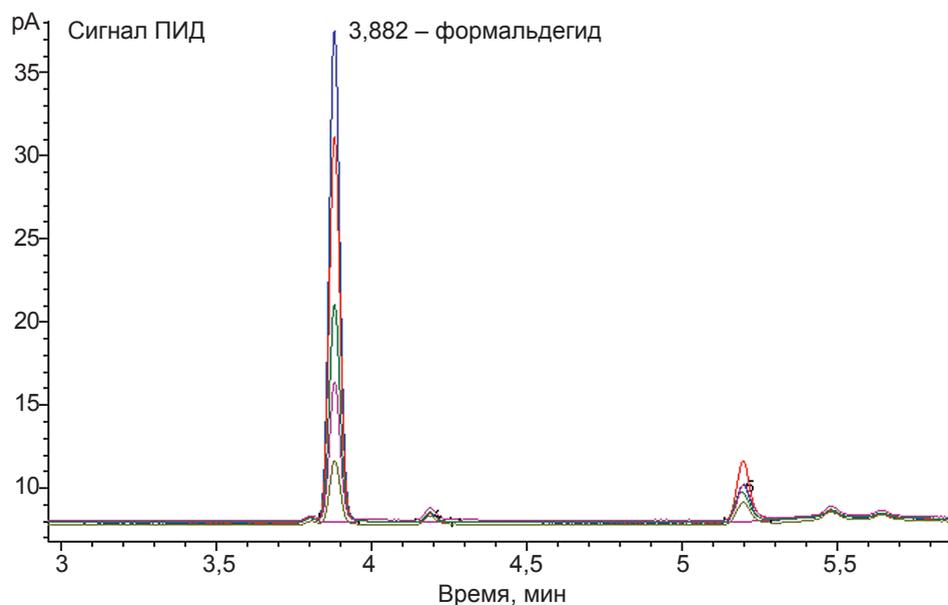


Рис. 1. Совмещённые хроматограммы модельных смесей формальдегида в моче $20\text{--}500\text{ мкг/дм}^3$.