

## Моделируемое на мышах изменение токсичности ионов марганца(II) при использовании активированных углей

© 2021. О. М. Плотникова, д. б. н., профессор,  
А. В. Шаров, к. х. н., директор института,  
Курганский государственный университет,  
640020, Россия, г. Курган, ул. Советская, д. 63, стр. 4,  
e-mail: plotnikom@yandex.ru, sharow84@gmail.com

Содержание ионов марганца ( $Mn^{2+}$ ) в реках и озёрах Зауралья составляет в среднем 0,3–0,6 мг/л, достигая в зимнее время 1 мг/л и более, что значительно больше допустимых концентраций. Изучено влияние ионов  $Mn^{2+}$  на биохимические показатели крови трёх поколений лабораторных мышей после выпаивания им растворов с концентрацией  $Mn^{2+}$  20 мг/л. У мышей 1 поколения наблюдалось повышение продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в 1,4 раза при снижении активности аминотрансфераз на 20–30% и карбонильных продуктов окисления белков на 15–30%; в 3 поколении возрастало  $Mn^{2+}$ -индуцированное окисление белков – рост альдегидо- и кетопроизводных в 1,4 и 1,7 раза, активировались аэробные процессы гликолиза, что сопровождалось снижением лактата и глюкозы и ростом мочевины. Таким образом, при длительном влиянии ионов марганца отмечены изменения энергетического баланса у мышей в сторону аэробных процессов и волнообразность влияния ионов  $Mn^{2+}$  при хроническом воздействии – в первом и третьем поколениях оно более интенсивно.

Для очистки воды от избыточных ионов  $Mn^{2+}$  проведена оценка возможности использования активированных углей (АУ) из отходов древесины берёзы повислой, широко распространённой в Зауралье. Эти угли характеризуются высокой адсорбционной активностью с количеством  $Mn^{2+}$  на поверхности АУ 0,60 ммоль/г. Изучены показатели крови после перорального введения мышам фильтратов водных экстрактов из АУ с адсорбированными ионами  $Mn^{2+}$  (АУ-Мн). Водные фильтраты из АУ-Мн повышали активность аминотрансфераз и активировали у мышей окислительную модификацию белков и в большей степени ПОЛ. Таким образом, полученные АУ, благодаря высокой адсорбционной активности к ионам марганца (II), могут быть рекомендованы в качестве сорбентов марганца, однако из-за возрастающей аэробной активности за счёт сорбции на них кислорода могут быть использованы для очистки вод культурно-бытового назначения и технического использования.

**Ключевые слова:** марганец(II), активированный уголь, биохимические показатели крови, лабораторные мыши.

## Mouse-modeled change in the toxicity of manganese(II) ions when using activated carbons

© 2021. O. M. Plotnikova ORCID: 0000-0002-4010-685X, A. V. Sharov ORCID: 0000-0001-9120-8314,  
Kurgan State University,  
p. 4, 63, Sovetskaya St., Kurgan, Russia,  
e-mail: plotnikom@yandex.ru, sharow84@gmail.com

The content of manganese ions ( $Mn^{2+}$ ) in the rivers and lakes of the Kurgan region (Russia) is 3–6 mg/L in average, reaching 10 mg/L and more in winter, which is significantly higher than the permissible concentrations. The article presents the results of studying the effect of  $Mn^{2+}$  ions on the blood biochemical parameters of three generations of laboratory mice after drinking solutions containing  $Mn^{2+}$  ions (20 mg/L). In mice of the first generation, an increase in the products of lipid peroxidation (LPO) by 1.4 times was observed while the activity of aminotransferases decreased by 20–30% and carbonyl protein products by 15–25%; in the 3rd generation,  $Mn^{2+}$ -induced protein oxidation increased, as the aldehyde and keto derivatives increased 1.4 and 1.7 times respectively, aerobic processes of glycolysis were activated, which was accompanied by a decrease in lactate and glucose and an increase in urea. Thus, with the long-term influence of manganese ions, a change in the energy balance in mice towards aerobic processes was noted, and the wave-like effect of  $Mn^{2+}$  ions with chronic exposure was observed – the effect in the first and third generations is more intense than in second.

To purify water from excess  $Mn^{2+}$  ions in order to use it for drinking purposes, the possibility of using activated carbons (AC) from waste wood of weeping birch, widely distributed in the Kurgan region, was evaluated. These coals are characterized by high adsorption activity with the amount of  $Mn^{2+}$  on the surface of the AU 0.60 mmol/g. Blood parameters were studied after oral introduction of filtrates of aqueous extracts from AC with adsorbed  $Mn^{2+}$  (AC-Mn) ions to mice. Water filtrates from AU-Mn increased in mice the activity of aminotransferases and activated the oxidative modification of proteins and, to a greater extent, LPO. Thus, the resulting activated carbons, due to their high adsorption activity to manganese(II) ions, but due to the increasing aerobic activity due to oxygen sorption on them, they can be recommended for the purification of water for cultural and household purposes and for technical use.

**Keywords:** manganese(II), activated carbon, biochemical blood parameters, laboratory mice.

Зауралье имеет скальный фундамент, перекрытый горизонтально залегающими осадочными породами, образовавшимися в результате длительной морской трансгрессии [1]. По этой причине почвы и вода рек и озёр Курганской области характеризуется высоким содержанием железа, цинка, меди и особенно марганца. Содержание марганца в реках и озёрах по данным ежегодных докладов «Природные ресурсы и охрана окружающей среды Курганской области» колеблется от 5–8 ПДК до 30–40 ПДК (ПДК марганца для воды рыбохозяйственных водоёмов составляет 0,1 мг/л). Так, в пунктах постоянных наблюдений р. Тобол, основной водной артерии области, минимальное содержание марганца было ниже по течению (с. Костоусово) в 2013 г. – 19 ПДК, а максимальное – в черте города (п. Смолино) в 2011 г. – 60 ПДК. Среднее содержание марганца за 10 лет в пункте отбора «Арбинка» (1,5 км выше города) составило 28 ПДК, в черте города (п. Смолино) – 33 ПДК и в 16 км ниже по течению (с. Костоусово) – 26 ПДК. Особенно высокие концентрации марганца характерны для зимне-весеннего периода. Так, в марте 2008 г. в Курганском водохранилище зафиксировано экстремально высокое загрязнение ионами марганца – 116 ПДК, а в феврале 2014 г. в р. Чумляк – 156 ПДК.

Высокие концентрации соединений марганца опасны для человека и животных по причине кумулятивных эффектов и неспецифичности симптомов [2, 3]. С другой стороны, ионы марганца, благодаря поливалентности и небольшому размеру, участвуют в составе ферментов во многих окислительно-восстановительных реакциях углеводного, липидного, белкового обмена и антиоксидантной системы [4].

Таким образом, исходя из практического интереса к выше изложенным проблемам, целью исследования стало изучение биохимических показателей крови лабораторных мышей при употреблении питьевой воды с концентрацией  $Mn^{2+}$  аналогичной природной воде Курганской области и фильтратов после использования активированных углей для очистки природных вод от ионов марганца.

### Модели и методы исследования

В работе было проведено две серии экспериментов. При работе с мышами использовали опытные и контрольные группы нелинейных белых лабораторных мышей массой 24–28 г в возрасте трёх месяцев, которые содержались

в стандартных условиях. Исследовали плазму и эритроцитарную массу крови мышей после декапитации. Все работы с лабораторными мышами проводили согласно международным принципам гуманного отношения к животным [5] при свободном доступе к воде и пище.

В первой серии эксперимента для оценки хронического влияния марганца исследованы биохимические показатели крови трёх поколений белых лабораторных мышей при выпаивании растворов хлорида марганца (II) с концентрацией  $Mn^{2+}$  20 мг/л: первое поколение мышей поили 2 месяца (М-1пк); родившихся мышат (2 поколение, М-2пк) отсаживали и поили ещё 2 месяца, и далее аналогично – 3 поколение (М-3пк); мышей контрольных групп каждого поколения поили очищенной питьевой водой. Объём выпиваемой животными воды составлял в среднем 10 мл на одну особь в сутки.

Во второй серии экспериментов для оценки изменения токсичности марганца при использовании активированного угля (АУ) сначала получали АУ, затем из него – фильтрат водного экстракта марганца (II) (далее фильтрат АУ-Mn) для введения мышам (группа М-АУ-Mn). Активированные угли получали общепринятыми методами [6–8] из отходов древесины берёзы повислой (*Betula pendula* Roth.). После 2-х часового пиролиза древесины при 600 °С в токе гелия угли кипятили в концентрированной азотной кислоте и после промывания дистиллированной водой выдерживали при 105 °С; радиусы пор рассчитывали по методу Баррета-Джойнера-Халенды (ВЖН); удельная площадь поверхности – по уравнению Брунаура-Эммета-Теллера (БЕТ) по адсорбции азота; количество карбоксильных и гидроксильных групп – по результатам ВОЕМ титрования; содержание ионов  $Mn^{2+}$  определяли атомно-абсорбционным методом. Для получения фильтратов АУ с сорбированным марганцем заливали минимальным количеством воды, выдерживали при перемешивании трое суток и фильтровали. Водные фильтраты двукратно перорально вводили мышам (группа М-АУ-Mn) в объёме по 0,5 мл на особь с перерывом в 2 сут, мышам контрольной группы аналогично вводили физраствор. Для выявления или исключения влияния АУ на гомеостаз животных была взята группа мышей, которым аналогично вводили раствор Mn(II) в концентрации, соответствующей полной десорбции ионов марганца из АУ (М-Mn). Далее определяли биохимические показатели крови

мышей, аналогичные хроническому эксперименту. Данные при пероральном введении сравнивали с контрольной группой, которой вводили физраствор и группой М-Мп.

По общепринятым в клинической диагностике методикам [9], адаптированным к мелким животным, наборными методами («Вектор-Бест», г. Новосибирск) в плазме крови определяли концентрацию общего белка, альбумина, мочевины, лактата, глюкозы, триглицеридов, холестерина; активность аланин- и аспаратаминотрансфераз (АЛТ и АСТ), холинэстеразы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ); аналитическими методами определяли молекулы средней массы (МСМ) в эритроцитах и плазме, продукт перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малоновый диальдегид (МДА) и окислительной модификации белков (ОМБ) по концентрации альдегидо- и кето-2,4-динитрофенилгидразонов (АФГ и КФГ).

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили методом вариационной статистики для малых выборок с принятием уровня значимости 0,05. Данные представлены в виде средних значений и стандартного отклонения ( $\sigma$ ); на основании средних рассчитывали различия в процентах (%) опытных и контрольных групп; достоверность различий между выборками оценивали с использованием *W*-критерия Вилкоксона для независимых выборок [10]. При статистической обработке результатов исследования был использован модуль AtteStat 1.0 для программы Microsoft Excel.

### Результаты и обсуждение

Результаты токсикологического эксперимента для опытных и контрольных групп лабораторных мышей (табл.) показали, что при хроническом влиянии марганца уровень белковых показателей – протеинов и альбумина – изменялся незначительно (не более 10%) во всех группах, кроме 1 поколения (М-1пк). У животных группы М-1пк в крови достоверно возросло количество альбумина (в 1,18 раза) и МДА (в 1,44 раза) при одновременном снижении уровня практически всех показателей, особенно активности аминотрансфераз (в 1,25–1,47 раза) и карбонильных производных белков (в 1,12–1,30 раза). Это сопровождалось закономерным уменьшением МСМ (в 1,35–1,43 раза) при соотношении пула МСМ в эритроцитах к плазме (5,9). Воздействие марганца в 1 поколении вызвало и активацию процессов ПОЛ (увеличение МДА

в 1,42–1,44 раза) за счёт Мп-генерированных активными формами кислорода, что приводило к нарушению наиболее доступных для окисления веществ клеточных мембран.

Минимальное хроническое влияние марганца(II) на показатели метаболизма мышей зафиксировано в группе 2 поколения (М-2пк) – более чем на 20% от контроля изменялись только 4 показателя. При этом максимально (на 32%) увеличился только уровень мочевины, что привело к росту СММ в плазме на 22%, что, однако, не вызвало хроническую интоксикацию, и соотношение пула СММ в эритроцитах к плазме осталось высоким (3,7).

При длительном воздействии ионов марганца в группе 3 поколения (М-3пк) зафиксирован рост альбумина и активности аминотрансфераз при небольшом снижении протеина в плазме и значительное увеличение продуктов окисления белков, особенно глубокого окисления, фиксируемых в виде альдегидо- и кетопроизводных (в 1,37 и 1,70 раза), при этом не изменялось содержание продуктов ПОЛ. Таким образом, длительное воздействие ионов марганца(II) привело к активации окислительных процессов белков, особенно глубокого окисления, что указывает на снижение ресурсов антиоксидантной системы. Поливалентный марганец может активировать свободно-радикальные процессы, приводя к развитию Мп-индуцированного окисления. Отсутствие же роста продуктов ПОЛ указывает, что атаку свободных радикалов принимают на себя белковые молекулы, своеобразным образом защищая клеточные мембраны. Такой эффект, связанный со значительным увеличением продуктов окислительной модификации белков при снижении ПОЛ отмечался и в ранее проведённых работах [11]. При хроническом поступлении в организм животных ионов марганца можно отметить и волнообразную динамику интенсивности – влияние во втором поколении менее выражено, чем в первом, но в третьем поколении более интенсивное.

Об активации аэробных процессов при длительном влиянии ионов марганца свидетельствует уменьшение концентрации лактата (на 15–29%). При этом у особей второго и третьего поколения (М-2пк, М-3пк) одновременно снижался уровень глюкозы (на 15–19%) при росте мочевины на 12–32%, что указывает на активацию гликолиза с последующим образованием из пирувата аланина, избыточное количество которого вынуждено перенаправляться в орнитинный цикл на образование

Таблица / Table

Показатели крови лабораторных мышей в опытных и контрольных группах хронического эксперимента (средние значения  $\pm \sigma$ ) / The blood parameters of laboratory mice in the experimental and control groups (average value  $\pm \sigma$ )

Показатели крови Blood counts	Группы мышей': опыт (контроль) Groups of mice': experiment (control group)		
	М-1пк, n = 7	М-2пк, n = 9	М-3пк, n = 13
Общий белок, г/л Protein, g/L	55,3 $\pm$ 1,5* (51,0 $\pm$ 3,5)	48,1 $\pm$ 5,1 (46,0 $\pm$ 2,6)	46,4 $\pm$ 1,3** (51,0 $\pm$ 3,2)
Альбумин, г/л Albumen, g/L	42,5 $\pm$ 0,5** (36,1 $\pm$ 4,8)	33,4 $\pm$ 2,2 (32,1 $\pm$ 2,0)	35,7 $\pm$ 1,7** (33,5 $\pm$ 1,0)
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/L	4,66 $\pm$ 0,14* (5,03 $\pm$ 0,18)	6,66 $\pm$ 0,79* (5,05 $\pm$ 0,48)	5,45 $\pm$ 0,79 (4,87 $\pm$ 0,49)
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	7,4 $\pm$ 0,57** (10,2 $\pm$ 1,3)	9,03 $\pm$ 0,55* (10,7 $\pm$ 1,0)	7,93 $\pm$ 0,37* (11,1 $\pm$ 0,9)
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	9,2 $\pm$ 0,85 (9,9 $\pm$ 0,96)	11,5 $\pm$ 0,9** (13,5 $\pm$ 1,0)	7,6 $\pm$ 0,32* (9,4 $\pm$ 0,39)
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	1,27 $\pm$ 0,06* (1,37 $\pm$ 0,06)	0,82 $\pm$ 0,08** (1,0 $\pm$ 0,20)	1,30 $\pm$ 0,41 (1,2 $\pm$ 0,09)
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	2,82 $\pm$ 0,15 (2,92 $\pm$ 0,17)	2,60 $\pm$ 0,29 (2,61 $\pm$ 0,08)	2,21 $\pm$ 0,25 (2,26 $\pm$ 0,23)
АЛТ, Е/л ALT, E/L	19,7 $\pm$ 0,8** (28,9 $\pm$ 2,4)	23,8 $\pm$ 1,6 (22,3 $\pm$ 2,3)	44,7 $\pm$ 5,3 (39,6 $\pm$ 5,4)
АСТ, Е/л AST, E/L	135 $\pm$ 7** (168 $\pm$ 15)	141 $\pm$ 12* (129 $\pm$ 9)	144 $\pm$ 9** (128 $\pm$ 11)
Холинэстераза, Е/л Cholinesterase, E/L	4184 $\pm$ 369* (4813 $\pm$ 245)	3283 $\pm$ 285 (3455 $\pm$ 317)	3738 $\pm$ 283 (4022 $\pm$ 586)
ЛДГ, Е/л LDH, E/L	905 $\pm$ 31 (860 $\pm$ 92)	662 $\pm$ 88 (688 $\pm$ 78)	2049 $\pm$ 194 (2133 $\pm$ 200)
МДА, мкмоль/л MDA, $\mu$ mol/L	9,56 $\pm$ 1,35* (6,66 $\pm$ 1,53)	7,11 $\pm$ 0,58 (7,32 $\pm$ 0,41)	5,99 $\pm$ 1,04 (6,15 $\pm$ 0,55)
АФГ, е.о.п./г ОБ APH, o.d.u./g Pr	239 $\pm$ 60* (312 $\pm$ 40)	256 $\pm$ 27 (274 $\pm$ 20)	168 $\pm$ 15** (123 $\pm$ 13)
КФГ, е.о.п./г ОБ CPH, o.d.u./g Pr	108 $\pm$ 20 (122 $\pm$ 18)	67 $\pm$ 6** (105 $\pm$ 9)	93 $\pm$ 15** (55 $\pm$ 11)
MCM <sub>ap</sub> , е.о.п. MSM <sub>er</sub> , o.d.u.	6,57 $\pm$ 1,21* (8,94 $\pm$ 2,43)	7,50 $\pm$ 0,50 (7,63 $\pm$ 0,42)	5,73 $\pm$ 0,31* (6,20 $\pm$ 0,33)
MCM <sub>pl</sub> , е.о.п. MSM <sub>pl</sub> , o.d.u.	1,09 $\pm$ 0,25* (1,55 $\pm$ 0,40)	2,11 $\pm$ 0,44* (1,73 $\pm$ 0,24)	2,75 $\pm$ 1,0 (2,86 $\pm$ 0,1)

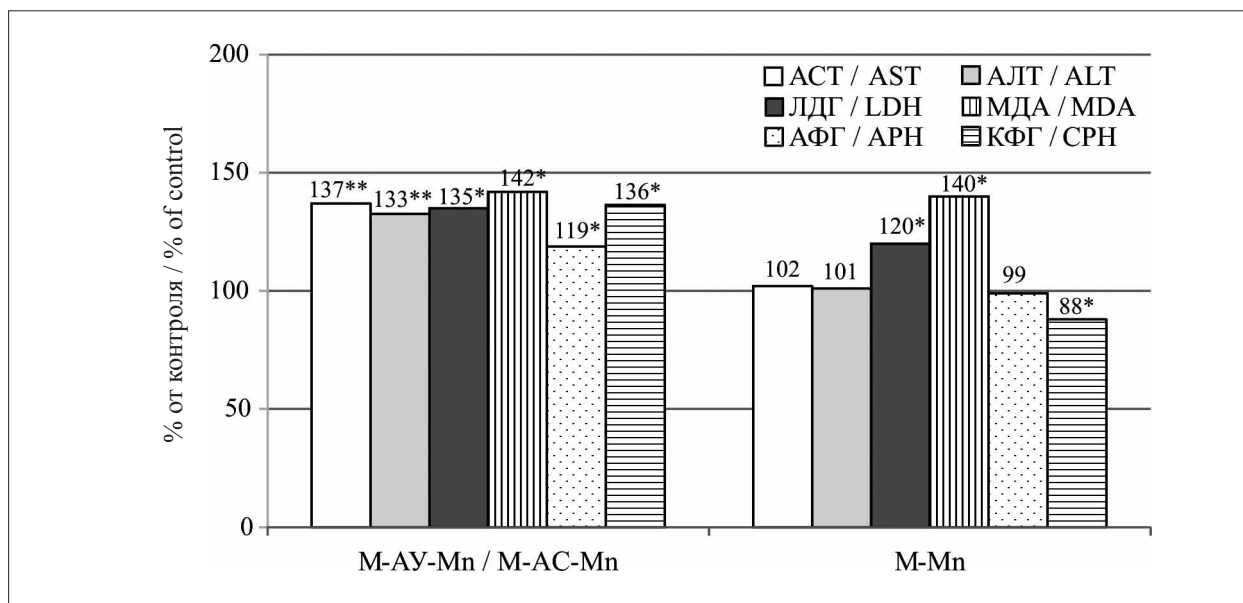
Примечание: ' – группы мышей: опыт (1), контроль (2); АЛТ и АСТ – аминотрансферазы; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; МДА – малоновый диальдегид; АФГ и КФГ – альдегидо- и кето- производные белков; е.о.п. – единицы оптической плотности; ОБ – общий белок; MCM<sub>ap</sub>, MSM<sub>er</sub> – молекулы средней массы в эритроцитах, плазме; n – число особей в группе; \* – достоверные отличия от контроля при p < 0,05; \*\* – достоверные отличия от контроля при p < 0,01.

Note: ' – groups of mice: experiment (1), control group (2); ALT and AST – aminotransferases; LDH – lactate dehydrogenase; MDA – malonic dialdehyde; APH and CPH – aldehyde and keto derivatives of proteins; o.d.u. – optical density units; Pr – protein; MS<sub>Mer</sub>, MSM<sub>pl</sub> – medium mass molecules in erythrocytes, plasma; n – is the number of individuals in the group; \* – significant differences from the control at p < 0.05; \*\* – significant differences from the control at p < 0.01.

мочевины. Эти данные свидетельствуют об изменении энергетического баланса у мышей в сторону аэробных процессов.

Возможным решением для очистки воды от ионов марганца является использование АУ, полученных из отходов древесины широко произрастающей в Зауралье берёзы повислой. Эти АУ характеризуются высо-

кой адсорбционной активностью: имеют поры радиусом 2–7 нм, удельную площадь поверхности 560 м<sup>2</sup>/г, количество карбоксильных и гидроксильных групп 0,90 $\pm$ 0,05 и 0,80 $\pm$ 0,05 ммоль/г соответственно; содержание ионов Mn<sup>2+</sup> на насыщаемой ими поверхности составило 0,60 $\pm$ 0,06 ммоль/г (АУ-Mn), что позволило использовать АУ в качестве



**Рис.** Изменения показателей крови мышей (в процентах от контроля) в остром эксперименте в группах после перорального введения фильтрата из АУ после сорбции марганца (M-AU-Mn) и раствора Mn(II) в концентрации, соответствующей полной десорбции ионов марганца из АУ (M-Mn).

*Примечание:* см. обозначения к таблице

**Fig.** Changes in the blood parameters of mice (as a percentage of the control) in the acute experiment in the groups after oral administration of filtrate from the AC after sorption of manganese (M-AC-Mn) and Mn(II) solution at a concentration corresponding to the complete desorption of manganese ions from the AC (M-Mn).

*Note:* see the notation in Table

сорбента ионов марганца. Водные фильтраты из АУ-Mn после двукратного перорального введения не вызывали значимых изменений активности холинэстеразы, концентрации альбумина, лактата, холестерина, молекул низкой и средней молекулярной массы в эритроцитах, однако повышали продукты окисления липидов и белков и активность аминотрансфераз и ЛДГ (рис.).

Повышение активности аминотрансфераз и ЛДГ (на 33–37%), рост МДА (на 42%), а также мочевины (на 66%) и триглицеридов (на 21%) при снижении глюкозы (на 29%) под влиянием фильтрата АУ-Mn происходит, скорее всего, за счёт сорбции на АУ кислорода, молекулы которого могут быть активированы на поверхности АУ путём превращения в супероксид-радикал. Это вызывает рост продуктов окисления, активацию аэробных процессов и окислительного дезаминирования с последующим синтезом мочевины.

### Заключение

При хроническом воздействии ионов марганца(II) у мышей развивалось Mn-индуцированное окисление белков и активация аэробных процессов, сопровождающееся значительным ростом продуктов глубокого окисления белков и изменением процессов

гликолиза со снижением лактата и ростом мочевины. При этом отмечена волнообразная динамика интенсивности изменения содержания в крови веществ, связанных с энергообеспечением организма – белков, продуктов их окислительной модификации, лактата и мочевины – влияние ионов марганца в первом и в третьем поколении более интенсивно по сравнению со вторым поколением.

Водные фильтраты из активированных углей с сорбированными ионами марганца(II) за счёт возможной сорбции кислорода на микрочастицах угля при пероральном введении активировали у мышей ПОЛ и окислительную модификацию белков, а также повышали активность аминотрансфераз. Эти данные показали, что АУ, полученные из берёзы, благодаря высокой адсорбционной активности к ионам марганца(II), **могут быть использованы в качестве сорбентов ионов марганца**, однако из-за возрастающей аэробной активности за счёт сорбции на них кислорода могут быть рекомендованы для очистки вод культурно-бытового назначения и технического использования.

### References

1. Egorov V.P., Krivonos L.V. Soils of the Kurgan region. Kurgan: Zaural'e, 1995. 174 p. (in Russian).



2. Williams M., Todd G.D., Roney N., Roney N., Crawford J., Coles C. Toxicological profile for manganese. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2012. 506 p.
3. Ellenhorn M.J., Barceloux D.G. Medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning. New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc., 1988. 1043 p.
4. Shestova G.V., Ivanova T.M., Livanov G.A., Sizova K.V. Toxic effects of manganese as a risk factor for public health // *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy*. 2014. No. 4 (50). P. 59–65 (in Russian).
5. International recommendations for conducting biomedical research using animals. Basic principles // *Lanimalogiya*. 1993. No. 1. 29 p. (in Russian).
6. Cheung W.H., Lau S.S.Y., Leung S.Y., Ip A.W.M., McKay G. Characteristics of chemical modified activated carbons from bamboo scaffolding // *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2012. V. 20. No. 3. P. 515–523. doi: 10.1016/S1004-9541(11)60213-9
7. Duman G., Onal Y., Okutucu C., Onenc S., Yanik J. Production of activated carbon from pine cone and evaluation of its physical, chemical, and adsorption properties // *Energy & Fuels*. 2009. V. 23. P. 2197–2204. doi: 10.1021/ef800510m
8. Shafeeyan M.S., Wan Daud W.M.A., Houshmand A., Shamiri A. A review on surface modification of activated carbon for carbon dioxide adsorption // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2010. No. 89. P. 143–151. doi: 10.1016/j.jaap.2010.07.006
9. Reference to laboratory research methods / Ed. L.A. Danilova. Moskva: Piter, 2003. 733 p. (in Russian).
10. Glants S. Biomedical statistics. Moskva: Praktika, 1998. 459 p. (in Russian)
11. Plotnikova O.M., Korepin A.M., Duplyakina I.V., Matveev N.N. Evaluation of the ecotoxicity of specific pollutants to change the biochemical parameters of living organisms // *Theoretical and Applied Ecology*. 2008. No. 4. P. 42–47 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2008-4-042-47