"УТВЕРЖДАЮ"

Заместитель Главного Государственного Санитарного врача СССР

А.Заиченко

"27" апреля 1984 г.

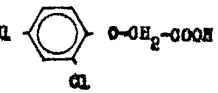
№ 3022-84

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО СИСТЕМАТИЧЕСКОМУ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ГЕРБИЦИДОВ РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ ПРИ СОВМЕСТНОМ ПРИСУТСТВИИ В ПРОБАХ ВОДЫ, ПОЧВЫ И РАСТЕНИЯХ

I. Характеристика анализируемых гербицидов.

2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота /2,4-Д/



$C_8H_6O_8Cl_2$ Мол. м 221,04

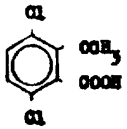
Белое кристаллическое вещество. $T_{пл.}$= 141°С. $T_{кип.}$= 160°С. при 0,4 мм рт.ст. Растворимость в воде - 0,5 г/л. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей.

Применяется для борьбы с двудольными сорняками на посевах зерновых культур.

Препарат среднетоксичен. $ЛД_{50}$ = 375 мг/кг.

МДУ в пищевых продуктах не допускается, в кормах для молочного скота и птицы - 0,1 мг/кг, для откормочных животных и птицы - 0,6 мг/кг. ПДК в воде - 0,2 мг/л.

2-метокси-3,6-дихлорбензойная кислота /дикамба, банвел Д/



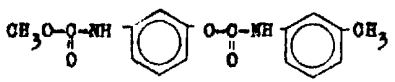
$C_8H_6O_8Cl_2$ Мол. м 221,04

gost.e-ecolog.ru

Белое кристаллическое вещество. $T_{пл.}$ = 114-116°С. Растворимость в воде - 1,5 Г/Л. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей.

Препарат малотоксичен. $ЛД_{50}$ - 1100 мг/кг.
ПДК в почве - 0,25 мг/кг.

3-метоксикарбамидофенил-N-/3'-метилфенил/-карбамат /бетанал, фенмедифам/



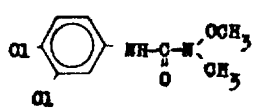
$C_{16}H_{16}O_4N_2$ Мол. м 800,82

Порошок белого цвета. $T_{пл.}$ = 143-144°С. Плохо растворяется в воде - менее 0,01 г/л. Хорошо растворяется в этиловом спирте, ацетоне, циклогексаноне.

Используется для борьбы с сорной растительностью при повсходовом применении на посевах сахарной и столовой свеклы.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ = 5000-8000 мг/кг.
МДУ в свекле - 0,2 мг/кг. ПДК в воде 0,5 мг/л.

N-/3,4-дихлорфенил/ - N' - метокси- N' - метилмочевина /линурон/



$C_9H_{10}O_2N_2Cl_2$ Мол. м 249,10

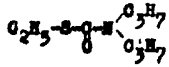
Белое кристаллическое вещество. $T_{пл.}$ = 93-95°С. Растворимость в воде - 75 мг/л. Хорошо растворим в большинстве органических растворителей.

Применяется в виде смачивающегося порошка с содержанием д.в. - 80%.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ - 1500 мг/кг.

МДУ в картофеле, бобовых, кукурузе - 0,1 мг/кг, моркови - 0,05 мг/кг. ПДК в воде водоемов санитарно-бытового водопользования - 1,0 мг/л, для условий сельского хозяйства - 0,02 мг/л. ПДК в почве - 1,0 мг/кг.

S-этил-N,N-дипропилтиокарбамат /эптам/



$C_9H_{19}OSN$ Мол. м 189,82

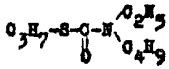
Бесцветная или слегка желтоватая жидкость. Уд. масс - 0,966. Плохо растворяется в воде - 0,4 г/л. Смешивается с большинством органических растворителей. $T_{кип.}$ = 120°С при 10 мм рт. ст. Давление пара - 0,15 мм рт.ст. при 25°С.

Применяется для борьбы с сорняками на посевах различных сельскохозяйственных культур.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ = 1600-3000 мг/кг

МДУ в овощах - 0,05 мг/кг. ПДК в воде 0,1 мг/л.

S-пропил-N-этил-N-бутилтиокарбамат /тиллам/



$C_{10}H_{22}OSN$ Мол. м 205,85

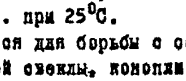
Жидкость желтого цвета с зеленоватым оттенком. Уд.вес = 0,956. $T_{кип.}$ = 142,5°С при 20 мм рт. с. Растворимость в воде - 0,06 г/л. Смешивается со многими органическими растворителями. Давление пара 0,085 мм рт. ст. при 25°С.

Используется для борьбы с сорной растительностью на посевах табака, сахарной свеклы, конопли, томатов.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ = 1120 мг/кг.

МДУ в овощах, томатах, сахарной и столовой свекле - 0,05 мг/кг. ОДК в почве - 0,6 мг/кг. ПДК в воде - 0,01 мг/л.

S,N-диэтил-N-циклогексилтиокарбамат /ронит/



$C_{11}H_{21}OSN$ Мол. м 215,86

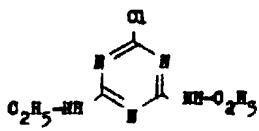
Слегка желтоватая жидкость. Уд. масса= 0,970. $T_{кип.}$=145-146°С. при 10 мм рт. с. Растворимость в воде - 0,1 г/л. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей. Давление пара - 0,002 мм рт.с. при 25°С.

Гербицид, применяющийся на посевах сахарной свеклы, шпината.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$= 8600 мг/кг.

МДУ в сахарной и столовой свекле - 0,8 мг/кг

2-хлор-4,6-диэтиламино-симм-триазин /симазин/



$C_7H_{12}N_5Cl$ Мол. м 201,66

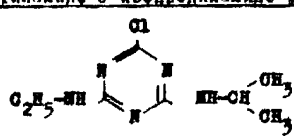
Белое кристаллическое вещество. $T_{пл.}$ = 225-227°С. Плохо растворим в воде и органических растворителях.

Применяется препаративная форма с содержанием д.в. 50%.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$= 5000 мг/кг.

МДУ в фруктах - 0,2 мг/кг, винограде - 0,05 мг/кг, зерновых - 1,0 мг/кг. ПДК в воде - отсутствие.

2-хлор-4-этиламино-6-изопропиламино-симм-триазин /атразин/



$C_8H_{14}N_5Cl$ Мол. м 215,69

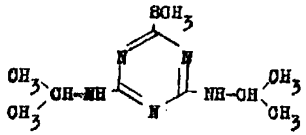
Бесцветный кристаллический порошок. $T_{пл.}$= 178-175°С. Плохо растворим в воде.

Гербицид. Выпускается в виде смачивающегося порошка /50% д.в./

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ = 3080 мг/кг.

МДУ в зерновых, фруктах, овощах - 0,1 мг/кг. ПДК в воде - 0,5 мг/л.

2-метилтио-4,6-диизопропиламино-симм-триазин-/прометрин/



$C_{10}H_{19}N_5S$ Мол. м 241,36

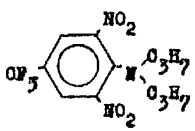
Белое кристаллическое вещество. $T_{пл.}$ = 118-120°С. Растворимость в воде - 0,05 г/л. Хорошо растворим в органических растворителях.

Гербицид, применяющийся на посевах гороха и др. культур.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ = 3150-3750 мг/кг.

МАУ в овощах и картофеле - 0,1 мг/кг. ПДК в почве - 0,5 мг/кг. ПДК в воде - 8,0 мг/л.

2,6-динитро-4-трифторметил-N,N-дипропиланилин /трефлан,нитран/



$C_9H_{16}N_3O_4F_3$ Мол. м 335,36

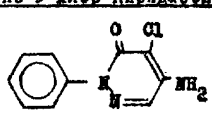
Желто-оранжевые кристаллы. $T_{пл.}$ = 48,5-49°С. $T_{кип.}$=139-140°С. Растворимость в воде менее 1 мг/л. Хорошо растворяется во многих органических растворителях. Давление пара - $1,99 \cdot 10^{-4}$ мм рт. ст. /29°С/.

Применяется как гербицид для довсходового внесения на посевах табака, гороха и др.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$= 10 г/кг.

МАУ в луке, моркови, капусте - 0,5 мг/кг. ПДК в воде - 1,0мг/л

1-фенил-4-амино-5-хлор-пиридазон-6 /пирамин, феназон/



$C_{10}H_8N_3OCl$ Мол. м 221,65

Белый кристаллический порошок. $T_{пл.}$ = 205-206°С. Растворимость в воде - 0,004 г/л. Хорошо растворим в ацетоне, метаноле.

Выпускается в виде 80% смачивающегося порошка.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ >8500 мг/кг.
ОДК в почве - 0,7 мг/кг. ПДК в воде - 2,0 мг/л.

2. Основные положения.

2.1.Принцип метода.

Методика основана на газохроматическом определении гербицидов или их модифицированных производных с помощью детекторов постоянной скорости рекомбинации и термоионного после выделения их образцов ацетоном и очистки экстракта перераспределением в системах - двух несмешивающихся жидкостей. При очистке производится одновременное разделение препаратов на группы, в которых отсутствуют соединения, имеющие близкие хроматографические характеристики. Для гербицидов, способных перегоняться с водяным паром, предусмотрен метод очистки этим способом от сопутствующих примесей. Уровень допустимых остаточных количеств достигается способами химического модифицирования: метилирования свободных карбоновых кислот и бромирования ароматических аминов, выделяющихся в результате щелочного гидролиза фениламидов.

Чувствительность методики и статистические данные:

Препараты	Предел обнаружения, мг/кг, мг/л, мг/кг			% определения стандартных количеств при n = 5
	почва	вода	растения	
2,4-Д	0,01	0,01	0,04	79,0 ± 3,4
Дикамба	0,01	0,01	0,04	85,8 ± 2,6
Бетанал	0,005	0,005	0,02	65,2 ± 4,7
Линурон	0,005	0,005	0,02	69,4 ± 6,2
Эптам	0,05	0,05	0,2	97,4 ± 5,9
Тиллам	0,05	0,05	0,2	88,0 ± 3,5
Ронит	0,05	0,05	0,2	91,4 ± 6,4
Атразин	0,05	0,05	0,2	94,0 ± 3,8
Прометрин	0,05	0,05	0,2	92,1 ± 2,1
Симазин	0,05	0,05	0,2	71,9 ± 4,0
Трефлан	0,01	0,01	0,04	82,6 ± 6,7
Пирамин	0,005	0,005	0,02	80,8 ± 7,9

2.2. Реактивы и материалы.

Стандартные растворы гербицидов в ацетоне /10-100 мкг/мл/
Гексан, ч, ТУ-6-09-3375-78
Ацетон, чда, ГОСТ 2603-79
Этилацетат, чда, ГОСТ 22300-76
Натрий гидроокись, хч, ГОСТ 4328-77
Раствор натрия гидроокиси, 1н и 10н водный
Кислота соляная, хч, ТУ-62-09-2437-72
Раствор соляной кислоты, 1н водный
Натрий сернокислый безводный, хч, ГОСТ 6058-77

Реактивы для метилирования:

Гидразид-гидрат, чда,
Метанол, хч, ГОСТ 6995-77
Калий гидроокись, ч, ГОСТ 9285-78
Хлороформ, хч, ТУ-6-09-4263-76
Эфир диэтиловый, хч, ГОСТ 6262-79

Реактивы для щелочного гидролиза:

Этиленгликоль, ч, ГОСТ 10164-75
Этиловый спирт ректификат, ТУ 6-09-1710-72
Калий гидроокись, ч, ГОСТ 9285-78

Реактивы для бромирования:

Кислота серная, хч, ГОСТ 4204-77
Калия бромид, хч, ГОСТ 4160-74
Калия бромат, хч, ГОСТ 4457-74
2,4,6-триметиланилин /мезидин/,ч, фирма "Fluka AG", Швейцария
Натрий сернокислый безводный, ч, ТУ-6-09-4059-75
Толуол, чда, ГОСТ 5789-78
Раствор серной кислоты, 1н водный
Раствор бромида калия, 20% в 1н растворе серной кислоты
Раствор бромата калия, 1% водный, хранить в темной посуде на холоде
Раствор мезидина, 0,2% в 1н растворе серной кислоты, хранить в темной посуде на холоде

Газы и неподвижные фазы для хроматографии:

Азот особой чистоты или аргон высшего сорта
Водород
Воздух сжатый
5% силиконовой фазы SE-30, нанесенной на Хроматон N-AW DMCS /0,16-0,20 мм/.
5% силиконовой фазы XE-60, нанесенной на Хроматон N-AW DMCS /0,16-0,20 мм/

2.3. Приборы, аппаратура и посуда.

Газовый хроматограф Цвет 1об или аналогичный, оснащенный детекторами термионным и постоянной скорости рекомбинации /электроноазахватным/ и настроенный на работу двух детекторов одновременно. В линию термоионного детектора подключается стеклянная колонка /1 м • 3 мм/, содержащая 5% SE-30, а в линию детектора постоянной скорости рекомбинации - стеклянная колонка 2 м • 3 мм/ с 5% XE-30.
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или налогичный
Прибор для получения диазометана /рис. 2/
Масляная баня с регулятором температуры от 150 до 200°С

В методике используется стандартная химическая посуда, выпускаемая отечественной промышленностью.

2.4. Подготовка к определению.

Стандартные растворы гербицидов приготавливаются обычным способом и могут храниться на холоде в темных склянках в течение 1 месяца. Годность стандартных растворов к применению проверяется хроматографическим путем сравнения с хроматограммами полученных ранее свежеприготовленных растворов. Для каждого стандартного раствора определяется калибровочный коэффициент, который используется в для количественных расчетов /см. раздел 2.7/.

Органические растворители необходимо перегнать, сульфат натрия безводный прокалить.

Хроматографические колонки и детекторы кондиционируются перед началом работы не менее 1 часа.

Получение диазометана: в реакционную колбу прибора /рис.2/ помещают 6 г калия гидроокиси, 8 мл метанола и 8 мл гидразин-гидрата. В приемную колбу наливают 50 мл диэтилового эфира. Из капельницы подается хлороформ со скоростью 1 капля за 1-2 сек. Окончание реакции получения диазометана определяется по выделению белых паров в реакционной колбе или по появлению бурой окраски реакционной смеси. Эфирный раствор диазометана интенсивно желтого цвета предпочтительно применять свежеполученным, но можно хранить 3-5 дней в темной склянке на холоде.

Приготовление щелочного этиленгликоля: 1 г калия гидроокиси растворяется в 1 мл смеси этанол-вода /1:1/ и объем доводится до 25 мл этиленгликолем.

Проверка раствора мезидина на чистоту: Мезидин очищается от примесей, мешающих определению, хроматографированием на колонке /10 см . 0,5 мм/, содержащей 5 см основной окиси алюминия. Мезидин в количестве 10 мл пропускают через колонку и отбирают первые 5 мл элюата.

К 10 мл 0,2% раствора мезидина в 1 н водном растворе серной кислоты прибавляется 1 мл 2% раствора бромида калия и 1 мл 1% раствора бромата калия. Смесь помещается на 15 мин. в темное место. Избыток брома после бромирования удаляется небольшими порциями сульфита натрия, реакционная смесь подщелачивается 15 мл 10 н раствора едкого натра и экстрагируется 5 мл толуола. При хроматографировании 5 мкл толуольного слоя не должно быть пиков, имеющих близкие параметры удерживания с бромпроизводными анилина, три-метиланилина и 3,4-дихлоранилина.

Условия хроматографического разделения гербицидов:

Расход газа-носителя через колонку в линии ДПР - 60 мл/мин, а в линии ТИД - 80 мл/мин. На поддувку ДПР расход газа составляет - 160 мл/мин. Расход водорода для ТИД - 15 мл/мин, воздуха - 300 мл/мин.

Для хроматографического разделения гербицидов необходимы два температурных режима:

а/ температура испарителя - 230°С, термостата колонок - 190°С, термостата детекторов - 290°С.

В этих условиях времена удерживания гербицидов /или их производных/ составляют при анализе с помощью ТИД: атразин - 3,1 мин., симазин - 3,1 мин., прометрин - 5,4 мин.; при анализе с помощью ДПР: метиловый эфир 2,4-Д - 4,1 мин., метиловый эфир дикамбы - 2,1 мин., 2,4,6-трибром-3-метиланилин /бетанал/ - 4,0 мин., 2,6-дибром-3,4-дихлор-анилин /линурон/ - 4,0 мин., 2,4,6-трибром-анилин /пирамин/ - 3,0 мин., трефлан - 3,7 мин.

б/ температура испарения - 190°С, термостата колонок - 140°С.

Этот режим используется при анализе тиокарбаматов с помощью ТИД. Времена удерживания гербицидов: эптам - 3,2 мин., тиллам - 5,2 мин., ронит - 11,4 мин.

2.5. Отбор проб.

Отбор проб для анализа производят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельско-хозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", № 2051-79 от 21.08.79

Для анализа отбирают навески средних проб в количествах: 100 мл воды, 100 г почвы известной влажности и 25 г свежесобранной зеленой массы.

2.6. Проведение определения.

На рис. 1 приведена блок-схема хода аналитического определения микроколичеств гербицидов при их совместном присутствии в пробе.

2.6.1. Подготовка проб воды к определению.

К 100 мл воды, отобранной для анализа, прибавляют 5 мл 10 н раствора едкого натра.

2.6.2. Выделение гербицидов из почвы и растений.

Пробы почвы или растений заливаются таким количеством ацетона, чтобы они были полностью покрыты растворителем, и помещают на водяную баню с температурой 70-75°С. Колбы присоединяют к обратным холодильникам и выдерживают в этих условиях в течение 1 часа. После этого содержимое колб охлаждается. Собирают отфильтрованный ацетоновый экстракт и упаривают его с помощью ротационного испарителя до объема 50 мл. К полученному остатку прибавляют 50 мл 1 н раствора едкого натра.

2.6.3. Очистка экстрактов и разделение гербицидов.

Дальнейшее определение для проб воды, почвы и растительных проб проводится одинаково.

2.6.3.1. Отделение тиокарбаматов, трефлана, атразина, прометрина и линурона от прочих гербицидов.

Щелочно-ацетоновый раствор экстрагируется в делительной воронке тремя по 80 мл н-гексана. Все порции гексана объединяют.

2.6.3.2. Отделение тиокарбаматов, трефлана и линурона от атразина и прометрина.

Гексановый экстракт по пункту 2.6.3.1. экстрагируют тремя порциями по 25 мл 1 н раствора соляной кислоты. Солянокислые растворы объединяют.

2.6.3.3. Отделение бетанала, пирамина и симазина от 2,4-Д и дикамбы.

К щелочно-ацетоновому экстракту после п. 2.6.3.1 прибавляют 100 мл 1 н раствора едкого натра и препараты экстрагируют тремя по 50 мл этилацетата. Фракции этилацетата объединяют.

2.6.3.4. Выделение 2,4-Д и дикамбы в виде свободных кисло-

Щелочно-ацетоновый раствор после 2.6.3.3 подкисляют концентрированной соляной кислотой до pH = 1 и экстрагируют в делительной воронке тремя порциями по 50 мл этилацетата. Этилацетатные экстракты объединяют.

2.6.3.5. Выделение атразина и прометрина.

Солянокислый экстракт после п.2.6.3.2 подщелачивают 10 н раствором едкого натра /около 10 мл/ и экстрагируют в делительной воронке тремя по 25 мл гексана. Гексановые экстракты объединяют.

2.6.3.6. Выделение тиокарбаматов, трефлана и линурона.

Отделение тиокарбаматов, трефлана и линурона производится от коэкстрактивных веществ перегонкой с водяным паром.

Гексановый экстракт после п.2.6.3.2 упаривается на ротационном испарителе до объема 10 мл и переносится количественно на слой воды в дистилляционной колбе. Проба кипятится на электроплитке в течение 1 часа. Собранный водный дистиллят экстрагируется тремя по 25 мл гексана.

2.6.4. Концентрирование.

Органические экстракты, полученные по п.п. 2.6.3.3 - 2.6.3.6, осушаются безводным сульфатом натрия и упариваются с помощью ротационного испарителя.

2.6.5. Детектирование гербицидов без модифицирования молекул.

2.6.5.1. Определение тиокарбаматов и трефлана.

К упаренному экстракту после п.2.6.3.6 прибавляют 1 мл этанола и хроматографируют аликвоту полученного раствора с помощью ДПР и ТИД в условиях, приведенных выше.

2.6.5.2. Определение симазина, атразина и прометрина.

К упаренным по п.п. 2.6.3.3 - 2.6.3.5 экстрактом прибавляют по 1 мл ацетона и хроматографируют аликвоту полученного раствора с помощью ТИД в условиях, приведенных выше.

Однако, учитывая, что около 5% атразина после перераспределения в системе гексан-ацетон-1 и раствор едкого натра остается в водно-ацетоновой фазе, в случае больших концентраций атразина он может быть в дальнейшем идентифицирован ошибочно, как симазин. Это вызвано тем, что на колонке с 5% SE-30 симазин и атразин практически не разделяются. Для решения задачи идентификации следует воспользоваться альтернативной колонкой, содержащей 5% XE-60. В тех же температурных режимах, что и для колонки с SE-30, симазин и атразин имеют разные параметры удерживания.

2.6.6. Модифицирование молекул гербицидов.

2.6.6.1. Получение метиловых эфиров 2,4-Д и дикамбы.

Упаривают этилацетатный экстракт /2.6.3.4/ и к сухому остатку прибавляют 3-5 мл эфирного раствора диазометана. Через 10-15 мин. диазометан удаляют током воздуха и вводят аликвоту в хроматограф.

2.6.6.2. Определение батанала, пирамина и линурона.

2.6.6.2.1. Гидролитическое расщепление.

К упаренным пробам после п. 2.6.3.3 и 2.6.3.6 добавляют 1 мл диэтиленгликоля, содержащего 4% KOH, и выдерживают на масляной бане при 180°C в течение 15 мин.

2.6.6.2.2. Бромирование.

К охлажденной смеси прибавляют 10 мл 1н раствора серной кислоты, 0,5 мл 0,2% раствора мезидина, 0,5 мл 20% раствора бромида калия и 0,5 мл 1% раствора бромата калия. Содержимое тщательно перемешивают и помещают на 15 мин. в темное место. По окончании бромирования избыток брома удаляют небольшим количеством сульфита натрия безводного.

2.6.6.2.3. Выделение бромпроизводных.

Раствор подщелачивают 10 н раствором едкого натра /около 1,5мл/ и экстрагируют 5 мл толуола. Аликвотную часть хроматографируют.

2.7. Обработка результатов анализа.

Для определения препаратов методом абсолютной калибровки прежде всего определяют калибровочный коэффициент для каждого соединения по формуле:

$$K = \frac{1}{n}\left(\frac{H_1}{c_1 V_1} + \frac{H_2}{c_2 V_2} + \ldots + \frac{H_n}{c_n V_n}\right),$$

где: n – число вводимых проб стандартных растворов;
H – высота пиков вещества, мм;
c – концентрация стандартных растворов, мкг/мл;
V – объем, вводимой в хроматограф, мкл.

Расчет содержания препарата в объекте производится по формуле:

$$X = \frac{H \cdot V_1}{K \cdot V_2 \cdot A},$$

где: X – количество препарата в объекте, мг/кг
H – высота пика препарата, мм
V_1 – объем анализируемой пробы, мл
K – калибровочный коэффициент, мм/нг
V_2 – хроматографируемый объем, мкл
A – навеска пробы, г.

2.8. Техника безопасности.

Необходимо соблюдать правила безопасной работы при использовании легковоспламеняющихся жидкостей /органические растворители/, кислот и щелочей, токсических веществ /гербициды, гидразин-гидрат, мезидин/, а также метанола .

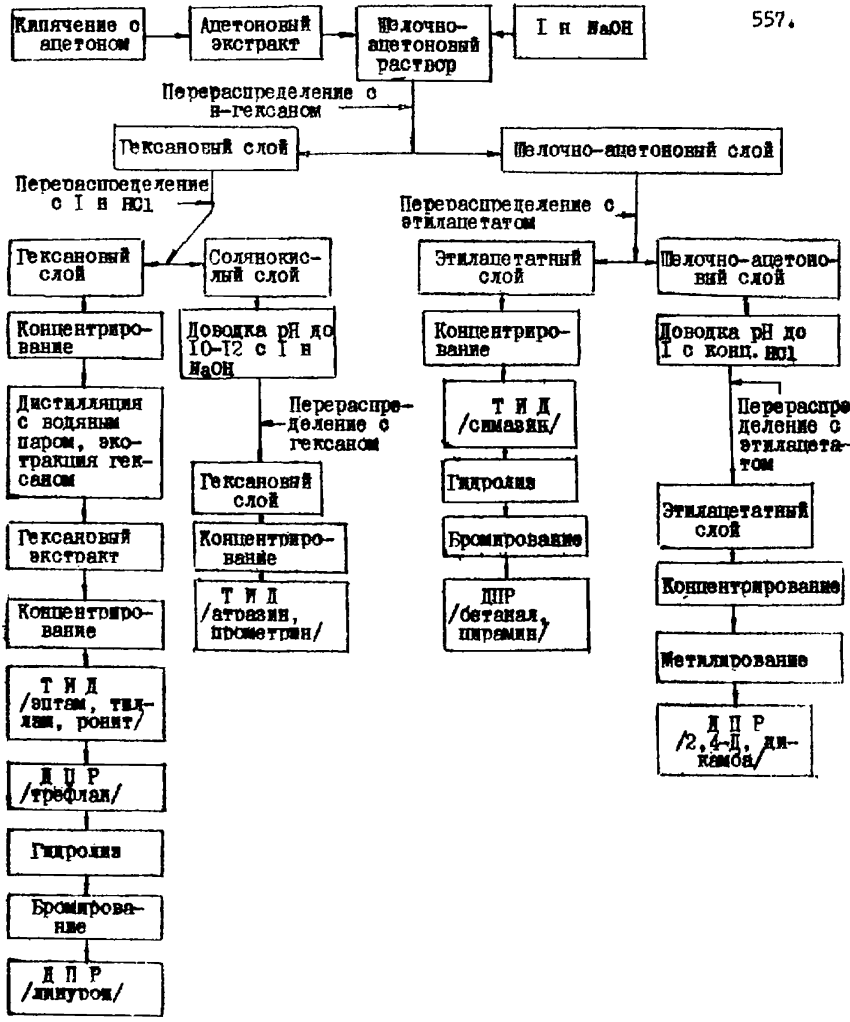


Рис.1. Блок-схема хода аналитического определения микроколичеств гербицидов при их совместном присутствии в одной пробе.

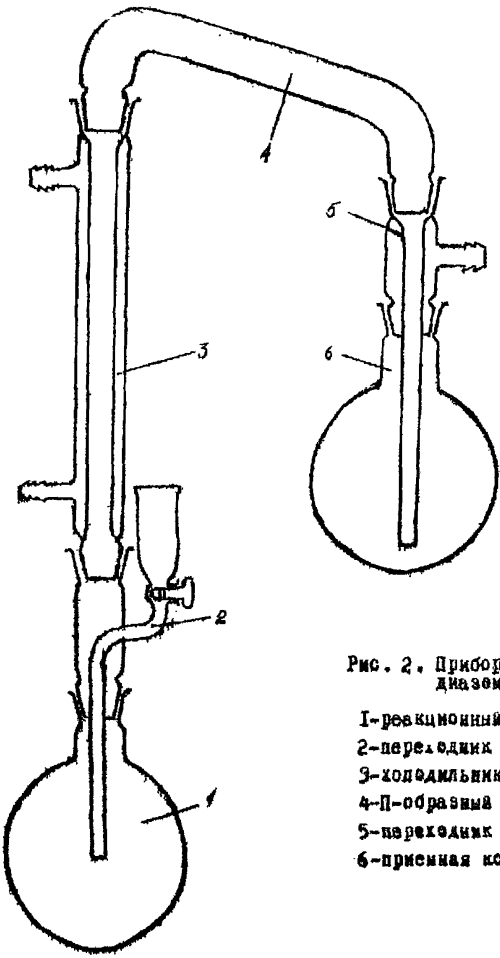


Рис. 2. Прибор для получения диазометана

1-реакционный сосуд;
2-переходник с капельницей;
3-холодильник;
4-П-образный переходник;
5-переходник с отводом;
6-приемная колба.

2.10 Разработчики

Настоящая методика разработана Кофманом М.Ш. (Институт физиологии растений АН УССР, г. Киев), Клисенко М.А. (Всесоюзный НИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс, г. Киев), Кофановым В.И. (Институт коллоидной химии и химии воды АН УССР, г. Киев)

2.11 Апробаторы

Методические указания апробированы в ЦИНАО, г.Москва и ВНИИ ефиромасличных культур, г.Симферополь

gost.e-ecolog.ru