Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАТОРЫ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Сборник методических указаний

МУК 4.1.1941—4.1.1954—05

Издание официальное

Москва, 2009

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О37

О37 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—140 с.

1. Сборник подготовлен Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (академик РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); при участии специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Разработчики методов указаны в каждом из них.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

Формат 60x88/16 Печ. л. 8.75

Тираж 100 экз.

Тиражировано отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации.
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека

_____ Г.Г. Онищенко
18 апреля 2005 2004 г

МУК 4.1.1944-05
Дата введения: 18.04.05

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

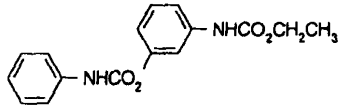
по измерению концентраций десмедифама в воздухе рабочей зоны, десмедифама, фенмедифама и этофумезата при совместном присутствии в атмосферном воздухе населенных мест методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Настоящие методические указания устанавливают метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения в атмосферном воздухе массовых концентраций десмедифама, фенмедифама и этофумезата в диапазонах 0,008 – 0.08 мг/м^3; 0.0008 - 0,008 мг/м^3 и 0,004 – 0,04 мг/м^3, соответственно, а также десмедифама в воздухе рабочей зоны в диапазоне 0,1 – 1,0 мг/м^3

Десмедифам, фенмедифам и этофумезат - действующие вещества препаратов СИНБЕТАН ЭКСПЕРТ ОФ, КЭ (112 г/л этофумезата + 91 г/л фенмедифама + 71 г/л десмедифама), фирм ООО НПП «АГРУСХИМ», «РосАгроХим» (Россия) и АЛС – 4/04 (110 г/л этофумезата + 90 г/л фенмедифама + 70 г/л десмедифама) фирмы ООО «Алсико-Агропром» (Россия).

Десмедифам

Этил 3-фенилкарбамоилоксифенилкарбамат (IUPAC)



$C_{16}H_{16}N_2O_4$
Мол масса 300.3

Бесцветное кристаллическое вещество со слабым ароматическим запахом Температура плавления 120^{0}C. Давление паров при 25^{0}C: 4,0x10^{-5} мПа. Растворимость в органических растворителях при 20^{0}C (г/дм^3): изопропанол, ацетон - 400. метанол – 180; этилацетат – 149; хлороформ – 80; толуол – 1,2; гексан – 0.5. Растворимость в воде при 25^{0}C – 7 мг/ дм^3.

Десмедифам стабилен в водной кислой среде, гидролизуется в нейтральной и щелочной средах: DT_{50} - 70 дней (pH 5); 20 часов (pH 7); 10 мин (pH 9).

Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль.

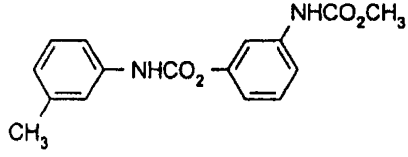
Краткая токсикологическая характеристика.

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 10250 мг/кг, для мышей > 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов > 4000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 7400 мг/м^3.

Предельно допустимая концентрация десмедифама в воздухе рабочей зоны – 1 мг/м^3, ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) в атмосферном воздухе - 0,01 мг/м^3.

Фенмедифам

Метил 3-(3-метилфенилкарбамоилокси)фенилкарбамат (IUPAC)



$C_{16}H_{16}N_2O_4$
Мол. масса 300,3

Бесцветное кристаллическое вещество. Температура плавления 143-144^{0}С. Давление паров при 25^{0}С: 1,33 х 10^{-6} мПа. Растворимость в органических растворителях при 20^{0}С (г/дм^3): ацетон, циклогексанон – 200; метанол – 50; хлороформ – 20; бензол – 2,5; дихлорметан – 16,7; этилацетат – 56,7; толуол – 0,97; гексан – 0,5. Растворимость в воде при 25^{0}С – 4,7 мг/ дм^3.

Фенмедифам стабилен в водной кислой среде, гидролизуется в нейтральной и щелочной средах: DT_{50} - 50 дней (pH 5); 14,5 часов (pH 7); 10 мин (pH 9).

Агрегатное состояние в воздухе - аэрозоль.

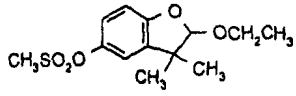
Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для мышей и крыс > 8000 мг/кг, для морских свинок > 4000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс > 2500 мг/кг, для кроликов >1000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 7000 мг/м^3.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) фенмедифама в атмосферном воздухе - 0,001 мг/м^3.

Этофумезат

(±)-2-этокси-2,3-дигидро-3,3-диметилбензофуран-5-ил метансульфонат (IUPAC)



$C_{13}H_{18}O_5S$
Мол. масса 286,3

Бесцветное кристаллическое вещество без запаха. Температура плавления 70-72^{0}С. Давление паров при 25^{0}С: 0,12 – 0,65 мПа. Растворимость в органических растворителях при 25^{0}С (г/дм^3): дихлорметан , ацетон, этилацетат – более 600; толуол – 300-600; метанол – 120-150; этанол – 60-75; гексан – 4,7. Растворимость в воде при 25^{0}С – 50 мг/ дм^3.

Этофумезат стабилен в водной среде при pH 7 – 9 При кислой среде разлагается; DT50 (pH 5,0) - 940 дней, с образованием гидроксианалога

Агрегатное состояние в воздухе – пары и аэрозоль.

Краткая токсикологическая характеристика

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс > 5000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для кроликов > 2000 мг/кг, острая ингаляционная токсичность (LK_{50}) для крыс > 3970 мг/м^3.

Ориентировочный безопасный уровень воздействия (ОБУВ) этофумезата в атмосферном воздухе - 0,02 мг/м^3.

1. Погрешность измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений с погрешностью (δ), не превышающей ± 25%, при доверительной вероятности 0,95.

2. Метод измерения

Измерения концентраций десмедифама, фенмедифама и этофумезата выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенной фазе с ультрафиолетовым детектором.

Концентрирование десмедифама, фенмедифама и этофумезата при определении их в одной пробе атмосферного воздуха осуществляют на

последовательно соединенные фильтры «синяя лента» и фильтры из пенополиуретана. С целью контроля в воздушной среде фенмедифама и десмедифама отбор проб проводится на бумажные фильтры «синяя лента». Для экстракции веществ с фильтров используют ацетон.

Нижний предел измерения каждого действующего вещества в анализируемом объеме пробы - 1нг.

Определению не мешают компоненты препаративной формы.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны (фирмы Perkin-Elmer, США)	Номер Госреестра 15945-97
Весы аналитические ВЛА-200	ГОСТ 24104
Пробоотборное устройство ОП-442ТЦ (ЗАО "ОПТЭК", г. Санкт-Петербург) или аспирационное устройство ЭА-1	ТУ 25-11-1414-78
Барометр-анероид М-67	ТУ 2504-1797-75
Термометр лабораторный шкальный ТЛ-2, цена деления 1^{0}С, пределы измерения 0 - 55^{0}С	ТУ 215-73Е
Колбы мерные вместимостью 100 и 1000 см^3	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1,0, 2,0, 5,0, 10 см^3	ГОСТ 29227
Пробирки градуированные вместимостью 5 или 10 см^3	ГОСТ 1770
Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 50 и 500 см^3	ГОСТ 1770

Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Реактивы

Десмедифам с содержанием действующего вещества не менее 99,5%, ВНИИХСЗР

Фенмедифам с содержанием действующего вещества не менее 99,0%, ВНИИХСЗР

Этофумезат с содержанием действующего

вещества не менее 99,6%, ВНИИХСЗР	
Метиловый спирт (метанол), хч	ГОСТ 6995
Вода бидистиллированная, деионизованная или перегнанная над $KMnO_4$	ГОСТ 6709
Кислота орто-фосфорная, ч., 85%	ГОСТ 6652
Ацетон	ГОСТ 2603
Ацетонитрил для хроматографии, хч	ТУ 6-09-4326-76
Изопропиловый спирт	ТУ 6-09-402-87

Допускается использование реактивов иных производителей с аналогичной или более высокой квалификацией.

3.3. Вспомогательные устройства, материалы

Бумажные фильтры "синяя лента", обеззоленные	ТУ 6-09-2678-77
Воронки конусные диаметром 30-37 и 60 мм	ГОСТ 25336
Воронка Бюхнера	
Груша резиновая	
Колба Бунзена	
Колбы грушевидные на шлифе вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 10394
Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 250 $см^3$	ГОСТ 9737
Мембранные фильтры капроновые, диаметром 47 мм	
Насос водоструйный	ГОСТ 10696
Пенополиуретан ППУ	ТУ 2254-153-046911277-95
Пробирки центрифужные	ГОСТ 25336
Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М или ротационный вакуумный испаритель В-169 фирмы Buchi, Швейцария	ТУ 25-11-917-74
Стаканы химические, вместимостью 100 $см^3$	ГОСТ 25336
Стекловата	
Стеклянные палочки	
Набор для фильтрации растворителей через мембрану	
Холодильник водяной, обратный	ГОСТ 9737
Хроматографическая колонка стальная, длиной 20 см,	

внутренним диаметром 2 мм, содержащая Spherisorb S5

ODS 2, зернением 5 мкм

Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа

вместимостью 50 – 100 мм^3

Допускается применение хроматографических колонок и другого оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

4. Требования безопасности

4.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими, легковоспламеняющимися веществами по ГОСТу 12.1005.

4.2. При выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТом 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускают специалистов, имеющих квалификацию не ниже лаборанта-исследователя, с опытом работы на жидкостном хроматографе.

6. Условия измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят при температуре воздуха (20±5)^{0}С и относительной влажности не более 80%.
- выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

7. Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений проводят очистку ацетона и ацетонитрила (при необходимости), подготовку подвижных фаз для ВЭЖХ, приготовление растворов, кондиционирование хроматографической колонки, установление градуировочных характеристик, отбор проб.

7.1. Очистка растворителей

7.1.1. Очистка ацетона

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и поташом (на 1 дм^3 ацетона 10 г $KMnO_4$ и 2 г K_2CO_3).

7.1.2. Очистка ацетонитрила

Ацетонитрил кипятят с обратным холодильником над пентоксидом фосфора не менее 1 часа, после чего перегоняют, непосредственно перед употреблением ацетонитрил повторно перегоняют над прокаленным карбонатом калия.

7.2. Подготовка подвижной фазы № 1 для ВЭЖХ (анализ десмедифама и фенмедифама)

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 470 см^3 воды, 1 см^3 ортофосфорной кислоты, 50 см^3 изопропилового спирта, добавляют 480 см^3 метанола, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.3. Подготовка подвижной фазы № 2 для ВЭЖХ (анализ этофумезата)

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 600 см^3 ацетонитрила, добавляют 600 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют и дегазируют.

7.4. Кондиционирование хроматографической колонки

Промывают колонку подвижной фазой № 1 (п. 7.2.) при скорости подачи растворителя 0,3 см^3/мин или подвижной фазой № 2 (п. 7.3.) при скорости подачи растворителя 0,4 см^3/мин до установления стабильной базовой линии.

7.5. Приготовление градуировочных растворов

7.5.1. Исходные растворы для градуировки (концентрация 1 мг/см^3) В мерные колбы вместимостью 100 см^3 раздельно помещают 0,1 г десмедифама (фенмедифама и этофумезата), доводят до метки метанолом (для десмедифама и фенмедифама) или ацетонитрилом (для этофумезата), тщательно перемешивают. Растворы хранится в холодильнике в течение 3-х месяцев.

Растворы № 1-5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного стандартного раствора.

7.5.2. Растворы № 1 для градуировки (концентрация 10 мкг/см^3) В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 1 см^3 исходного стандартного раствора с концентрацией 1 мг/см^3 (п. 7.5.1.), разбавляют до метки метанолом (для десмедифама и фенмедифама) или ацетонитрилом (для этофумезата). Растворы хранится в холодильнике в течение месяца.

7.5.3. Рабочие растворы № 2 –5 для градуировки (концентрация 0.05 - 0 5 мкг/см^3) В 4 мерные колбы вместимостью 100 см^3 помещают по 0.5, 1.0, 2.5 и 5.0 см^3 стандартного раствора №1 с концентрацией 10 мкг/см^3 (п. 7.5.2.), доводят до метки подвижной фазой, подготовленной по п. 7.2 (для десмедифама и фенмедифама) или 7.3. (для этофумезата), тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 - 5 с концентрацией 0.05, 0.1, 0.25 и 0.5 мкг/см^3, соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике не более 3-х суток.

7.6. Приготовление фильтров из пенополиуретана для отбора проб воздуха

Из пенополиуретана вырезают фильтр толщиной 2 –2,5 мм, диаметром 48-50 мм, соответствующим внутреннему диаметру фильтродержателя. Фильтр 3 раза промывают ацетоном порциями 25-30 см^3 на воронке Бюхнера, сушат с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, затем на воздухе при комнатной температуре.

7.7. Отбор проб

7.7.1. Атмосферный воздух

Отбор проб атмосферного воздуха проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 17.2 4.02-81 "ОПА. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ в воздухе населенных мест". Воздух со скоростью 2 - 5 дм^3/мин аспирируют через последовательно соединенные бумажный фильтр "синяя лента" и фильтр из пенополиуретана, помещенные в фильтродержатель. С целью контроля десмедифама и фенмедифама отбор проб осуществляют на бумажный фильтр «синяя лента».

Для измерения концентрации десмедифама на уровне 0,8 ОБУВ атмосферного воздуха необходимо отобрать 12,5 дм^3 воздуха, фенмедифама - 125 дм^3 воздуха, этофумезата - 6,25 дм^3 воздуха.

Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильной камере при +4 ^{0}С - 7 дней.

7 7.2. Воздух рабочей зоны

Отбор проб воздуха рабочей зоны проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 "ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны".

В течение 15 минут последовательно отбирают 3 пробы, для чего воздух аспирируют в течение 5 минут с объемным расходом 1-5 $дм^3$/мин через бумажный фильтр "синяя лента", помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации десмедифама на уровне 0,5 ПДК воздуха рабочей зоны необходимо отобрать 1 $дм^3$ воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в холодильной камере при $+4^0$С - 7 дней.

7.8. Установление градуировочных характеристик

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость площади пика (отн. единицы) от концентрации десмедифама, фенмедифама и этофумезата в растворе (мкг/$см^3$), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4-м растворам для градуировки №№ 2 - 5.

В инжектор хроматографа вводят по 20 $мм^3$ каждого градуировочного раствора и анализируют в условиях хроматографирования по п. 7.8.1 1 (для десмедифама и фенмедифама) или по п. 7.8.1.2. (для этофумезата) Осуществляют не менее 3-х параллельных измерений. Устанавливают площади пиков действующих веществ.

Градуировочные графики проверяют ежедневно по анализу 2-х стандартных растворов различной концентрации. Если значения площадей отличаются более, чем на 5 % от данных, заложенных в градуировочные характеристики, их строят заново, используя свежеприготовленные рабочие стандартные растворы.

7 8 1 Условия хроматографирования

Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

Жидкостной хроматограф с ультрафиолетовым детектором Perkin-Elmer (США)

Колонка стальная длиной 25 см, внутренним диаметром 2,1 мм, содержащая Spherisorb S5 ODS 2, зернением 5 мкм.

Температура колонки: комнатная

Объем вводимой пробы 20 $мм^3$

7 8 1.1. Определение десмедифама и фенмедифама

Подвижная фаза № 1: метанол – изопропиловый спирт - вода - орто-фосфорная кислота (48:5:47:0,1, по объему)

Скорость потока элюента: 0,3 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 240 нм

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу

Ориентировочное время выхода десмедифама: 11,4 – 11,7 мин

фенмедифама: 12,8 – 13,1 мин

Линейный диапазон детектирования: 1 - 10 нг

7.8.1.2. Определение этофумезата

Подвижная фаза № 2: ацетонитрил – вода (60:40, по объему)

Скорость потока элюента: 0,4 $см^3$/мин

Рабочая длина волны: 230 нм

Чувствительность: 0,005 ед. абсорбции на шкалу

Ориентировочное время выхода этофумезата: 4,7 - 4,9 мин

Линейный диапазон детектирования: 1 - 10 нг

Образцы, дающие пики большие, чем стандартные растворы с концентрацией мкг/$см^3$, разбавляют подвижной фазой, подготовленной по п. 7.3.

8. Выполнение измерений

Фильтры с отобранной пробой переносят в химический стакан вместимостью 100 $см^3$, заливают 10 $см^3$ ацетона, помещают на встряхиватель на 10 минут. Растворитель сливают, фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями ацетона объемом 10 $см^3$.

Объединенный экстракт упаривают в грушевидной колбе на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35^0С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы № 2 (подготовленной по п. 7.3.) и анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 7.8.1.1. (определение десмедифама и фенмедифама) или п. 7.8.1.2. (определение этофумезата). При определении десмедифама в воздухе рабочей зоны сухой остаток в колбе растворяют в 10 $см^3$ подвижной фазы № 2 и анализируют по п. 7.8.1.2

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков, с помощью градуировочных графиков определяют концентрации десмедифама, фенмедифама и этофумезата в хроматографируемом растворе.

Перед анализом опытной пробы проводят хроматографирование холостой (контрольной) пробы - экстракта неэкспонированных фильтров.

9. Обработка результатов измерений

Массовую концентрацию десмедифама (фенмедифама и этофумезата) в пробе воздуха (X, мг/м^3) рассчитывают по формуле:

$$X = C * W/V_{0(20)}, \text{ где}$$

C - концентрация действующего вещества в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику в соответствии с величиной площади хроматографического пика, мкг/см^3;

W - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

$V_{0(20)}$ - объем воздуха, отобранный для анализа, приведенный к нормальным условиям (давление 760 мм рт.ст., температура 0°С), при анализе атмосферного воздуха, или стандартным условиям (давление 760 м рт.ст., температура 20°С), при анализе воздуха рабочей зоны, дм^3.

$$V_0 = 0{,}357 * P * ut/(273+T),$$

$$V_{20} = 0{,}386 * P * ut/(273+T),$$

где T - температура воздуха при отборе пробы (по показаниям термометра), град.С,

P - атмосферное давление при отборе пробы, мм рт.ст.

u - расход воздуха при отборе пробы, дм^3/мин,

t - длительность отбора пробы, мин

Примечание: Идентификацию и расчет концентрации веществ в пробах могут быть проведены с помощью программ обработки хроматографических данных с применением компьютера, подключенного к жидкостному хроматографу.

10. Оформление результатов измерений

За результат анализа ($\bar{X}$) принимается среднее арифметическое результатов двух параллельных определений X_1 и X_2 ($\bar{X} = (X_1 + X_2)/2$), расхождение между которыми не превышает значений норматива оперативного контроля сходимости (d): $|X_1 - X_2| \leq d$.

$$d = d_{отн.} * \bar{X}/100, \text{ мг/м}^3,$$

где d -норматив оперативного контроля сходимости, мг/м^3,

$d_{отн.}$ -норматив оперативного контроля сходимости, % (равен 10%).

Результат количественного анализа представляют в виде:

- результат анализа $\bar{X}$ (мг/м^3), характеристика погрешности δ, %, P = 0,95 или $\bar{X} \pm \Delta$ мг/м^3, P = 0,95, где

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}, \text{ мг/м}^3$$

Результат измерений должен иметь тот же десятичный разряд, что и погрешность.

11. Контроль погрешности измерений

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с ГОСТ ИСО 5725–1-6. 2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

12. Разработчики

Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Волкова В.Н. (Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, г. Мытищи Московской обл.);

gost.e-ecolog.ru