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

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

18 марта 2005 г. Г.Г.ОНИЩЕНКО

МУК 4.1. 1849-05

Дата введения - 18.04.05

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств имидаклоприда в зеленой массе, зерне и соломе зерновых колосовых культур, зеленой массе, семенах и масле рапса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

1.ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

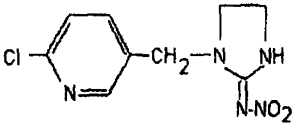
Фирма – производитель: Байер КропСайенс (Германия)

Торговое название: КОНФИДОР, ГАУЧО

Действующее вещество: имидаклоприд (NTN 33893)

1-(6-хлор-3-пиридилметил)-N-нитроимидазолидин-2-илиденамин (ИЮПАК)

1-[(6-хлор-3-пиридинил)метил]-N-нитро-2-имидазолидинимин (С.А.)



Эмпирическая формула: $C_9H_{10}ClN_5O_2$

Молекулярная масса: 255,7

Бесцветное кристаллическое вещество со слабым характерным запахом

Температура плавления: 144 ^{0}C

Давление паров при 20 ^{0}C: $4x10^{-7}$ мПа

Коэффициент распределения н-октанол/вода: K_{ow} log P = 0,57

Растворимость (г/л) при 20 ^{0}C: вода - 0,61, гексан - менее 0,1 , дихлорметан - 55, изопропанол - 1,2 , толуол - 0,68.

Вещество устойчиво к гидролизу при pH 5-11 ($T_{1/2}$ более 1 года).

Имидаклоприд относительно слабо передвигается по почвенному профилю и очень быстро разрушается в почве под действием света и микрофлоры. В растениях соединение постепенно метаболизируется.

Краткая токсикологическая характеристика:

Острая пероральная токсичность (LD_{50}) для крыс 450 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD_{50}) для крыс - более 5000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC_{50}) для крыс - 69 мг/м^3 воздуха (аэрозоль). Имидаклоприд не вызывает раздражения слизистой оболочки глаз и кожи у кроликов. LC_{50} для рыб 211 мг/л (96 час.).

Имидаклоприд практически нетоксичен для птиц, дождевых червей, водорослей, но опасен для пчел при прямом контакте.

Гигиенические нормативы для имидаклоприда в России: ПДК в почве – 0,04 мг/кг; ПДК в воде водоемов – 0,03 мг/дм^3; МДУ в картофеле – 0,05, огурцах и томатах – 0,1 мг/кг.

Область применения препарата:

Имидаклоприд - инсектицид нервно-паралитического действия, эффективно уничтожает листовую тлю, белокрылку, минеров, трипсов, колорадского жука, долгоносиков на хлопчатнике, рисе, картофеле, кукурузе, сахарной свекле, овощных культурах, цитрусовых, косточковых и семечковых плодовых в течение вегетационного периода. Вещество обладает системной активностью и может использоваться для обработки почвы и надземных органов растений.

Проходит регистрационные испытания в России и странах СНГ в виде препарата Гаучо КС (600 г имидаклоприда в 1 л препарата), предназначенного для протравливания семян и посадочного материала ряда культур, и препаратов Конфидор, ВРК (200 г/л) и Конфидор, ВДГ (700 г/кг), рекомендованных для обработки вегетирующих растений.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИМИДАКЛОПРИДА В ЗЕЛЕНОЙ МАССЕ, ЗЕРНЕ И СОЛОМЕ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ КУЛЬТУР, ЗЕЛЕНОЙ МАССЕ, СЕМЕНАХ И МАСЛЕ РАПСА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

2.1 Основные положения

2.1.1 Принцип метода

Метод основан на определении имидаклоприда с использованием обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым детектором после извлечения вещества из зерна водным ацетоном, из зелёной массы и соломы ацетоном, из семян рапса ацетонитрилом, а из масла водным метанолом, очистки экстрактов перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонках с силикагелем или флоризилом.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

2.1.2 Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых при возделывании зерновых колосовых культур и рапса.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Таблица

Метрологическая характеристика метода

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P=0,95, n=20					
	Предел обнаружения, мг/дм^3, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм^3, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, S%	Относит. стандарт. отклонен. DS, %	Доверительный интервал среднего, %
Зеленая масса	0,02	0,02-0,2	84,1	4,1	1,8	±3,8
Зерно	0,02	0,02-0,2	82,7	4,1	1,8	±3,8
Солома	0,1	0,1-1,0	81,8	3,5	1,6	±3,5
Зеленая масса рапса	0,02	0,02-0,2	83,3	4,0	1,8	±3,7
Семена рапса	0,02	0,02-0,2	84,1	5,2	2,3	± 4,8
Масло	0,02	0,02-0,2	82,3	4,6	2,0	± 4,2

2.2 Реактивы, растворы, материалы

Имидаклоприд с содержанием д.в. 99,6% (Байер, Германия)

Ацетон, ГОСТ 2603-79

Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3534-82

Вода бидистиллированная, ГОСТ 7602-72

Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78

Калия перманганат, ГОСТ 20490-75

Кальция хлорид, хч., ГОСТ 4161-77

Калий углекислый, хч., ГОСТ 4221-76

Кислота серная, хч., ГОСТ 4204-77

Натрий двууглекислый, ГОСТ 83-79

Натрия гидроксид, хч., ГОСТ 4328-77

Натрия сульфат безводный, хч., ГОСТ 4166-76

Натрия хлорид, ГОСТ 4233-77

Спирт метиловый, хч, ГОСТ 6995-77

Фосфора пентоксид, ч., МРТУ 6-09-5759-69

Этилацетат, ГОСТ 22300-76

Элюент N1 для колоночной хроматографии: смесь гексан-этилацетат (4:6, по объему)

Элюент N2 для колоночной хроматографии: смесь гексан-этилацетат (2:8, по объему)

Подвижная фаза для ВЭЖХ: смесь ацетонитрил-вода (25:75, по объему)

Силикагель для адсорбционной хроматографии (Вельм, Германия) 1 степени активности или силикагель КСК (60-100 меш)

Флоризил (100 – 120 меш) для адсорбционной хроматографии (Вариан Аэрограф, США) 1 степени активности

Вата хлопчатобумажная

Стекловата

Целит 535 (2-15 мкм) /Серва, Германия/ или аналогичный

Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 6-09-1678

2.3 Приборы, аппаратура, посуда

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором фирмы Altex (США) или аналогичный

Хроматографическая колонка стальная, длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, заполненная Диасорбом 130-С10CN или Диасорбом 130-С16 Т (ЗАО БиоХимМак, РФ; 119899, Москва, Ленинские горы)

Шприц для ввода образцов в жидкостной хроматограф

Весы аналитические типа ВЛР-200, ГОСТ 19401-74

Водоструйный насос, ГОСТ 10696-75

Встряхиватель механический, ТУ 64-1-1081-83

Мельница электрическая лабораторная, ТУ 46-22-236-79 или аналогичная

Ротационный испаритель тип ИР-1М, ТУ 25-11-917-76

Сито с диаметром отверстий 1 мм

Баня водяная, ТУ 46-22-603-75

Воронка Бюхнера, ГОСТ 0147-73

Воронки делительные вместимостью 100, 250 мл, ГОСТ 25336-82

Воронки для фильтрования, стеклянные, ГОСТ 8613-75

Колба Бунзена, ГОСТ 5614-75

Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 100 и 250 мл, ГОСТ 9737-70

Колбы конические с притертыми пробками вместимостью 250 мл, ГОСТ 25336-82

Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 и 1000 мл, ГОСТ 1770-74

Колбы грушевидные вместимостью 100 и 250 мл, ГОСТ 25336-82

Пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл, ГОСТ 20292-74Е

Пробирки градуированные с притертыми пробками вместимостью 5 и 10 мл, ГОСТ 10515-75

Цилиндры мерные вместимостью 50, 100, 250 и 500 мл, ГОСТ 1770-74

2.4 Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микрсколичеств пестицидов (N 2051-79 от 21.08.79 г.).

Отобранные пробы зеленой массы зерновых злаков и рапса хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре в холодильнике не более одного дня; для длительного хранения пробы растительного материала замораживают и хранят до анализа в морозильной камере при температуре -18^{0}С. Пробы зерна, семян и соломы высушивают до стандартной влажности и хранят в холодной комнате при температуре 4^{0}С.

Перед анализом зерно, семена и солому размалывают на мельнице, а зеленую массу измельчают ножницами.

2.5 Подготовка к определению

2.5.1 Подготовка и очистка реактивов и растворителей

Органические растворители перед началом работы очищают, сушат и перегоняют в соответствии с типовыми методиками. Гексан встряхивают с небольшими порциями концентрированной серной кислоты до тех пор, пока свежая порция кислоты не перестанет окрашиваться. Затем гексан последовательно промывают водой, 2%-ным раствором гидроксида натрия и снова водой, после чего его сушат над гидроксидом натрия и перегоняют.

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

Ацетонитрил сушат над пентаксидом фосфора и перегоняют; отогнанный растворитель повторно перегоняют над углекислым калием.

Этилацетат промывают равным объемом 5%-ного раствора двууглекислого натрия, сушат над хлористым кальцием и перегоняют.

2.5.2 Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ

Отмеряют 250 мл ацетонитрила, переносят в колбу на 1000 мл, добавляют 750 мл бидистиллированной воды, перемешивают, фильтруют, дегазируют.

2.5.3 Кондиционирование колонки

Промывают колонку для ВЭЖХ смесью ацетонитрил-вода (25:75, по объему) в течение 30 минут при скорости подачи растворителя 0,6 мл/мин. Включают детектор и ждут стабилизации базовой линии (5-15 минут).

2.5.4 Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор имидаклоприда с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 0,010 г препарата, содержащего 99,6% д.в., в ацетонитриле в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят в холодильнике при температуре -12 ^{0}С не более месяца.

Рабочие стандартные растворы с концентрациями 0,04 , 0,08 , 0,20 и 0,40 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора имидаклоприда соответствующим последовательным разбавлением подвижной фазой для ВЭЖХ (п. 2.5.2). Рабочие растворы хранят в холодильнике не более трёх дней.

При изучении полноты открывания имидаклоприда в модельных матрицах используются ацетонитрильные растворы вещества.

2.5.5 Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика в инжектор хроматографа вводят по 50 мкл рабочего стандартного раствора имидаклоприда с концентрациями 0,04 , 0,08 , 0,20 и 0,40 мкг/мл. Осуществляют не менее 5 параллельных измерений и находят среднее значение высоты хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации имидаклоприда в растворе в мкг/мл (рис.1).

2.5.6 Подготовка колонок с силикагелем и флоризилом для очистки экстракта

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 1,8 см вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 5 г сорбента в 10 мл смеси гексан-этилацетат (2:8, по объему). Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонки последовательно промывают 40 мл смеси гексан-этилацетат (2:8, по объему) и 30 мл смеси гексан-этилацетат (4:6, по объему) со скоростью 1-2 капли в секунду, после чего они готовы к работе.

2.5.7 Проверка хроматографического поведения имидаклоприда на колонках с силикагелем и флоризилом.

В круглодонную колбу емкостью 10 мл отбирают 0,1 мл стандартного раствора имидаклоприда с концентрацией 10 мкг/мл. Отдувают растворитель током теплого воздуха, остаток растворяют в 3 мл элюента N1 (гексан-этилацетат, 4:6) и наносят на колонку. Промывают колонку 50 мл элюента N1, затем 70 мл элюента N2 (гексан-этилацетат, 2:8) со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбирают фракции по 5 мл каждая, упаривают, остаток растворяют в 2 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 2.5.2) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.7.

Фракции, содержащие имидаклоприд, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 4 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 2.7. Рассчитывают содержание имидаклоприда в элюате, определяют полноту вымывания вещества из колонки и необходимый для очистки экстракта объем элюента.

ПРИМЕЧАНИЕ: Профиль вымывания имидаклоприда может меняться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

2.6 Описание определения

2.6.1 Экстракция имидаклоприда

2.6.1.1 Зеленая масса, солома. К навеске измельченной зеленой массы (25 г) или соломы (5 г) добавляют 125 мл ацетона и суспензию перемешивают в течение 30 минут на аппарате для встряхивания. К суспензии добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу емкостью 250 мл. Растительный остаток повторно экстрагируют 50 мл ацетона при встряхивании в течение 30 минут и суспензию фильтруют. Из объединённого ацетонового экстракта отбирают аликвоту раствора, эквивалентную 5 г зеленой массы колосовых культур, 2,5 г зелёной массы рапса или 1 г соломы, добавляют к ней 20 мл воды и дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 2.6.2 - 2.6.4.

2.6.1.2 Зерно. К навеске (10 г) размолотого зерна добавляют 125 мл 75%-ного водного ацетона и суспензию перемешивают в течение 30 минут на аппарате для встряхивания. К суспензии добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу емкостью 250 мл. Растительный остаток повторно экстрагируют 50 мл 75%-ного водного ацетона при встряхивании в течение 30 минут и суспензию фильтруют. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту раствора, эквивалентную 5 г зерна. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 2.6.2 и 2.6.3.

2.6.1.3 Семена рапса. К навеске (10 г) размолотых семян добавляют 125 мл ацетонитрила и суспензию перемешивают в течение 30 минут на аппарате для встряхивания. К суспензии добавляют 2 г целита и фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр в колбу емкостью 250 мл. Растительный остаток повторно экстрагируют 50 мл ацетонитрила при встряхивании в течение 30 минут и суспензию фильтруют. Из объединенного экстракта отбирают аликвоту

раствора, эквивалентную 2,5 г семян, добавляют к ней 20 мл воды и дальнейшую очистку проводят по пп. 2.6.2 и 2.6.4.

2.6.1.4 *Масло.* Навеску (5 г) масла помещают в коническую колбу емкостью 100 мл, приливают 50 мл 80%-ного водного раствора метанола и эмульсию энергично перемешивают в течение 30 минут на аппарате для встряхивания. Эмульсию центрифугируют 5 минут при 6000 g и отделяют метанольную фазу. Масло повторно экстрагируют 30 мл 80%-ного водного раствора метанола и отделяют метанольную фазу центрифугированием. Объединенный метанольный экстракт пропускают через хлопчатобумажную вату и из фильтрата отбирают аликвоту , эквивалентную 2,5 г масла. Дальнейшую очистку экстракта проводят по пп. 2.6.2. и 2.6.4.

2.6.2 Очистка экстракта

Отобранные аликвоты растительных экстрактов (из п.2.6.1.1 – 2.6.1.4) упаривают до водного остатка (около 10 мл) на роторном вакуумном испарителе при температуре 40^0С. Водный остаток переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл, приливают 20 мл насыщенного раствора NaCl, 10 мл гексана и смесь встряхивают в течение 1 минуты. Органический слой отбрасывают. Обработку водной фазы гексаном повторяют еще раз. Затем водную фазу трижды обрабатывают дихлорметаном (30+30+20 мл) при встряхивании. Объединенный дихлорметановый экстракт промывают в делительной воронке 20 мл 0,05 М раствора K_2CO_3, а затем пропускают через слой безводного сульфата натрия и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40^0С. Дальнейшую очистку экстрактов растительных образцов колосовых культур проводят по п.2.6.3.

Для дополнительной очистки растительных образцов рапса полученные сухие остатки зелёной массы, семян и масла растворяют в 30 мл ацетонитрила. Растворы переносят в делительную воронку ёмкостью 100 мл, приливают 10 мл гексана и смесь встряхивают в течение 1 минуты. Гексан отбрасывают, а ацетонитрильные экстракты упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40^0С. Дальнейшую очистку экстрактов образцов рапса проводят по п.2.6.4.

2.6.3 Очистка экстрактов зелёной массы, зерна и соломы колосовых культур на колонке с силикагелем

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.2.6.2 растительных образцов колосовых культур, количественно переносят тремя 1-мл порциями смеси гексан-этилацетат (4:6, по объему) в подготовленную хроматографическую колонку (п.2.5.6). Колонку промывают 50 мл элюента № 1, которые отбрасывают. Имидаклоприд элюируют 70 мл элюента № 2 и собирают элюат в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40^{0}С. Сухой остаток растворяют в 2,5 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п.2.5.2) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.7.

2.6.4 Очистка экстрактов зелёной массы, семян и масла рапса на колонке с флоризилом.

Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п.2.6.2 растительных образцов рапса, количественно переносят тремя 1-мл порциями смеси гексан-этилацетат (4:6, по объему) в подготовленную хроматографическую колонку (п.2.5.6). Колонку промывают 50 мл элюента № 1, которые отбрасывают. Имидаклоприд элюируют 55 мл элюента № 2, отбрасывая первые 10 мл элюата и собирая последующие 45 мл в грушевидную колбу емкостью 100 мл. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40^{0}С. Сухой остаток растворяют в 1,25 мл подвижной фазы для ВЭЖХ (п.2.5.2) и анализируют на содержание имидаклоприда по п. 2.7.

2.7 Условия хроматографирования

Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором Altex (США)

Колонка стальная длиной 15 см, внутренним диаметром 4 мм, содержащая Диасорб 130-С10 CN (7 мкм)

Температура колонки: комнатная

Подвижная фаза: ацетонитрил-вода (25:75, по объему)

Скорость потока элюента: 0,6 мл/мин

Рабочая длина волны: 268 нм

Чувствительность: 0,02 ед. абсорбции на шкалу

Объем вводимой пробы: 50 мкл

Время выхода имидаклоприда: 5 мин.36 сек.

Линейный диапазон детектирования: 2 - 20 нг

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,4 мкг/мл, разбавляют подвижной фазой для ВЭЖХ.

Альтернативная неподвижная фаза: Диасорб 130-С16 Т (5 мкм)

Подвижная фаза: метанол-вода (50:50, по объему)

Скорость потока элюента: 0,7 мл/мин

Время выхода имидаклоприда: 5 мин. 20 сек.

2.8 Обработка результатов анализа

Содержание имидаклоприда рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \times A \times V}{H_0 \times m}, \text{ где}$$

X - содержание имидаклоприда в пробе, мг/кг;

H_1 - высота пика образца, мм;

H_0 - высота пика стандарта, мм;

A - концентрация стандартного раствора имидаклоприда, мкг/мл;

V - объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

m - масса анализируемой части образца, г (для зеленой массы и зерна колосовых культур – 5 г, соломы – 1 г; для зелёной массы, семян и масла рапса – 2,5 г).

3. ТРЕБОВАНИЯ ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, электронагревательными приборами.

4. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

Оперативный контроль погрешности и воспроизводимости измерений осуществляется в соответствии с рекомендациями МИ 2335-95. ГСИ. «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа».

5. РАЗРАБОТЧИКИ

Талалакина Т.Н., научн. сотр., Назарова Т.А., научн. сотр., канд. биол. наук ; Микитюк О.Д., ст. научн. сотр., канд. биол. наук, Макеев А.М., зав. лабораторией, канд. биол. наук.

ВНИИ фитопатологии, 143050 Московская обл., п/о Большие Вяземы, тел. 592-92-20

Подпись руки Талалакиной Т.Н., Назаровой Т.А., Микитюка О.Д., Макеева А.М. заверяю

Зав. канцелярией ВНИИФ

(Банюлис Г.Г.)