



Определение остаточных количеств действующих веществ пестицидов в образце винного сорта винограда с использованием инновационного алгоритма расчёта количественного анализа данных «**Flexible SIM**» и квадрупольного масс-детектора «**Maestro- α MS**».

*Колунтаев Д. А. к. б. н., научный сотрудник
отдела исследований и разработок,
ООО Интерлаб, Россия, Москва*

Ключевые слова

Газовая хромато-масс-спектрометрия, пестициды, винный виноград, iDwell® Time, SIM Wizard®, Flexible SIM, QuEChERS

Резюме

Продемонстрирована возможность нового алгоритма количественного определения остаточных количеств действующих веществ пестицидов в образцах винного винограда с помощью моноквадрупольного масс-детектора Maestro- α MS.

Введение

Проблема анализа следовых количеств пестицидов, как и других органических соединений, зачастую связана с их очень низкими уровнями концентраций в образцах, широчайшим разнообразием химических структур и жёсткими нормативами их содержания, а также сложностью матрицы природного образца.

Так называемые «*матричные эффекты*» выражаются помехами интерферирующих компонентов матрицы для корректной детекции целевых веществ, и часто такие эффекты требуют применения только высокоселективных режимов масс-спектрометрического сканирования. Подобные интерферирующие компоненты могут регистрироваться на одинаковых временах удерживания с искомыми аналитами и тем самым создавать дополнительные проблемы для их интегрирования и интерпретирования. В частности: а) в виде изменения в хроматографии, что проявляется в изменении формы пика или времени его элюирования; б) в форме конкурирующей ионизации, то есть процесса, в результате которого чувствительность метода снижается или ложно увеличивается вследствие влияния матрицы на степень ионизации ионов, а также вследствие образования фрагментных ионов с подобными массовыми значениями.

Иллюстрацией искажения интегрирования целевых (структурно-характеристичных) ионов подобными интерферирующими компонентами, может служить экспериментальные данные, полученные в ходе анализа остаточных количеств пестицидов в экстракте виноградного винограда. В частности, на рисунке 1 представлена проблема матричного влияния при детектировании целевого иона действующего вещества эфира эндосульфана. На рисунке представлено перекрытие интерферирующим компонентом иона с массой 240,9 Да, ранее выбранного, как специфического иона целевого соединения.

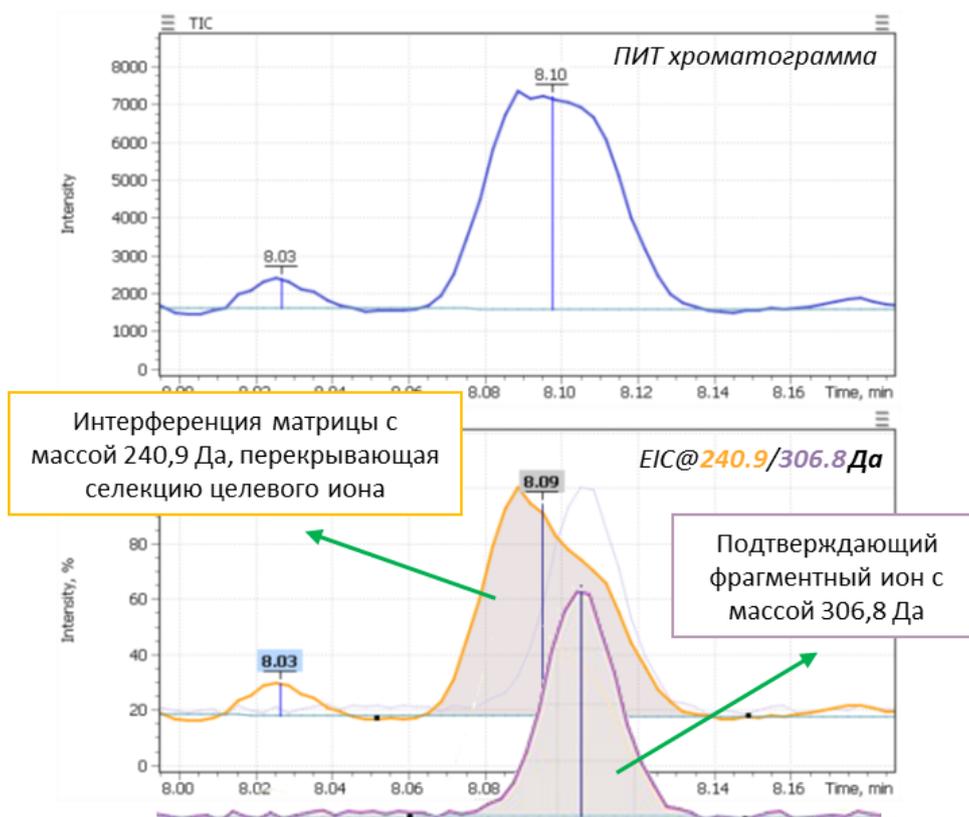
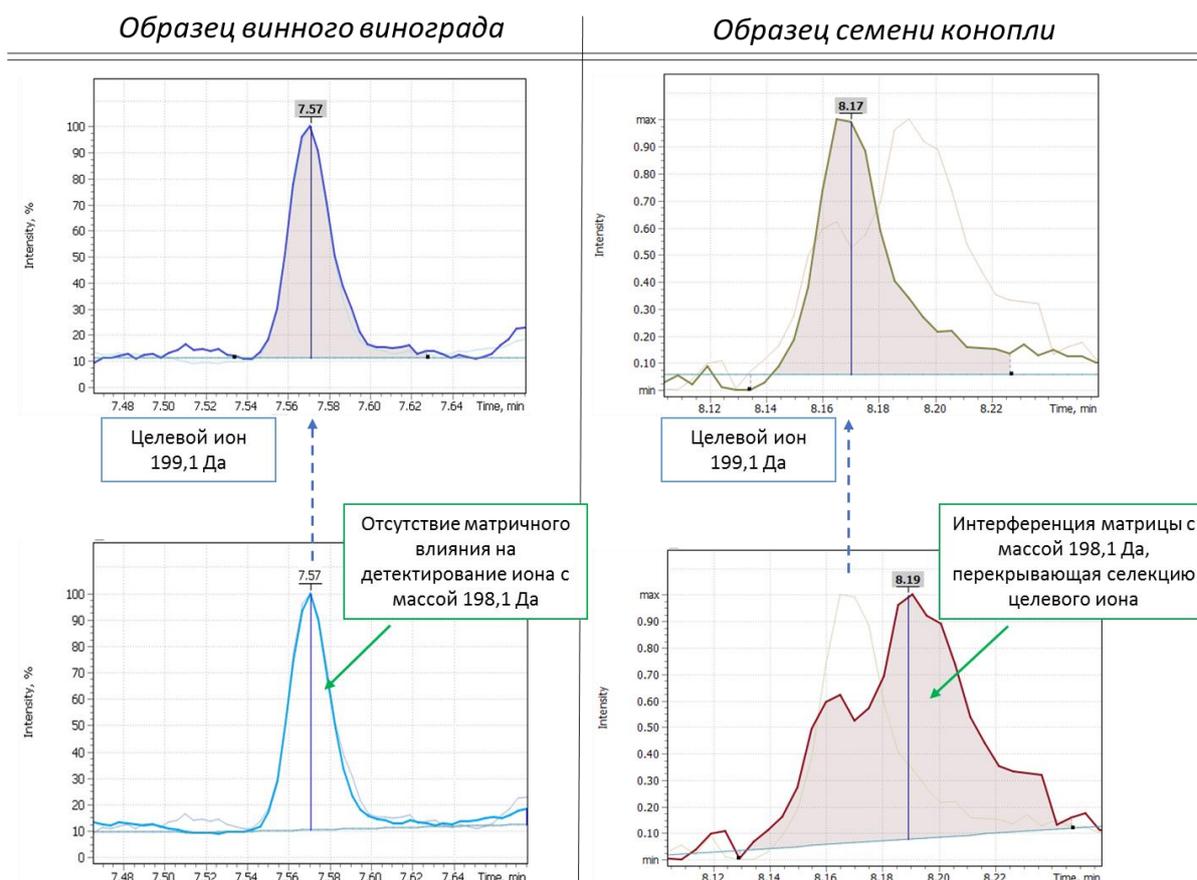


Рис. 1. Хроматограмма полного ионного тока экстракта винограда (сверху) и масс-хроматограмма выделенных ионных токов структурно-характеристичных фрагментов действующего вещества эфира эндосульфана (снизу).

Многообразие подобных интерферирующих соединений напрямую зависит от степени сложности образца, соответственно их частота и интенсивность способны сформировать в спектре «спектральную матрицу», которая, в свою очередь, и приводит к искажению уровня сигнала целевого аналита на квадрупольных системах даже в режиме селекции выделенных ионов.

Такая проблема не позволяет эксперту использовать один и тот же набор целевых ионов для всех типов матриц, в частности, выбор одних ионов может быть корректен для одного вида матриц, но привести к низкому качеству результатов в другой из-за её отличающейся природы. Подобный эффект представлен на рисунке 2, где для анализа остаточных количеств действующего вещества пириметанила в матрице винного винограда и семян конопли использовали один и тот же набор характеристичных ионов. Как вы видите на рисунке, матрица семян конопли более сложная в сравнении с образцом винного винограда и не позволяет использовать единый набор ионов для одного вещества. Решение подобной проблемы в настоящее время требует ежедневной и многостадийной методической настройки аналитического метода, а также выполнения дополнительных вводов проб, как стандартных смесей пестицидов, так и чистых матричных экстрактов.

Рис. 2. Сравнение детектирования действующего вещества пириметанил в образцах винного винограда и образцах семян конопли (10 пг/мкл (ppm)).



Целью данной работы является представление работы алгоритма пост-процессинга данных “Flexible SIM” для минимизации интерферирующих влияний в экстрактах сложных матриц за счёт изменения расчётных ионов. При этом алгоритм отвечает всем принципам, лежащим в основе классических критериев и стандартов, применяемых в области

аналитического скрининга [3, 4, 5, 6], при этом исключает дополнительные действия повторного ввода пробы или построения дополнительных калибровочных кривых.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

Все используемые в исследовании реагенты имели классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты действующих веществ пестицидов были приобретены в компаниях Restek (США) и Supelco (США), в частности: GC Multiresidue Pesticide Std#5 – OPP (Restek 32563); GC Multiresidue Pesticide Std#2 – OCP (Restek 32564); GC Multiresidue Pesticide Std#6 – SPP (Restek 32568); внутренний стандарт 4-Chlorodiphenyl ether, (Restek 31620).

В качестве объекта исследования был выбран модельный образец экстракта винограда, подготовленный по методу QuEChERS [2]. В экстракт заранее выполнили внесение смеси 75 действующих веществ пестицидов с различными уровнями концентраций для корректного вычисления расчётного значения предела обнаружения детектора для каждого вещества.

Выбор объекта исследования был обусловлен высокой активностью использования пестицидов на культуре винограда, жёсткими нормативами их контроля, а также большим разнообразием аналитических методов анализа. Поскольку ассортимент пестицидов сегодня достаточно велик, то наиболее эффективный подход к их контролю обусловлен применением мультикомпонентных методов сканирования, что позволяет детектировать до 100 – 200 и более наименований исследуемых соединений одновременно. Стоит заметить, что для квадрупольных систем подобное число аналитов (селектируемых их ионов) в методе неминуемо приводит к снижению его чувствительности, что ещё более повышает требования к контролю надёжности выбора оптимальных ионов сканирования и надёжности получаемых результатов в ходе анализа их следовых концентраций.

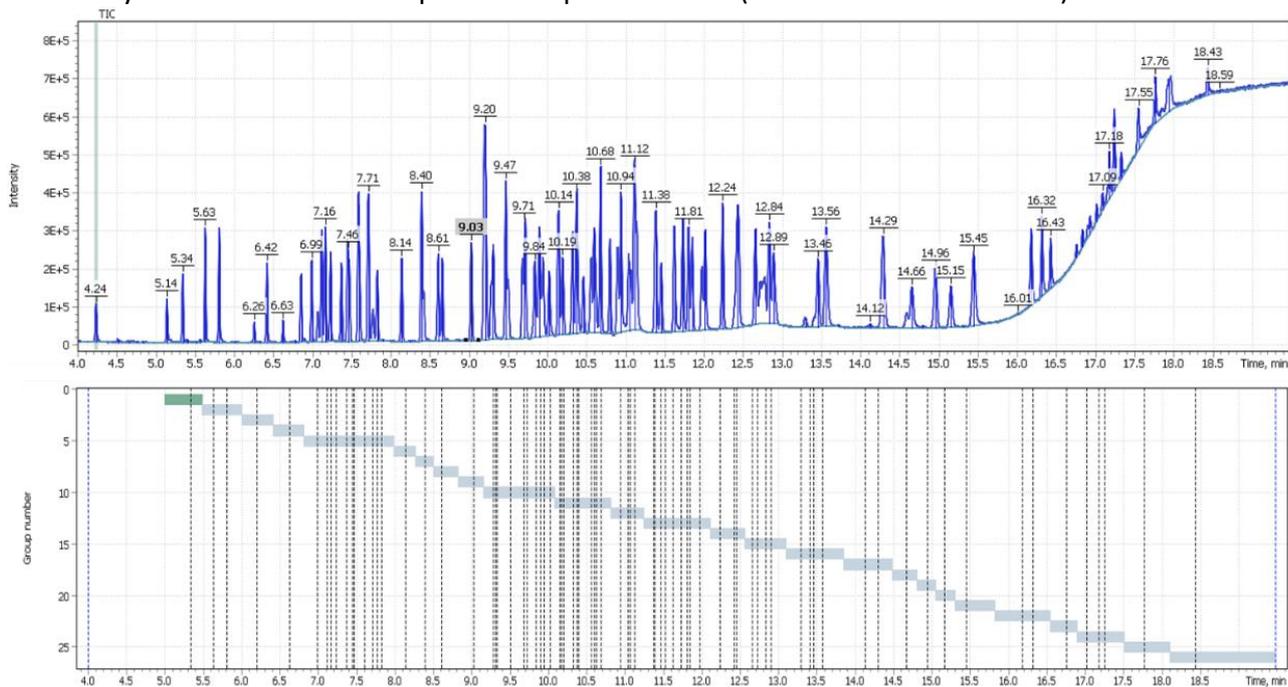
Табл. 1. Параметры инструментального метода.

Инструментарий	
ГХ-МС система	Maestro-αMS
Испаритель	Split/Splitless (liner: Restek 4 mm x 6.3 x 78.5)
Хроматографическая колонка	Rtx-5MS (30m x 0.25mm; 250um)
Экспериментальные настройки	
Объём пробы	1 мкл
Соотношение деления пробы	Splitless; Purge 50 мл/мин после 0,7 мин
t° испарителя	250°C
Режим тока газ-носителя	Режим Constant flow
Градиент t° печи	70°C в течение 0,7 мин; 30,0°C/мин до 180°C, удержание 0,0 мин; 9,0°C/мин до 250°C, удержание 3,0 мин; 30,0°C/мин до 305°C, удержание 2,5 мин;
Тип и скорость газа-носителя	(He) 1,1 мл/мин
t° интерфейса МС	270°C
Условия детектирования	
Источник ионизации	ЭИ (EI)
t° источника	240°C

Задержка растворителя	4,0 мин (240 сек)
Режимы сканирования	SCAN 50 – 450 Da / SIM (см. ниже)
Параметр Dwell Time	Режим iDwell® Time

Разработку инструментального метода, а также его апробацию выполняли в два этапа. В частности, на первом этапе использовали режим сканирования (SCAN) смеси чистых стандартов пестицидов, растворённых в ацетонитриле с концентрацией 5 ppm. Целью данного этапа является получение чистых масс-спектров соединений и обработка данных алгоритмом автоматического построения SIM эксперимента *SIM Wizard*®. Подобный алгоритм представляет собой комплекс процедур автоматического интегрирования полученного профиля SCAN-эксперимента с последующей процедурой выделения присутствующих целевых компонентов в профиле и формированием таблицы спектров всех выделенных компонентов. На втором этапе выполнялось автоматическое определение перечня целевых ионов для каждого действующего вещества пестицида и оптимальное сегментирование хроматограммы для SIM-эксперимента за счёт алгоритма iDwell®Time. Стоит заметить, что весь подобный процесс построения SIM эксперимента полностью автоматизирован и занимает время менее одной минуты от момента процедуры интегрирования хроматограммы до получения рекомендованного SIM метода инновационным алгоритмом программного обеспечения.

Рис. 3. Разделение хроматографического профиля на временные сегменты для высокочувствительного сканирования в режиме SIM (75 компонентов + ISTD).



Пробоподготовка

Экстракцию искоемых соединений из пробы винного винограда осуществляли с помощью метода QuEChERS, основанного на извлечении растворителем действующих веществ пестицидов из гомогенизированного образца винограда с одновременной очисткой экстракта смесью солей и последующей идентификацией, а также количественным

определением с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии. Времена элюирования искоемых пиков целевых ионов и параметры их сканирования, представлена в таблице 2.

Табл. 2. Времена элюирования искоемых пиков и параметры их сканирования

№	Действующее вещество	Quant	Qual	RT	№	Действующее вещество	Quant	Qual	RT
1	Etridiazole	184.9	211	5.342	39	cis-Nonachlor	408.8	410.8	10.68
2	Chloroneb	208	141	5.63	40	2,4'-DDE	317.9	246	10.94
3	Pentachlorobenzene	249.8	247.8	5.81	41	Dieldrin	276.9	262.9	11.04
4	alpha-Lindane	218.9	180.9	6.99	42	Myclobutanil	179	181	11.07
5	Hexachlorobenzene	283.7	284.7	7.12	43	4,4'-DDD	235	199.1	11.12
6	Pentachloroanisole	264.8	279.9	7.16	44	Ethylan (Perthane)	223.1	224.1	11.37
7	Atrazine	200.1	215.1	7.23	45	Chlorfenapyr	58.9	247.1	11.39
8	HCH Isomer II	217	180.9	7.37	46	Endrin	262.9	260.9	11.45
9	Terbutylazine	214.1	229.1	7.45	47	Endosulfan II	228.9	194.9	11.62
10	HCH Isomer III	218.9	180.9	7.47	48	2,4'-DDD	234.9	165	11.73
11	Pyrimethanil	198	199	7.6	49	4,4'-DDT	234.9	237	11.8
12	Tefluthrin	176.9	197	7.72	50	trans-Nonachlor	408.8	410.8	11.85
13	Terbacil	161	117	7.77	51	Endrin aldehyde	344.8	249.8	11.97
14	gamma-BHC (Lindane)	217	180.9	7.83	52	4,4'-Methoxychlor olefin	307.9	238.1	12.24
15	Endosulfan ether	306.8	240.9	8.14	53	Endosulfan sulfate	423.9	276.1	12.42
16	Vinclozolin	335	212	8.39	54	2,4'-DDT	235	237	12.45
17	Heptachlor	336.8	271.8	8.6	55	2,4'-Methoxychlor	227.1	121	12.66
18	Pentachlorothioanisole	295.8	245.9	9.03	56	Tebuconazole	250	125	12.72
19	Triadimefon	56.9	181	9.28	57	Resmethrin	123	143.1	12.89
20	Dicofol	138.9	251	9.29	58	Iprodione	313.9	315.9	13.29
21	4,4'-Dichlorobenzophenone	250	139	9.32	59	Tetramethrin	164	123	13.41
22	MGK-264	164	112.1	9.5	60	Endrin ketone	318.9	316.9	13.46
23	Cyprodinil	224.1	225.1	9.68	61	Bifenthrin	181.1	165	13.56
24	Isodrin	194.9	363.9	9.72	62	Phenothrin (cis & trans)	183	123.1	14.12
25	Penconazol	158.9	248.1	9.84	63	Tetradifon	183	123	14.29
26	Heptachlor epoxide (Isomer B)	352.8	354.8	9.9	64	Pyriproxyfen	136	226.1	14.66
27	Fipronil	366.9	368.9	9.94	65	Mirex	271.8	273.8	14.96
28	Captan	264	299	10.02	66	lambda-Cyhalothrin	181	197.1	15.15
29	Triadimenol	168.1	128	10.02	67	Fenarimol	139	251	15.45
30	Procymidone	284.9	282.9	10.13	68	cis-Permethrin	183	162.9	16.18
31	Triflumizole	278	206	10.15	69	trans-Permethrin	183	162.9	16.32
32	Chlorbenside	267.9	124.9	10.2	70	Cyfluthrin	199	226	16.76
33	cis-Chlordane	374.8	372.8	10.32	71	Cypermethrin	181	162.9	17.02
34	4,4'-DDE	245.9	317.9	10.38	72	Flucythrinate	199.1	157	17.18
35	Paclobutrazol	236	125	10.39	73	Etofenprox	162.9	376.1	17.24
36	Endosulfan I	240.9	276.8	10.59	74	Fenvalerate	419.1	125	17.76
37	trans-Chlordane	370.8	374.8	10.6	75	Delthametrin	171.9	181	18.43
38	Flutriafol	164	123	10.62	76	ISTD	204	141	6.18

Алгоритм пост-обработки данных Flexible SIM.

В результате эксперимента, алгоритм Flexible SIM позволил эксперту выбрать оптимальный главный ион для выполнения количественного анализа уже после сбора масс-спектрометрических данных. В частности, алгоритм автоматически построил калибровочные зависимости для всех ионов, которые указаны в методе. Таким образом, эксперт получил возможность переключения с одного иона на другой в контексте полученных данных и самостоятельно выбрать оптимальный ион для того или иного типа матрицы. На рисунке 4 и 5 представлена матричная калибровка соединений эндрин и фенотрин, где наблюдается искажение данных за счёт матричных помех, при этом использование ранее указанного подтверждающего иона теперь в роли главного (количественного иона) является оптимальным решением для проведения анализа.

Рис. 4. Матричная калибровка соединения эндрин, искажение детектирования иона с массой 261 Да за счёт матричных помех.

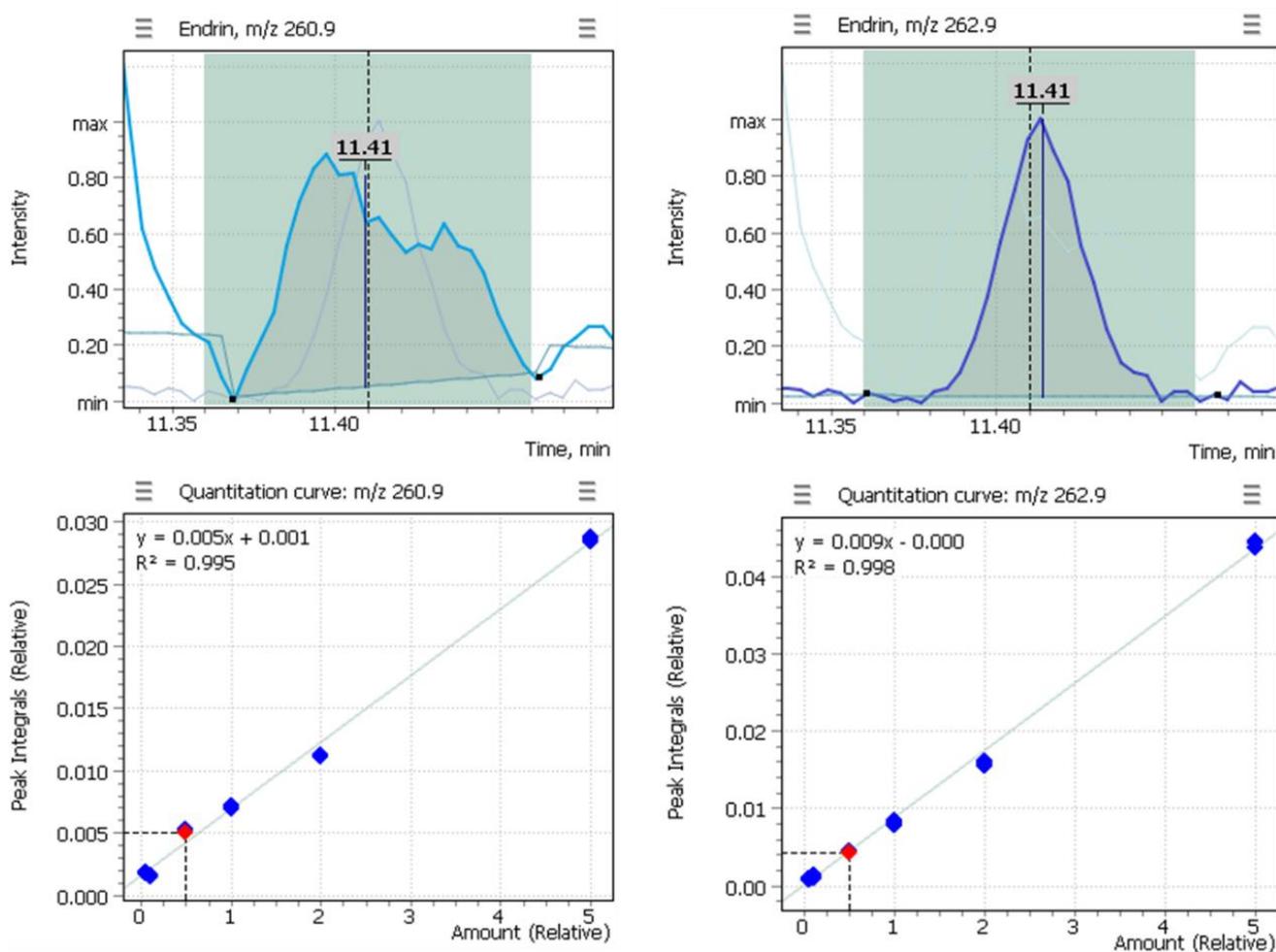
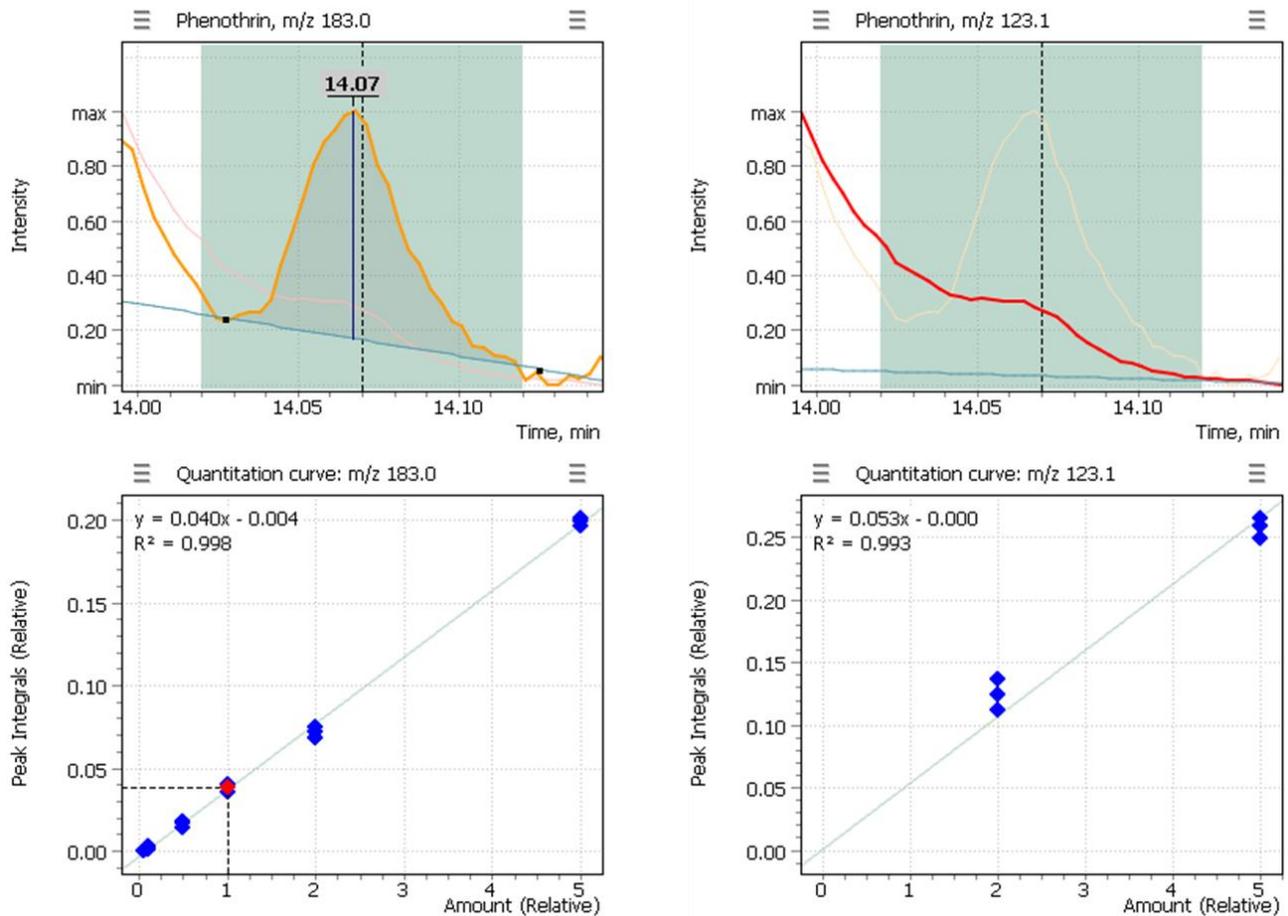


Рис. 5. Матричная калибровка соединения фенотрин, искажение детектирования иона с массой 123,1 Да за счёт матричных помех.



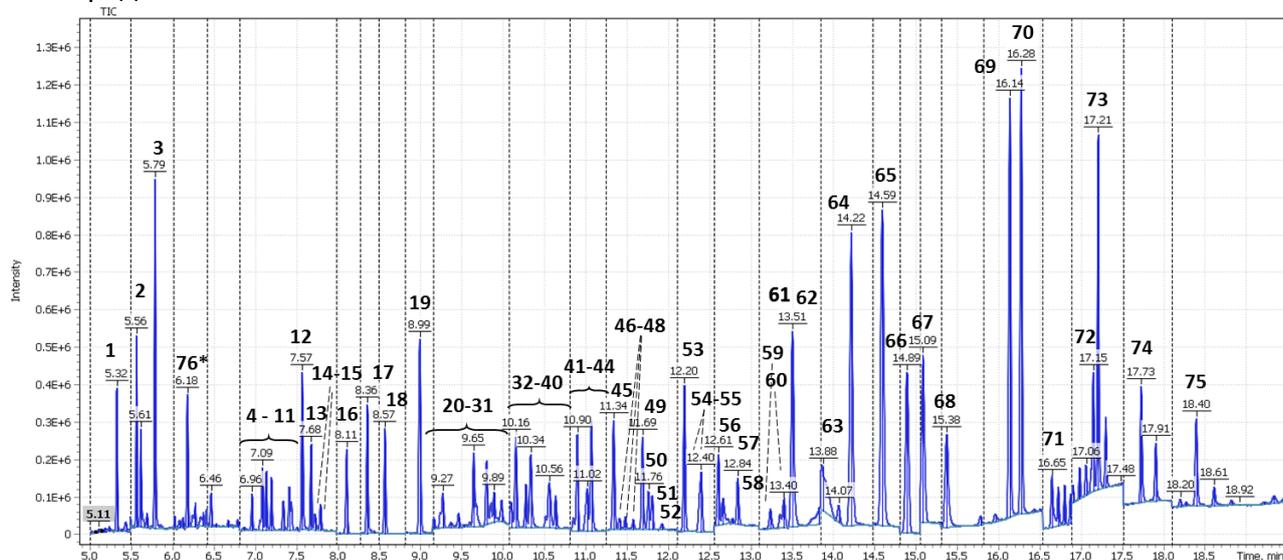
Согласно литературным данным, предложенный алгоритм не противоречит большинству критериев аналитического контроля и может быть рекомендован для большинства скрининговых лабораторий. В частности, в директиве SANCO [5] указано, что *выбор ионов для идентификации может изменяться в зависимости от фоновых помех*. Единственный источник, где было определено противоречие представленному алгоритму, является директива WADA, где указано, что *недопустимо собирать дополнительные ионы, а также выбирать только те ионы, отношения которых находятся в пределах допуска соотношений и при этом игнорировать другие, которые не приведут к соблюдению критериев идентификации без действительного объяснения* [3]. В любом случае, алгоритм пост-процессинга данных «Flexible SIM» способен не только исключать дополнительную затрату времени на повторные эксперименты, но также и оказать методическую поддержку эксперту в процессе выбора структурно-характеристичных ионов для последующих анализов.

Апробация метода анализа остаточных количеств пестицидов в образцах винного винограда.

Апробация и количественное определение действующих веществ пестицидов проводили методом матричной калибровки с использованием внутреннего стандарта 4-хлородифенил эфир с концентрацией 100 ppb. Избирательность используемого метода была основана на том, что масс-спектрометрическое детектирование действующих веществ

пестицидов специфично для каждого искомого вещества, что обосновывается различной степенью их разделения на хроматографической колонке, а также характерной фрагментацией ионов действующих веществ в ионном источнике электронного удара.

Рис. 6. Масс-хроматограмма смеси действующих веществ пестицидов (500 ppb) в матрице винограда.



1-Etridiazole; 2-Chloroneb; 3-Benzene, pentachloro-; 4-.alpha.-Lindane; 5-Benzene-hexachloro-; 6-Anisole, 2,3,4,5,6-pentachloro-; 7-Atrazine; 8-HCH isomer II; 9-Terbuthylazine; 10-.delta.-Lindane; 11-Pyrimethanil; 12-Tefluthrin; 13-Terbacil; 14-HCH isomer IV; 15-Endosulfan ether; 16-Vinclozoline; 17-Heptachlor; 18-Pentachloroethioanisole; 19-Triadimefon; 20-Dicofol; 21-4,4'-Dichlorobenzophenone; 22-MGK 264 isomer I; 23-Cyprodinil; 24-Isodrin; 25-Penconazole; 26-Heptachlor epoxide; 27-Fipronil; 28-Triadimenol; 29-Captan; 30-Procymidone; 31-Triflumizole; 32-Chlorbenseide; 33-cis-Chlordane; 34-o,p'-DDE; 35-Paclobutrazol; 36-Endosulfan; 37-trans-Chlordane; 38-Flutriafol; 39-cis-Nonachlor; 40-p,p'-DDE; 41-Dieldrin; 42-Myclobutanil; 43-o,p'-DDD; 44-Perthane; 45-Chlorfenapyr; 46-Endrin; 47-.beta.-Endosulfan; 48-p,p'-DDD; 49-o,p'-DDT; 50-trans-Nonachlor; 51-Endrin aldehyde; 52-4,4'-Methoxychlor olefin; 53-Endosulfan sulfate; 54-p,p'-DDT; 55-o,p'-Methoxychlor; 56-Tebuconazole; 57-cis-Resmethrin; 58-Iprodione; 59-Tetramethrin; 60-Endrin ketone; 61-Bifenthrin; 62-Phenothrin; 63-Tetradiphon; 64-Pyriproxyfen; 65-Mirex; 66-.lambda.-Cyhalothrin; 67-Fenarimol; 68-cis-Permethrin; 69-trans-Permethrin; 70-Cyfluthrin; 71-Cypermethrin; 72-Flucythrinate; 73-Etofenprox; 74-Fenvalerate; 75-Deltamethrin; 76-ISTD_PCB#1

С целью расчёта пределов качественного (LOD) и количественного (LOQ) определения всех 75 пестицидов с помощью системы Маэстро-αМС были выполнены три повторных инъекции для каждой калибровочной точки модельной матрицы винограда с известными уровнями концентрации соединений. Расчёт проводили согласно утверждённой Европейской ACAS директиве [7]. Полученные данные представлены в таблице 3.

69 из 75 соединений получили коэффициент достоверности аппроксимации калибровочной кривой $R^2 \geq 0.997$ (табл. 4), только Terbacil, Triadimefon, 4,4'-DDT, 2,4'-DDT, 2,4'-Methoxychlor и Tebuconazole показали коэффициент $0,990 > R^2 > 0,997$.

Табл. 3. Пределы обнаружения и степени извлечения соединения в эксперименте.

№	Действующее вещество	R^2 , Linearity	LOD, ppm	MRL, ppm
1	Etridiazole	0.998	0.04	0,05*
2	alpha-Lindane	0.999	0.01	0.01*
3	Hexachlorobenzene	0.999	0.008	0.01*
4	Atrazine	0.999	0.03	0.05*
5	HCH Isomer II	0.999	0.005	0.01*

6	Terbutylazine	0.999	0.03	0.1*
7	HCH Isomer III	0.999	0.005	0.01*
8	Pyrimethanil	0.999	0.03	5.0*
9	Tefluthrin	0.999	0.03	0.05*
10	gamma-BHC (Lindane)	0.999	0.01	0.01*
11	Endosulfan ether	0.999	0.02	0.05*
12	Vinclozolin	0.999	0.005	0.01*
13	Heptachlor	0.998	0.005	0.01*
14	Dicofol	0.998	0.015	0.02*
15	Cyprodinil	0.997	0.04	3.0*
16	Penconazol	0.998	0.04	0.4*
17	Heptachlor epoxide (Isomer B)	0.999	0.005	0.01*
18	Fipronil	0.997	0.005	0.005*
19	Triadimenol	0.999	0.01	0.01*
20	Procymidone	0.999	0.007	0.01*
21	Triflumizole	0.998	0.04	3.0*
22	Chlorbenside	0.999	0.005	0.01*
23	cis-Chlordane	0.999	0.005	0.01*
24	4,4'-DDE	0.999	0.02	0.05*
25	Paclobutrazol	0.997	0.04	0.05*
26	Endosulfan I	0.998	0.04	0.05*
27	trans-Chlordane	0.999	0.005	0.01*
28	Flutriafol	0.997	0.05	1.5*
29	2,4'-DDE	0.999	0.02	0.05*
30	Myclobutanil	0.997	0.05	1.0*
31	4,4'-DDD	0.999	0.03	0.05*
32	Chlorfenapyr	0.998	0.005	0.01*
33	Endrin	0.998	0.01	0.01*
34	Endosulfan II	0.998	0.04	0.05*
35	2,4'-DDD	0.999	0.03	0.05*
36	4,4'-DDT	0.994	0.03	0.05*
37	Endrin aldehyde	0.999	0.01	0.01*
38	Endosulfan sulfate	0.997	0.04	0.05*
39	2,4'-DDT	0.991	0.03	0.05*
40	Tebuconazole	0.996	0.05	1.0*
41	Resmethrin	0.998	0.008	0.01*
42	Iprodione	0.997	0.04	20.0*
43	Endrin ketone	0.999	0.005	0.01*
44	Bifenthrin	0.998	0.04	0.3*
45	Phenothrin (cis & trans)	0.998	0.02	0.02*
46	Tetradifon	0.998	0.01	0.01*
47	Pyriproxyfen	0.999	0.03	0.05*
48	lambda-Cyhalothrin	0.998	0.04	0.2*
49	Fenarimol	0.998	0.04	0.3*
50	cis-Permethrin	0.998	0.03	0.05*
51	trans-Permethrin	0.998	0.03	0.05*
52	Cyfluthrin	0.987	0.07	0.3*
53	Cypermethrin	0.998	0.04	0.5*
54	Flucythrinate	0.997	0.008	0.01*

55	Etofenprox	0.998	0.03	5.0*
56	Fenvalerate	0.998	0.04	0.3*
57	Delthametrin	0.998	0.03	0.2*
<i>Соединения, не регламентированные в винном винограде</i>				
-	Chloroneb	0.999	0.02	n/a
-	Pentachlorobenzene	0.999	0.02	n/a
-	Pentachloroanisole	0.999	0.02	n/a
-	Terbacil	0.996	0.05	n/a
-	Pentachlorothioanisole	0.999	0.03	n/a
-	4,4'-Dichlorobenzophenone	0.998	0.03	n/a
-	MGK-264	0.998	0.03	n/a
-	Isodrin	0.999	0.03	n/a
-	cis-Nonachlor	0.999	0.03	n/a
-	Dieldrin	0.999	0.03	n/a
-	Ethylan (Perthane)	0.999	0.03	n/a
-	trans-Nonachlor	0.999	0.03	n/a
-	4,4'-Methoxychlor olefin	0.999	0.03	n/a
-	2,4'-Methoxychlor	0.992	0.07	n/a
-	Tetramethrin	0.999	0.04	n/a
-	Mirex	0.999	0.02	n/a

(*) Указан нижний предел аналитического определения.

Выводы

В результате работы алгоритм Flexible SIM позволил минимизировать некоторые эффекты матричного влияния, которые могли бы повлиять на результаты анализа, и позволил оптимально подобрать режимы сканирования выделенных ионов в дальнейшей работе с данным типом матрицы. При этом высокая линейность сигнала детектора, а также высокие степени извлечения метода QuEChERS позволили надёжно детектировать большинство целевых компонентов, внесённых в модельный образец винограда.

Как результат, хромато-масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС позволяет детектировать остаточные количества пестицидов в винограде, используемом для изготовления вина, и является надёжным инструментом в решении поставленной задачи. Корректная настройка метода сканирования позволяет достигать уровней детектирования пестицидов ниже допустимых, согласно регламентирующим документам.

Подобные эксперименты являются крайне важными для быстрого реагирования в секторе винной промышленности, а также в сельском хозяйстве для мониторинга правильного и безопасного применения средств защиты растений на выращиваемых культурах, почвах и в получаемой сельскохозяйственной продукции.

Литература

1. *Nadja Bauer, Eberhard Schüle, Anne Wolheim, Marc Wieland, Ellen Scherbaum. Organic Wine Production – Cross Contamination with Pesticide Residues Caused by Filtration // CVUA Stuttgart*
2. *Anastassiades M., Lehotay S.J, Stajnbaher D, and F.J. Schenck //The Journal of AOAC International V. 86. P. 412–431(2003).*

3. WADA Technical Document – TD2010IDCR
4. <http://www.fda.gov/>
5. EC SANCO/12571/2013 “Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed”, Implemented by 01/01/2016
6. http://ec.europa.eu/health/index_en.htm
7. Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food, 2016



За дополнительной информацией обращайтесь в компанию Интерлаб

127055, Москва, Тихвинский пер., д.11 стр.2
т. (495) 788-09-83, ф. (495) 755-77-61
www.interlab.ru
e-mail: interlab@interlab.ru

Екатеринбург:
т. (343) 379-57-33,
ф. (343) 379-57-34
e-mail: ural@interlab.ru

Новосибирск:
т. (383) 330-56-91
ф.(383) 330-56-03
e-mail: nsk@interlab.ru

Санкт Петербург:
т/ф. (812)643-14-23
e-mail: spb@interlab.ru