

УДК: 543.544.5.068.7: 632.954

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ФЛОРАСУЛАМА В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУРАХ

Е.Ю. Алексеев¹, Т.Д. Черменская²

¹ООО «Инновационный центр защиты растений», Санкт-Петербург

²Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Предлагается усовершенствованный метод определения флорасулама в зеленой массе, зерне и соломе зерновых культур. Были подобраны оптимальные условия для экстракции вещества и очистки полученных экстрактов от коэкстрактивных веществ с помощью патронов для твердофазной экстракции Диапак С. Для анализа флорасулама использовали изократическую обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию с УФ-детектором. Достаточная чувствительность детектора и оптимальные хроматографические условия позволили определить флорасулам в концентрации 0.125 мкг/мл. Предел чувствительности определения в зерне составил 0.025 мг/кг, соломе и зеленой массе – 0.05 мг/кг. Степень извлечения флорасулама при использовании оптимизированного метода превышала 80%.

Ключевые слова: флорасулам, гербицид, ВЭЖХ, УФ-детектор, зерновые.

В современных условиях, когда в сфере обитания человека постоянно находится множество химических веществ антропогенного характера, потенциально опасных для жизни и здоровья, производство экологически безопасной продукции является важной задачей. Трудности в быстром решении этой задачи связаны с использованием пестицидов, так как вредители, болезни и сорные растения уничтожают около 30% урожая сельскохозяйственных культур [Защита растений..., 2003; Долженко, 2005; Долженко, Силаев, 2010], что вызывает необходимость разрабатывать более безопасные технологии их применения и методы контроля в защищаемых растениях, продуктах питания и окружающей среде. Методы определения действующих веществ пестицидов должны быть высокоточными, доступными, оперативными и постоянно совершенствоваться в связи с развитием технологий и инструментария [Зенкевич и др., 2002].

Для мониторинга остаточных количеств необходимы высокочувствительные методы анализа действующих веществ пестицидов, одним из которых является высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектором (ВЭЖХ-УФ). Уже существующие методики анализа часто оптимизируют в связи с возможностью упрощения процедуры пробоподготовки, а также с усовершенствованием технической части лабораторий.

Флорасулам (2',6',8-трифтор-5-метокси[1,2,4]триазоло[1,5-с]-пиримидин-2-сульфонанилид) (рис. 1) – высокоактивный гербицид, только небольшое количество активного ингредиента необходимо по сравнению с тради-

ционными продуктами. Флорасулам поглощается листвой или корнями растений. Это системный гербицид, который нарушает процессы роста сорных растений, приводя их к гибели в течение 2–8 недель после применения [Чернуха, Свирина, 2017].

Флорасулам является действующим веществом многих гербицидов, используемых для защиты посевов зерновых культур – астэрикс, СЭ (300 г/л 2,4 Д + 6.25 г/л флорасулама); бомба, СЭ (563 г/л флорасулама + 173 г/л трибенурон-метила); дерби, СК (100 г/л флорасулама + 75 г/л флуметсулама) [Лаптиев, Медведева, 2013; Маханькова, Долженко, 2013]. Ежегодно регистрируются и разрабатываются новые комплексные препараты с флорасуламом, предназначенные для борьбы с однолетними и многолетними двудольными сорняками, например, Примадонна, СЭ (3.77 г/л флорасулама + 200 г/л 2,4-Д), УНИКО, ККР (2.5 г/л флорасулама + 100 г/л флуороксипира) (АО «Щелково Агрохим») и др.

Официальные методики определения флорасулама в растительных образцах включают стадии экстракции органическими растворителями, очистки экстрактов в системе несмешивающихся растворителей и на патронах для твердофазной экстракции, а также стадию метилирования, с последующим определением методом ВЭЖХ-УФ [МУК 4.1.1442-03, 2009; МУК 4.1.2453-09, 2009]. Более простым в пробоподготовке и точным является метод, использующий ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием [Li et al., 2013]. Однако его применение требует наличие высокотехнологичного оборудования и дорогих расходных материалов. Максимально допустимый уровень (МДУ) содержания флорасулама в зерне хлебных злаков, просе, сорго составляет 0.05 мг/кг, что вполне достижимо и при использовании ВЭЖХ-УФ. Поиск новых подходов и валидация существующих методов определения остаточных количеств гербицида необходимы для изучения его поведения в объектах окружающей среды и растительном сырье [Mukherjee et al., 2014; Dong et al., 2015].

Цель данной работы – оптимизация метода определения остаточных количеств флорасулама в зеленой массе, зерне и соломе зерновых культур для сокращения потерь в процессе извлечения вещества и времени исследования.

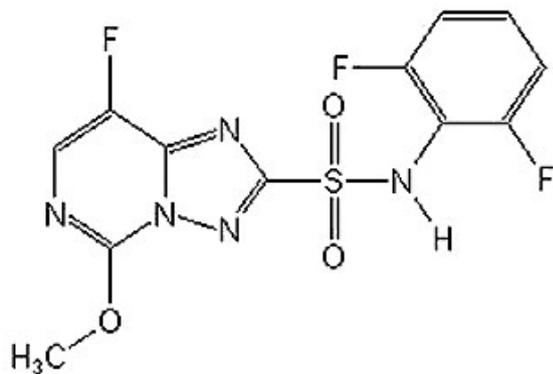


Рисунок. 1. Структурная формула флорасулама.

Методы исследований

Стандартные растворы флорасулама готовили из аналитического стандарта, содержащего 95.8% основного вещества (НПК «Блок-1»).

Аппаратура

Для анализа использовали высокоэффективный жидкостный хроматограф “Alliance” фирмы “Waters” с УФ-детектором, дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки. Хроматографическая колонка Sun Fire C-18, длиной 250 мм с внутренним диаметром 4.6 мм и зернением фазы 5 мкм (Waters).

При проведении работы использовали: мельницу зерновую A11B (Германия), ультразвуковую ванну Elmasonic S 30H (Elma-Hans), ротационный вакуумный испаритель R-205 (Buchi), воздушный испаритель “VLM” (Германия), систему для пробоподготовки (Waters) с мембранным насосом V-850 (Buchi).

Методика работы

Основной стандартный раствор флорасулама с концентрацией 0.5 мг/мл готовили растворением 0.05 г аналитического образца в ацетонитриле в мерной колбе вместимостью 100 мл. Градуировочные растворы с концентрациями флорасулама 0.125, 0.25, 0.5 и 1.0 мкг/мл готовили методом последовательного разбавления по объему, используя подвижную фазу. Градуировочную кривую строили по серии стандартных растворов, содержащих от 0.125 до 1.0 мкг/мл флорасулама в подвижной фазе.

При изучении полноты извлечения флорасулама использовали ацетонитрильные растворы вещества, приготовленные из основного раствора методом последовательного разбавления по объему ацетонитрилом.

Измельченные образцы зеленой массы (10 г), зерна (20 г) или соломы (5 г) экстрагировали дважды смесью ацетон-вода в соотношении 1:1 по объему в ультразвуковой ванне в течение 10 минут (70+50 мл). Полученные экстракты фильтровали через широкопористый бумажный фильтр. Фильтр промывали 20 мл ацетона. Ацетон из объединенных экстрактов упаривали в токе воздуха. К водному остатку добавляли 2М H_3PO_4 до pH 3 и экстрагировали флорасулам хлористым метиленом 2 раза по 35 мл (в делительной воронке). Органический слой отделяли от водной фазы и пропускали через слой безводного Na_2SO_4 . Слой осушителя промывали 20 мл ацетона. Объединенный органический экстракт упаривали в токе воздуха. Сухой остаток растворяли в

1 мл ацетона, добавляли 5 мл гексана и наносили на патрон Дипак С (заполнен слабокислым сорбентом на основе силикагеля с постоянной активностью), предварительно промытый 2.5 мл смеси гексан–ацетон (1:1), затем 3 мл смеси гексан–ацетон (9:1). Патрон с нанесенным образцом промывали 5 мл смеси гексан–ацетон (9:1) и 5 мл смеси гексан–ацетон (5:1). Флорасулам элюировали 6 мл смеси гексан–ацетон (1:1), элюат упаривали досуха.

Условия определения флорасулама методом ВЭЖХ-УФ

Подвижная фаза — смесь ацетонитрила и 0.005 М H_3PO_4 в соотношении 40:60.

Скорость потока элюента составляла 1 мл/мин, температура колонки — 30 °С, длина волны 260 нм. Объем вводимой пробы 20 мкл.

Линейный диапазон. В методе ВЭЖХ-УФ использовали метод абсолютной градуировки. На каждом из 4 уровней концентраций флорасулама в диапазоне 125–1000 нг/мл проводили по 3 измерения. Градуировочный график линейен с коэффициентом корреляции 0.999875.

Полноту извлечения флорасулама определяли на двух уровнях концентраций, в пяти повторностях. После этого вычисляли среднее значение полноты извлечения и среднее квадратичное (стандартное) отклонение.

Изучение динамики разложения флорасулама и определение его остаточных количеств в урожае (зерно и солома) при однократной обработке гербицидом УНИКО, ККР с рекомендуемой нормой расхода 1.75 л/га. Опыт проводили на делянках, площадью 25 м², расположение рендомизированное. Повторность четырехкратная. Обработку вегетирующих растений проводили с помощью опрыскивателя, расход рабочей жидкости 200 л/га. Отбор проб проводили в соответствии с “Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания, объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов”, утвержденными 21.08.1979 г. № 2051-79. Пробы отбирали отдельно с каждой повторности опыта, а также с контрольных вариантов, необработанных пестицидом. Пробы зеленой массы замораживали при температуре –18 °С и хранили при этой же температуре до дня анализа. Отобранные пробы зерна и соломы хранились в хлопчатобумажных пакетах при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

Процедуру определения остаточных количеств флорасулама можно разделить на две стадии. Первая – пробоподготовка, включающая экстракцию аналита и очистку полученных экстрактов. Вторая – качественное и количественное определение вещества с использованием ВЭЖХ с УФ детектором. При анализе флорасулама по известным методам [МУК 4.1.1442-03, 2009; МУК 4.1.2453-09, 2009], было выявлено, что большая часть вещества теряется в ходе подготовки. В связи с этим была произведена проверка всех этапов пробоподготовки.

В ходе проверки поведения флорасулама при удалении растворителя из экстрактов, результаты которой представлены в табл. 1, было выявлено, что при быстром упаривании часть флорасулама отгоняется вместе с растворителем. Наименьшие потери при разных вариантах отгонки наблюдались при использовании хлористого метилена. Чтобы максимально минимизировать потери, упаривание лучше производить в токе воздуха без нагрева.

Таблица 1. Поведение флорасулама при упаривании из растворов*

Варианты удаления растворителя	Количество флорасулама после упаривания растворителя, %		
	Хлористый метилен	Этилацетат	Диэтиловый эфир
Роторный испаритель при $t = 40\text{ }^\circ\text{C}$	98	50	20
Ток воздуха при $t = 40\text{ }^\circ\text{C}$	91	95	50
Ток воздуха при комнатной температуре	99	100	100

*– 50 мл растворителя + 1 мкг флорасулама

Было установлено, что флорасулам частично адсорбируется на осушителе при удалении остатков влаги из хлористометиленовых экстрактов путем пропускания их

через безводный сульфат натрия. Поэтому рекомендуется использовать широкопористый фильтр вместо ваты, а безводный сульфат натрия после фильтрации промывать

ацетоном. Можно также минимизировать потери, если заменить безводный сульфат натрия на хлористый кальций, однако промывка осушителя всё равно необходима.

При очистке первичного экстракта после удаления ацетона в системе несмешивающихся растворителей некоторое количество анализа переходило в хлористый метилен, вследствие чего нам пришлось отказаться от этого этапа.

Для экстракции флорасулама опробовали растворители различного типа. Вещество хорошо растворяется в ацетоне, ацетонитриле, этилацетате, метаноле, хлористом метиле – 123, 72.1, 15.9, 9.8, 3.75 г/л соответственно. Растворимость флорасулама в воде: 84 мг/л при рН 5; 6.36 и 94.2 г/л при рН 7 и 9, соответственно [The pesticide manual, 2003]. Степень извлечения флорасулама из 100 мл подкисленной воды (рН 3) достигала 57, 83 и 94% при однократной экстракции диэтиловым эфиром, хлористым метиленом и этилацетатом соответственно. Принимая во внимание вышеупомянутые исследования и то, что при достаточно высокой степени извлечения, в него переходит меньше коэкстрактивных веществ, чем в этилацетат, мы остановили свои предпочтения на хлористом метиле.

До хроматографирования необходима очистка экстрактов от нежелательных примесей. Для этого использовали патрон для твёрдофазной экстракции (ТФЭ) Диапак С. Были проверены две схемы: 1) Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании экстракта, количественно переносили двумя 1 мл порциями смеси гексан - этилацетат 1:1 на кондиционированный патрон Диапак С. Патрон промывали 10 мл смеси гексан-этилацетат 1:1. Элюировали флорасулам сначала 6 мл смеси гексан-этилацетат 1:9, затем 6 мл этилацетата. Суммарный выход флорасулама составил 62.0%.

2) Сухой остаток в колбе, полученный при упаривании экстракта, растворяли в 1 мл ацетона, затем добавляли 5 мл гексана. Далее элюировали флорасулам фракциями по 5 мл смеси гексан-ацетон с увеличивающимся содержанием ацетона. Максимальный выход флорасулама был достигнут во фракции гексан-ацетон 1:1. Суммарный выход составил 96.5%. Для повышения эффективности очистки, рекомендуется использовать систему из двух патронов.

Таким образом, для извлечения флорасулама из растительных проб нами была подобрана схема, приведенная в разделе Материалы и методы.

Нам удалось значительно сократить время подготовки проб к анализу за счет уменьшения количества стадий переконденсации, исключения стадии метилирования и хорошо подобранной схемы очистки только на одном типе патрона для ТФЭ. Достаточная чувствительность детектора и оптимальные условия хроматографирования позволяют

определять флорасулам в концентрации 0.25 мкг/мл, что соответствует содержанию в зерне 0.025 мг/кг, в соломе и зеленой массе – 0.05 мг/кг (рис. 2). Степень извлечения флорасулама при использовании оптимизированной методики превышала 80% (табл. 2).

Таблица 2. Полнота извлечения флорасулама из растительных матриц ($n = 10$, $P = 0.95$)

Объект анализа	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Степень извлечения, $X_{\text{ср}} \pm SD$, %
Зеленая масса	0.05–0.5	83.2 ± 5.50
Зерно	0.025–0.25	80.3 ± 3.85
Солома	0.05–0.5	85.2 ± 3.29

При использовании ВЭЖХ-МС и пробоподготовки по QuEChERS [Li et al., 2013] степень извлечения флорасулама находилась в пределах от 75.3 до 99.2% в зависимости от величины внесения в диапазоне 0.01–0.1 мг/кг для зерна и зеленой массы и 0.05–0.5 мг/кг для соломы, что практически не отличается от полученных нами результатов.

Предложенный метод был апробирован при изучении динамики разложения флорасулама, входящего в состав нового гербицида фирмы АО «Щелково Агрохим» УНИКО, ККР (2.5 г/л флорасулама + 100 г/л флуороксира) при обработке зерновых культур в трех климатических зонах. Флорасулам был обнаружен в день обработки в зеленой массе пшеницы и ячменя (табл. 3). В последующих точках отбора проб на 10, 20, 30 сутки после обработки и в день сбора урожая анализ зафиксирован не был. Ранее исследователями был установлен период полураспада флорасулама в растениях пшеницы 1.1–1.4 дня [Mukherjee et al., 2014] и 2.76–10.83 дня [Dong et al., 2015] в зависимости от климатических условий и зон.

Таблица 3. Содержание флорасулама в пробах зеленой массы зерновых колосовых культур в день обработки при применении препарата УНИКО, ККР в условиях трех климатических зон

Вариант	Количество	
	мкг/мл	мг/кг
Ленинградская область Яровая пшеница	0.489	0.049
Ростовская область Яровой ячмень	0.649	0.065
Краснодарский край Озимая пшеница	0.499	0.050

Таким образом, оптимизированная методика определения флорасулама в зерновых культурах позволяет точно производить качественный и количественный анализ пестицида за счёт минимизации потерь на стадии пробоподготовки.

Библиографический список (References)

- Долженко В.И. Биологическое обоснование формирования современного ассортимента средств защиты растений / В.И. Долженко // Фитосанитарное оздоровление экосистем. Материалы Второго Всероссийского съезда по защите растений. Т. 2. СПб.: 2005. С. 225.
- Долженко В.И. Защита растений: состояние, проблемы и перспективы их решения в зерновом производстве / В.И. Долженко, А.И. Силаев // Агро XXI. 2010. N 7–9. С. 3–5.
- Защита растений в устойчивых системах земледелия. Книга 2 / Д. Шпаар [и др.]. Торжок: ООО «Вариант», 2003. 374 с.
- Зенкевич И.Г. Выбор оптимальных аналитических параметров для хроматографической идентификации пестицидов / И.Г. Зенкевич, О.К. Остроухова, В.И. Долженко // Журнал аналит. химии. 2002. Т. 57. N 1. С. 43–48.
- Лаптев А.Б. Современные гербициды в защите посевов ячменя ярового / А.Б. Лаптев, О.В. Медведева // Зерновое хозяйство России. 2013. N 3. С. 61–67.
- Маханькова Т.А. Современный ассортимент гербицидов для защиты зерновых культур / Т.А. Маханькова, В.И. Долженко // Защита и карантин растений. 2013. N 10. С. 46–50.
- МУК 4.1.1442–03. Методические указания по определению остаточных количеств Флуметсулама и Флорасулама в воде, почве, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды. Сб. метод. указ. Вып. 4. М., 2009. С. 59–76.

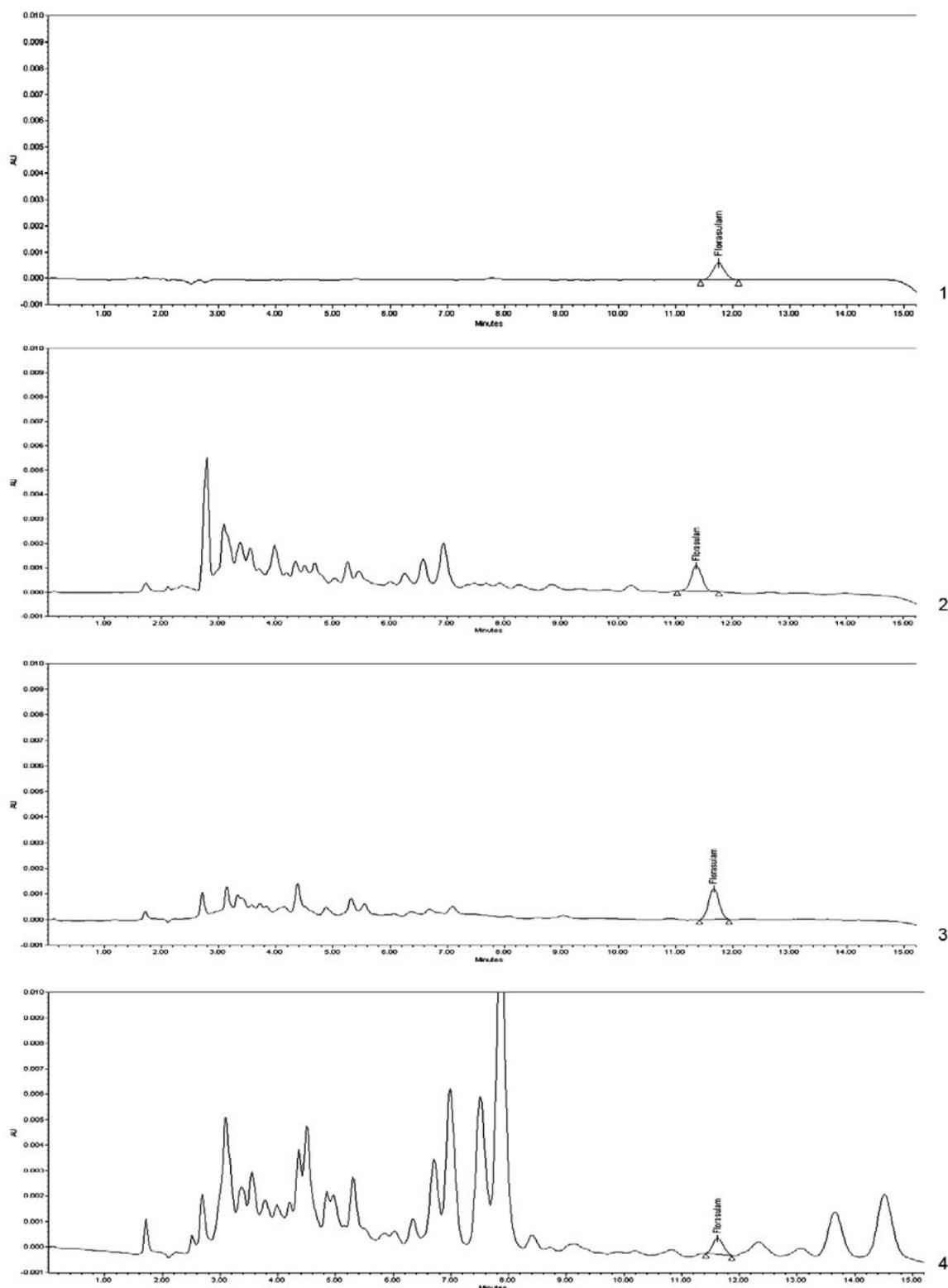


Рисунок 2. Хроматограммы стандартного раствора флорасулама 0.25 мкг/мл (1), экстракта зеленой массы с внесением флорасулама на уровне 0.05 мг/кг (2), экстракта зерна с внесением флорасулама на уровне 0.025 мг/кг (3) и экстракта соломы с внесением флорасулама на уровне 0.05 мг/кг (4) (ось абсцисс – время, мин; ось ординат – интенсивность, AU).

МУК 4.1.2453-09. Определение остаточных количеств флорасулама в кукурузном масле методом высокоэффективной хроматографии. Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. 16 с.

Чернуха В.Г. Применение гербицида Статус Макс, ВДГ в посевах пшеницы яровой в Ленинградской области / В.Г. Чернуха, Н.В. Свирина // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения: сборник научных трудов международной научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава «Научное обеспе-

чение развития сельского хозяйства и снижение технологических рисков в продовольственной сфере»: в 2-частях. СПб., 2017. С. 177–179.

Dong B. Dissipation kinetics and residues of florasulam and tribenuron-methyl in wheat ecosystem / B. Dong, W. Qian, J. Hu // *Chemosphere*, 2015. V. 120. P. 486–491.

Li Z. Determination and study on residue and dissipation of florasulam in wheat and soil under field conditions / Z. Li, W. Guan, H. Hong, Y. Ye, Y. Ma // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2013. V. 90. P. 280–284.

Mukherjee S. Persistence behaviour of a mixed formulation (florasulam 10% + halauxifen methyl 10.4% WG) in wheat / S. Mukherjee, A. Goon,

B. Ghosh, A. Kundu, K. Chakrabarti, S. Roy, A. Bhattacharyya // J. Crop and Weed., 2014. V. 10, N 2. P. 414–418.

The pesticide manual /Ed. C. Tomlin. Surrey: Brit. Crop. Prot / Council, 2003. 1344 p.

Translation of Russian References

- Chernuha V.G., Svirina N.V. Application of the herbicide Status Max, WDG in wheat spring in the Leningrad Region. In: Scientific support for the development of the agro-industrial complex in the conditions of import substitution: sbornik nauchnyh trudov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii professorsko-prepodavatel'skogo sostava «Nauchnoe obespechenie razvitiya sel'skogo hozjajstva i snizhenie tehnologicheskikh riskov v prodovol'stvennoj sfere»: v 2-ch. St.-Petersburg, 2017, P. 177–179 (In Russian).
- Dolzhenko V.I. Biological basis for the formation of a modern range of plant protection products. In: Phytosanitary rehabilitation of ecosystems. Proc. Second All-Russian Congress on Plant Protection. V. 2. St.-Petersburg, 2005, P. 225 (In Russian).
- Dolzhenko V.I., Silaev A.I. Plant protection: condition, problems and prospects for their solution in grain production. Agro XXI, 2010. N 7–9. P. 3–5 (In Russian).
- Laptiev A.B., Medvedeva O.V. Modern herbicides in the protection of spring barley crops. Zernovoe hozjajstvo Rossii, 2013. N 3. pp. 61–67 (In Russian).
- Makhan'kova T.A., Dolzhenko V.I. A modern range of herbicides for the protection of cereals. Zashhita i karantin rastenij, 2013. N 10. P. 46–50 (In Russian).
- MUK 4.1.1442-03. Methodical instructions for determination of residual amounts of Flumetsulam and Florasulam in water, soil, grain and straw of cereal crops using high-performance liquid chromatography. In: Opredelenie ostatocnyh kolichestv pesticidov v pishhevyyh produktah, sel'skohozijskovenom syr'e i ob'ektah okruzhajushhej sredy. Iss. 4, Moscow, 2009. P. 59–76 (In Russian).
- MUK 4.1.2453-09. Determination of residual amounts of florasulam in corn oil by high-performance chromatography. Methodical instructions. Moscow: Federal'nyj centr gigieny i jepidemiologii Rospotrebnadzora, 2009. 16 p. (In Russian).
- Plant protection in sustainable land use systems. Book 2 / D. Shpaar [etc]. Torzhok: OOO «Variant», 2003. 374 p. (In Russian).
- Zenkevich I.G., Ostroukhova O.K., Dolzhenko V.I. Selection of optimal analytical parameters for chromatographic identification of pesticides. Zhurnal analiticheskoy himii. 2002, V. 57. N 1. P. 43–48 (In Russian).

Plant Protection News, 2018, 3(97), p. 76–80

OPTIMIZATION OF THE METHOD OF DETERMINATION OF THE RESIDUAL AMOUNTS OF FLORASULAM IN AGRICULTURAL CROPS

E. Yu. Alekseev¹, T.D. Chermenskaya²

¹Ltd. «Innovation Center of Plant Protection», St. Petersburg, Russia

²All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

The improved method for determination of florasulam in green mass, grain and straw of cereal crops was presented in this paper. Optimal conditions were chosen for extraction of the substance and purification of the obtained extracts from co-extractive substances by cartridges for solid-phase extraction of Diapak C. For the analysis of florasulam, isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography with a UV detector was used. Sufficient sensitivity of the detector and optimal chromatographic conditions allowed us to determine florasulam at a concentration of 0.125 µg/ml. The detection limit in the grain was 0.025 mg/kg, in straw and green mass – 0.05 mg/kg. The percentage of florasulam using the optimized method exceeded 80%.

Keywords: florasulam, herbicide, HPLC, UV detector, cereal.

Сведения об авторах

ООО «Инновационный центр защиты растений», 196607, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Пушкинская, д. 20, лит. А, пом. 7-Н
Алексеев Елисей Юрьевич. Младший научный сотрудник,
e-mail: ya.lis2013@yandex.ru
Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608
Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация
*Черменская Таисия Дмитриевна. Ведущий научный сотрудник,
кандидат биологических наук, e-mail: tchermenskaya@yandex.ru

* Ответственный за переписку

Information about the authors

Ltd. «Innovation Center of Plant Protection», Pushkinskaya str., 20-A, 7-H,
St. Petersburg, Pushkin, 196607, Russia
Alekseev Elisey Yur'evich. Researcher,
e-mail: ya.lis2013@yandex.ru
All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo Shosse, 3, 196608,
St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation
*Chermenskaya Taisiya Dmitrievna. Leading Researcher, PhD in Biology,
e-mail: tchermenskaya@yandex.ru

* Corresponding author