

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
32251—  
2013  
(ISO 17375:2006)

---

## КОРМА, КОМБИКОРМА

### Метод определения содержания афлатоксина В<sub>1</sub>

(ISO 17375:2006, MOD)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2014

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (ОАО «ВНИИКП») на основе аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 004)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. № 44)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Настоящий стандарт модифицирован по отношению к международному стандарту ISO 17375:2006 Animal feeding stuffs - Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> (Корма для животных. Определение афлатоксина В<sub>1</sub>).

Международный стандарт разработан подкомитетом ISO/TC 10 «Корма для животных» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Перевод с английского языка (en).

Уточненные отдельные слова, фразы, абзацы внесены в текст межгосударственного стандарта для приведения в соответствие с отраслевой терминологией и выделены курсивом. Дополнительные примечания, разделы и приложение выделены полужирным курсивом.

В настоящем стандарте заменены единицы измерения объема «литр» на «кубический дециметр», «миллилитр» на «кубический сантиметр», «микролитр» на «кубический миллиметр» для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5–2001 пункт 4.14.1.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта в соответствии с требованиями межгосударственной системы стандартизации и общепринятой отраслевой терминологией.

В настоящем стандарте ссылки на международные стандарты, используемые в примененном международном стандарте, заменены на межгосударственные стандарты, гармонизированные с международными.

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном агентстве по техническому регулированию, стандартизации и метрологии.

Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта приведено в дополнительном приложении ДА.

Степень соответствия – модифицированная (MOD)

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 2064-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32251—2013 (ISO 17375:2006) введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

## 6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет*

© Стандартиформ, 2014

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

## КОРМА, КОМБИКОРМА

Метод определения содержания афлатоксина В<sub>1</sub>Feeds, compound feeds. Method for determination of aflatoxin В<sub>1</sub>

Дата введения — 2015—07—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт *распространяется* на корма и комбикорма с содержанием жира не более 50 % и устанавливает метод определения афлатоксина В<sub>1</sub> высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) с послеклоночной дериватизацией.

Нижний предел количественного определения афлатоксина В<sub>1</sub> *составляет* 0,5 мкг/кг при отношении сигнал-шум, *равном* 6.

Примечание — Данный метод основан на *методике* [1].

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004–91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005–88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007–76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.2.007.0–75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009–83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021–75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 701–89 Кислота азотная концентрированная. Технические условия

ГОСТ 1770–74 (ИСО 1042–83, ИСО 4788–80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603–79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4160–74 Реактивы. Калий бромистый. Технические условия

ГОСТ 4172–76 Реактивы. Натрий фосфорно-кислый двузамещенный 12-водный. Технические условия

ГОСТ 4198–75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4204–77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4233–77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4234–77 Реактивы. Калий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328–77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5789–78 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9293–74 (ИСО 2435–73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 11773–76 Реактивы. Натрий фосфорно-кислый двузамещенный. Технические условия

ГОСТ 13496.0–80 Комбикорма, сырье. Методы отбора проб

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования  
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28311—89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 31218— 2003 (ИСО 6498:1998) Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб

**Примечание** — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Сущность метода

Анализируемую пробу экстрагируют смесью ацетона и воды. Экстракт фильтруют, разбавляют водой или фосфатно-солевым буферным раствором до заданной концентрации растворителя, наносят на иммуноаффинную колонку, содержащую антитела, специфические для афлатоксина В<sub>1</sub>. Афлатоксин В<sub>1</sub> удаляют из иммуноаффинной колонки неразбавленным *метанолом* и количественно определяют методом обратнофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с послекolonочной электрохимической дериватизацией *бромистым калием* или дериватизацией, включающей бромирование посредством пербромид бромгидрата пиридина, с последующим флуоресцентным детектированием.

### 4 Требования безопасности

4.1 При проведении испытаний необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроприборами по ГОСТ 12.2.007.0, а также требования, изложенные в технической документации на используемые приборы.

4.2 Применение настоящего метода связано с использованием токсичных легко воспламеняющихся реактивов, таких как ацетон, метанол, толуол и ацетонитрил, поэтому работа с ними должна проводиться в вытяжном шкафу, следует избегать контактирования с ними и держать их в отдалении от источников тепла, искр или открытого пламени.

4.3 Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

4.4 Помещение лаборатории должно быть оснащено вентиляционными системами по ГОСТ 12.4.021, соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** – Афлатоксины канцерогенны для человека. Следует принимать во внимание заявление Международного агентства по исследованию рака, а также разработанные и утвержденные им процедуры дезинфекции лабораторных отходов [2],[3].

### 5 Реактивы

5.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

5.2 Вода класса ВЭЖХ, соответствующая 1 классу [4].

5.3 Пербромид бромгидрата пиридина (далее РВРВ).

5.4 Калия бромид по ГОСТ 4160.

5.5 Толуол по ГОСТ 5789.

5.6 Ацетонитрил, степень чистоты для ВЭЖХ.

- 5.7 Метанол, степень чистоты для ВЭЖХ.  
 5.8 Ацетон по ГОСТ 2603, ч.  
 5.9 Кислота азотная по ГОСТ 701 молярной концентрации с (HNO<sub>3</sub>) = 4 моль/дм<sup>3</sup>.

Примечание — Применяется в случае использования бромистого калия.

- 5.10 Афлатоксин В<sub>1</sub> в форме кристаллов или в виде пленочной ампулы.  
 5.11 Калий хлористый по ГОСТ 4234.  
 5.12 Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.  
 5.13 Натрий фосфорно-кислый двузамещенный по ГОСТ 11773.  
 5.14 Натрий фосфорно-кислый двузамещенный 12-водный по ГОСТ 4172.  
 5.15 Кислота соляная по ГОСТ 3118.  
 5.16 Натрий хлористый по ГОСТ 4233.  
 5.17 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.  
 5.18 Серная кислота по ГОСТ 4204, молярной концентрации с (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 2 моль/дм<sup>3</sup>.

Примечание — Допускается использование реактивов аналогичной или более высокой квалификации, изготовленных по другой нормативной или технической документации, в том числе импортных.

## 6 Лабораторные оборудование, посуда и материалы

6.1 Колонка иммуноаффинная, содержащая антитела с высокой селективностью относительно афлатоксина В<sub>1</sub>. Иммуноаффинная колонка должна иметь емкость, соответствующую не менее 40 нг афлатоксина В<sub>1</sub>, и обеспечивать восстановление не менее 80 % афлатоксина В<sub>1</sub> при его применении в качестве стандартного раствора, содержащего 0,25 нг афлатоксина В<sub>1</sub> в смеси ацетона с водой.

6.2 Резервуар для иммуноаффинной колонки вместимостью 75 см<sup>3</sup> с соединителем типа Люера.

6.3 Насос ручной для иммуноаффинной колонки – шприц вместимостью 20 см<sup>3</sup> с замком Люера или резиновой пробкой.

6.4 Аппарат для встряхивания вертикальный или горизонтальный регулируемый.

6.5 Колбы Эрленмейера вместимостью 500 см<sup>3</sup> с завинчивающимися крышками или притертыми стеклянными пробками.

6.6 Колбы мерные 1(2, 2а)-5(10, 100)-2 по ГОСТ 1770.

6.7 Колбы мерные вместимостью 20 см<sup>3</sup>.

6.8 Насос для ВЭЖХ, обеспечивающий скорость потока (1,000 ± 0,005) см<sup>3</sup>/мин.

6.9 Система инжекторная с полным заполнением петли (рекомендуется клапан с петлей 100 мм<sup>3</sup>), обеспечивающая относительное стандартное отклонение сигнала интегратора для многократной инъекции (n = 10) стандартного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> (массовая концентрация эквивалентна содержанию афлатоксина В<sub>1</sub>, равному 1 мкг/кг) не более 10 %.

6.10 Колонка разделяющая для ВЭЖХ с обращенной фазой, например LC-18 или ODS-2, желательна с предколонкой.

6.11 Система послеклоночной дериватизации по 6.11.1 (при использовании РВРВ) или по 6.11.2 (при использовании электрохимической дериватизации с бромистым калием).

6.11.1 Система послеклоночной дериватизации с РВРВ, включающая безимпульсный насос ВЭЖХ, тройник нулевого мертвого объема и реакционную трубку из политетрафторэтилена длиной 450 мм с минимальным внутренним диаметром 0,5 мм. Время реакции до детектирования должно быть не менее 4 с.

6.11.2 Установка, смонтированная согласно инструкции изготовителя. Для того чтобы проконтролировать содержание афлатоксина В<sub>1</sub>, колонку ВЭЖХ отсоединяют от установки бромирования и непосредственно соединяют с флуоресцентным детектором. Выключение электрического тока без отсоединения установки бромирования не рекомендуется, так как бром может остаться в ячеечной мембране установки для бромирования.

6.12 Детектор флуоресцентный с фильтром возбуждения 360 нм и фильтром отсеки испускания более 420 нм, или с аналогичными. Рекомендуются установки для регулируемых детекторов Ex = 365 нм, Em = 435 нм, BW = 18 нм.

6.13 Установка фильтровальная одноразовая с размером пор 0,45 мкм. В связи с тем, что различные фильтровальные материалы могут удерживать афлатоксин В<sub>1</sub>, перед использованием фильтровальную установку следует проверить на отсутствие потерь афлатоксина В<sub>1</sub> с помощью метода добавок.

6.14 Весы лабораторные по ГОСТ 24104, обеспечивающие точность взвешивания с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более  $\pm 0,0001$  г и  $\pm 0,01$  г.

6.15 Пипетки градуированные 1(2, 3, 5)-1(1а, 2, 2а)-2-1(2, 5, 10) по ГОСТ 29227.

6.16 Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема от 10 д 500 мм<sup>3</sup> с метрологическими характеристиками по ГОСТ 28311.

6.17 pH-метр лабораторный.

6.18 Аппарат для выпаривания

6.19 Спектрофотометр.

6.20 Кюветы из кварцевого стекла с длиной оптического пути 1 см.

6.21 Бумага фильтровальная, диаметром 24 см, предварительно фальцованная.

6.22 Фильтр из стеклянного микроволокна, диаметром 5 см (например, удерживающая способность 1,6 мкм).

6.23 Стаканы В(Н) – 1(2) – 1000 ТХС по ГОСТ 25336.

#### Примечание

1 Средства измерений должны быть поверены в установленные сроки.

2 Допускается использование других средств измерений по метрологическим характеристикам не хуже вышеуказанных.

3 Стеклянную посуду перед использованием погружают на несколько часов в раствор кислоты (например, в раствор серной кислоты молярной концентрации с (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 2 моль/дм<sup>3</sup>). Затем ее тщательно промывают дистиллированной водой, чтобы удалить все следы используемой кислоты (это можно проверить с помощью pH-бумаги).

## 7 Отбор проб

Отбор проб - по ГОСТ 13496.0.

## 8 Подготовка проб

Подготовка проб - по ГОСТ 31218.

## 9 Приготовление растворов для испытаний

### 9.1 Приготовление фосфатно-солевого буферного раствора (далее PBS), 7,4 pH

В стакан вместимостью 1000 см<sup>3</sup> (см. 6.23) наливают 900 см<sup>3</sup> воды (см. 5.1) и растворяют в ней 0,20 г хлористого калия, 0,20 г фосфорнокислого однозамещенного калия, 1,16 г безводного натрия двузамещенного фосфорно-кислого (или 2,92 г 12-водного гидрофосфата натрия) и 8,00 г хлористого натрия. Доводят значение до 7,4 ед. pH раствором соляной кислоты (см. 5.15) или гидроокисью натрия (см. 5.17), переливают раствор в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> (см. 6.6) и доводят объем до метки водой.

Примечание — Допускается использовать концентрат PBS в таблетках с аналогичным составом.

Срок хранения раствора – не более одной недели.

### 9.2 Приготовление раствора для экстракции

Смешивают ацетон (см. 5.8) и воду (см. 5.2) в объемном соотношении 85 : 15.

### 9.3 Приготовление подвижной фазы А (только при использовании РВРВ)

Смешивают воду (см. 5.2), ацетонитрил (см. 5.6), метанол (см. 5.7) в объемном соотношении 6:2:3.

### 9.4 Приготовление подвижной фазы Б (только при электрохимической дериватизации с использованием бромистого калия)

Смешивают воду (см. 5.2), ацетонитрил (см. 5.6), метанол (см. 5.7) в объемном соотношении 6:2:3 и добавляют в расчете на 1000 см<sup>3</sup> подвижной фазы 0,120 г бромид калия (см. 5.4) и 350 мм<sup>3</sup> азотной кислоты (см. 5.9).

#### Примечание

1 Допускается изменять соотношение растворителей (см. 9.3 и 9.4) для получения оптимальных параметров разделения.

2 Растворители в подвижной фазе (см. 9.3 и 9.4) должны быть дегазированы.



**9.5 Приготовление раствора для послеклоночной дериватизации (только при использовании РВРВ)**

Растворяют 25 мг РВРВ (см. 5.3) в 500 см<sup>3</sup> воды (см. 5.2).

Срок хранения в темном месте при комнатной температуре – не более 3 сут.

**Примечание** — Раствор используется только в сочетании с подвижной фазой А (см. 9.3).

**9.6 Приготовление смеси толуола с ацетонитрилом**

Смешивают толуол (см. 5.5) и ацетонитрил (см. 5.6) в объемном соотношении 98 : 2.

**9.7 Приготовление градуировочных растворов для ВЭЖХ****9.7.1 Приготовление основного стандартного раствора афлатоксина В<sub>1</sub>**

Из афлатоксина В<sub>1</sub> (см. 5.10) готовят основной стандартный раствор массовой концентрации 10,0 мкг/см<sup>3</sup> в смеси толуола с ацетонитрилом (см. 9.6).

**Примечание**

1 Афлатоксины разрушаются под действием света. Анализируемая проба во время лабораторных испытаний должна быть защищена от дневного света. Стандартные растворы афлатоксина следует держать защищенными от света, используя пробирки из желтого стекла или алюминиевую фольгу.

2 Основной стандартный раствор афлатоксина В<sub>1</sub> в смеси толуола с ацетонитрилом остается стабильным в течение года, если его хранить в стеклянной посуде, промытой кислотой, при температуре минус 18 °С в темноте. Если основной стандартный раствор используются в течение 3 мес, то в качестве растворителя можно взять метанол (см. 5.7). Растворы в метаноле более чувствительны к щелочной среде на стеклянной поверхности и к дневному свету, чем растворы в смеси толуола с ацетонитрилом.

Колбы плотно заворачивают в алюминиевую фольгу и хранят при температуре не выше 4 °С. Чтобы определить точную массовую концентрацию афлатоксина В<sub>1</sub> в основном стандартном растворе, записывают кривую поглощения в интервале длин волн от 330 до 370 нм в кюветах (см. 6.20) относительно растворителя, используемого для приготовления основного стандартного раствора, помещенного в эталонную кювету спектрометра (см. 6.19).

Вычисляют массовую концентрацию афлатоксина В<sub>1</sub>, с<sub>а</sub>, мкг/см<sup>3</sup>, используя уравнение

$$c_a = A_{\max} \cdot \frac{M_a \cdot 100}{\epsilon_a \cdot d}, \quad (1)$$

где  $A_{\max}$  – спектральная поглощательная способность, определенная при максимуме кривой поглощения;

$M_a$  – молярная масса афлатоксина В<sub>1</sub>, г/моль (312 г/моль);

100 – коэффициент пересчета;

$\epsilon_a$  – молярная поглощательная способность афлатоксина В<sub>1</sub>, м<sup>2</sup>/моль (1930 м<sup>2</sup>/моль для раствора в смеси толуола с ацетонитрилом и 2150 м<sup>2</sup>/моль для раствора в метаноле);

$d$  – оптическая длина пути ячейки, см (1 см).

**9.7.2 Приготовление градуировочного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 50,0 нг/см<sup>3</sup>**

Из основного стандартного раствора афлатоксина В<sub>1</sub> (см. 9.7.1) готовят градуировочный раствор афлатоксина В<sub>1</sub> массовой концентрации 50,0 нг/см<sup>3</sup> в смеси толуола с ацетонитрилом (см. 9.6) или в метаноле (см. 5.7).

**9.7.3 Приготовление рабочих градуировочных растворов**

В пять мерных колб вместимостью по 20 см<sup>3</sup> микродозатором (см. 6.16) переносят градуировочный раствор (см. 9.7.2) в объемах, указанных в таблице 1 (вариант 1 или 2). Смесь толуола с ацетонитрилом выпаривают до полной сухости в токе азота при комнатной температуре. Если для приготовления основного стандартного раствора используют метанол, выпаривание не требуется.

## Т а б л и ц а 1 - Приготовление рабочих градуировочных растворов

Рабочий стандартный раствор	Вариант 1		Вариант 2	
	Объем градуировочного раствора (см. 9.7.2), мм <sup>3</sup>	Массовая концентрация афлатоксина В <sub>1</sub> нг/см <sup>3</sup>	Объем градуировочного раствора (см. 9.7.2), мм <sup>3</sup>	Массовая концентрация афлатоксина В <sub>1</sub> , нг/см <sup>3</sup>
1	20	0,050	100	0,250
2	70	0,175	350	0,875
3	120	0,300	600	1,500
4	170	0,425	850	2,125
5	220	0,550	1100	2,750

Далее приготовление рабочих градуировочных растворов проводят по 9.7.3.1 или 9.7.3.2.

#### 9.7.3.1 Вариант 1 (см. 10.4.2)

В каждую колбу добавляют по 7 см<sup>3</sup> метанола. Дают афлатоксину В<sub>1</sub> раствориться, затем разбавляют до метки водой и хорошо взбалтывают.

Пр и м е ч а н и е — Объемы метанола и воды уменьшаются при смешивании.

#### 9.7.3.2 Вариант 2 (см. 10.4.3)

В каждую колбу добавляют приблизительно по 10 см<sup>3</sup> метанола. Дают афлатоксину В<sub>1</sub> раствориться, затем разбавляют чистым метанолом (см. 5.7) до метки и хорошо взбалтывают. Затем переносят точно по 1 см<sup>3</sup> каждого рабочего градуировочного раствора в промытые кислотой стеклянные пробирки, выпаривают до сухости согласно варианту 2 (см. 10.4.3). Затем выпаренные остатки градуировочных растворов повторно растворяют в точно таком же объеме, который будет использоваться для повторного растворения экстрактов проб перед их инъекцией (см. 10.4.3). Вычисляют массовую концентрацию афлатоксина В<sub>1</sub>, нг/см<sup>3</sup>, после выпаривания и повторного растворения. Эти значения массовой концентрации используют для вычислений в разделе 11. В этом случае градуировочный диапазон останется неизменным.

## 10 Проведение испытания

### 10.1 Кондиционирование иммуноаффинной колонки

Методы для кондиционирования, нанесения, промывки и элюирования слегка отличаются у разных иммуноаффинных колонок, поэтому следует пользоваться инструкциями изготовителей. Если нет других указаний, на иммуноаффинную колонку наносят 10 см<sup>3</sup> PBS (см. 9.1) и дают ему пройти через колонку со скоростью 2–3 см<sup>3</sup>/мин (под действием силы тяжести). Необходимо, чтобы небольшая порция (0,5 см<sup>3</sup>) PBS оставалась на колонке до нанесения экстракта пробы.

### 10.2 Экстракция

На весах (см. 6.14) взвешивают (50 ± 0,1) г пробы, подготовленной в соответствии с разделом 8, и помещают в колбу Эрленмейера. Добавляют 250 см<sup>3</sup> раствора для экстракции (см. 9.2). Интенсивно встряхивают вручную первые 15 – 30 с, затем в течение 30 мин с помощью аппарата для встряхивания. Фильтруют экстракт, используя предварительно фальцованную фильтровальную бумагу (см. 6.21). Пипеткой (см. 6.15) отмеряют 5,0 см<sup>3</sup> прозрачного фильтрата в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> (см. 6.6.) и разбавляют до метки PBS (см. 9.1) или водой (см. 5.2). Разбавитель (PBS или вода) выбирают согласно инструкции изготовителя иммуноаффинной колонки. Если нет иных указаний, то для разбавления следует использовать PBS.

Если раствор прозрачный, то разбавленный раствор можно непосредственно наносить на колонку.

Если раствор не прозрачен, его фильтруют через фильтр из стеклянного волокна (см. 6.22) и переносят точно 50 см<sup>3</sup> прозрачного фильтрата в резервуар (см. 6.2), который помещают на кондиционированную иммуноаффинную колонку.

Фильтрат наносят на иммуноаффинную колонку по 10.3.

### 10.3 Иммуноаффинная очистка

Фильтрат пропускают через иммуноаффинную колонку с объемной скоростью подвижной фазы приблизительно 1 капля в секунду (3 см<sup>3</sup>/мин). Нельзя допускать скорость потока более 5 см<sup>3</sup>/мин. Промывают иммуноаффинную колонку, используя приблизительно 20 см<sup>3</sup> воды (см. 5.2), наносимой двумя порциями примерно по 10 см<sup>3</sup> при скорости потока 3 см<sup>3</sup>/мин. Сушат, применяя легкий вакуум, в течение 5–10 с или пропускают воздух через колонку шприцем в течение 10 с.

Афлатоксин В<sub>1</sub> элюируют посредством двухэтапной процедуры:

- а) наносят 0,50 см<sup>3</sup> метанола на иммуноаффинную колонку и дают ему пройти под действием силы тяжести. Элюат собирают в мерную колбу вместимостью 5 см<sup>3</sup> (см. 6.6);
- б) ждут 1 мин и наносят 1,25 см<sup>3</sup> метанола. После того как большая часть метанола прошла под действием силы тяжести, собирают оставшуюся часть элюата, пропуская воздух под давлением.

#### 10.4 Проведение ВЭЖХ

10.4.1 ВЭЖХ следует проводить по одному из двух вариантов. Рекомендуется проведение ВЭЖХ по варианту 1 (см. 10.4.2), но он требует применения соответствующего флуоресцентного детектора и инъекционной системы. Вариант 2 (см. 10.4.3) применяют только в том случае, если сигнал детектора не достаточен, чтобы гарантировать требуемое относительное стандартное отклонение (см. 6.9), при этом проводят дополнительный этап выпаривания.

##### 10.4.2 Вариант 1

Собранный в мерную колбу вместимостью 5 см<sup>3</sup> элюат (см. 10.3) доводят до метки водой и хорошо встряхивают. Если раствор прозрачный, его можно непосредственно использовать для ВЭЖХ. Если раствор не прозрачный, то перед инъекцией его пропускают через одноразовую фильтровальную установку. Инъекция в режиме полной петли гарантирует максимальную точность. Рекомендуется, в зависимости от инъекционной системы (например, шприц или автосемплер), брать раствор объемом в 3 раза больше размера инъекционной петли и инжектировать в клапан как минимум 2/3 этого объема для гарантии, что средняя доля останется в инъекционной петле. Таким образом, петля промывается инъекционным растворителем и в клапане остается достаточно этого растворителя.

##### 10.4.3 Вариант 2

Метаноловый элюат, содержащий афлатоксин В<sub>1</sub>, собирают из иммуноаффинной колонки в промытую кислотой стеклянную пробирку. Элюат выпаривают до сухости под мягкой струей азота при (40 ± 5) °С. Повторно растворяют выпаренный остаток в водном растворе метанола объемной долей 35 %. Для растворения используют точно такой же объем, который использовался для выпаренных остатков градуировочных растворов (см. 9.7.3.2). Объем для повторного растворения будет зависеть от размера инъекционной петли. Для инъекции используют режим полной петли, как описано в варианте 1 (см. 10.4.2).

##### 10.4.4 Послеколоночная дериватизация

10.4.4.1. Если используют РВРВ, то к выходу разделительной колонки подсоединяют устройство послеколоночной дериватизации, для чего устанавливают смешивающий тройник и реакционную трубку (см. 6.11.1), затем проводят реакцию при скорости течения:

- 1,00 см<sup>3</sup>/мин подвижной фазы А по 9.3;
- 0,30 см<sup>3</sup>/мин раствора по 9.5.

10.4.4.2 Если проводят электрохимическую дериватизацию с бромистым калием, то следуют инструкциям изготовителя для установки ячейки и проводят реакцию, используя следующие параметры:

- а) скорость течения: 1,00 см<sup>3</sup>/мин подвижной фазы Б по 9.4;
- б) ток: 100 мкА.

10.4.5 Проводят регистрацию сигнала с помощью флуоресцентного детектора. Идентификацию пика афлатоксина В<sub>1</sub> на хроматограмме проводят путем сравнения значений времен удерживания афлатоксина В<sub>1</sub> в пробе и в стандарте.

##### 10.5 Построение градуировочной зависимости

Градуировочную зависимость строят на основе результатов анализа ВЭЖХ градуировочных растворов по 9.7.3.1 и 9.7.3.2. Для стандартных растворов и экстрактов анализируемых проб должен инжектироваться один и тот же объем. С помощью программного обеспечения на основе персонального компьютера строят градуировочную зависимость и проверяют ее линейность.

Градуировочные растворы охватывают диапазон содержания афлатоксина В<sub>1</sub> в анализируемой пробе от 0,5 до 5,5 мкг/кг. Если содержание афлатоксина В<sub>1</sub> в анализируемой пробе выходит за градуировочный диапазон, должна быть построена другая, подходящая градуировочная зависимость или инъекционный раствор для анализа ВЭЖХ разбавляют до содержания афлатоксина В<sub>1</sub>, соответствующего установленному градуировочному диапазону.

При отсутствии программного обеспечения строят график, нанося по оси х сигналы (высота или площадь) относительно массовой концентрации афлатоксина В<sub>1</sub> (нг/см<sup>3</sup>) по оси у. Используя линейную регрессию, определяют градуировочную кривую по этим данным. Чтобы вычислить массовую концентрацию афлатоксина В<sub>1</sub> в измеренном растворе испытуемой пробы, нг/см<sup>3</sup>, используют результирующую функцию

$$y = ax + b \quad (2)$$

Вычисляют массовую концентрацию афлатоксина В<sub>1</sub> в инжектированном растворе  $C$ , нг/см<sup>3</sup>, по градуировочной кривой (функции), полученной линейной регрессией

$$C = aA + b \quad (3)$$

## 11 Обработка результатов

Массовую долю афлатоксина В<sub>1</sub> в анализируемой пробе,  $w$ , мкг/кг, вычисляют по формуле

$$w = \frac{C \cdot V_S \cdot V_E \cdot V_D}{m \cdot V_{ext} \cdot V_{clean}}, \quad (4)$$

где  $C$  – массовая концентрация афлатоксина В<sub>1</sub>, нг/см<sup>3</sup>;  
 $V_S$  – объем раствора для экстракции, см<sup>3</sup> (250 см<sup>3</sup>);  
 $V_E$  – конечный объем, полученный после элюирования из иммуноаффинной колонки, см<sup>3</sup>;  
 $V_D$  – объем, полученный после разбавления PBS или водой, см<sup>3</sup> (100 см<sup>3</sup>);  
 $m$  – масса анализируемой пробы, г, (50 г);  
 $V_{ext}$  – объем аликвоты, взятый из экстракта, см<sup>3</sup> (5 см<sup>3</sup>);  
 $V_{clean}$  – объем аликвоты, взятый для иммуноаффинной очистки, см<sup>3</sup> (50 см<sup>3</sup>).  
 При соблюдении рекомендованных в разделе 9 значений объемов растворов массовую долю афлатоксина В<sub>1</sub> в анализируемой пробе,  $w$ , мкг/кг, вычисляют по формуле

$$w = \frac{C \cdot 100 \cdot V_E}{m} \quad (5)$$

где  $C$  – массовая концентрация афлатоксина В<sub>1</sub>, нг/см<sup>3</sup>;  
 100 – коэффициент пересчета;  
 $V_E$  – конечный объем, полученный после элюирования из иммуноаффинной колонки, см<sup>3</sup>;  
 $m$  – масса анализируемой пробы, г, (50 г).

## 12 Проверка метода

Контроль правильности измерений проводят *методом добавок* с использованием *стандартного* раствора афлатоксина В<sub>1</sub> в метаноле. Количество *добавки* должно быть в пределах *градуировочного* диапазона (предпочтительно среднее значение). Следует добавлять не более 2 см<sup>3</sup> обогащающего раствора (раствор должен иметь *соответствующую* массовую концентрацию афлатоксина В<sub>1</sub>), последующее выпаривание необходимо проводить в темноте в течение 0,5–2 ч.

## 13 Прецизионность

### 13.1 Межлабораторные испытания

*Результаты* межлабораторных испытаний *прецизионности метода* приведены в приложении А. Значения, полученные в этих межлабораторных испытаниях, не могут быть применимы к диапазонам массовой концентрации и *пробам*, отличающимся от описанных в данном стандарте в *приложении А*.

### 13.2 Повторяемость

Абсолютное *расхождение* между результатами двух отдельных независимых испытаний, полученными одним и тем же методом на одной пробе *для испытания* в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором на одном и том же *экземпляре* оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости,  $r$ , мкг/кг, более чем в 5 % случаев:

$$\bar{x} = 1,33 \text{ мкг/кг} \quad r = 0,22 \text{ мкг/кг (обогащенный афлатоксином В}_1\text{);}$$

$$\bar{x} = 3,89 \text{ мкг/кг} \quad r = 0,69 \text{ мкг/кг (обогащенный афлатоксином В}_1\text{);}$$

$\bar{x} = 0,54$  мкг/кг  $r = 0,11$  мкг/кг (естественно загрязненный афлатоксином В<sub>1</sub>);

$\bar{x} = 0,87$  мкг/кг  $r = 0,21$  мкг/кг (естественно загрязненный афлатоксином В<sub>1</sub>);

$\bar{x} = 4,19$  мкг/кг  $r = 0,72$  мкг/кг (естественно загрязненный афлатоксином В<sub>1</sub>),

где  $\bar{x}$  – среднеарифметическое значение результатов двух отдельных независимых испытаний в одной лаборатории.

### 13.3 Воспроизводимость

Абсолютное *расхождение* между результатами двух отдельных испытаний, полученными одним и тем же методом на одной пробе для *испытания* в разных лабораториях разными операторами на различных *экземплярах* оборудования, не должно превышать предел воспроизводимости,  $R$ , мкг/кг, более чем в 5 % случаев:

$\bar{x} = 1,33$  мкг/кг  $R = 0,72$  мкг/кг (обогащенный афлатоксином В<sub>1</sub>);

$\bar{x} = 3,89$  мкг/кг  $R = 1,87$  мкг/кг (обогащенный афлатоксином В<sub>1</sub>);

$\bar{x} = 0,54$  мкг/кг  $R = 0,27$  мкг/кг (естественно загрязненный афлатоксином В<sub>1</sub>);

$\bar{x} = 0,87$  мкг/кг  $R = 0,47$  мкг/кг (естественно загрязненный афлатоксином В<sub>1</sub>);

$\bar{x} = 4,19$  мкг/кг  $R = 2,30$  мкг/кг (естественно загрязненный афлатоксином В<sub>1</sub>),

где  $\bar{x}$  – среднеарифметическое значение результатов двух отдельных независимых испытаний в разных лабораториях.

## 14 Протокол испытания

В протоколе испытаний необходимо указать:

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы;
- всю информацию, необходимую для идентификации стандартного образца;
- результаты испытания и единицы, в которых эти результаты выражены;
- дату испытания;
- любые отдельные моменты, наблюдаемые в ходе испытания;
- все детали испытаний, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как несущественные, которые могли повлиять на результат(ы) испытания.

Приложение А  
(справочное)

## Результаты межлабораторных испытаний

Международные совместные испытания, включающие 21 лабораторию в 14 странах, были проведены на 5 пробах кормов для крупного рогатого скота, состоящих из следующих компонентов в порядке количественного убывания: кукурузной клейковины; фасолевой кожуры; зерна (пшеница, ячмень, рожь); *экстракционных отходов переработки сахарного тростника* и свеклы, цитрусовой пульпы; *экстракционных отходов переработки семян подсолнечника*, сои, кукурузы; травы; мелассы; хлорида кальция; хлорида натрия; витаминной смеси и смеси микроэлементов. Материал для *контрольного* испытания был приготовлен путем смешивания вышеуказанных кормовых ингредиентов (без пшеницы и кукурузы) с пшеницей и кукурузой, содержащих имеющих афлатоксин В<sub>1</sub> приблизительно 0,15 мкг/кг.

Испытание было организовано Объединенным исследовательским центром, Институтом эталонных материалов и измерений, Гил, Бельгия, в 1999 г. [5]. Полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу согласно гармонизированному протоколу IUPAC. Данные прецизионности приведены в таблице А.1

Т а б л и ц а А.1 – Данные прецизионности

Наименование показателя	Холостое испытание	Обогащение афлатоксином В <sub>1</sub> , мкг/кг		Естественное загрязнение афлатоксином В <sub>1</sub> , мкг/кг		
		1,2 <sup>1)</sup>	3,6 <sup>1)</sup>	0,5 <sup>2)</sup>	1,0 <sup>2)</sup>	5 <sup>2)</sup>
Число участвующих лабораторий	21	21	21	21	21	21
Число выбросов	0	1	1	3	2	3
Число результатов испытания из оставшихся лабораторий	21	20	20	18	19	18
Среднее значение, $\bar{x}$ , мкг/кг	< 0,02	1,33	3,89	0,54	0,87	4,19
Стандартное отклонение повторяемости, $s_r$ , мкг/кг	—	0,08	0,25	0,04	0,08	0,26
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	—	5,9	6,4	7,2	8,7	6,2
Предел повторяемости, $r (= 2,8 s_r)$ , мкг/кг	—	0,22	0,69	0,11	0,21	0,72
Стандартное отклонение воспроизводимости, $s_R$ , мкг/кг	—	0,26	0,67	0,10	0,17	0,82
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	—	19,4	17,5	17,9	19,4	19,6
Предел воспроизводимости, $R (= 2,8 s_R)$ , мкг/кг	—	0,72	1,87	0,27	0,47	2,30
Значение Хоррата <sup>3)</sup>	—	0,45	0,47	0,36	0,42	0,54
Восстановление	—	110,8	108,1	нет	нет	нет

<sup>1)</sup> Эти уровни были получены при обогащении материала для холостого испытания неизвестными (кодированными) стандартными растворами.

<sup>2)</sup> Эти уровни являются целевыми (наилучшие оценки) в производстве опытных материалов для испытания.

<sup>3)</sup> Поскольку эти значения ниже 1,5, нет никакого реального влияния на применимость или достоверность этого метода.

Приложение ДА  
(справочное)

**Сравнение структуры международного стандарта со структурой межгосударственного стандарта**

Таблица ДА1

Структура международного стандарта			Структура межгосударственного стандарта		
подраздел	пункт	подпункт	подраздел	пункт	подпункт
-			<i>Раздел 4</i>		
<i>Раздел 4</i>			<i>Раздел 5, 9</i>		
4.1	-	-	5.1	-	-
4.2	-	-	9.1	-	-
4.3	-	-	5.11	-	-
4.4	-	-	5.12	-	-
4.5	-	-	5.14	-	-
4.6	-	-	5.15	-	-
4.7	-	-	5.16	-	-
4.8	-	-	5.2	-	-
4.9	-	-	9.2	-	-
4.10	-	-	5.17	-	-
4.11	-	-	6.1	-	-
4.12	-	-	9.3	-	-
4.13	-	-	9.4	-	-
4.14	-	-	9.5	-	-
4.15	-	-	9.6	-	-
4.16	-	-	5.19	-	-
4.17	4.17.1	-	9.7	9.7.1	-
-	4.17.2	-	-	9.7.2	-
-	4.17.3	-	-	9.7.3	9.7.3.1
-	4.17.4	-	-	-	9.7.3.2
-	-	-	5.3	-	-
-	-	-	5.4	-	-
-	-	-	5.5	-	-
-	-	-	5.6	-	-
-	-	-	5.7	-	-
-	-	-	5.8	-	-
-	-	-	5.9	-	-
-	-	-	5.10	-	-
-	-	-	5.13	-	-
-	-	-	5.18	-	-
<i>Раздел 5</i>			<i>Раздел 6</i>		
5.1	-	-	6.4	-	-
5.2	-	-	6.21	-	-
5.3	-	-	6.5	-	-
5.4	-	-	6.22	-	-
5.5	-	-	6.2	-	-
5.6	-	-	6.3	-	-
5.7	-	-	6.6	-	-
-	-	-	6.7	-	-
5.8	-	-	6.8	-	-
5.9	-	-	6.9	-	-
5.10	-	-	6.10	-	-
5.11	-	-	6.11	6.11.1	-
5.12	-	-	-	6.11.2	-
5.13	-	-	6.12	-	-
5.14	-	-	6.13	-	-
5.15	-	-	6.15	-	-

Окончание таблицы ДА.1

Структура международного стандарта			Структура межгосударственного стандарта		
подраздел	пункт	подпункт	подраздел	пункт	подпункт
5.16	-	-	6.14	-	-
5.17	-	-	6.14	-	-
5.18	-	-	6.16	-	-
5.19	-	-	6.18	-	-
5.20	-	-	6.19	-	-
5.21	-	-	6.20	-	-
-	-	-	6.17	-	-
-	-	-	6.23	-	-
			<i>Раздел 7</i>		
			<i>Раздел 8</i>		
			<i>Раздел 9</i>		
<i>Раздел 6</i>			<i>Раздел 10</i>		
6.1	-	-	10.1	-	-
6.2	-	-	10.2	-	-
6.3	6.3.1	-	10.3	-	-
-	6.3.2	-	10.4	10.4.1	-
-	-	-	-	10.4.2	-
-	6.3.3	-	-	10.4.3	-
6.4	-	-	-	10.4.4	-
6.5	-	-	10.5	-	-
6.6	-	-	<i>Раздел 11</i>		
6.7	-	-	<i>Раздел 12</i>		
6.5	-	-	10.5	-	-
6.6	-	-	<i>Раздел 11</i>		
6.7	-	-	<i>Раздел 12</i>		
<i>Раздел 7</i>			<i>Раздел 13</i>		
7.1	-	-	13.1	-	-
7.2	-	-	13.2	-	-
7.3	-	-	13.3	-	-
<i>Раздел 8</i>			<i>Раздел 14</i>		
<i>Приложение</i>	А		<i>Приложения</i>		А
	-				Б
	-				ДА
<i>Библиография</i>			<i>Библиография</i>		
<b>Примечания</b>					
1 Сравнение структур стандартов приведено начиная с раздела 4, так как предыдущие разделы стандартов и их иные структурные элементы (за исключением предисловия) идентичны.					
2 В соответствии с требованиями ГОСТ 1.5–2001 в настоящий стандарт введен раздел 4 «Требования безопасности».					
3 Раздел 4 международного стандарта представлен в настоящем стандарте разделом 5 «Реактивы» и разделом 9 «Приготовление растворов для испытания»					
4 В раздел 5 настоящего стандарта введены подразделы с неуказанными в международном стандарте реактивами					
5 Раздел 6 настоящего стандарта, соответствующий разделу 5 международного стандарта, дополнен подразделами с указанием используемого оборудования					
6 В соответствии с ГОСТ 1.5–2001 в настоящий стандарт введен раздел 7 «Отбор проб»					
7 В соответствии с ГОСТ 1.5–2001 в настоящий стандарт введен раздел 8 «Подготовка проб»					
8 В соответствии с ГОСТ 1.5–2001 подраздел 6.6 международного стандарта перенесен в раздел 11 настоящего стандарта «Обработка результатов»					
9 В соответствии с ГОСТ 1.5–2001 подраздел 6.7 международного стандарта перенесен в раздел 12 настоящего стандарта «Проверка метода»					
10 В соответствии с ГОСТ 1.5–2001 и ГОСТ 1.3–2008 настоящий стандарт дополнен приложением ДА «Сравнение структуры межгосударственного стандарта со структурой международного стандарта».					



## Библиография

- [1] Werner G., Bestimmung der Aflatoxine in Futtermitteln nach selektiver Reinigung an einer Immunoaffinitätsaeule. *Agribiological Research*, 44 (4), 1991, pp. 289-298
- [2] Laboratory decontamination and destruction of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in laboratory wastes. Castegnaro M., Hunt D.C., Sansone E.B., Schuller P.L., Siriwardana M.G., Telling G.M., van Egmond H.P. and Walker E.A. IARC Scientific publication No. 37, International Agency for Research on Cancer (WHO), Lyon (France), 1980, p. 59
- [3] Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory-wastes: some mycotoxins. Castegnaro, M., Barek J., Fremy J.M., Lafontaine M. Miraglia M., Sansone E.B. and Telling, G.M. IARC Scientific publication No. 113, International Agency for Research on Cancer (WHO), Lyon (France), 1991, p. 63
- [4] ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытания)\*
- [5] Stroka J., Reutter M., von Holst C. and Anklam E. Immunoaffinity column clean-up with liquid chromatography using post-column bromination for the determination of aflatoxin B1 in cattle feed. *JAOAC*, 86 (6), 2003, pp. 1179–1186

---

\* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать:

- в части требований к воде 1 класса - официальным переводом международного стандарта, который имеется в фонде Федерального агентства по техническому регулированию, стандартизации и метрологии;

- в части требований к воде 3 класса - ГОСТ 6709-72, который распространяется на тот же объект и аспект стандартизации и является сопоставимым со ссылочным международным стандартом в части требований к воде 3 класса.

---

УДК 636.085.3:006.354

МКС 65.120

С19

(MOD)

Ключевые слова: корма, комбикорма, афлатоксин В<sub>1</sub>, экстракция, иммуноаффинная очистка, высокоэффективная жидкостная хроматография, послеколоночная дериватизация, флуоресцентное детектирование

---

Подписано в печать 01.04.2014. Формат 60x84<sup>1/8</sup>.  
Усл. печ. л. 2,33. Тираж 31 экз. Зак. 1490

---

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»  
123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)