

# СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ОПТИЧЕСКИХ НАНОСЕНСОРНЫХ СИСТЕМ: ВОССТАНОВЛЕННЫЙ ГЛУТАТИОН И ХЛОРАМФЕНИКОЛ

© А. А. Юшина, М. К. Аленичев

ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений» (ФГУП «ВНИИОФИ»),  
г. Москва, Россия  
e-mail: leighstranger@yandex.ru

Поступила в редакцию – 25 февраля 2021 г., после доработки – 8 марта 2021 г.  
Принята к публикации – 20 марта 2021 г.

*В настоящей работе авторами статьи представлен подход по разработке стандартных образцов предприятия (СОП) для наносенсорной системы на основе динамического рассеяния света и флуоресценции для качественного и количественного определения загрязнителя пищевой продукции – антибиотика хлорамфеникола (левомицетина), а также маркера ишемического инсульта и ряда других заболеваний – восстановленного глутатиона. Материалами-кандидатами СОП были выбраны хлорамфеникол и восстановленный глутатион. Для установления аттестованного значения СОП использовали методику аттестации, основанную на расчетно-экспериментальном методе по процедуре приготовления. В ходе исследования определены метрологические характеристики стандартного образца. Аттестованное значение массовой доли СОП восстановленного глутатиона – 98,5%, расширенная неопределенность аттестованного значения при коэффициенте охвата  $k=2$  составляет  $\pm 0,3\%$ . Аттестованное значение массовой концентрации СОП хлорамфеникола – 10,0 г/дм<sup>3</sup>, расширенная неопределенность аттестованного значения при коэффициенте охвата  $k=2\pm 4,0\%$ . Применение разработанных СОП показало их пригодность для калибровки оптических наносенсорных систем на основе динамического рассеяния света и флуоресценции. Предполагается, что разработанные стандартные образцы предприятия в дальнейшем также могут быть аттестованы в качестве стандартного образца утвержденного типа и быть использованы для поверки, калибровки, градуировки разрабатываемых компактных детектирующих устройств типа «point of care diagnostics», предназначенных для экспресс-анализа непосредственно на месте взятия пробы.*

**Ключевые слова:** стандартный образец, оптическая наносенсорная система, маркер заболевания, загрязнитель пищевой продукции, динамическое рассеяние света, флуоресценция

## Ссылка при цитировании:

Юшина А. А., Аленичев М. К. Стандартные образцы для оптических наносенсорных систем: восстановленный глутатион и хлорамфеникол // Эталоны. Стандартные образцы. 2021. Т. 17. № 1. С. 59–69. <http://dx.doi.org/10.20915/2687-0886-2021-17-1-59-69>.

## For citation:

Yushina A. A., Alenichev M. K. Reference materials for optic nanosensor systems: reduced glutathione and chloramphenicol. *Measurement standards. Reference materials*. 2021;17(1): 59–69. <http://dx.doi.org/10.20915/2687-0886-2021-17-1-59-69> (In Russ.).

# REFERENCE MATERIALS FOR OPTIC NANOSENSOR SYSTEMS: REDUCED GLUTATHIONE AND CHLORAMPHENICOL

© Anna A. Yushina, Mikhail K. Alenichev

All-Russian Scientific Research Institute for Optical and Physical Measurements (VNIIOFI),  
Moscow, Russia  
e-mail: leighstranger@yandex.ru

Received – 25 February, 2021. Revised – 8 March, 2021.  
Accepted for publication – 20 March, 2021.

*The research provides enterprise reference material (ERM) development approach for nanosensor system on the basis of dynamic light scattering and fluorescence for qualitative and quantitative determination of nutrition pollutant – chloramphenicol antibiotic (laevomycesin), as well as marker of ischaemic stroke and a number of other diseases – reduced glutathione.*

*ERM candidate materials were chosen chloramphenicol and reduced glutathione. The attestation procedure based on calculating-experimental approach by preparation procedure was used to determine the certified value of ERM. During the tests there were determined metrological characteristics of reference material. The certified value of ERM for reduced glutathione mass fraction is 98,5%, the expanded uncertainty of certified value with coverage factor  $k=2$  is  $\pm 0,3\%$ . The certified value of ERM for chloramphenicol mass concentration is 10,0 g/dm<sup>3</sup>, the expanded uncertainty of certified value with coverage factor  $k = 2$  is  $\pm 4,0\%$ .*

*The implementation of the developed ERMs showed their appropriateness for optic nanosensor systems calibration on the base of dynamic light scattering and fluorescence.*

*We suppose that the developed enterprise reference materials further may be certified as CRM (certified reference material) and used for verification, calibration and graduation of compact detection devices of the «point of care diagnostics» type under development, which are intended for express analysis on the sampling site directly.*

**Key words:** reference material, optic nanosensor system, disease marker, nutrition pollutant, dynamic light scattering, fluorescence

## Введение

Направление разработки оптических наносенсорных систем в последние годы активно развивается, поскольку уникальные оптические свойства наноразмерных объектов позволяют осуществлять высокочувствительное детектирование химических веществ, микроорганизмов и биологических молекул, включая химические загрязнители пищевых продуктов и объектов окружающей среды, а также маркеров заболеваний [1]. Во многих случаях такие системы позволяют проводить экспресс-анализ непосредственно на месте взятия пробы (point of care diagnostics). Основой для оптических наносенсоров является измерение поглощения, флуоресценции или рассеяния света наночастицами, которые взаимодействуют с анализируемым веществом [2].

Широко распространены оптические наносенсорные системы, основанные на эффекте поверхностного

плазмонного резонанса [3] и на различных эффектах флуоресценции, таких как эффект резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) [4, 5], эффект переноса энергии возбуждения флуорофора [6, 7] или эффект внутреннего фильтра [8, 9]. Кроме того, существует большое количество наносенсорных систем на основе динамического рассеяния света (ДРС) [10–12]. Наносенсорные системы, предназначенные для количественного анализа, требуют построения градуировочных графиков, для чего необходимы стандартные образцы соответствующих аналитов. Требования, предъявляемые к стандартным образцам для наносенсорных систем, включают: соответствие диапазонов концентраций, простоту приготовления рабочих растворов из стандартных образцов, стабильность, чистоту, устойчивость к внешним воздействиям, а также согласование сред. В идеале матрикс стандартного образца

должен соответствовать матриксу образца, который мы собираемся в дальнейшем анализировать. К сожалению, на практике это условие не всегда реализуемо.

Во ФГУП «ВНИИОФИ» (г. Москва) были разработаны оптические наносенсорные системы на основе ДРС и флуоресценции [1, 13]. Система на основе ДРС разработана с использованием подхода конкурентного анализа и предназначена для определения антибиотика хлорамфеникола (торговое наименование левомицетин), противомикробного препарата, являющегося опасным загрязнителем пищевой продукции и питьевой воды, а также сточных вод [14]. Флуоресцентные наносенсорные системы предназначены для детектирования и количественного определения восстановленного глутатиона, маркера ишемического инсульта и ряда других заболеваний, и основаны на эффекте FRET и эффекте переноса энергии возбуждения квантовых точек. Для целей метрологического обеспечения измерений, выполняемых с помощью оптических наносенсорных систем на основе ДРС и флуоресценции, необходимо было разработать стандартные образцы, отвечающие сформулированным выше требованиям и позволяющие воспроизводить массовые концентрации восстановленного глутатиона и хлорамфеникола.

В настоящей статье мы хотим рассмотреть возможность разработки стандартных образцов предприятия, предназначенных для метрологического обеспечения методик измерений хлорамфеникола и восстановленного глутатиона. Определение аттестованных значений массовой концентрации этих аналитов производилось на основе результатов измерений массы, производимых с помощью аналитических весов, прослеживаемых к ГПЭ массы и объема, выполняемых с помощью дозаторов, прослеживаемых к ГПЭ объема жидкости. Метрологические характеристики высокоточных весов и дозаторов, имеющих во ФГУП «ВНИИОФИ», позволяют обеспечить расширенные неопределенности аттестованных значений массовой концентрации, не превышающие 4,0% для хлорамфеникола и 0,3% для восстановленного глутатиона.

## Материалы и методы

### Характеристики материала стандартного образца

#### Восстановленный глутатион

Глутатион ( $\gamma$ -L-Glutamyl-L-cysteinylglycine) – трипептид  $\gamma$ -глутамил-L-цистеинилглицин, состоящий из остатков глутаминовой кислоты, цистеина и глицина. Представляет собой белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, легко растворим в воде, практически не растворим в метаноле и диэтиловом эфире [15].

Материалом-кандидатом для изготовления СОП восстановленного глутатиона был выбран коммерческий продукт фирмы Sigma-Aldrich, CAS № 70-18-8, кат. № PHR1359<sup>1</sup>, со степенью чистоты не менее 98,5%. Представляет собой вторичный эталонный стандарт, разработанный в соответствии с ISO 17034 [16] и ISO/IEC17025 [17]. Вторичный эталонный стандарт был подготовлен гравиметрическим методом с использованием весов, аттестованных и откалиброванных в соответствии с требованиями ISO 17025. Во всех калибровках использовали гири, отслеживаемые по NIST, которые калибруются лабораторией, аккредитованной ISO 17025, в соответствии со стандартами NIST. Прослеживаемость к соответствующему первичному эталону достигается путем прямого сравнительного анализа.

Исследования по оценке однородности кандидата-материала СОП не проводились, так как применение СОП предполагает однократное растворение в деионизованной воде и использование всего имеющегося в пробирке количества материала СОП.

#### Хлорамфеникол

Хлорамфеникол (Chloramphenicol) – антибиотик, вещество которого представляет собой белый кристаллический порошок, тонкие кристаллы или продолговатые пластинки. Хорошо растворим в этаноле, растворим в этилацетате, плохо растворим в воде [18].

Материалом – кандидатом для изготовления СОП хлорамфеникола выбран коммерческий продукт фирмы Sigma-Aldrich, CAS № 56-75-7, кат. № C0378<sup>2</sup>, со степенью чистоты не менее 98,0% (99%).

В качестве растворителя выбрали этанол, соответствующий ГОСТ 5962–2013 [19]. Исследования однородности материала-кандидата СОП не проводили, т. к. вследствие высокой растворимости хлорамфеникола в этаноле молекулы хлорамфеникола равномерно распределены по всему объему раствора за счет броуновской диффузии молекул в жидкости и их одинакового заряда, что обеспечивает близкие друг к другу расстояния между молекулами хлорамфеникола, СОП представляет собой истинный раствор и источники неопределенности, связанные с неоднородностью, отсутствуют.

<sup>1</sup> Pharmaceutical Secondary Standard; Certified Reference Material Glutathione 70-18-8 // Sigma-Aldrich [Сайт]. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/phr1359?lang=en&region=RU> (дата обращения: 15.04.2021)

<sup>2</sup> C0378 Chloramphenicol  $\geq 98\%$  HPLC // Sigma-Aldrich [Сайт]. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c0378?lang=en&region=RU> (дата обращения: 15.04.2021)

Для этих стандартных образцов была выбрана категория «стандартный образец предприятия» (СОП).

**Определение аттестованных значений стандартного образца и оценивание расширенной неопределенности аттестованных значений**

*Восстановленный глутатион*

Определение аттестованного значения СОП осуществлялось производителем материала для СОП, аккредитованным в соответствии с ISO/IEC17025. Для установления аттестованного значения СОП массовой доли восстановленного глутатиона использовалась методика аттестации, основанная на применении стандартного образца восстановленного глутатиона фармакопеи США (US glutathione reference standard).

При определении аттестованного значения массовой доли восстановленного глутатиона использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Условия проведения измерений:

- Колонка: Ascentis Express C18, 4,6×50 мм, 2,7 мкм.
- Подвижная фаза: 6,8 г/л  $K_2HPO_4$  и 2,02 г/л гептансульфоната натрия в воде (pH 3,3) – метанол (96:4).
- Скорость потока: 1 мл/мин.
- Температура исследования: 30 °С.
- Объем пробы: 3 мкл.
- Длина волны детектирования: 210 нм.

В соответствии с данной методикой с помощью стандартного образца глутатиона Фармакопеи США (USP) USP LOT R106J0 с содержанием восстановленного глутатиона 0,99 мг/мг проводили предварительную

калибровку высокоэффективного жидкостного хроматографа с последующим измерением массовой доли восстановленного глутатиона в материале разрабатываемого СОП.

Метрологическая прослеживаемость аттестованного значения СОП устанавливается к стандартному образцу восстановленного глутатиона фармакопеи США.

*Хлорамфеникол*

Аттестованное значение материала – кандидата СОП хлорамфеникола устанавливали расчетным путем по процедуре приготовления, при этом прослеживаемость значений массовой концентрации достигали путем использования средств измерения массы (аналитических весов), прослеживаемых к Государственному первичному эталону единицы массы ГЭТ 3–2020<sup>3</sup>, и средств измерения объема жидкости (дозатора), прослеживаемых к Государственному первичному эталону единицы объема жидкости ГЭТ 216-2018<sup>4</sup>. Схема метрологической прослеживаемости результатов измерений массовой концентрации хлорамфеникола представлены на рис. 1.

<sup>3</sup> ГЭТ 3–2020 Государственный первичный эталон единицы массы (килограмма) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/12/items/1385582>. (дата обращения: 15.04.2021)

<sup>4</sup> ГЭТ 216-2018 Государственный первичный эталон единицы объема жидкости в диапазоне от 1,0-10–9 мЗ до 1,0 мЗ // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/12/items/397905>. (дата обращения: 15.04.2021)



Рис. 1. Схема метрологической прослеживаемости измерений массовой концентрации хлорамфеникола

Fig. 1. Scheme of metrological traceability of chloramphenicol mass concentration measurements

Для установления аттестованного значения СОП массовой концентрации хлорамфеникола использовали методику аттестации, основанную на расчетно-экспериментальном методе по процедуре приготовления [20]. Для определения аттестованных значений массовой концентрации хлорамфеникола использовали следующие средства измерений.

- Весы лабораторные общего назначения I класса точности по ГОСТ OIML R76-1-2011 [21] с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более  $\pm 0,0001$  г.
- Гиря эталонная массой  $1 \text{ мг}^5$  по ГОСТ OIML R111-1-2009 [22].
- Дозатор пипеточный с переменным объемом от 1000 до 10000 мкл<sup>6</sup>. Предел допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности  $\pm 1,0\%$ . Предел допускаемого среднеквадратичного отклонения случайной составляющей относительной погрешности  $1,0\%$ .
- Измеритель параметров микроклимата Метеоскоп-М<sup>7</sup>.

В предварительно взвешенный стеклянный стаканчик для взвешивания с крышкой вместимостью не менее  $10 \text{ см}^3$  помещали навеску хлорамфеникола массой  $0,05 \text{ г}$  куда с помощью дозатора добавляли  $5 \text{ см}^3$  этанола. Стаканчик для взвешивания закрывали крышкой и тщательно перемешивали его содержимое до полного растворения хлорамфеникола в этаноле, после чего полученный раствор переводили в тару для хранения СОП.

При измерении массы навески хлорамфеникола и не переведенного в раствор остатка хлорамфеникола в стеклянном стаканчике для взвешивания с крышкой процедура взвешивания проводили следующим образом.

На чашку весов помещали стаканчик для взвешивания с крышкой и производили его взвешивание 5 раз. На ту же чашу весов добавляли эталонную гирю массой  $1 \text{ мг}$  (действительное значение массы  $1,001 \text{ мг}$ ) и производили ее взвешивание вместе со стаканчиком для взвешивания с крышкой 5 раз.

<sup>5</sup> Гири классов точности E1, E2, F1, F2 и M1 (номер в госреестре 36068–07) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/345346>. (дата обращения: 15.04.2021)

<sup>6</sup> Дозаторы пипеточные одно- и многоканальные (номер в госреестре 37432–13) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/346979>. (дата обращения: 15.04.2021)

<sup>7</sup> Измерители параметров микроклимата (номер в госреестре 32014–11) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/340205>. (дата обращения: 15.04.2021)

Рассчитывали цену одного дискретного отсчета весов ( $\delta m$ ) по формуле:

$$\delta m = \frac{1 \text{ мг}}{(n_{\delta+\Gamma} - n_{\delta})}, \quad (1)$$

где  $n_{\delta+\Gamma}$  – среднее число дискретных отсчетов при взвешивании стаканчика для взвешивания с крышкой с гирей;  $n_{\delta}$  – среднее число дискретных отсчетов при взвешивании чистого стаканчика для взвешивания.

С чашки весов удаляли эталонную гирю, а в стаканчик для взвешивания с крышкой помещали навеску хлорамфеникола и производили взвешивание с навеской 5 раз.

Рассчитывали массу навески ( $m_n$ ) по формуле:

$$m_n = (n_{\delta+n} - n_{\delta}) \cdot 1 \text{ мг}, \quad (2)$$

где  $n_{\delta+n}$  – показания весов при взвешивании стаканчика для взвешивания с крышкой и навеской хлорамфеникола, мг;  $n_{\delta}$  – показания весов при взвешивании стаканчика для взвешивания с крышкой без хлорамфеникола, мг.

Массовую концентрацию хлорамфеникола в растворе  $C$  ( $\text{мг/дм}^3$ ) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{1000 \cdot (m_n - m_o)}{V}, \quad (3)$$

где  $m_n$  – масса навески хлорамфеникола, взятой для приготовления СОП, г;  $m_o$  – масса не переведенного в раствор остатка хлорамфеникола, г;  $V$  – объем этанола, взятого для приготовления СОП,  $\text{см}^3$ .

Массу не переведенного в раствор остатка СОП в стаканчике для взвешивания определяли по формуле 2, в соответствии с вышеописанной процедурой.

Количественная оценка стандартной неопределенности аттестованного значения СОП связана с определением массы навески хлорамфеникола и объемом этанола, используемых для приготовления СОП.

Согласно описанию типа на весы лабораторные аналитические марки Ohaus Explorer Pro модификации EP114C I класса точности, с дискретностью  $0,1 \text{ мг}^8$  систематическая погрешность взвешивания составляет  $0,75 \text{ мг}$ . Аддитивная составляющая систематической погрешности была исключена методом компенсации погрешности по знаку, который предполагает проведение измерений таким образом, чтобы погрешность измерений вошла бы один раз с одним знаком,

<sup>8</sup> Весы электронные (номер в госреестре 16313–08) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/315230>. (дата обращения: 15.04.2021)



а другой раз – с противоположным. В соответствии с этим при определениях массы навески хлорамфеникола и не переведенного в раствор остатка производили по два взвешивания, при одном из которых взвешивали чистую лабораторную посуду, а при другом взвешивали – лабораторную посуду с навеской хлорамфеникола или с не переведенным в раствор остатком. Массу навески определяли как разность между результатами двух названных взвешиваний, в результате чего аддитивную часть систематической погрешности исключали. Неисключенную (мультипликативную) часть систематической погрешности принимали равной дискретности весов, т. е. 0,1 мг. Таким образом, расширенную неопределенность типа В, связанную с техническими характеристиками весов, принимали равной неисключенной части систематической погрешности. В соответствии с этим стандартную неопределенность типа В определяли по формуле:

$$u_B = \frac{d}{1,96}, \quad (4)$$

где  $d$  – дискретность используемых весов, т. е. 0,1 мг.

Стандартную неопределенность типа А, связанную с взвешиванием навески хлорамфеникола, оценивали по формуле:

$$u_A = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (m_i - m_{cp})^2}{n(n-1)}}, \quad (5)$$

где  $m_i$  – результаты измерений массы навески хлорамфеникола, мг,  $m_{cp}$  – среднее арифметическое значение массы навески хлорамфеникола по  $n$  измерениям, мг,  $n$  – количество измерений массы навески хлорамфеникола.

Стандартную неопределенность ( $u_V$ ), связанную с объемом этанола, оценивали, используя данные из свидетельства о поверке используемого пипеточного дозатора, и рассчитывали по формуле:

$$u_V = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}, \quad (6)$$

где  $u_A$  – стандартная неопределенность типа А, принятая равной пределу допускаемого СКО случайной составляющей относительной погрешности, см<sup>3</sup>,  $u_B$  – стандартная неопределенность типа В, принятая равной пределу допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности, см<sup>3</sup>.

Согласно описанию типа на пипеточный дозатор переменного объема от 1000 до 10000 мкл<sup>6</sup> предел допускаемого значения СКО случайной составляющей

относительной погрешности составляет 1,0%, предел допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности составляет  $\pm 1,0\%$ . Значения стандартной неопределенности типа А и типа В принимают равными, соответственно, пределу допускаемого среднеквадратичного отклонения случайной составляющей относительной погрешности и пределу допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности измерения объема этанола.

Суммарную стандартную неопределенность аттестованного значения СОП от способа установления аттестованного значения СОП ( $u_c$ ) оценивали по формуле:

$$u_c = 100 \cdot \sqrt{\left(\frac{1,41 \cdot u_B}{m_n - m_o}\right)^2 + \left(\frac{u_V}{V}\right)^2}, \quad (7)$$

где  $u_c$  – суммарная стандартная неопределенность массовой концентрации хлорамфеникола в стандартном образце, %;  $u_B$  – стандартная неопределенность измерения массы при взвешивании, мг;  $m_n$  – масса навески хлорамфеникола, взятой для приготовления стандартного образца, мг;  $m_o$  – масса не переведенного в раствор остатка хлорамфеникола, мг;  $u_V$  – стандартная неопределенность измерения объема, обусловленная дозатором, см<sup>3</sup>;  $V$  – добавленный объем этанола, взятый для приготовления суспензии, см<sup>3</sup>.

Суммарную стандартную неопределенность аттестованного значения ( $u$ ) принимали равной стандартной неопределенности от способа установления аттестованного значения СОП:

$$u = u_c, \quad (8)$$

где  $u_c$  – стандартная неопределенность от способа установления аттестованного значения СОП, %.

Расширенная неопределенность (при  $k=2$ ) аттестованного значения СОП оценивалась по формуле:

$$U_p = 1,96 \cdot u. \quad (9)$$

Результаты расчета суммарной стандартной и расширенной неопределенностей приведены в табл. 1.

Исследования стабильности материала для обоих СОП не проводили, так как установленный срок годности разрабатываемых СОП значительно меньше, чем установленный срок годности исходного материала СОП. Срок годности СОП восстановленного глутатиона составляет 6 месяцев при сроке годности материала СОП 3 года, а срок годности СОП хлорамфеникола составляет 1 месяц при сроке годности материала СОП (хлорамфеникола) 4 года.

Таблица 1. Результаты характеристик неопределенностей СОП хлорамфеникола  
Table 1. Results of uncertainty characteristics of ERM for chloramphenicol

Характеристика неопределенности СОП	Результат расчета, %
Стандартная неопределенность от способа установления аттестованного значения СОП	2,0
Суммарная стандартная неопределенность	2,0
Расширенная неопределенность аттестованного значения при коэффициенте охвата $k=2$	4,0

## Результаты и обсуждения

### Восстановленный глутатион

Для воспроизведения массовой концентрации восстановленного глутатиона мы разработали СОП массовой доли восстановленного глутатиона. Метрологическими характеристиками СОП восстановленного глутатиона являются массовая доля восстановленного глутатиона в составе СОП и значение расширенной неопределенности аттестованного значения при коэффициенте охвата  $k=2$  (табл. 2). СОП представляет собой порошок с массовой долей аналита 98,5% и предназначен для приготовления рабочих растворов заданной концентрации непосредственно перед их использованием. В качестве растворителя используется деионизованная вода. СОП предназначен для поверки, калибровки, градуировки средств измерений, а также контроля метрологических характеристик при проведении их испытаний; контроля точности результатов измерений и аттестации методик измерений, применяемых на предприятии, при определении массовой концентрации восстановленного глутатиона в воде и других жидких и биологических средах с помощью оптической наносенсорной системы на основе флуоресценции.

В первую очередь разработанный СОП предназначен для построения градуировочных графиков при определении восстановленного глутатиона в неизвестных образцах, поскольку в разработанных ФГУП «ВНИИОФИ»

наносенсорных системах существует прямая зависимость интенсивности флуоресценции квантовых точек от концентрации восстановленного глутатиона. Например, градуировочный график, построенный для измерения концентрации восстановленного глутатиона в образцах плазмы человеческой крови с помощью системы, основанной на эффекте переноса энергии возбуждения квантовых точек, представлен на рис. 2. Разработанная система позволяет определять восстановленный глутатион в диапазоне концентраций от 0 до 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>, что соответствует физиологической концентрации глутатиона в плазме крови.

### Хлорамфеникол

Для воспроизведения массовой концентрации хлорамфеникола был разработан СОП с метрологическими характеристиками, представленными массовой концентрацией хлорамфеникола в этаноле и значением расширенной неопределенности аттестованного значения при коэффициенте охвата  $k=2$  (табл. 2). СОП представляет собой раствор хлорамфеникола в этаноле с массовой концентрацией 10,0 г/дм<sup>3</sup>, предполагается его разбавление для приготовления рабочих растворов заданной концентрации непосредственно перед использованием. Назначение СОП: поверка, калибровка, градуировка средств измерений, а также контроль метрологических характеристик при проведении их

Таблица 2. Метрологические характеристики разработанных СОП  
Table 2. Metrological characteristics for developed ERM

Стандартный образец предприятия	Наименование аттестуемой характеристики	Аттестованное значение	Расширенная неопределенность аттестованного значения при $k = 2$ , %
Восстановленный глутатион	Массовая доля, %	98,5	$\pm 0,3$
Хлорамфеникол	Массовая концентрация, г/дм <sup>3</sup>	10,0	$\pm 4,0$

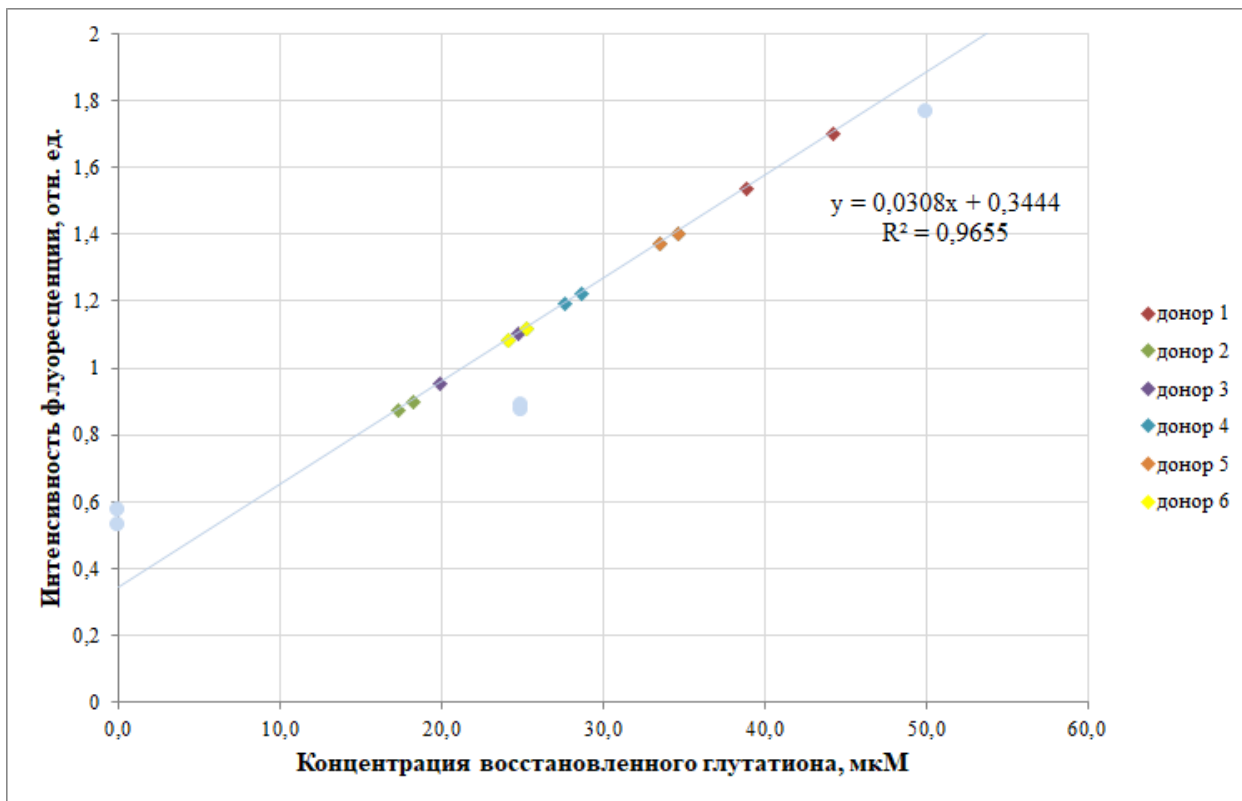


Рис. 2. Градуировочный график и значения концентраций восстановленного глутатиона в плазме, определенные с помощью наносенсорной системы на основе эффекта переноса энергии возбуждения квантовых точек

Fig 2. Calibration chart and values of reduced glutathione concentration in plasma determined with nanosensor system on the base of quantum dots excitation energy carry-over effect

испытаний; контроль точности результатов измерений и аттестации методик измерений, применяемых на предприятии, при определении массовой концентрации хлорамфеникола в воде и жидких и биологических средах, в т. ч. в продуктах питания, пищевом сырье, объектах окружающей среды.

На рис. 3 представлен пример градуировочного графика, построенного для измерения массовой концентрации хлорамфеникола методом ДРС с помощью наносенсорной системы на основе конкурентного анализа, разработанной ФГУП «ВНИИОФИ».

### Заключение

В настоящей статье мы рассмотрели возможность разработки стандартных образцов предприятия, предназначенных для метрологического обеспечения методик измерений хлорамфеникола и восстановленного глутатиона с помощью оптических наносенсорных систем, для определения антибиотика хлорамфеникола (торговое наименование левомицетин) и детектирования, а также количественного

определения восстановленного глутатиона, маркера ишемического инсульта и ряда других заболеваний. Аттестованное значение СОП хлорамфеникола прослеживаются к ГЭТ 3–2020 и ГЭТ 216–2018, а аттестованное значение СОП восстановленного глутатиона прослеживается к стандартному образцу восстановленного глутатиона фармакопеи США.

Разработанные СОП хлорамфеникола и восстановленного глутатиона в дальнейшем могут быть аттестованы в качестве стандартного образца утвержденного типа и использованы для поверки, калибровки, градуировки разрабатываемых компактных детектирующих устройств типа «point of care diagnostics», предназначенных для экспресс-анализа непосредственно на месте взятия пробы.

### Благодарности

Авторы выражают признательность ведущему научному сотруднику лаборатории аналитической спектроскопии и метрологии наночастиц ФГУП «ВНИИОФИ» доктору технических наук Левину Александру



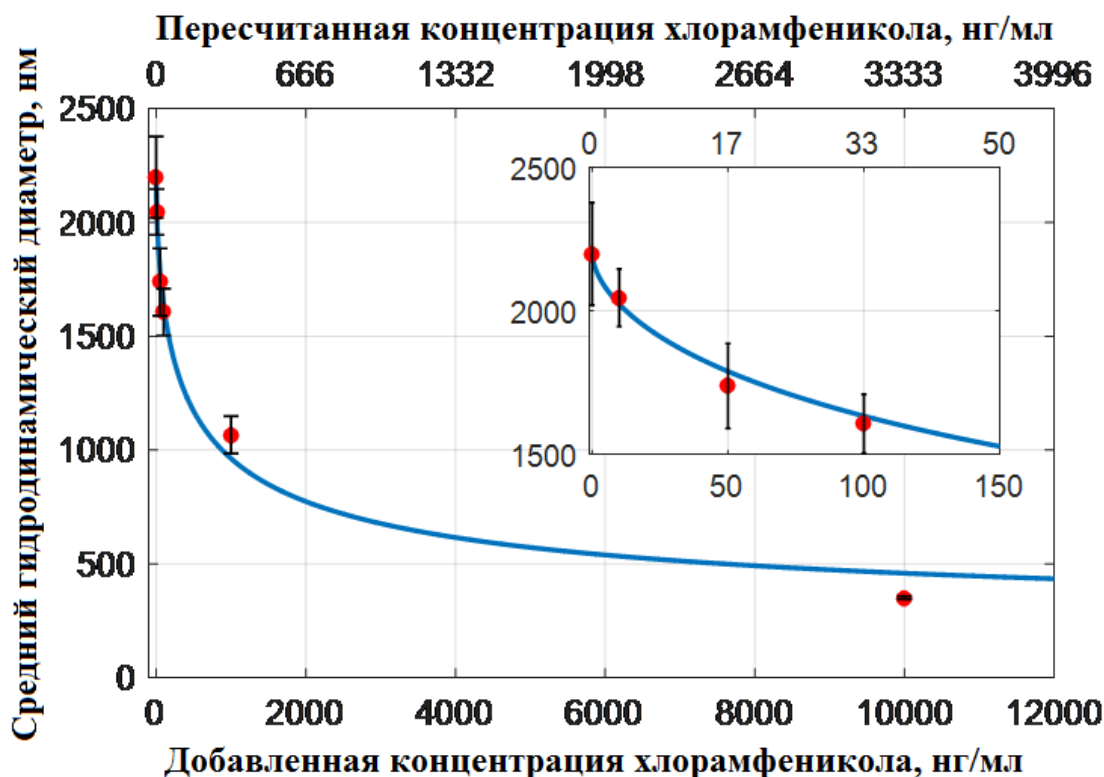


Рис. 3. Зависимость размеров функционализированных золотых наночастиц от концентрации хлорамфеникола в водном растворе

Fig. 3. Functionalized gold nanoparticles size dependence on chloramphenicol concentration in aqueous liquid

Давидовичу за проведенные расчеты и помощь в подготовке к публикации.

Все измерения проводили с использованием оборудования ФГУП «ВНИИОФИ».

#### Вклад соавторов

Юшина А. А.: сбор литературных данных, составление технического задания; получение и обработка экспериментальных данных, анализ экспериментальных данных.

Аленичев М. К.: разработка концепции исследования, получение и обработка экспериментальных данных, оформление документов по испытаниям СО в целях утверждения типа.

#### Конфликт интересов

Материал статьи подготовлен на основе доклада, представленного на IV Международной научной конференции «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (С.-Петербург, 1–3 декабря 2020 г.). Статья допущена к публикации после доработки материалов тезисов доклада, оформления статьи и проведения процедуры рецензирования.

Переводная версия статьи на английском языке планируется к публикации в книге Medvedevskikh S., Sobina E., Kremleva O., Okrepilov M. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2020. Switzerland: Springer, Cham.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Флуоресцентный наносенсор на коллоидных квантовых точках для определения восстановленного глутатиона / Аленичев М. К. [и др.] // Измерительная техника. 2019. № 9. С. 16–21.
2. Yarak M. T., Tan Y. N. Recent Advances in metallic nanobiosensors development: colorimetric, dynamic light scattering and fluorescence detection // Sensors international. 2020. P. 100049. <https://doi.org/10.1016/J.SINTL.2020.100049>.
3. Detection of chloramphenicol using a novel apta-sensing platform based on aptamer terminal-lock in milk samples / M. Javidi [et al.] // Analytica chimica Acta. 2018. Vol. 1039. P. 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.041>.
4. A sensitive label-free FRET probe for glutathione based on CdSe/ZnS quantum dots and MnO<sub>2</sub> nanosheets / Y. Mi [et al.] // Analytical methods. 2018. Vol. 10. № 34. P. 4170–4177. <https://doi.org/10.1039/C8AY01532E>.

5. Ambrin G., Kausar H., Ahmad A. Designing and construction of genetically encoded FRET-based nanosensor for qualitative analysis of digoxin // *Journal of biotechnology*. 2020. Vol. 323. P. 322–330. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.09.008>.
6. Liu J. et al. Highly selective detection of glutathione using a quantum-dot-based OFF–ON fluorescent probe // *Chemical communications*. 2010. Vol. 46. № 17. P. 2971–2973. <https://doi.org/10.1039/b924299f>.
7. Yu L. et al. A fluorescent switch sensor for glutathione detection based on Mn-doped CdTe quantum dots-methyl viologen nanohybrids // *Journal of fluorescence*. 2016. Vol. 26. № 2. P. 651–660. <https://doi.org/10.1007/s10895-015-1751-6>.
8. Wu D. et al. Fluorometric determination and imaging of glutathione based on a thiol-triggered inner filter effect on the fluorescence of carbon dots // *Microchimica Acta*. 2017. Vol. 184. № 7. P. 1923–1931. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2187-2/>
9. Rezaei B., Shahshahanipour M., Ensafi A. A. In situ production of silver nanoparticles for high sensitive detection of ascorbic acid via inner filter effect // *Materials Science and Engineering: C*. 2017. Vol. 71. P. 663–668. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.046>.
10. Heng T., Bott S., Huo Q. Techniques for accurate sizing of gold nanoparticles using dynamic light scattering with particular application to chemical and biological sensing based on aggregate formation // *ACS applied materials & interfaces*. 2016. Vol. 8. № 33. P. 21585–21594. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b06903>.
11. Mustafaoglu N., Kiziltepe T., Bilgicer B. Site-specific conjugation of an antibody on a gold nanoparticle surface for one-step diagnosis of prostate specific antigen with dynamic light scattering // *Nanoscale*. 2017. Vol. 9. № 25. P. 8684–8694. <https://doi.org/10.1039/C7NR03096G>.
12. A rapid blood test to determine the active status and duration of acute viral infection / T. Zheng [et al.] // *ACS infectious diseases*. 2017. Vol. 3. № 11. P. 866–873. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00137>.
13. Dynamic light scattering biosensing based on analyte-induced inhibition of nanoparticle aggregation / A. D. Levin [et al.] // *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2020. Vol. 412. P. 3423–3431. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02605-9>.
14. Разработка методики определения хлорамфеникола в мясных продуктах / Уланова Т. С. [и др.] // *Анализ риска здоровью*. 2013. № 4. С. 82–90. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2013.4.11>.
15. Alanazi A. M., Mostafa G. A. E., Al-Badr A. A. Glutathione // *Profiles of drug substances, excipients and related methodology*. 2015. Vol. 40. P. 43–158.
16. ISO Guide 35–2015 Стандартные образцы – Общие и статистические принципы сертификации (аттестации). Москва: Стандартинформ, 2016. 61 с.
17. ГОСТ ISO/IEC17025–2019 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. Москва: Стандартинформ, 2019. 25 с.
18. Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. Том III. Лекарственные средства синтетического и минерального происхождения // Федеральная электронная медицинская библиотека [сайт]. URL: <http://femb.ru/femb/pharmasorea.phr>. (дата обращения: 15.01.2021).
19. ГОСТ 5962–2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия. Москва: Стандартинформ, 2014. 9 с.
20. PMG 93–2015 Государственная система обеспечения единства измерений. Оценивание метрологических характеристик стандартных образцов // Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов [сайт]. URL: <https://beta.docs.cntd.ru/document/1200138923> (дата обращения: 15.01.2021)
21. ГОСТ OIML R76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания (с Поправкой). Москва: Стандартинформ, 2013. 140 с.
22. Государственная система обеспечения единства измерений. Гири классов точности E (индекса 1), E (индекса 2), F (индекса 1), F (индекса 2), M (индекса 1), M (индекса 1–2), M (индекса 2), M (индекса 2–3) и M (индекса 3). Часть 1. Метрологические и технические требования. Москва: Стандартинформ, 2012. 102 с.

## REFERENCE

1. Alenichev M. K., Yushina A. A., Drozhennikova E. B., Filimonov I. S., Levin A. D., Baranova O. A., Chekanov A. V. Fluorescent nanosensors based on colloidal quantum dots for the determination of reduced glutathione. *Measurement techniques*. 2019;62 (9) 16–21. <https://doi.org/10.1007/s11018-019-01695-x>.
2. Yarak M. T., Tan Y. N. Recent Advances in metallic nanobiosensors development: colorimetric, dynamic light scattering and fluorescence detection. *Sensors international*. 2020;100049. <https://doi.org/10.1016/J.SINTL.2020.100049>.
3. Javidi M., Housaindokht M. R., Verdian A., Razavizadeh B. M. Detection of chloramphenicol using a novel apta-sensing platform based on aptamer terminal-lock in milk samples. *Analytica chimica Acta*. 2018;1039:116–123. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.041>.
4. Mi Y., Lei X., Han H., Liang J., Liu L. A sensitive label-free FRET probe for glutathione based on CdSe/ZnS quantum dots and MnO<sub>2</sub> nanosheets. *Analytical methods*. 2018;10(34):4170–4177. <https://doi.org/10.1039/C8AY01532E>.
5. Ambrin G., Kausar H., Ahmad A. Designing and construction of genetically encoded FRET-based nanosensor for qualitative analysis of digoxin. *Journal of biotechnology*. 2020; 323:322–330. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.09.008>.
6. Liu J., Bao C., Zhong X., Zhao C., Zhu L. Highly selective detection of glutathione using a quantum-dot-based OFF–ON fluorescent probe. *Chemical communications*. 2010;46(17):2971–2973. <https://doi.org/10.1039/b924299f>.
7. Yu L., Li L., Ding Y., Lu Y. A fluorescent switch sensor for glutathione detection based on Mn-doped CdTe quantum dots-methyl viologen nanohybrids. *Journal of fluorescence*. 2016;26(2):651–660. <https://doi.org/10.1007/s10895-015-1751-6>.

8. Wu D., Li G., Chen X., Qiu N., Shi X., G. Chen et al. Fluorometric determination and imaging of glutathione based on a thiol-triggered inner filter effect on the fluorescence of carbon dots. *Microchimica Acta*. 2017;184(7):1923–1931. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2187-2>.
9. Rezaei B., Shahshahanipour M., Ensafi A. A. In situ production of silver nanoparticles for high sensitive detection of ascorbic acid via inner filter effect. *Materials Science and Engineering. C*. 2017;71:663–668. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.046>.
10. Zheng T., Bott S., Huo Q. Techniques for accurate sizing of gold nanoparticles using dynamic light scattering with particular application to chemical and biological sensing based on aggregate formation. *ACS applied materials & interfaces*. 2016;8(33):21585–21594. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b06903>.
11. Mustafaoglu N., Kiziltepe T., Bilgicer B. Site-specific conjugation of an antibody on a gold nanoparticle surface for one-step diagnosis of prostate specific antigen with dynamic light scattering. *Nanoscale*. 2017;9(25):8684–8694. <https://doi.org/10.1039/C7NR03096G>.
12. Zheng T., Finn C., Parrett C. J., Dhume K., Hwang J. H., Sidhom D. A rapid blood test to determine the active status and duration of acute viral infection. *ACS infectious diseases*. 2017;3(11):866–873. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00137>.
13. Levin A. D., Ringaci A., Alenichev M. K., Drozhzhennikova E. B., Shevchenko K. G., Cherkasov V. R., Nikitin M. P., Nikitin P. I. Dynamic light scattering biosensing based on analyte-induced inhibition of nanoparticle aggregation. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2020;412: 3423–3431. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02605-9>.
14. Ulanova T. S., Karnazhitskaya T. D., Pshenichnikova Ye. O., Nakhieva E. A. The development of a method for chloramphenicol determination in meat products. *Health Risk Analysis*. 2013;(4):82–90. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2013.4.11>.
15. Alanazi A. M., Mostafa G. A. E., Al-Badr A. A. Glutathione. In: *Profiles of drug substances, excipients and related methodology*. 2015;(40):43–158.
16. GOST ISO Guide 35–2015 Reference materials. General and statistical principles for certification. Moscow, Standartinform Publ., 2016, 61 p. (In Rus.)
17. GOST ISO/IEC17025–2019 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Moscow, Standartinform Publ., 2019. 25 p. (In Rus.)
18. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Edition XIV. Volume III. Medicines of synthetic and mineral origin. Federal Electronic Medical Library. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.
19. GOST 5962–2013 Rectified ethyl alcohol from food raw materials. Technical conditions. Moscow, Standartinform Publ., 2014. 9 p. (In Rus.)
20. RMG 93–2015 State system for ensuring the uniformity of measurements. Estimation of metrological characteristics of reference materials. (In Rus.) Available at: <https://beta.docs.cntd.ru/document/1200138923>.
21. GOST OIML R76-1-2011 State system for ensuring the uniformity of measurements. Non-automatic weighing instruments. Part 1. Metrological and technical requirements. Tests. Moscow, Standartinform Publ., 2013. 140 p. (In Rus.)
22. State system for ensuring the uniformity of measurements. Weights of classes E1, E2, F1, F2, M1, M1–2, M2, M2–3 and M3. Part 1. Metrological and technical requirements. Moscow, Standartinform Publ., 2012. 102 p. (In Rus.)

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Анна Андреевна Юшина** – инженер лаборатории аналитической спектроскопии и метрологии наночастиц ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений» (ФГУП «ВНИИОФИ»).  
119361, Россия, г. Москва,  
ул. Озерная, 46  
e-mail: leighstranger@yandex.ru

**Михаил Константинович Аленичев** – научный сотрудник лаборатории аналитической спектроскопии и метрологии наночастиц ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений» (ФГУП «ВНИИОФИ»).  
119361, Россия, г. Москва,  
ул. Озерная, 46  
e-mail: alenichev@vniiofi.ru

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Anna A. Yushina** – engineer of Laboratory of optical spectral devices the All-Russian Scientific Research Institute for Optical and Physical Measurements.  
46 Ozernaya str., Moscow,  
119361, Russia  
e-mail: leighstranger@yandex.ru

**Mikhail K. Alenichev** – researcher of laboratory of optical spectral devices the All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements Federal State Unitary Enterprise.  
46 Ozernaya str., Moscow,  
119361, Russia  
e-mail: alenichev@vniiofi.ru