

ИЗМЕРЕНИЯ В ОБЛАСТИ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ: СТАНДАРТНЫЙ ОБРАЗЕЦ СОСТАВА ВОДНОГО РАСТВОРА АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА НАТРИЯ

© М. М. Чугунова, Н. Ю. Грязских, И. Н. Зябликова, А. В. Иванов, А. Н. Шобина

ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений»
(ФГУП «ВНИИОФИ»), г. Москва, Россия

Поступила в редакцию – 25 февраля 2021 г., после доработки – 18 июня 2021 г.

Принята к публикации – 20 июля 2021 г.

В статье авторы оценили возможности использования метода люминометрии, который является одним из наиболее эффективных методов «быстрой микробиологии», в контексте его метрологического обеспечения для применения в ходе проверки уровня санитарии и гигиены на производстве. Приведены ключевые этапы процесса разработки стандартного образца с аттестованным значением аденозинтрифосфата натрия (АТФ): анализ аналогичных стандартных образцов, выбор исходного материала стандартного образца, проведение экспериментальных исследований и установление метрологических характеристик стандартного образца, имеющего прослеживаемость к государственному первичному эталону. С учетом того, что селективная оптическая плотность на характеристической длине волны прямо пропорциональна концентрации поглощающего компонента (аденозинтрифосфата натрия), исследование стабильности СО проводили методом спектрофотометрии. Стабильность материала СО для оценки неопределенности результатов измерений проводили изохронным методом.

В результате исследования подтверждена возможность обеспечения прослеживаемости результатов измерений на основе люминесценции к первичному эталону по концентрации АТФ, подобрано оптимальное значение этой концентрации и установлены метрологические характеристики ГСО 11606–2020 СО состава водного раствора аденозинтрифосфата натрия (массовая концентрация: от 0,09 до 0,11 г/дм³, расширенная неопределенность 0,015 г/дм³). Применение ГСО при проведении испытаний, калибровке и поверке средств измерений позволяет обеспечить непредвзятую оценку измерительных возможностей люминесцентных средств измерений, в том числе в части определения погрешности проводимых измерений.

Ключевые слова: стандартный образец, аденозинтрифосфат натрия, люминесценция, хемилюминометр, биолуминесценция, метрология

Ссылка при цитировании:

Измерения в области люминесценции: стандартный образец состава водного раствора аденозинтрифосфата натрия / М. М. Чугунова [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2021. Т. 17. № 3. С. 35–44. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2021-17-3-35-44>

For citation:

Chugunova M. M., Gryazskikh N. Y., Zyablikova I. N., Ivanov A. V., Shobina A. N. Luminescence measurements: Reference materials for composition of sodium adenosine triphosphate aqueous solution *Measurement standards. Reference materials*. 2021;17(3):35–44. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2021-17-3-35-44> (In Russ.).

LUMINESCENCE MEASUREMENTS: REFERENCE MATERIALS FOR COMPOSITION OF SODIUM ADENOSINE TRIPHOSPHATE AQUEOUS SOLUTION

© Marina M. Chugunova, Natalia Yu. Gryazskikh, Irina N. Zyablikova, Alexander V. Ivanov,
Anna N. Shobina

The All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements, Moscow, Russia
e-mail: griazskikh@vniiofi.ru

Received – 25 February, 2021. Revised – 18 June, 2021.

Accepted for publication – 20 July, 2021

The authors evaluated the possibility of using the luminometry method which allows checking the level of sanitation and hygiene in industries and is one of the most effective methods of «rapid microbiology». Such key stages of development of reference material for sodium adenosine triphosphate with the certified values as analysis of similar reference materials, selection of source material of the reference material, conducting experimental studies, and establishing the metrological characteristics of reference material with traceability to state primary measurement standard were provided in the paper. Considering that the selective optical density at the characteristic wavelength is directly proportional to the concentration of the absorbing component (sodium adenosine triphosphate), the stability of RM was studied by spectrophotometry. The stability of the RM material to assess the uncertainty of the measurement results was carried out by the isochronous method.

The result of the study is the possibility of ensuring the traceability of measurement results based on luminescence to primary measurement standard by sodium adenosine triphosphate concentration. In addition to the above, the authors selected the optimal value of that concentration and established metrological properties for GSO 11606–2020 RM for the composition of sodium adenosine triphosphate aqueous solution (mass concentration: from 0,09 to 0,11 g/dm³; extended uncertainty: 0,015 g/dm³). Usage of this CRM in performing tests, calibrations, and verification of measuring instruments allows providing the unbiased assessment of the measuring capabilities of luminescent measuring instruments, including in terms of determining the error of the measurements carried out.

Keywords: reference material, sodium adenosine triphosphate, luminescence, chemiluminometer, bioluminescence, metrology

Введение

Повышение качества выпускаемой продукции, улучшение ее потребительских свойств и продление сроков хранения – то, к чему стремятся производители пищевой продукции всего мира. Необходимое условие для достижения этих целей – высокий уровень санитарии и гигиены на всех производственных участках и объектах предприятия. Согласно требованиям технического регламента Таможенного союза ТР ТС 021/2011 [1], с февраля 2015 г., во всех компаниях и предприятиях, которые занимаются производством или фасовкой пищевой продукции, должна быть внедрена система менеджмента качества HACCP¹[2]. Система менеджмента

качества HACCP широко используется для обеспечения безопасности производственных процессов, а также снижения рисков, которые могут возникнуть в процессе производства и реализации пищевой продукции.

В. Golic [3] провел анализ данных и рассмотрел результаты применения стандартных методов исследования² на определение степени биологического и ино-

² For the microbiological examination of swab samples, the following stand were used:

–BAS EN ISO 4833:2006 (Microbiology of food and animal feeding stuffs, 2006) for determining the number of microorganisms

–BAS ISO 21528-2:2008 (Microbiology food and animal feeding stuffs, 2013) for determining the number of enterobacteria

–BAS EN ISO 11290-1/A1:2005 (Microbiology of food and animal feeding stuffs, 2005) for the detection of *Listeria monocytogenes*

–BAS EN ISO 6579/Cor2:2010 (Microbiology of food and animal feeding stuffs, 2010) for the detection of *Salmonella* spp.

¹ Hazard Analysis and Critical Control Points / Анализ рисков и критические контрольные точки.



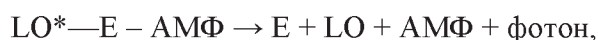
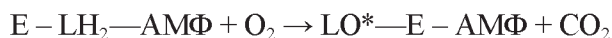
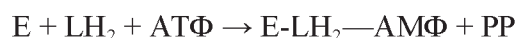
го загрязнения производственных поверхностей, воды и рук персонала. Из приведённых в работе В. Golis сведений следует, что применяемые стандартные методы исследования имеют существенный недостаток – длительный срок получения результатов. При этом, поскольку согласно требованиям НАССР [2] после циклов мойки и дезинфекции оборудования на производстве необходимо дополнительно выполнять контроль остатков продукции, проведение соответствующих измерений сильно затягивает процедуру проверки. Авторы полагают, что для эффективной работы системы менеджмента качества обеспечивающий высокий уровень санитарии и гигиены, при коротких временных затратах, оптимальным методом исследования является люминиметрия – метод «быстрой микробиологии» [4]. Для примера в табл. 1 приведен сравнительный анализ времени получения результатов степени биологического загрязнения различными методами.

Принцип работы люминиметров основан на явлении биолюминесценции. Это способность рабочего вещества тест-системы в смеси с продуктами жизнедеятельности микроорганизмов выделять световую энергию при определенных химических реакциях.

Одним вариантом анализа наличия в тестовом образце негативных загрязняющих факторов является оценка по интенсивности биолюминесцентного свечения интегрального показателя экологического загрязнения [5–8]. В этом случае количественно указанные величины обратно пропорциональны: т. е. чем выше загрязнение, тем ниже интенсивность люминесцентного сигнала, поскольку загрязнители угнетают ферментативные реакции в живых организмах.

Альтернативным вариантом исследования образцов с помощью биолюминесценции [9] является анализ, в котором интенсивность регистрируемого сигнала прямо пропорциональна концентрации биоорганизмов или их остатков. Такая возможность обусловлена тем, что во всех объектах животного и растительного

происхождения (включая частицы соответствующих пищевых продуктов), живых и мертвых бактериях, грибах и других микроорганизмах присутствует молекула аденозинтрифосфата (АТФ) [10]. В ходе анализа происходит реакция взаимодействия молекулы АТФ и рабочего вещества (люциферина и люциферазы), в результате которой появляется свечение, пропорциональное имеющемуся количеству АТФ. Люциферины и люциферазы разных организмов отличаются по химическому строению, однако все хемилюминесцентные (биолюминесцентные) реакции требуют молекулярного кислорода и протекают с образованием промежуточных комплексов – органических пероксидных соединений. В процессе реакции эти комплексы распадаются, высвобождается энергия фотона, возбуждающая молекулы вещества, ответственного за светоизлучение:



где АТФ – аденозинмонофосфат, АМФ – аденозинмонофосфат, PP – пирогосфат, E – люцифераза, LH₂ – люциферин, LO* и LO – продукт реакции (оксилюциферин) в возбуждённом и основном состояниях, соответственно, LO*-E-AMФ – промежуточный комплекс.

Квантовый выход биолюминесцентных реакций очень высок (от 10 до 100%). Столь значительная эффективность процесса достигается за счёт участия высокоспецифичного белкового биокатализатора – люциферазы. Экспериментально было показано [11–12], что после измерения силы этого свечения можно определить степень биологического загрязнения исследуемого участка. Чем больше свечение – тем больше микроорганизмов. При отсутствии АТФ, то есть при отсутствии микроорганизмов, биолюминесценция не наблюдается.

Люминиметры измеряют интенсивность выделяемого образцом света и отображают результат тестирования

Таблица 1. Сравнительный анализ времени получения результатов степени биологического загрязнения методами «прямая микробиология», «ПЦР в реальном времени», «люминиметрия»

Table 1. Comparative analysis of the time of obtaining the results of the degree of biological contamination by direct microbiology, real-time PCR, luminometry

Метод диагностики	Время получения результата
Прямая микробиология	6–30 часов
ПЦР в реальном времени	1,5 часа
Люминиметрия	15 секунд

в относительных световых единицах (RLU). Хотя относительные световые единицы не являются реальной физической величиной измерения интенсивности света, тем не менее, они позволяют объективно оценивать интенсивность биолюминесценции, зависящую от концентрации АТФ. Например, для приборов SystemSURE Plus производства фирмы Hygiene International Ltd. (Великобритания) 1 RLU биолюминесценции, примерно, соответствует 1 фемтомоль (10^{-15} моля) АТФ. Как показано в [13], такое количество внутриклеточного АТФ содержится в нескольких микробных клетках, что эквивалентно единичным КОЕ на питательной среде. Однако далеко не все представленные на рынке приборы имеют аналогичную калибровку, как результат – у люминометров различных производителей при одинаковом уровне загрязненности поверхности микроорганизмами значение в RLU значительно различаются, перевод полученных значений в соответствующее количество АТФ требует дополнительных действий.

Метрологическая прослеживаемость люминесцентных приборов устанавливается с помощью градуировочных графиков, в которых значения интенсивности биолюминесценции в RLU привязывается к концентрации раствора АТФ. Проведенный анализ показал, что в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений (ФИИ) находится несколько десятков утвержденных типов приборов люминометров и анализаторов³, средством поверки для которых выступают аттестованные растворы АТФ.

³Анализаторы биохемилюминесцентные, БЛМ-3607 (номер в госреестре 67901–17) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/381901>

Люминометры, SystemSURE Plus (номер в госреестре 49261–17) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/360887>

Люминометры, EN SURE (номер в госреестре 56653–14) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/369395>

Люминометры, Celsis Advance, Celsis Innovate (номер в госреестре 55907–13) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/368534>

Люминометры, Clean-Trace™ NG (номер в госреестре 53186–13) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/365477>

Люминометры, SystemSURE Plus (номер в госреестре 49261–12) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/360886>

Люминометр, AutoLumatPlus LB953 (номер в госреестре 47134–11) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/358334>

Люминометры, ЛЮМ-1 (номер в госреестре 35590–07) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/344740>

Анализ данных ФИИ в части средств измерений на основе хеми- или биолюминесценции показал, что в России при проведении испытаний с целью утверждения типа средств измерений обеспечение метрологической прослеживаемости приборов люминометров затруднено из-за отсутствия утвержденных мер и стандартных образцов. Перед авторами была поставлена задача разработать стандартный образец водного раствора аденозинтрифосфата натрия (АТФ), для обеспечения метрологической прослеживаемости люминесцентных приборов к единице массовой концентрации.

Цель настоящей работы – рассмотреть основные аспекты процесса разработки стандартного образца с аттестованным значением аденозинтрифосфата натрия: провести анализ аналогичных стандартных образцов, выбрать исходный материала стандартного образца, провести экспериментальные исследования, на их основе установить метрологические характеристики стандартных образцов, которые имеют прослеживаемость к Государственному первичному эталону единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов (ГЭТ 196–2015)⁴.

Материалы и методы

Материал стандартных образцов

Перед началом разработки авторы провели анализ выпущенных стандартных образцов/ reference material с различными аттестованными характеристиками аденозинтрифосфата натрия. Как показало исследование,

Анализаторы иммунохемилюминесцентные, IMMULITE One, IMMULITE1000 (номер в госреестре 28472–04) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/335472>

Анализаторы иммунохемилюминесцентные, IMMULITE2000 (номер в госреестре 28471–04) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/335471>

Анализаторы биолюминесцентные, LIGHTNING MVP (номер в госреестре 24757–03) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/330022>

Анализатор оксидов азота хемилюминесцентный, 2108 (номер в госреестре 20939–01) // Фед. информ. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/4/items/323730>

⁴ГЭТ 196–2015 Государственному первичному эталону единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов // Федер. информац. фонд по обеспеч. единства измерений [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/12/items/397882>

стандартных образцов утвержденного типа с аттестованной характеристикой концентрации АТФ отечественного производства в ФИФ зарегистрировано не было. Анализ выпускаемых reference material таких зарубежных метрологических институтов, как NIST (США) и BAM (Германия), также не выявил наличия образцов с аттестованной характеристикой концентрации АТФ. В то же время на сайте компании Sigma-Aldrich Production GmbH⁵ представлен большой выбор натриевых солей АТФ различной чистоты (см. табл. 2) производства «Merck» (Германия) – одного из крупнейших производителей высокотехнологичных материалов для биофармацевтики и наук о жизни. Указанные в табл. 2 материалы применяются, в частности, для биолуминесцентных исследований.

Однако ввиду высокой стоимости вышеуказанных материалов от их применения в качестве основы для изготовления стандартных растворов было решено отказаться. В качестве исходного реактива для материала кандидата СО был выбран водорастворимый реагент производства «Xi'an Lyphar Biotech Co., LTD» (КНР)⁶, по степени чистоты не уступающий вышеуказанным аналогами (массовая доля основного компонента не менее 99,3 %).

Оборудование и экспериментальные исследования

Стандартные образцы состава водного раствора аденозинтрифосфата натрия изготавливались путем

⁵ Sigma-Aldrich Production GmbH [сайт]. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/russian-federation.html>.

⁶ Adenosine triphosphate // Xi'an Lyphar Biotech Co. [сайт]. URL: <https://www.cphi-online.com/adenosine-triphosphate-prod951742.html>

растворения исходного реактива аденозинтрифосфата натрия в дистиллированной воде. Для приготовления водного раствора аденозинтрифосфата натрия использовались следующее оборудование и материалы: весы лабораторные Sartorius ME36S, класс точности специальный (1) по ГОСТ OIML R76-1-2014; колбы мерные – 1 класса точности по ГОСТ 1770; дистиллятор Д-4 ТУ 64-1-1640-72.

Работы по определению чистоты исходного реактива проводились на входящем в состав ГЭТ 196-2015 хромато-масс-спектрометре 320-MS (Varian B. V., Нидерланды). Хроматограмма исходного реагента в исследуемом материале водорастворимого реагента (рис. 1) не выявила наличия примесей, поэтому за чистоту исходного материала была принята массовая доля основного компонента аденозинтрифосфата натрия 99,3 %.

Поскольку селективная оптическая плотность на характеристической длине волны прямо пропорциональна концентрации поглощающего компонента (аденозинтрифосфата натрия), авторами было принято решение проводить исследование методом спектрофотометрии. Метод позволяет измерить концентрацию растворенных веществ по количеству поглощаемого раствором света. Оптическую плотность раствора аденозинтрифосфата натрия в проходящем свете измеряли на характеристической длине волны 258 нм (рис. 2).

Для обеспечения независимости результатов измерения, аттестованные значения массовой концентрации аденозинтрифосфата натрия определяли на основе градуировки, для которой в качестве базы градуировочных растворов был выбран порошок чистого вещества аденозинтрифосфата натрия производителя MP

Таблица 2. Аденозинтрифосфат натрия различной чистоты, производитель «Merck» (ранее Sigma-Aldrich Production GmbH)

Table 2. Sodium adenosine triphosphate of various purity, manufacturer «Merck» (formerly Sigma-Aldrich Production GmbH)

Номер образца	Наименование образца	Назначение
FLAAS	Adenosine 5'-triphosphate (ATP) disodium salt hydrate (lyophilized powder, ~1 mg ATP)	Используется в качестве стандарта для измерения АТФ методом биолуминесценции
A26209	Adenosine 5'-triphosphate disodium salt hydrate, 99 %	АТФ служит коферментом в широком спектре ферментативных реакций, субстрат для АТФ-зависимых ферментативных систем
A2383	Adenosine 5'-triphosphate disodium salt hydrate, ≥99 %	Используется для приготовления стандартных растворов аденозинтрифосфата (АТФ) для определения уровня АТФ в различных бактериальных культурах

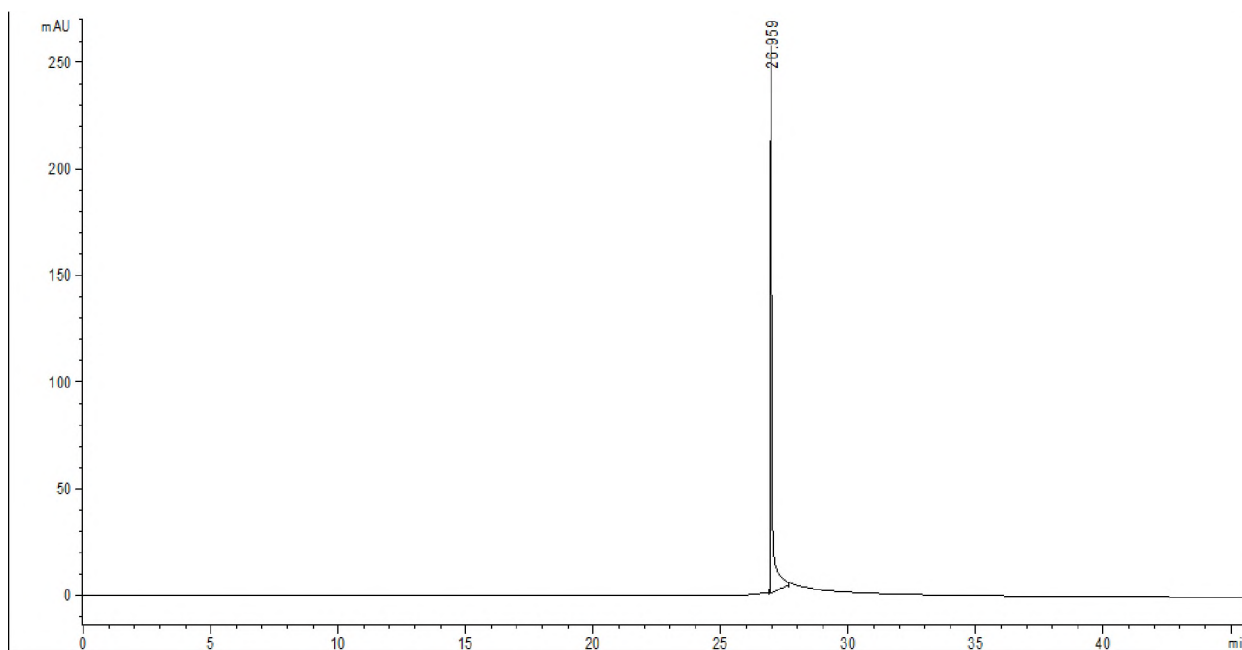


Рис. 1. Хроматограмма исходного реагента производства «Xi'an Lyphar Biotech Co., LTD»
 Fig. 1. Chromatogram of the initial reagent produced by «Xi'an Biotechnology Company Lyphar, LTD»

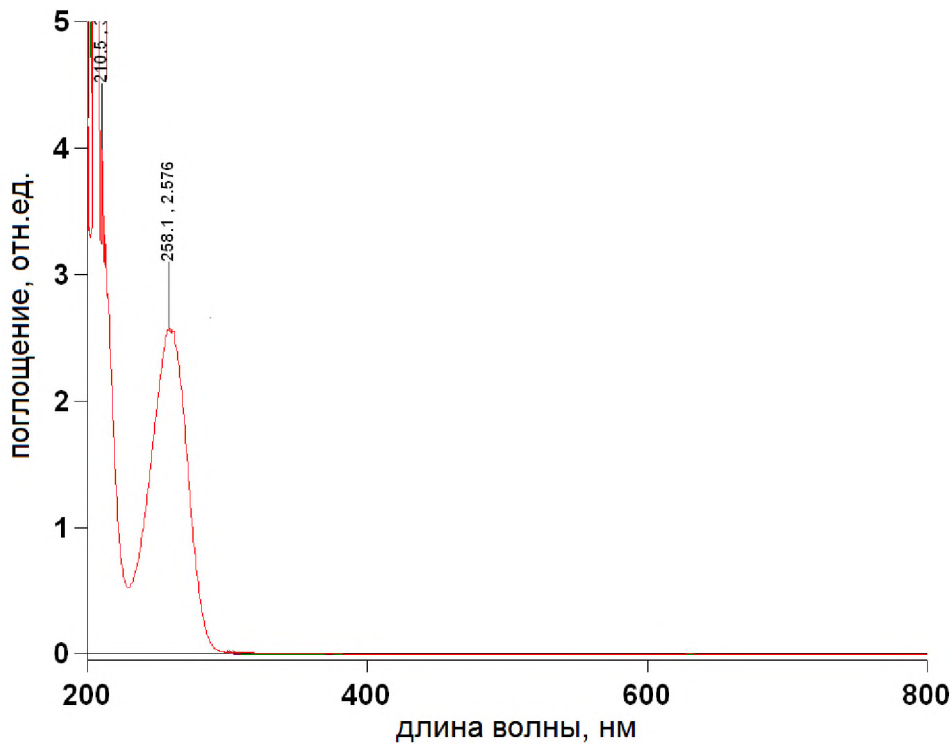


Рис. 2. Спектр поглощения исследуемых растворов аденозинтрифосфата натрия в проходящем свете
 Fig. 2. Absorption spectrum of the solutions of sodium adenosine triphosphate under study in transmitted light

«Biomedicals, LLC» (массовая доля основного вещества по данным производителя – 99,2 %).

Величину оптической плотности растворов измеряли методом спектрофотометрии с использованием Спектрофотометра Cary 50 (Varian Ltd, Австралия) из состава ГЭТ 196-2015, с метрологическими характеристиками:

- спектральный диапазон 190–1100 нм;
- диапазон измерений спектральных коэффициентов направленного пропускания от 0 до 100 %;
- пределы допускаемой абсолютной погрешности спектрофотометра при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания $\pm 1,0$ %;
- пределы допускаемой абсолютной погрешности установки длин волн $\pm 1,0$ нм.

Оценка стабильности материала стандартного образца

Исследование нестабильности стандартных образцов проводилось в соответствии с РМГ 93–2015 [14]. Для этого пробы СО были разделены на две части и в течение 30 дней хранили: одну из часть при температуре $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$, вторую часть при температуре 40°C (что соответствует одному году хранения при температуре 5°C). В период хранения было проведено семь пар измерений в условиях повторяемости.

Для растворов концентрацией порядка $0,1 \text{ г/дм}^3$ и более статистически значимого изменения за период исследования стабильности не обнаружено. Для образцов с меньшей концентрацией наблюдалось изменение оптических характеристик, свидетельствующее о необратимых изменениях. Поскольку для метрологического применения необходимы образцы с минимально стабильной концентрацией, значение $0,1 \text{ г/дм}^3$ было выбрано в качестве базового для СО.

Оценка неопределенности аттестованного значения стандартного образца

Суммарную стандартную неопределенность аттестованного значения СО определяли по формуле:

$$u_c = \sqrt{u_{\text{char}}^2 + u_{\text{stab}}^2 + u_M^2}, \quad (1)$$

где u_{char} – стандартная неопределенность от способа определения аттестованного значения СО,

u_{stab} – стандартная неопределенность от нестабильности СО,

u_M – стандартная неопределенность от чистоты исходного материала (по данным производителя $u_M = 1$ %).

Расширенную неопределенность U вычисляли исходя из суммарной стандартной неопределенности u_c и коэффициента охвата $k=2$ по формуле:

$$U = ku_c$$

По итогам расчётов, учитывающих стабильность растворов и погрешность метода, были получены следующие значения массовой концентрации аденозинтрифосфата и расширенной неопределенности аттестованного значения массовой концентрации аденозинтрифосфата натрия (табл. 3).

Результаты и обсуждение

В результате работы были исследованы физические и метрологические характеристики водных растворов аденозинтрифосфата натрия и разработан СО. В качестве исходного чистого вещества выбран реагент производства «Xi'an Lyphar Biotech Co., LTD», чистота которого была проверена методом хромато-масс-спектрометрии. Стабильность растворов проверена с использованием метода спектрофотометрии.

В результате исследования была подтверждена возможность обеспечения прослеживаемости результатов измерений на основе метода люминесценции к ГЭТ 196-2015 по значению концентрации аденозинтрифосфата натрия, подобрано оптимальное значение этой концентрации и установлены метрологические характеристики разработанного СО (массовая концентрация аденозинтрифосфата натрия: от $0,09$ до $0,11 \text{ г/дм}^3$, расширенная неопределенность $0,015 \text{ г/дм}^3$). Путём растворения исходного ГСО согласно рекомендациям паспорта могут быть получены концентрации до $0,000001 \text{ г/дм}^3$,

Таблица 3. Метрологические характеристики стандартного образца

Table 3. Metrological properties of the reference material

Наименование	Аттестуемая характеристика (массовая концентрация), г/дм ³	Расширенная неопределенность (при $k=2$), г/дм ³
Стандартный образец состава водного раствора аденозинтрифосфата натрия*	0,09–0,11	0,015

* Производитель СО – Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений» (ФГУП «ВНИИОФИ»), г. Москва

что для дозирования в 5 мкл соответствует количеству вещества порядка 10 фмоль, т. е. отвечает современным требованиям по пределу обнаружения представленных на рынке средств измерений. Разработанный СО не имеет аналогов на российском рынке.

Заключение

Обеспечение метрологической прослеживаемости средств измерений на основе люминесцентных приборов к единице массовой концентрации было затруднено из-за отсутствия утвержденных мер и стандартных образцов. В результате выполненных исследований разработан стандартный образец утвержденного типа состава водного раствора аденозинтрифосфата натрия ГСО 11606–2020. Установлены метрологические характеристики: аттестуемая характеристика – массовая концентрация аденозинтрифосфата натрия, г/дм³; интервал допускаемых аттестованных значений массовой концентрации аденозинтрифосфата натрия в СО: 0,09–0,11 г/дм³; допускаемое значение абсолютной расширенной неопределенности (при коэффициенте охвата $k=2$) 0,015 г/дм³. Данные образцы являются первыми стандартными образцами утвержденного типа, обладающими прослеживаемостью к Государственному первичному ГЭТ 196-2015, что обеспечивает метрологическую прослеживаемость и достоверность результатов измерений при поверке, калибровке и испытаниях средств измерений (хемилуминометров, биоанализаторов и т. п.). Использование указанного ГСО позволяет обеспечить непредвзятую оценку измерительных возможностей соответствующих люминесцентных средств измерений, в том числе в части определения погрешности проводимых измерений. Разработанный ГСО может быть использован для обеспечения единства измерений в области АТФ-люминометрии для хранения, воспроизведения и передачи единицы массовой концентрации.

Одним из возможных способов совершенствования ГСО 11606–2020 в перспективе может стать разработка

системы последующего прецизионного экспресс-разбавления исходного раствора ГСО до более низких концентраций непосредственно перед измерением на территории пользователя.

Благодарности

Авторы выражают благодарность М. Ю. Ларионову и А. О. Еленскому за содействие в поставке исходных материалов для исследования.

Все измерения проводили с использованием оборудования ФГУП «ВНИИОФИ».

Вклад соавторов

Чугунова М. М.: разработка концепции исследования; организация экспериментальных работ по аттестации СО в межлабораторном эксперименте; получение и обработка экспериментальных данных.

Грязских Н. Ю.: разработка концепции исследования, критический анализ и доработка текста.

Зябликова И. Н.: выполнение вычислений; оформление документов по испытаниям СО в целях утверждения типа; фасовка, упаковка.

Иванов А. В.: разработка концепции исследования; организация экспериментальных работ по аттестации СО в межлабораторном эксперименте.

Шобина А. Н.: составление технического задания; сбор литературных данных; критический анализ и доработка текста.

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.).

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. ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции // Законы, кодексы и нормативно-правовые акты Российской Федерации [сайт]. URL: <https://legalacts.ru/doc/reshenie-komissii-tamozhennogo-soiuza-ot-09122011-n-880-o/>
2. Karen L., Schlosser W. Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) History and Conceptual Overview // Risk Analysis. 2002. № 3. P. 547–552. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.00038>
3. Microbiological purity testing in food production and marketing / B. Golc [et al.] // Veterinary journal of republic of Srpsk. 2019. Vol. 19. № 1. <https://doi.org/10.7251/VETJEN1901064G>
4. Osimani A., Aquilanti L., Clementi F. The luminometer as a useful tool in the assessment of surface cleanliness: The case study of a university canteen // Industrie Alimentari. 2014. Vol. 53. № 545. p. 12–18.
5. Анализ возможности применения биолюминесцентных ферментативных биотестов для оценки загрязнения почв (на примере почв г. Красноярска) / Е. М. Байгина [и др.] // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». 2017. Т. 21. С. 21–30.

6. Морозова Е. В. Использование биотестирования как интегрального метода оценки токсичности факторов окружающей среды // Тенденции развития науки и образования. 2017. № 26–3. С. 9–12. <https://doi.org/10.18411/lj-31-05-2017-39>
7. Simbekova E. N., Kondik A. M., Kratasyuk V. A. Bioluminescent enzymatic rapid assay of water integral toxicity // Environmental Monitoring and Assessment. 2013. Vol. 185, № 7. P. 5909–5916. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2994-1>
8. Soil ciliates of the Indian Delhi Region: Their community characteristics with emphasis on their ecological implications as sensitive bio-indicators for soil quality / J. S. Abraham [et al.] // Saudi Journal of Biological Sciences. 2019. Vol. 26. № 6. P. 1305–1313. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.04.013>
9. Kim S. B. Bioluminescence: Methods and protocols // Methods in Molecular Biology book series. 2016. Vol. 1461. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3813-1>
10. Gayford C. Adenosine Triphosphate // Energy and Cells: Dimensions of Science. London: Palgrave. 1986. https://doi.org/10.1007/978-1-349-08159-2_2
11. Сеземин И. А. Применение экспресс-метода АТФ-люминиметрии при санитарно-гигиенических исследованиях в пищевой промышленности // Пищевая промышленность. 2007. Т. 3. С. 18–19.
12. Use of firefly luciferase for ATP measurement: other nucleotides enhance turnover / S. R. Fordet [et al.] // Biolumin Chemilumin. 1996. Vol. 11. № 3. P. 149–167. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1271\(199605\)11:3<149::ПОМОЩЬ-БИО411>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1271(199605)11:3<149::ПОМОЩЬ-БИО411>3.0.CO;2-Q)
13. Зверев Д. С. Определение количества живых микробных клеток в противобруцеллезных вакцинах биолюминесцентным методом: Дис. ... канд. биол. наук: 16.00.03 / Зверев Дмитрий Сергеевич; [Место защиты: Всерос. гос. центр качества и стандартизации лекарств, средств и кормов для животных]. Москва, 2008. 23 с.
14. РМГ 93–2015 ГСИ. Оценивание метрологических характеристик стандартных образцов. М.: Стандартинформ, 2011. 30 с.

REFERENCE

1. TR CU021/2011 Technical regulations of the customs union «On food safety». Available at: <https://legalacts.ru/doc/reshenie-komissii-tamozhennogo-soiuz-a-ot-09122011-n-880-o/>. (In Russ.).
2. Karen L., Schlosser W. Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) History and Conceptual Overview. Risk Analysis. 2002;(3):547–552. <https://doi.org/10.1111/0272-4332.00038>
3. Golic B., ILIC T., Kalaba V., GOLIC M. Microbiological purity testing in food production and marketing. Veterinary journal of republic of Srpsk. 2019;19(1). <https://doi.org/10.7251/VETJEN1901064G>
4. Osimani A., Aquilanti L., Clementi F. The luminometer as a useful tool in the assessment of surface cleanliness: The case study of a university canteen. Industrie Alimentari. 2014;53(545):12–18.
5. Baigina E. M., Rimatskaya N. V., Stepanova L. V., Kratasyuk V. A. On the possibility of application of bioluminescent enzyme system for the analysis of soil contamination of the Krasnoyarsk territory. Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Biologiya. Ecologiya». 2017;21:21–30. (In Russ.).
6. Morozova E. V. The use of biotesting as an integral method for assessing the toxicity of environmental factors. Trends in the development of science and education. 2017;(26–3):9–12. (In Russ.). <https://doi.org/10.18411/lj-31-05-2017-39>
7. Simbekova E. N., Kondik A. M., Kratasyuk V. A. Bioluminescent enzymatic rapid assay of water integral toxicity. Environmental Monitoring and Assessment. 2013;185(7):5909–5916. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2994-1>
8. Abraham J. S. et al. Soil ciliates of the Indian Delhi Region: Their community characteristics with emphasis on their ecological implications as sensitive bio-indicators for soil quality. Saudi Journal of Biological Sciences. 2019;26(6):1305–1313. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.04.013>
9. Kim S. B. Bioluminescence: Methods and protocols. Methods in Molecular Biology book series. 2016;1461. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3813-1>
10. Gayford C. Adenosine Triphosphate. In: Energy and Cells: Dimensions of Science. London: Palgrave; 1986. https://doi.org/10.1007/978-1-349-08159-2_2
11. Sezemin I. A. Use of express train-method adenosine triphosphate-luminometry at sanitary-and-hygienic researches in food processing industry. Food industry. 2007;(3):18–19. (In Russ.).
12. Fordet S. R. et al. Use of firefly luciferase for ATP measurement: other nucleotides enhance turnover. Biolumin Chemilumin. 1996;11(3):149–167. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1271\(199605\)11:3<149::ПОМОЩЬ-БИО411>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1271(199605)11:3<149::ПОМОЩЬ-БИО411>3.0.CO;2-Q)
13. Zverev D. S. Determination of the number of living microbial cells in anti-brucellosis vaccines by the bioluminescent method: Dissertation of the candidate of biological sciences. Moscow; 2008. 23 p. (In Russ.).
14. RMG 93–2015 GSI. State system for ensuring the uniformity of measurements. Estimation of metrological characteristics of reference materials. Moscow: Standartinform; 2011. 30 p. (In Russ.).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Марина Михайловна Чугунова – ведущий научный сотрудник ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений».
119361, Россия, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: chugunova@vniiofi.ru

Наталья Юрьевна Грязских – начальник сектора ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений».
119361, Россия, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: griazskih@vniiofi.ru

Ирина Николаевна Зябликова – инженер ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений».
119361, Россия, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: center_gso@vniiofi.ru

Александр Вячеславович Иванов – начальник отдела испытаний и сертификации ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений»/
119361, Россия, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: ivanov@vniiofi.ru

Анна Николаевна Шобина – начальник отдела испытаний ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений»
119361, Россия, г. Москва, ул. Озерная, 46
e-mail: shobina@vniiofi.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Marina M. Chugunova – leading researcher the All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements.
46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: chugunova@vniiofi.ru

Natalia Yu. Griazskih – head of sector the All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements.
46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: griazskih@vniiofi.ru

Irina N. Zyablikova – engineer the All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements.
46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: center_gso@vniiofi.ru

Alexander V. Ivanov – head of testing and certification department the All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements.
46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: ivanov@vniiofi.ru

Anna N. Shobina – head of testing department the All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements.
46 Ozernaya str., Moscow, 119361, Russia
e-mail: shobina@vniiofi.ru