

Научная статья

УДК 543.06

<https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2021-7-65-72>

Развитие международных ключевых сличений в области химико-аналитических измерений

Леонид Алексеевич Конопелько^{1✉}, Юрий Анатольевич Кустиков², Михаил Владимирович Окрепилов³, Анна Викторовна Колобова⁴, Павел Вячеславович Мигаль⁵, Анатолий Иванович Крылов⁶, Максим Сергеевич Вонский⁷, Ян Константинович Чубченко⁸, Ольга Владимировна Ефремова⁹, Елена Валериевна Кулябина¹⁰, Владимир Иванович Добровольский¹¹, Алёна Юрьевна Михеева¹²

1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 12 Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д. И. Менделеева, Санкт-Петербург, Россия

¹lkonop1@rambler.ru✉, <https://orcid.org/0000-0002-4942-8329>

²Y.A.Kustikov@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0130-1756>

³m.v.okrepilov@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9815-1795>

⁴akol@b10.vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6042-6933>

⁶A.I.Krylov@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2273-1328>

⁷m.s.vonsky@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4061-7411>

⁸ycc@b10.vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3408-5116>

⁹eov@b10.vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3675-5726>

¹²a.mikheeva@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1032-5653>

⁵ Уральский научно-исследовательский институт метрологии – филиал ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт им. Д. И. Менделеева», Екатеринбург, Россия, mig@uniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1951-9868>

¹⁰ Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы, Москва, Россия, kuliabina@vniims.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6076-4569>

¹¹ Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических и радиотехнических измерений, г. п. Менделеево, Московская обл., Россия, vid@vniifri.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6741-6252>

Аннотация. Рассмотрены наиболее актуальные задачи в области химико- и биоаналитических измерений. Представлены решения актуальных задач, реализуемые, в том числе, в процессе новых международных сличений под эгидой Консультативного комитета по количеству вещества – Консультативного комитета по метрологии в химии и биологии Международного комитета мер и весов. Описаны вопросы и задачи развития ключевых сличений в следующих областях: изотопные измерения; определение чистоты веществ; органический анализ; биоаналитические измерения; измерения параметров аэрозольных частиц; газовые и электрохимические измерения. Показано, что участие в международных ключевых сличениях позволяет получать надёжные и достоверные результаты измерений показателей состава и свойств газовых и жидких сред, а также твёрдых веществ и материалов.

Ключевые слова: сличения, количество вещества, моль, отношение изотопов, прослеживаемость, примеси, чистые вещества, биомаркеры, счётная концентрация частиц, массовая концентрация

Для цитирования: Конопелько Л. А., Кустиков Ю. А., Окрепилов М. В., Колобова А. В., Мигаль П. В., Крылов А. И., Вонский М. С., Чубченко Я. К., Ефремова О. В., Кулябина Е. В., Добровольский В. И., Михеева А. Ю. Развитие международных ключевых сличений в области химико-аналитических измерений // Измерительная техника. 2021. № 7. С. 65–72. <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2021-7-65-72>

Development of international key comparisons in the field of chemico-analytical measurements

Leonid A. Konopelko^{1✉}, Yuri A. Kustikov², Mikhail V. Okrepilov³, Anna V. Kolobova⁴, Pavel V. Migal⁵, Anatoly I. Krylov⁶, Maksim S. Vonskiy⁷, Ian K. Chubchenko⁸, Olga V. Efremova⁹, Elena V. Kulyabina¹⁰, Vladimir I. Dobrovolskiy¹¹, Alyena Yu. Mikheeva¹²

1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 12 D. I. Mendeleev Institute for Metrology, St. Petersburg, Russia

¹lkonop1@rambler.ru✉, <https://orcid.org/0000-0002-4942-8329>

²Y.A.Kustikov@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0130-1756>

³m.v.okrepilov@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9815-1795>

⁴akol@b10.vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6042-6933>

© Конопелько Л. А., Кустиков Ю. А., Окрепилов М. В., Колобова А. В., Мигаль П. В., Крылов А. И., Вонский М. С., Чубченко Я. К., Ефремова О. В., Кулябина Е. В., Добровольский В. И., Михеева А. Ю., 2021

⁶A.I.Krylov@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2273-1328>

⁷m.s.vonsky@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4061-7411>

⁸ycc@b10.vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3408-5116>

⁹eov@b10.vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3675-5726>

¹²a.mikheeva@vniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1032-5653>

⁵ Ural Research Institute for Metrology – branch of FGUP “D. I. Mendeleev Institute for Metrology”, Yekaterinburg, Russia, mig@uniim.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1951-9868>

¹⁰ Russian Research Institute for Metrological Service, Moscow, Russia, kuliabina@vniims.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6076-4569>

¹¹ Russian Metrological Institute of Technical Physics and Radio Engineering Measurements, Mendeleevo, Moscow region, Russia, vid@vniiftri.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6741-6252>

Abstract. The most challenging goals in the field of chemico- and bioanalytical measurements are described. Solutions of these problems are presented, which are being solved in particular by participating in new international comparisons organized by the Consultative Committee on the Amount of Substance of the International Committee on Weights and Measures (CCQM CIPM). The purposes and tasks of developing key comparisons in the following areas are described: isotopic measurements; determination of the purity of substances; organic analysis; bioanalytical measurements; measurements of aerosol particle parameters; measurements in the field of gas analysis and electrochemistry. It is shown that participation in international key comparisons makes it possible to obtain valid and reliable results of measurements of the composition and properties of gas and liquid media, as well as solid substances and materials.

Keywords: comparisons, amount of substance, mole, isotope ratio, traceability, impurities, pure substances, biomarkers, counting concentration of particles, mass concentration

Введение. Одной из главных задач Технического комитета (ТК) 1.8 КОOMET является задача подготовки стран-членов ТК 1.8 к участию в ключевых сличениях, проходящих под эгидой Консультативного комитета по количеству вещества – Консультативного комитета по метрологии в химии и биологии (КККВ) Международного бюро мер и весов (МБМВ).

Количество вещества имеет первостепенное значение в химии и химической метрологии. Оно было принято в качестве одной из семи основных величин Международной системы единиц (СИ) в 1971 г. по решению 14-й Генеральной конференции по мерам и весам. Одновременно была установлена основная единица количества вещества, моль, которая должна была устранить путаницу между единицей эквивалентной массы – грамм-молем – и единицей массы – граммом.

Новое определение моля, предложенное на 106 заседании Международного комитета по мерам и весам (МКМВ) в октябре 2017 г., утверждённое на 26 заседании Генеральной конференции по мерам и весам (ГКМВ) в ноябре 2018 г. [1] и рекомендованное Международным союзом теоретической и прикладной химии ИЮПАК [2], следующее:

Моль, обозначение – «моль» (“mol”), есть единица количества вещества в SI. Один моль содержит точно $6,02214076 \cdot 10^{23}$ структурных элементов. Это число есть фиксированное числовое значение постоянной Авогадро, N_A , выраженное в моль⁻¹ и называемое числом Авогадро.

Количество вещества системы, обозначение n , является мерой числа конкретных структурных элементов. Структурными элементами могут быть атомы, молекулы, ионы, электроны, другие частицы или определённые группы частиц.

Из этого определения следует, что количество вещества и масса – это разные величины. Кроме того, оно ликвидирует двойственность при описании объекта в терминах количества вещества и числа частиц. Теперь это одно и то же – количество вещества является мерой числа частиц.

При измерении количества вещества и связанных с ним производных величин, таких как молярная концентрация или молярное содержание компонента, дополнительная неопределённость значений молярных масс, возникающая при переходе к новой СИ, настолько мала, что этот переход практически не влияет на неопределённость измерений. При измерении производных величин, которые представляют собой отношение одноимённых величин, дополнительная неопределённость вообще не возникает. Поэтому нет оснований опасаться, что переопределение моля может каким-то образом повлиять на точность аналитических измерений, как массовых, выполняемых в аналитических лабораториях, так и прецизионных измерений, осуществляемых метрологическими институтами. В [3] подчёркнуто, что недавний пересмотр СИ ещё более обострил необходимость отличать количество вещества от подсчёта количеств.

Цель настоящей статьи – исследовать значение био- и химико-аналитических измерений для развития глобальной измерительной инфраструктуры и международных ключевых сличений как единственной альтернативы обеспечения единства измерений.

Химико-аналитические измерения. Особенностью современных химико-аналитических измерений является необходимость применения внесистемных единиц: дельта-значений отношения изотопов; измеряемых величин, связанных с межбелковыми серологическими взаимодействиями, такими как реакция антиген-антитело, конформационными измерениями структуры белка и другими биологически значимыми показателями, выражаемыми в настоящее время в международных единицах Всемирной организации здравоохранения; инфицирующей дозы, дозы инфекционного агента (вирионов, бактерий), размера фрагмента специфической последовательности одноцепочной нуклеиновой кислоты, рибонуклеиновой или дезоксирибонуклеиновой кислот (РНК или

ДНК) и др. В решении CIPM/104-26 от 03.2015 МКМВ указана важность работ в национальных метрологических институтах в части установления прослеживаемости внесистемных единиц к единицам СИ, например, при разработке абсолютных измерений отношений изотопов.

Наиболее актуальной задачей ТК 1.8 на современном этапе является подготовка и проведение ключевых сличений для установления биологически значимых параметров макромолекул (РНК, ДНК, пептидов, белков и пр.) и их комплексов биологического происхождения (органел, клеток и пр.), а также ключевых сличений результатов следующих измерений: соотношения изотопов в различных твёрдых, жидких и газообразных веществах; содержания примесей в чистых твёрдых и жидких веществах; дисперсных параметров аэрозолей, частиц, взвесей и порошковых материалов.

Изотопные измерения. Отсутствие высокоточных изотопных стандартов, прослеживаемых к СИ, привело к широко распространённой практике калибровки изотопных измерений относительно фиксированных предполагаемых значений определённых изотопных отношений либо других материалов, произвольно установленных в качестве «нулевых точек». Например, измерения изотопов неодима обычно калибруются по отношению $x(^{146}\text{Nd})/x(^{144}\text{Nd})=0,7219$, принимаемому в качестве константы [4]. Однако данный подход неприменим для других элементов, таких как водород или углерод, поскольку изотопные отношения не являются постоянными для всех веществ. В рассматриваемом случае для обеспечения единства измерений используются артефакты, принятые в качестве стандартных образцов. Оба подхода являются результатом практической необходимости и являются негласным признанием общей потребности в более совершенных стандартах изотопных отношений.

В последние годы зафиксировано несколько случаев непригодности существующих стандартных образцов для высокоточного гравиметрического метода измерений, что свидетельствует о необходимости пересмотра всей системы метрологического обеспечения изотопных измерений в целом. Поэтому метрология стабильных изотопов фактически только начинает развиваться. Гравиметрический метод приготовления изотопных стандартных образцов впервые применён 10 лет назад, и в настоящее время многие национальные метрологические институты используют этот метод для приготовления более надёжных изотопных стандартных образцов.

Данные об отношении изотопов используются почти во всех научных областях – от археометрии, геохронологии и геохимии до медицины и океанографии. Учёные получают важнейшие и научно обоснованные данные (например, возраст образца) и делают выводы, существенно влияющие на развитие науки. Поэтому надёжность и сопоставимость указанных данных являются обязательными условиями. Этого можно добиться за счёт разработки гравиметрических стандартных образцов с приписанной неопределённостью измерений.

К основным сферам деятельности человека, в которых применяется анализ стабильных изотопов относятся: мониторинг окружающей среды; метрология и СИ; биологические науки; судебно-медицинские науки; ядерная криминалистика.

Отметим наиболее важные применения изотопного анализа в области медицины, пищевой промышленности и экологии: обнаружение бактерии *Helicobacter Pylori*, которая вызывает рак желудка, по изотопному дыхательному тесту;

контроль качества пищевых продуктов по изотопному анализу;

оценка влияния антропогенных процессов на содержание парниковых газов в атмосфере по анализу изотопов в атмосферном воздухе.

В соответствии с постановлением МБМВ [5] измерения дельта-значений отношений изотопов в настоящий момент прослеживаются не к СИ, а к международным стандартным образцам, которые формируют международную дельта-шкалу измерений стабильных изотопов. Однако нестабильность стандартных образцов, обнаруженная в последние годы, привела к проблемам в области метрологического обеспечения измерений стабильных изотопов.

В рамках рабочей группы изотопных отношений КККВ МБМВ организованы следующие международные сличения: CCQM-K167 «Измерения дельта значений отношений изотопов углерода в ванилине»; CCQM-P212 «Согласованность международных стандартных образцов дельта-значений отношений изотопов углерода»; CCQM-P204 «Отношение изотопов CO_2 ($\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{18}\text{O}$) в чистом CO_2 »; CCQM-P213 «Измерение дельта-значений отношений изотопов меди в веществах высокой чистоты».

Разработанная во ВНИИМ высокоточная эталонная установка ЭУ-1 [6] для определения изотопного состава углерода в газовых смесях диоксида углерода на базе инфракрасного анализатора внутрирезонаторного затухания, входящая в состав Государственного первичного эталона единиц молярной доли, массовой доли и массовой концентрации компонентов в газовых и газоконденсатных средах ГЭТ 154-2019, принимала участие во всех сличениях за исключением CCQM-P213. Проекты взаимовыгодного сотрудничества с МБМВ и национальным метрологическим институтом Германии РТВ позволили модернизировать установку ЭУ-1 и добиться более высоких показателей повторяемости и воспроизводимости измерений, а также опубликовать совместные научные работы [7, 8].

Международное сотрудничество позволяет выработать общий подход для обеспечения единства измерений в рамках изотопного анализа и предложить оптимальные пути построения системы метрологического обеспечения измерений стабильных изотопов на национальном уровне.

Определение чистоты веществ. В химико-аналитических измерениях чистые вещества (в твёрдой, жидкой или газообразной фазе) имеют фундаментальное значение. Объясняется это тем, что все результаты измерений содержания каких-либо определяемых компонентов в какой-либо матрице прослеживаются к чистому веществу этого компонента. Если результат измерения содержания определяемого компонента должен прослеживаться к стандартному образцу состава (смеси определяемого компонента в той или иной матрице), то стандартный образец обязательно должен прослеживаться к соответствующему чистому веществу.

С 2013 г. во ВНИИМ и УНИИМ начата разработка методологии применения высокочистых материалов для воспроизведения и передачи единиц величин, характеризующих химический состав веществ и материалов на основе эталонов сравнения в виде чистых химических веществ. Методология заключается в том, что эталон сравнения как стабильный артефакт хранит единицу массовой доли основного компонента для металлов, которая воспроизводится на оборудовании Государственного первичного эталона единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твёрдых веществах и материалах на основе кулонометрии ГЭТ 176-2019.

Основным мотивом разработки методологии послужило отсутствие согласованных подходов к оценке массовой доли основного компонента методом материального баланса. Как отмечено в [9], результаты этих работ согласуются с международным опытом характеристики чистых веществ по результатам сличений [10, 11] и дорожной картой [12].

В рамках деятельности ТК 1.8 проведены сличения по определению чистоты меди и железа, в которых участвовали национальные метрологические институты разных стран – УНИИМ, БелГИМ, ВНИИОФИ, UME (Турция), Укрметртест-стандарт. Сличения показали согласованность и совместимость результатов измерений массовой доли определяемого компонента w как высокоточными прямыми методами, так и методом материального баланса из примесного состава исходя из уравнения измерений

$$w = 100 - \sum_{i=1}^n x_i - \sum_{j=1}^r y_j / 2,$$

где x_i – массовая доля i -й обнаруженной примеси; n – количество обнаруженных примесей; y_j – предел обнаружения, установленный для j -й примеси по критерию 3σ ; r – количество пределов обнаружения.

В результате описанных работ была создана база данных «Эталон сравнения в виде высокочистых веществ» (URL: https://uniim.ru/db_etалons_ref/), которая насчитывает 17 эталонов сравнения в виде чистых металлов.

Основное преимущество метода материального баланса заключается в повышении точности измерений и малой зависимости результата измерений от матрицы исследуемого объекта. При этом важно понимать границы применимости такого подхода для минимизации систематического смещения. Во-первых, для несмещённой оценки значения w суммарное количество исследуемых примесей должно стремиться к максимально возможному ($\max(n+r) \rightarrow 91$), и, во-вторых, необходимо обеспечить метрологическую прослеживаемость измерений массовых долей как минимум обнаруженных примесей x_i .

Из практики исследований эталонов сравнения следует, что для определения содержаний основного количества примесей подходит метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП), а для газообразующих элементов (O, N, H, C, S) – методы восстановительного и окислительного плавления. Для калибровки методом МС-ИСП

обычно применяют стандартные образцы в виде растворов химических элементов, прослеживаемость которых может быть установлена до ГЭТ 176-2019 титриметрическими методами. Для отдельных химических элементов отсутствуют образцы с прослеживаемостью к ГЭТ 176-2019. Для них используют стандартные образцы NIST SRM серии 3100 (Standard reference materials. Spectrometry, Single Element Standard Solutions [Электронный ресурс] URL: <https://www.nist.gov/srmors/viewTable.cfm?tableid=39>) или стандартные образцы зарубежного производства с установленной прослеживаемостью к образцам NIST SRM.

Решение проблем обеспечения метрологической прослеживаемости измерений состава в области неорганического химического анализа является задачей постепенного приближения, т. е. в условиях невозможности обеспечить измерения массовой доли определяемого компонента для ряда химических элементов прямыми абсолютными методами необходимо привлекать косвенные методы.

В настоящее время существует возможность оценить чистоту эталона сравнения методом материального баланса по 91 примеси: 5 газообразующим элементам; 72 элементам, определяемым методом МС-ИСП; 14 элементам в виде теоретических оценок для благородных газов и радиоактивных элементов. Следующее приближение – развитие номенклатуры эталонов сравнения (доведение количества до 73 индивидуальных элементов). Затем необходимо обеспечить замкнутый цикл, в котором примесный состав каждого эталона сравнения будет определён через другие эталоны сравнения, так, чтобы каждое уточнение примесного состава одного эталона приводило к уточнению массовой доли определяемого компонента других эталонов. Такой итерационный подход предстоит реализовать в следующих работах на основе коллекции чистых веществ, которая хранится в УНИИМ и насчитывает 76 позиций 64 индивидуальных элементов. В этой коллекции отсутствуют элементы платиновой группы (Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt, Au), а также элементы, которые не имеют стабильных изотопов (U, Th).

Таким образом, накопленный опыт позволяет задать начальные приближения, достаточно близкие к истине, а последующие итерации могут существенно снизить неопределённость знаний о реальной чистоте вещества и тем самым обеспечить метрологическую прослеживаемость измерений в этой области.

Органический анализ. В органическом анализе прослеживаемость к СИ формируется на основе чистых органических веществ, тщательно исследованных аналитически и детально охарактеризованных метрологически. Именно массовая доля основного компонента в чистом органическом веществе обеспечивает прослеживаемость к одной из основных единиц СИ – количеству вещества (молю), в случае органического анализа – к молю определённого органического вещества.

Таким образом, первое звено в формировании цепочки метрологической прослеживаемости в области органического анализа – определение чистоты органического вещества. Общепринятый международный подход к установлению

чистоты органических веществ заключается в максимально полном исследовании материала с целью подтверждения его идентичности и определения всех вероятных примесных компонентов, после чего массовая доля основного компонента рассчитывается косвенным методом массового баланса по разности: 100 % минус сумма примесей. Наилучшая практика предполагает применение не менее двух аналитических методов для измерений одной величины. В целом метод массового баланса для органических веществ предполагает обязательное измерение примесных компонентов четырёх групп:

примеси родственных соединений, в общем случае – компоненты, которые могут быть измерены тем же аналитическим методом, что и основное вещество, чаще всего – его изомеры и (или) конгенеры;

примеси воды, свободной и кристаллогидратной;

примеси летучих органических соединений, например, остаточные органические растворители после очистки основного вещества перекристаллизацией;

примеси нелетучих соединений с потенциальным вкладом органических нелетучих компонентов и неорганических соединений (например, металлов в любой форме).

Для получения дополнительных данных, подтверждающих интегральные характеристики чистых органических веществ, применяют прямые методы кулонометрии, криометрии, дифференциальной сканирующей калориметрии.

Оборудование в составе Государственного первичного эталона единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твёрдых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии ГЭТ 208-2019 позволяет в полной мере реализовать методы массового баланса и дифференциальной сканирующей калориметрии. ГЭТ 208-2019 сформирован на основе серийных аналитических приборов, коммерчески доступных на внешнем и внутреннем рынках. Уникальность комплекса ГЭТ 208-2019 составляет не инструментальное оформление, а изученность характеристик и тонкая настройка оборудования, а также разработанные аналитические и метрологические процедуры, включенные в состав ГЭТ 208-2019 в форме эталонной документации и позволяющие достичь наивысших показателей точности измерений в органическом анализе.

За период с 1998 г. по настоящее время РФ приняла участие более чем в 35 международных сличениях, организованных под эгидой КККВ МБМВ и охватывающих самые разные аспекты органического анализа, в том числе по определению чистоты органических веществ, относящихся к разным химическим группам (альдрин, L-валин, фолиевая кислота, бисфенол А, диметилсульфон) [13]. Информация об одобренных калибровочных и измерительных возможностях по результатам сличений находится в открытом доступе на официальном сайте МБМВ.

Биоаналитические измерения. Биоаналитические измерения – самый молодой быстроразвивающийся раздел химико-аналитических измерений. Уже с 2017 г. КККВ МБМВ,

который раньше назывался Консультативным комитетом по метрологии в химии, именуется Комитетом по метрологии в химии и биологии. Прогресс в науке и технике, развитие биоинформатики обусловили прорыв в измерениях процессов, происходящих в живой материи, и, прежде всего, в человеческом организме. За всю историю вручения 166 Нобелевских премий по химии 73 премии были вручены за открытия в области биоанализа и каталитических процессов в организме человека.

Больше 10 лет ТК 1.8 активно участвует в работе КККВ в области развития глобальной метрологической инфраструктуры биоаналитических измерений.

В 2015–2019 гг. проведены пилотные и ключевые сличения: CCQM-P137 (пилотные сличения по измерению каталитической активности α -амилазы в сыворотке крови); CCQM-P164 (пилотные сличения (два раунда) по измерению массовой доли гормона роста в сыворотке крови); CCQM-K86, CCQM-K86.b, CCQM-K86.c (ключевые сличения, направленные на подтверждение СМС-строк национальных метрологических институтов в области измерений содержания генетически модифицированных организмов (ГМО)).

В 2021 г. запланированы ключевые сличения CCQM-K86.d для подтверждения СМС-строк институтов по измерениям ДНК в матрице, богатой белками – по определению ДНК-биомаркеров присутствия свинины в говядине.

В 2018–2020 гг. проведены пилотные сличения CCQM-P199 и P199.b по измерению числа копий последовательностей нуклеотидов в составе геномов вируса иммунодефицита человека HIV-1 и коронавируса SARS-CoV-2. В рамках этих сличений пилотными лабораториями были подготовлены высококонцентрированные образцы чистой РНК, измерения которых выполняли «ортогональными» по отношению к методу цПЦР методами – масс-спектрометрией с изотопным разбавлением и проточной флуориметрией одиночных молекул. Результаты измерений «ортогональными» методами хорошо совпали с результатами, полученными с использованием метода цПЦР. В 2021 г. начаты ключевые сличения CCQM-K176 по измерению вариации числа копий последовательности гена *HER2* – биомаркера рака груди. Запланированы сличения по измерениям уровня метилирования ДНК как важного прогностического маркера развития онкопатологий.

Основные задачи, которые предстоит решить в области белкового анализа, включают разработку и валидацию референтных методик оценки чистоты пептидов и белков, качественный и количественный анализ пептидов и белков в сложных биологических матрицах и биофармацевтических препаратах, измерения каталитической активности ферментов, определение специфических характеристик биотерапевтических препаратов и антител.

Самой молодой областью биоанализа является клеточный анализ. Он включает идентификацию и измерения количества интактных клеток и их свойств, отражающих определённые клеточные функции в сложных матрицах и смесях. К основным характеристикам клетки можно отнести жизнеспособность, размер, морфологию, особенности локализации в пространстве (рост на поверхности или в суспензии),

занимаемую на поверхности площадь, презентацию на поверхности клетки определённых антигенов, экспрессию биомаркеров. При этом разрабатываемые в рамках клеточного анализа подходы должны быть применимы как к культурам клеток эукариот, так и прокариот. Хотя микробиологические методы оценки содержания микроорганизмов имеют многолетнюю историю, применение метрологических подходов к этим видам измерений сопровождается множеством проблем. Так, создание стандартных образцов с использованием живых клеток, обладающих биологической активностью и определёнными физико-химическими свойствами явно требует разработки новых методологий. Особые надежды в этой области клеточного анализа связаны с применением синтетической биологии. Направления клеточного анализа, требующие особого внимания в ближайшем будущем, включают измерения морфологии и характеристик фенотипа клетки, измерения показателей биологической активности клетки, характеристик внутриклеточных сигнальных сетей [14].

Проведённые к настоящему времени и планируемые сличения сконцентрированы на пересчёте клеток, прикреплённых к поверхности (CCQM-P123, CCQM-P197) и находящихся в суспензии (CCQM-P205, CCQM-P217). Пока что главные успехи в данном направлении связаны в основном с исследованиями метрологических характеристик методов пересчёта клеток, которые могут выполняться как автоматически, с использованием проточной цитометрии, так и в ручном режиме, с применением гемоцитометра (камеры Горяева). Результаты измерений методом волюметрической проточной цитометрии прямо прослеживаются к единицам СИ. Однако отбор и подготовка (окрашивание) пробы, калибровки цитометра, оптимизация режима измерений и обработка полученных результатов вносят вклад в погрешность измерений, минимизация которого является пока нерешённой задачей.

Одним из перспективных путей создания стандартных образцов для клеточных измерений является синтез латексных частиц, имитирующих размер и форму клетки, с возможностью интеграции флуоресцентных красителей, имитирующих окраску флуорофор-мечеными антителами. Начало первых пилотных сличений КККВ по оценке методов пересчёта клеток с использованием синтетических латексов запланировано на 2021 г.

Измерения параметров аэрозольных частиц. В последние годы перед специалистами, занимающимися мониторингом окружающей среды и контролем качества воздуха вне и внутри помещений, встают задачи получения достоверной информации о параметрах и характеристиках аэрозольных частиц. К этим показателям относятся оптические и химические свойства, распределение по размерам и формам частиц, массовая концентрация частиц и заряд частиц, содержание элементарного и органического углерода, анионов и катионов, основных металлов (свинец, мышьяк, кадмий, ртуть, никель).

В связи с этим планируются первые пилотные и ключевые сличения в данной измерительной категории. Во ВНИИФТРИ создан Государственный первичный эталон единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163-2020, который обеспечивает воспроизведение,

хранение и передачу единиц размера частиц, счётной и массовой концентрации частиц, а также дзета-потенциала частиц, и позволяет решить критически важные задачи в обозначенных областях.

На сегодняшний день подобными эталонными комплексами обладают ведущие метрологические институты таких стран-участниц ТК 1.8 КООМЕТ, как Германия, Китай и Беларусь. Использование новой инструментальной базы позволит ТК 1.8 принять активное участие в работах КККВ и повысить уровни достоверности и прослеживаемости результатов измерения параметров аэрозольных частиц к системе СИ.

Газовые и электрохимические измерения. Рассмотренные в статье вопросы и задачи развития ключевых сличений в новых измерительных категориях, проводимых КККВ МБМВ, не означают снижение активности ТК 1.8 по остальным «традиционным» измерительным категориям, таким как «Газовый анализ», «Электрохимия» и др. В ключевых сличениях по категориям «Газовый анализ» и «Электрохимия» участвуют национальные метрологические институты Украины, Беларуси, Казахстана и России. Совершенствование государственных первичных эталонов позволяет институтам расширять участие в новых ключевых сличениях, планируемых в соответствии со стратегиями соответствующих рабочих групп КККВ по газовому и электрохимическому анализам.

Во ВНИИМ созданы, исследованы и включены в состав ГЭТ 154-2019 [15] комплексы и установки для верификации и аттестации эталонных газовых смесей на основе NO, NO₂, SO₂, H₂S, NH₃, приготовленных гравиметрическим методом, предназначенные для измерений следующих характеристик:

молярной доли основных примесей O₂, CO, CO₂, CH₄, N₂, H₂, Ar в высокочистых газах He, N₂, Ar, O₂;

молярной доли, массовой доли и массовой концентрации этанола в водных растворах и газовых смесях;

молярной доли метанола в углеводородных газовых смесях;

молярной доли ¹²CO₂, ¹³CO₂, соотношения изотопов в газовых смесях (и для аттестации эталонов сравнения состава газовых смесей, содержащих ¹²CO₂, ¹³CO₂, в баллонах под давлением);

массовой концентрации компонентов дозврывоопасных концентраций паров горючих и взрывоопасных жидкостей в диапазоне 5–50 % нижнего концентрационного предела распространения пламени.

Характеристики ГЭТ 154-2019 позволяют обеспечить активное участие ВНИИМ в запланированных в стратегии КККВ МБМВ сличениях в области газового анализа по следующим измерительным объектам: парниковые газы; озон и химически активные газы на атмосферном уровне; природный газ; нефтезаводские газы; летучие органические компоненты в азоте и воздухе; судебно-медицинские газы; бинарные и многокомпонентные газовые смеси, соответствующие составу выбросов; чистые газы с анализом примесей; гравиметрические газовые смеси; динамически приготовленные газовые смеси; медицинские газы.

Создание в национальных метрологических институтах стран-участниц ТК 1.8 КООМЕТ (Россия, Украина, Молдова,

Казахстан, Беларусь) эталонов в области электрохимических измерений позволило организовать ряд пилотных и ключевых сличений по измерительной категории «Электрохимия».

Для проверки эквивалентности национальных эталонов в области рН-метрии проведены три международных пилотных сличения с использованием фосфатного буферного раствора с $\text{pH} \approx 7,00$: KOOMET 322/RU/04 (2004 г.) «Пилотные сличения буферных растворов на основе дигидрофосфата калия (KH_2PO_4) + гидрофосфата натрия (Na_2HPO_4) при температурах 15, 25 и 37 °С»; KOOMET 421/RU/08 (2008 г.) «Дополнительные сличения рабочих эталонов рН»; KOOMET 655/RU-a/15 (2015 г.) «Пилотные сличения по определению водородного показателя фосфатного буфера $\sim 7,00$ ».

В ближайшее время предполагается провести сличения в других областях шкалы рН. Так, на 2023 г. запланировано ключевое сличение по определению водородного показателя тетраоксалатного буферного раствора с $\text{pH} \approx 1,65$.

В области измерений удельной электрической проводимости проведены сличения: KOOMET 361/RU-a/06 (2006 г.) «Пилотные сличения в области измерений удельной электрической проводимости»; CCQM-K36.2016 (2017 г.) «Электролитическая проводимость при $0,5 \text{ См}^{-1}$ и 5 мСм^{-1} »; EBPOMET CCQM-SC EURAMET.QM-S12 (2019 г.) «EURAMET comparison 1462».

На основе использования кулонометрических эталонов единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твёрдых веществах и материалах проведены пилотные сличения:

KOOMET 520/RU/1 «Пилотные сличения в области измерений концентрации ионов водорода в растворе соляной кислоты (моль/кг раствора)», участники: Россия (УНИИМ), Украина (Укрметртестстандарт);

KOOMET 645/RU/14 «Пилотные сличения в области измерения массовой доли меди и примесей в бескислородной медной катанке марки КМ6 М0016 для определения чистоты меди», участники: Беларусь (БелГИМ), Россия (ВНИИОФИ, УНИИМ), Турция (UME), Украина (Укрметртестстандарт);

KOOMET 672/RU/5 «Пилотные сличения в области измерения массовой доли железа в чистом железе», участники: Беларусь (БелГИМ), Молдова (НИМ), Россия (ВНИИФТРИ, ВНИИОФИ, УНИИМ), Украина (Укрметртестстандарт).

Закключение. Развитие международной инфраструктуры в области био- и химико-аналитических измерений определяется необходимостью обеспечить глобальную сопоставимость результатов измерений при решении задач устойчивого развития и контроля изменений климата, зелёной энергетики и здравоохранения. В результате участия в международных ключевых сличениях метрологических институтов стран-участниц ТК 1.8 KOOMET разработаны и применены новые эталонные установки и следующие методики: измерений соотношения изотопов в твёрдых, жидких и газообразных веществах; установления биологически значимых параметров макромолекул (РНК, ДНК, пептидов, белков и пр.) и их комплексов биологического происхождения (органел, клеток и пр.); измерения содержания примесей в чистых твёрдых и жидких веществах; измерения дисперсных параметров аэрозолей, частиц, взвесей и порошковых материалов.

Созданы новые типы стандартных образцов, обеспечивающих калибровочные возможности стран-участниц ТК 1.8. Участие в ключевых сличениях позволяет гармонизировать подходы к расчёту неопределённости результатов измерений, способствует получению надёжных и достоверных результатов измерений показателей состава и свойств газовых и жидких сред, а также твёрдых веществ и материалов.

Список литературы

1. General Conference for Weights and Measures (CGPM), Resolution 1 of 26 meeting of CGPM (13–16 November 2018), available at: <https://www.bipm.org/en/committees/cg/cgpm/26-2018/resolution-1> (accessed: 23.06.21).
2. Marquardt R., Meija J., Mester Z., et al, Definition of the mole (IUPAC Recommendation 2017), *Pure Appl. Chem.*, 2018, vol. 90, no. 1, pp. 175–180.
3. Richard J. C. Brown, Paul J. Brewer, *Metrologia*, 2020, vol. 57 (6), p. 065002. <https://doi.org/10.1088/1681-7575/ab9db7>
4. John R. de Laeter, John Karl Böhlke, P. De Bièvre, H. Hidaka, H. S. Peiser, K. J. R. Rosman, P. D. P. Taylor, Atomic weights of the elements. Review 2000 (IUPAC Technical Report), De Gruyter, 2013. <https://doi.org/10.1351/pac200375060683>
5. International Committee for Weights and Measures, *Proceedings of Session I of the 104th meeting*, 9–10 March 2015, available at: <https://www.bipm.org/utis/en/pdf/CIPM/CIPM2015-I-EN.pdf> (accessed: 13.11.18).
6. Konopelko L. A., Chubchenko Y. K., *International Conference Laser Optics (ICLO)*, 2018, pp. 288–288. <https://doi.org/10.1109/LO.2018.8435389>
7. Viallon J. et al., *Metrologia*, vol. 57 (5), p. 055004. <https://doi.org/10.1088/1681-7575/ab948c>
8. Flores E. et al., Comparison of isotope ratio measurement capabilities for CO_2 : sample preparation and characterization by isotope ratio infrared spectroscopy, *EGU General Assembly Conference Abstracts*, 2020, p. 8518.
9. Конопелько Л. А., Мигаль П. В., Собина Е. П. Разработка эталонов сравнения в виде металлов высокой чистоты // Стандартные образцы. 2019. Т. 15. № 2. С. 15–24.
10. Jochen Vogl, Heinrich Kipphardt, Hans-Joachim Heinrich, Egor Sobina, Tatiana Tabatchikova, CCQM-P107.1 Purity of Zinc with respect to six defined metallic analytes, BAM Federal institute for Materials Research and Testing, Berlin, Draft Report, 2014.
11. Jochen Vogl et al., CCQM-P149 Purity determination of zinc to be used as primary standard for zinc determination, BAM Federal institute for Materials Research and Testing, Berlin, Draft B, 2016.
12. Vogl J., CCQM-IAWG17-28 Roadmap for the purity determination of pure metallic elements. Basic principles and helpful advice, 2017, available at: https://www.bipm.org/wg/CCQM/IAWG/Allowed/April_2017/CCQM-IAWG17-28.pdf (accessed: 03.02.2021).
13. Михеева А. Ю., Крылов А. И. Прослеживаемость в органическом анализе. Часть 1. Единство измерений и сопоставимость национальных и международных эталонов // Эталоны. Стандартные образцы. 2019. Т. 16. № 3. С. 5–21.
14. Faruqi N., Kummrow A., Fu B., Divieto C., Rojas F., Kisulu F., Cavalcante J. J. V., Wang J., Campbell J., Martins J. L., Choi J.-H.,

Sassi M. P., Zucco M., Vonsky M., Vessillier S., Zou S., Fujii S.-I., Ryadnov M. G., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2020, vol. 7, p. 456. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00456>

15. Колобова А. В., Конопелько Л. А., Попов О. Г. Государственный первичный эталон единиц молярной доли и массовой концентрации компонентов в газовых и газоконденсатных средах ГЭТ 154-2019 // Эталоны. Стандартные образцы. 2020. Т. 16. № 3. С. 23–35. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2020-16-3-23-35>

References

1. General Conference for Weights and Measures (CGPM), Resolution 1 of 26 meeting of CGPM (13–16 November 2018), available at: <https://www.bipm.org/en/committees/cg/cgpm/26-2018/resolution-1> (accessed: 23.06.21).

2. Marquardt R., Meija J., Mester Z., et al. Definition of the mole (IUPAC Recommendation 2017), *Pure Appl. Chem.*, 2018, vol. 90, no. 1, pp. 175–180.

3. Richard J. C Brown, Paul J. Brewer, *Metrologia*, 2020, vol. 57 (6), p. 065002. <https://doi.org/10.1088/1681-7575/ab9db7>

4. John R. de Laeter, John Karl Böhlke, P. De Bièvre, H. Hidaka, H. S. Peiser, K. J. R. Rosman, P. D. P. Taylor, Atomic weights of the elements. Review 2000 (IUPAC Technical Report), De Gruyter, 2013. <https://doi.org/10.1351/pac200375060683>

5. International Committee for Weights and Measures, *Proceedings of Session I of the 104th meeting*, 9–10 March 2015, available at: <https://www.bipm.org/utis/en/pdf/CIPM/CIPM2015-I-EN.pdf> (accessed: 13.11.18).

6. Konopelko L. A., Chubchenko Y. K., *International Conference Laser Optics (ICLO)*, 2018, pp. 288–288. <https://doi.org/10.1109/LO.2018.8435389>

7. Viallon J. et al., *Metrologia*, vol. 57 (5), p. 055004. <https://doi.org/10.1088/1681-7575/ab948c>

8. Flores E. et al., Comparison of isotope ratio measurement capabilities for CO₂: sample preparation and characterization by isotope ratio infrared spectroscopy, *EGU General Assembly Conference Abstracts*, 2020, p. 8518.

9. Konopelko L. A., Migal P. V., Sobina E. P., Razrabotka etalonov sravneniya v vide metallov vysokoy chistoty, *Etalony. Standartnye obrazcy*, 2019, vol. 15 (2), pp. 15–24. (In Russ.)

10. Jochen Vogl, Heinrich Kipphardt, Hans-Joachim Heinrich, Egor Sobina, Tatiana Tabatchikova, CCQM-P107.1 Purity of Zinc with respect to six defined metallic analytes, BAM Federal institute for Materials Research and Testing, Berlin, Draft Report, 2014.

11. Jochen Vogl et al., CCQM-P149 Purity determination of zinc to be used as primary standard for zinc determination, BAM Federal institute for Materials Research and Testing, Berlin, Draft B, 2016.

12. Vogl J., CCQM-IAWG17-28 Roadmap for the purity determination of pure metallic elements. Basic principles and helpful advice, 2017, available at: https://www.bipm.org/wg/CCQM/IAWG/Allowed/April_2017/CCQM-IAWG17-28.pdf (accessed: 03.02.2021).

13. Mikheeva A. Y., Krylov A. I., Proslezhivaemost' v organicheskom analize. Chast 1: Edinstvo izmereniy i sopostavimost' nacionalnih i mezhdunarodnih etalonov, *Etalony. Standartnye obrazcy*, 2019, vol. 16 (3), pp. 5–22. (In Russ.)

14. Faruqi N., Kummrow A., Fu B., Divieto C., Rojas F., Kisulu F., Cavalcante J. J. V., Wang J., Campbell J., Martins J. L., Choi J.-H., Sassi M. P., Zucco M., Vonsky M., Vessillier S., Zou S., Fujii S.-I., Ryadnov M. G., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 2020, vol. 7, p. 456. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00456>

15. Kolobova A. V., Konopelko L. A., Popov O. G., *Etalony. Standartnye obrazcy*, 2019, vol. 16 (3), pp. 23–35. (In Russ.) <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2020-16-3-23-35>

Статья поступила в редакцию 22.03.2021; принята к публикации 01.06.2021.