

## Разработка комплекта стандартных образцов молярной концентрации глюкозы в растворе

Щукина Е. П., Горяева Л. И.

Уральский научно-исследовательский институт метрологии – филиал  
ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии имени Д.И.Менделеева»,  
г. Екатеринбург, Россия, e-mail: ShchukinaEP@uniim.ru

**Аннотация:** Содержание глюкозы является одним из важнейших показателей при диагностике состояния здоровья человека. Разработан комплект стандартных образцов (СО) молярной концентрации глюкозы в растворе (комплект РГ), предназначенный для контроля точности методик измерения содержания глюкозы, поверки и калибровки средств измерений. СО комплекта РГ аттестованы по расчётно-экспериментальной процедуре приготовления с применением аттестованной методики измерений массовой доли основного вещества в глюкозе. Аттестованные значения СО прослеживаются к национальным эталонам единиц величин.

**Ключевые слова:** глюкоза, определение содержания глюкозы, титриметрический метод измерений, стандартный образец

Основным энергоресурсом для поддержания жизнедеятельности человека является глюкоза. В организме человека моносахарид глюкоза образуется из углеводов и аминокислот в процессе расщепления и ферментации пищи. Большая часть образовавшейся глюкозы всасывается в кровь и с помощью инсулина (гормона поджелудочной железы) доставляется в клетки организма. Оставшаяся часть глюкозы трансформируется печенью в высокомолекулярный гликоген – углеводный резерв, который организм использует при недостатке глюкозы. При полноценной выработке инсулина поджелудочной железой и рациональном его использовании клетками организма в крови сохраняется стабильный уровень глюкозы. Содержание глюкозы в крови является одним из наиболее важных биохимических показателей, характеризующих состояние здоровья человека и, в силу этого, нуждающимся в постоянном контроле. Стойкое отклонение содержания глюкозы от нормы в сторону увеличения – характерный признак заболевания сахарным диабетом.

Разработано достаточно много методик определения содержания глюкозы в крови и других биологических жидкостях организма человека и животных, основанных на титриметрических, колориметрических и ферментативных методах [1]. В клинко-диагностических [2] и судебно-медицинских лабораториях [3] наиболее часто используются методики измерений, представляющие собой различные модификации глюкозооксидазного метода, признанного одним из самых точных количественных методов определения глюкозы [4]. Метод предложен в 1956 году [5–7] и основан на стехиометрической реакции образования перекиси водорода при взаимодействии глюкозы с содержащимся в крови кислородом в присутствии фермента глюкозооксидазы в качестве катализатора. Количество перекиси водорода, стехиометрически связанное с содержанием глюкозы, затем измеряется биохимическими, электрохимическими и другими методами, как правило, предусматривающими применение отградуированных и поверенных или калиброванных средств измерений (фотометров, колориметров и др.).

Помимо методик измерений, применяемых в лабораторных условиях, в настоящее время создано большое количество различных приборов, позволяющих контролировать уровень глюкозы в крови в домашних условиях. Эти приборы также градуируются и поверяются при выпуске из производства. В качестве средств градуировки и поверки таких средств измерений, как правило, применяются водные растворы безводной D-глюкозы. Молярная концентрация глюкозы в подобных растворах обычно устанавливают расчетным путем, принимая массовую долю основного вещества в препарате глюкозы за 100 %. Вместе с

тем, анализ глюкозы, выпускаемой российскими и зарубежными производителями, показывает, что массовая доля основного вещества в глюкозе обычно не превышает 98,5 %. При приготовлении растворов глюкозы обычно не учитывается и тот факт, что глюкоза является достаточно гигроскопичным веществом.

В 2020 г. УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева» разработал комплект из четырех СО молярной концентрации глюкозы в растворе (комплект РГ). СО комплекта РГ предназначены для градуировки средств измерений содержания глюкозы в биологических жидкостях организма человека и в водных растворах. СО могут быть использованы для поверки и калибровки средств измерений содержания глюкозы, контроля точности результатов измерений, для аттестации методик измерений содержания глюкозы в биологических жидкостях и водных растворах.

Аналогичными по составу, аттестуемой характеристике и назначению являлись стандартные образцы состава раствора глюкозы комплекта ГЛ (ГСО 9053-2008), выпускавшиеся до 2013 года филиалом ФГУП «НПО «Микроген» и ООО «Биоспектр». СО комплекта РГ отличается от ГСО 9053-2008 способом установления значений метрологических характеристик – СО комплекта РГ аттестуются не по результатам межлабораторного эксперимента, а по расчетно-экспериментальной процедуре приготовления.

Материалом СО комплекта РГ являются растворы D-глюкозы в 0,2 % водном растворе бензойной кислоты.

Для установления массовой доли основного вещества в глюкозе, используемой для производства СО, была разработана и аттестована методика измерений М.УНИИМ 251.1-2020 Методика измерений массовой доли основного вещества в глюкозе методом весового титрования с натрием серноватистокислым (ФР.1.31.2020.37594), основанная на окислении глюкозы до глюконовой кислоты йодатом натрия, получаемым при взаимодействии раствора йода с раствором гидроксида натрия, дальнейшем образовании йода при добавлении раствора серной кислоты, который титруют раствором натрия серноватистокислого в присутствии крахмала в качестве индикатора до перехода окраски из тёмно-синей в бесцветную. Точную концентрацию раствора натрия серноватистокислого устанавливают по стандартному образцу состава калия двуххромовокислого (бихромата калия) 1-го разряда ГСО 2215-81 методом косвенного йодометрического титрования. Метрологические характеристики методики измерений приведены в таблице 1.

Таблица 1. Метрологические характеристики методики измерений М.УНИИМ 251.1-2020

Диапазон измерений	Стандартная неопределенность повторяемости, $u_r$	Стандартная неопределенность внутрилабораторной прецизионности, $u_{R,1}$	Расширенная неопределённость смещения при $k=2$ , $U_0$
От 95 % до 100 %	0,7	0,9	0,5

Для обеспечения возможности использования СО комплекта РГ при поверке средств измерений помимо значений показателей неопределенности при аттестации методики измерений были установлены значения характеристик погрешности измерений.

При проведении измерений массовой доли основного вещества в глюкозе, используемой для приготовления материала СО комплекта РГ, выполняют не менее пяти измерений в условиях внутрилабораторной прецизионности.

В качестве растворителя при производстве СО комплекта РГ используется 0,2 % раствор бензойной кислоты квалификации ч.д.а. по ГОСТ 10521-78 [8] в воде 1 степени чистоты по ГОСТ Р 52501-2005 [9].

Поскольку материал СО представляет собой растворы, специальных исследований однородности не проводят.

Стабильность материала СО комплекта РГ в течение срока годности (1 год) была подтверждена результатами измерений, выполненных на материале опытной партии СО с молярной концентрацией глюкозы 5 ммоль/дм<sup>3</sup> в течение 18 месяцев. Результаты измерений были обработаны с учетом рекомендаций ГОСТ Р 8.694-2010 [10].

Границы погрешности аттестованных значений СО комплекта РГ были установлены с учетом вкладов от установления массовой доли глюкозы в используемом реактиве, от процедуры приготовления (взвешивания и растворения) и от возможной нестабильности.

Номинальные аттестованные значения СО комплекта РГ приведены в таблице 2.

Таблица 2. Номинальные аттестованные значения СО комплекта РГ

Индекс СО	РГ-1	РГ-2	РГ-3	РГ-4
Молярная концентрация глюкозы, ммоль/дм <sup>3</sup>	1,00	5,00	10,00	20,00

Относительная погрешность аттестованных значений СО при P=0,95 (относительная расширенная неопределенность при k=2) не превышает 3 %.

Аттестованные значения СО прослеживаются:

- к единице массы (кг) посредством использования при измерениях поверенных весов;
- к единице объема (м<sup>3</sup>) посредством использования при измерениях поверенной мерной лабораторной посуды;
- к единице молярной концентрации посредством использования при измерении массовой доли основного вещества в D-глюкозе стандартного образца состава калия двуххромовокислого (бихромата калия) 1 разряда ГСО 2215-81 с установленной прослеживаемостью к единице величины, воспроизводимой Государственным первичным эталоном массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии ГЭТ 176-2019.

Комплект стандартных образцов молярной концентрации глюкозы в растворе внесен в Государственный реестр утвержденных типов СО под номером ГСО 11683-2021.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Тимофеев А.В. Измерение глюкозы по месту лечения: вопросы качества и безопасности. Сообщение 1. Классификация и аналитические характеристики методов измерения глюкозы // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2014. № 1/2. С. 38–46.
2. Биохимический практикум: пособие для самостоятельной аудиторной работы студентов, обучающихся по специальности 020400.62 – Биология, профиль Микробиология. Ч. 2 / Камилев Ф. Х. [и др.]. Уфа : Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2014. 99 с.
3. Жаров В.В., Асташкина О.Г., Наумова А.М. Биохимические методы исследования в судебно-медицинской практике. Методические рекомендации (№ 47). М.: Департамент здравоохранения Москвы, 2008. 20 с.
4. Тимофеев А.В. Измерения глюкозы крови по месту лечения: вопросы качества и безопасности. Сообщение 2. Прецизионность и точность систем измерения глюкозы и их устойчивость к интерферирующим факторам // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2014. № 2. С. 18–27.
5. Froesch E., Renold A. Specific enzymatic determination of glucose in blood and urine using glucose oxidase // Diabetes, 1956. Vol. 5, N 1. P. 1–6.
6. Keston A. S. Specific colorimetric enzymatic analytical reagents for glucose // Abstr. Am. Chem. Soc. 129th Meeting / Washington: Am. Chem. Soc., 1956. P. 31–32.
7. Teller J.D. Direct, quantitative, colorimetric determination of serum or plasma glucose // Abstr. Am. Chem. Soc. 129th Meeting / Washington: Am. Chem. Soc., 1956. P. 69.
8. ГОСТ 10521-78 Реактивы. Кислота бензойная. Технические условия. М.: Издательство стандартов, 1993. 10 с.
9. ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2006. 8 с.
10. ГОСТ Р 8.694-2010 (Руководство ИСО 35: 2006) Стандартные образцы материалов (веществ). Общие статистические принципы определения метрологических характеристик. М.: Стандартинформ, 2012. 68 с.