

**МЕТОДЫ ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ГОМОГЕННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ (БУТЫЛИРОВАННЫЕ ВОДЫ, ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ, ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА)**

**А.В. Сыроешкин<sup>1,2</sup>, В.И. Добровольский<sup>1</sup>, Т.В. Плетенева<sup>2</sup>,  
А.С. Ульяновцев<sup>2</sup>, Е.В. Успенская<sup>2</sup>, М.А. Морозова<sup>2</sup>, Д.И. Беленький<sup>1</sup>,  
Е.В. Лесников<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> – ФГУП «ВНИИФТРИ», Менделеево, Московской обл.

vid@vniiftri.ru

<sup>2</sup> – Российский университет дружбы народов, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8-2.

syroeshkin\_av@pfur.ru

*Показано, как топология светорассеивания гомогенных водных растворов может быть использована для их идентификации. Приведены основы метода с использованием топологических дескрипторов. Показан пример определения чувствительности, повторяемости и воспроизводимости метода для инфузионных растворов. Предложена методика определения степени обеднения воды по содержанию тяжелых изотопов.*

*It is shown the light scattering topology of homogeneous aqueous solutions can be used to identify them. The basics of the method with the use of topological descriptor are presented. The example of determining of the sensitivity, repeatability and reproducibility of the method is shown for the infusion solutions. The application of the method for determining the depletion of the water content of heavy isotopes is described.*

*Ключевые слова: метод контроля, качество, пищевые продукты, лекарственные средства*

В современной системе контроля качества питьевых вод, пищевых продуктов и лекарственных средств следует выделить два основных направления: первое – создание и мощное инструментальное оснащение контрольно-аналитических лабораторий, требующие больших финансовых затрат, наличие высококвалифицированного обслуживающего персонала и снабжение специализированными расходными материалами различной спецификации. Примером может служить хромато-масс-спектрометрия. Второе направление, частично дополняющее первое, – это создание и внедрение методов, позволяющих проводить экспресс-анализ продукции. Следует отметить, что подобные методы не менее сложны по исполнению, но более удобны ввиду отсутствия стадии пробоподготовки и простоты проведения анализа. Примером могут служить БИК-спектрометрия, позволяющая определять подлинность таблетированных лекарственных форм без нарушения целостности первичной упаковки, и ЯКР-спектроскопия, используемая для детектирования взрывчатых и наркотических веществ.

Новейшие исследования по физико-химическим свойствам водных

растворов показали, что в зависимости от химического состава раствора формируются плотностные неоднородности колмогоровского масштаба (около 0,1 мм), характеризующиеся определёнными размерными спектрами и кинетикой релаксации [1-3]. Это открыло возможность проводить определение подлинности заявленной торговой марки с применением лазерных методов, например, метод малоуглового рассеяния лазерного излучения (LALLS) для анализа бутылированных минеральных вод [4].

Как описано выше, LALLS требует прецизионного оптического оборудования. Разработанный новый подход использует кинетику «мерцания» дейтерий-стабилизированных плотностных неоднородностей в воде – гигантских гетерофазных кластеров, поэтому независим при приборостроении от геометрии кюветы и искажениях при рассеянии света. Это подтверждает многолетний опыт применения новых экспресс-методов во Всероссийском научно-исследовательском институте физико-технических и радиотехнических измерений, Российском университете дружбы народов, Государственном океанографическом институте имени Н.Н. Зубова и Институте коллоидной химии и химии воды А.В. Думанского [5, 6].

Возможность создания нового метода определения подлинности лекарственных средств обусловлена и применением новых достижений хемометрики, развитых нами из теоретического аппарата системы ККСА (QSAR, количественных корреляций структуры-активности лекарственных веществ), и достижений метода БИК-спектрометрии, использующих анализ многомерных множеств. Представленные ниже результаты спектрального анализа имеют значительно большую статистическую значимость, чем, например, стандартные хроматографические профили, так как дублируются результатами многих двумерных диаграмм лазерного светорассеяния (2D-LS диаграмм), - в настоящей работе в основном использованы шесть дескрипторов. Программно-аппаратный комплекс нового метода определения подлинности без вскрытия упаковки позволяет быстро получать и обрабатывать значительные массивы данных (до 50000 результатов измерений, что соответствует измерению в течение десяти минут).

#### **Методика экспресс-определения подлинности бутылированных вод без вскрытия упаковки**

Метод когерентной микроскопии, комбинированный с интерферометрией, позволяет визуализировать кинетику мерцания гигантских гетерофазных кластеров воды в реальном времени. Результатом математической обработки получаемых изображений являются двумерные диаграммы sdi-di, схожие с фазовыми диаграммами в классической  
*Альманах современной метрологии, 2016, №6*

физической химии, характеризующие устойчивость стационарного процесса образования/распада ГГК воды при светорассеянии (2D-LS-диаграммы).

Метод, основанный на интерференции лазерного излучения, оказался наиболее удобным для исследования структуры воды и водных растворов и изучения кинетики мерцания гигантских кластеров воды [5]. Принцип метода состоит в следующем. Луч от гелий-неонового лазера (ЛГН-208А, мощность - 1,9 мВт, длина волны 780 нм, диаметр пучка лазерного излучения на расстоянии 40 мм составляет 0,6 мм, линейное отклонение пучка относительно геометрической оси посадочных мест излучателя составляет 0,06 мм) пропускали через систему линз, на фокусном расстоянии от которой располагали исследуемый образец. Оптическую картину проецировали на экран монитора с помощью цифровой камеры, соединённой посредством USB-кабеля с персональным компьютером. Анализировались изменения мгновенных интерференционных картин, которые регистрировали через определенные интервалы времени (1 секунда). Экспериментальные интерференционные картины представляли в виде матрицы дискретных элементов с определённым значением интенсивности сигнала (рис. 1). Полученные интерференционные картины математически обрабатывались с помощью трёх дескрипторов (критериев различия), отражающих их степень различия и позволяющих количественно их оценивать [7].

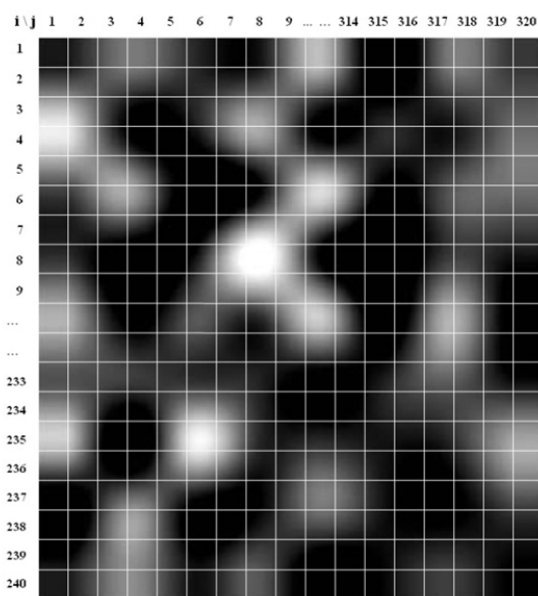


Рис. 1. Дискретное представление части экспериментальной дифракционной картины со сложной спекл-структурой

Дескриптор  $d_1$  является самым простым с точки зрения расчёта и учитывает только число различающихся элементов вне зависимости от степени различия:

$$d_1 = (i_{\Delta Si > Sb} / i_t) \times 100\% , \quad (1),$$

где

$i_t$  – общее число элементов;

$i_{\Delta Si > Sb}$  – число элементов по уровню сигнала больше порогового уровня;

$\Delta Si$  – величина различий по уровню сигнала соответствующих элементов двух интерференционных картин;

$Sb$  – величина порогового уровня сигнала.

Основой для расчёта дескриптора  $d_2$  служит начальная интерференционная картина и суммарная интенсивность уровня её сигнала (2). Этот дескриптор учитывает также степень различий для каждого дискретного элемента:

$$d_2 = \frac{\sum_{\Delta Si > Sb} \Delta Si}{i_t \times S} \times 100\% , \quad (2),$$

где

$\sum_{\Delta Si > Sb} \Delta Si$  - сумма значений различий по уровню сигнала всех соответствующих элементов двух интерференционных картин;

$S$  - среднее значение уровня сигнала всех элементов начальной интерференционной картины.

Дескриптор  $d_3$  наиболее объективен, так как основывается не на параметрах начальной интерференционной картины, а на величине максимально возможных различий двух гипотетических интерференционных картин – абсолютно чёрного и абсолютно белого цвета:

$$d_3 = \frac{\sum_{\Delta Si > Sb} \Delta Si}{i_t \times \Delta Sm} \times 100\% , \quad (3),$$

где  $\Delta Sm$  - сумма максимально возможных значений различий по уровню сигнала всех соответствующих элементов двух интерференционных картин.

Для отличия сигнала от шума при анализе интерференционных картин устанавливали определенный пороговый уровень сигнала, считая, что сигнал с уровнем меньше порогового является шумом.

Таким образом, обработка результатов состояла в получении динамики изменения дескрипторов ( $d_1$ ,  $d_2$ ,  $d_3$ ), отражающих степень различия полученных интерференционных картин, от времени. Для характеристики стационарной устойчивости гигантских гетерофазных кластеров воды была

проанализирована вариабельность значений дескрипторов от времени. Для обработки данных применялось программное обеспечение «Vidan», конечные результаты представляли в виде диаграмм зависимости вариабельности  $sd_i(t)$  (стандартное отклонение) от значения дескриптора  $d_i(t)$ .

### Определение чувствительности, повторяемости и воспроизводимости разрабатываемого метода на примере инфузионных растворов

Для апробации нового метода нами выбраны классические инфузионные растворы, часто применяемые в медицинской практике. Новый метод отличается экспрессностью и возможностью проводить анализ без нарушения целостности упаковки. Для анализа на воспроизводимость и повторяемость выбирали по пять образцов инфузионных растворов каждой серии одного производителя. Чувствительность и селективность метода определяли на образцах раствора натрия хлорида различной концентрации, дистиллированной воде и образцах готовой продукции. Измерения проводились при температуре  $21 \pm 1$  °С.

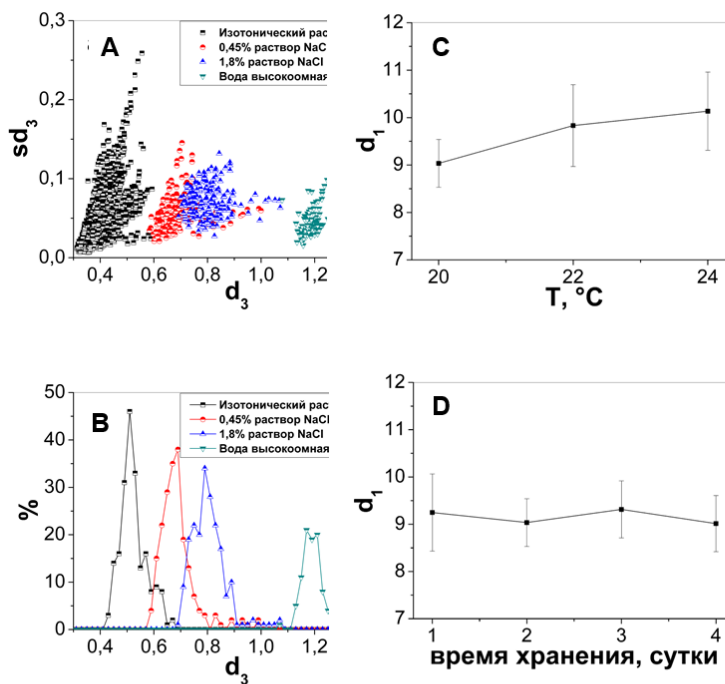


Рис. 2. Результаты обработки данных по двумерного лазерного светорассеяния для образцов воды и растворов натрия хлорида,  $n=400$  (A – 2D-LS диаграммы; B – спектр частоты встречаемости  $d_3$ ; C – вариабельность значений  $d_1$  в зависимости от температуры; D – вариабельность значений  $d_1$  в зависимости от времени хранения образца)

Для образцов инфузионных растворов получали 2D-LS диаграммы и проводили их спектральный анализ по частоте встречаемости (рис. 2, А, В). Результаты анализа изотонического раствора натрия хлорида свидетельствуют о том, что независимо от производителя или серии, устойчивость и кинетика мерцания гигантских кластеров воды одинаковы. От серии к серии выраженных различий не наблюдается, как и при различной длительности хранения (рис. 2, D). Зависимость дескрипторов от температуры на интервале 20-24 °С незначительна (рис. 2, С). При сравнении с результатами анализа дистиллированной воды и раствора натрия хлорида неизотонической концентрации наблюдаются выраженные изменения, что позволяет быстро выявить грубую ошибку при выпуске готовых изотонических растворов.

### Анализ бутылированных лечебно-столовых и лечебных минеральных вод

Минеральные воды широко представлены в ассортименте как оптово-розничных сетей, так и аптечных учреждений. Следует отметить, что питьевые лечебно-столовые и лечебные воды, которые следует назначать и применять под контролем врача, свободно продаются без каких-либо предупреждений и ограничений. Известны случаи подделки торговых марок минеральных вод. В связи с этим возникает необходимость экспресс-контроля подлинности продаваемых в магазинах минеральных вод.

Минеральная вода каждой из трёх исследуемых торговых марок, имеющая индивидуальный физико-химический состав, характеризовалась определенным, отличным от других вод, расположением облаков рассеяния на диаграмме. Для каждой марки минеральной воды облака имеют характерную форму и расположение (рис. 3).

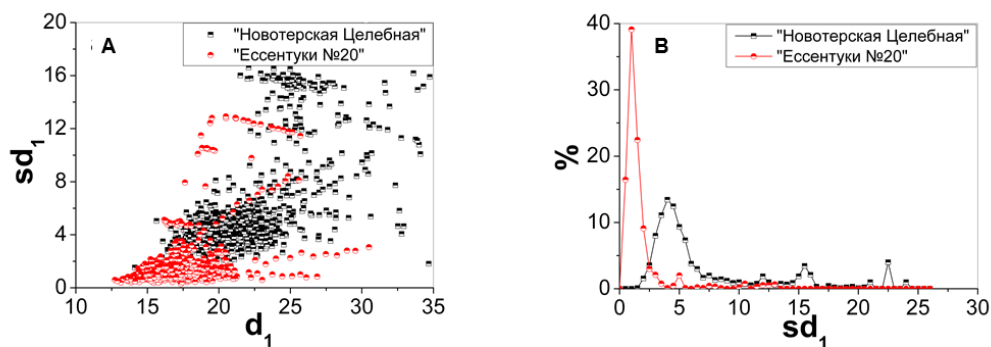


Рис. 3. 2D-LS-Диаграмма (А) и частотный спектр (В)  $sd_1$  образцов минеральных вод ( $n=900$ )

Различие между исследуемыми образцами удобно оценивать после статистической обработки диаграмм по частотному спектру. Предлагаемый метод позволяет различить не только однокомпонентные системы, такие как раствор хлорида натрия, но и сложные многокомпонентные растворы, включающие в себя наночастицы [8], такие как природные минеральные воды.

### Вода с различным содержанием тяжёлых изотопов

Большой интерес к воде с пониженным содержанием дейтерия (ddw) возникает в связи с обнаруженным противоопухолевым эффектом [9]. Лёгкая вода не только улучшает обменные процессы, но и способствует увеличению неспецифических защитных сил организма. Реализовано массовое внедрение воды с пониженным содержанием дейтерия: в странах Евросоюза лёгкая вода выпускается и используется в комплексном лечении опухолевых заболеваний (Preventa™); в США лёгкая вода позиционируется как профилактическое противоопухолевое средство. В России легкая вода производится на предприятиях ЗАО «Легкая вода». В связи с распространением лёгкой воды в продаже становится актуальным экспресс-определение её подлинности, так как изотопный анализ высокоомной воды доступен лишь в немногочисленных специализированных научно-исследовательских лабораториях.

Метод лазерной интерферометрии позволил различить не только растворы различного химического состава, но и разного изотопного состава (рис. 4). Статистический анализ 2D-LS-диаграмм позволил различить легкую (ddw, D/H=4 ppm), тяжёлую (D<sub>2</sub>O) и высокоомную воду (H<sub>2</sub>O, D/H=137 ppm). Для воды, обеднённой и насыщенной по содержанию дейтерия, вариабельность значений стандартного отклонения лежат в значительном интервале, что свидетельствует о высокой неупорядоченности структуры ввиду изотопного эффекта [1]. Данное явление связано с нестабильностью гигантских кластеров воды и их малочисленностью, о чём свидетельствуют меньшие по сравнению с дистиллированной водой значения дескриптора. Образец дистиллированной воды в свою очередь характеризуется высокой устойчивостью ГГК воды.

Расширенный мультидескрипторный анализ позволяет получать идентификационные «портреты» кинетики релаксации препаратов воды с концентрацией дейтерия в интервале от 4 до 140 ppm (с незначительными различиями по стандартным физико-химическим характеристикам), с точки зрения математической обработки идентичные данным «finger-print» анализа в молекулярной биологии.

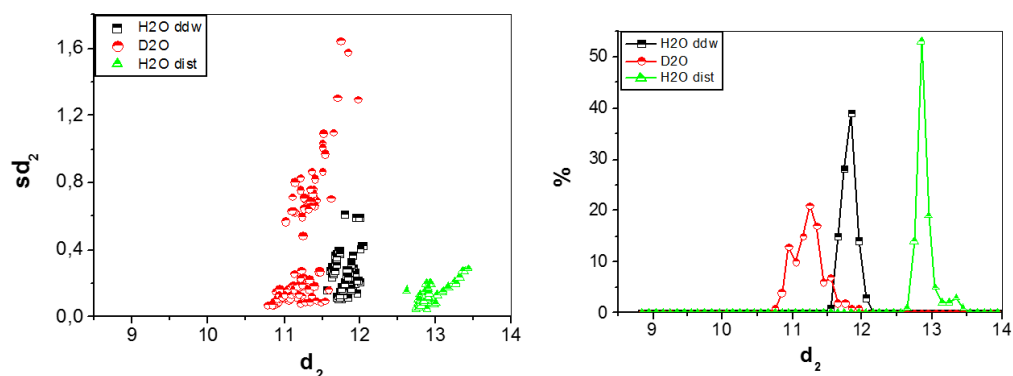


Рис. 4. 2D-LS-Диаграмма (А) и частотный спектр (В)  $d_2$  образцов воды с различным содержанием дейтерия ( $n=400$ )

### Пользовательский режим измерений для неспециалистов

Для использования метода экспресс-определения подлинности нами разработано оборудование и программное обеспечение, позволяющее проводить измерения вне специализированной лаборатории неспециалисту.

На рис. 5 показан дружественный интерфейс программы Vidan Client, с помощью которой возможно определение подлинности готовой продукции.

Для анализа продукции требуется установить ёмкость с исследуемой лекарственной формой или минеральной водой, выбрать из перечня предлагаемых наименований нужное и нажать кнопку «Пуск». Спустя небольшое время (около 3 минут) на экран монитора выводится результат анализа: зелёная галочка означает, что представленный на анализ образец является подлинным, красный крестик означает, что на анализ поступила подделка. База данных в данной случае представляет собой набор диаграмм кинетики устойчивости гигантских гетерофазных кластеров воды и их статистическую обработку. Данные диаграммы закладываются в память персонального компьютера точно так же, как и спектры соответствующих методов (БИК-; ЯКР и Раман-спектроскопия).



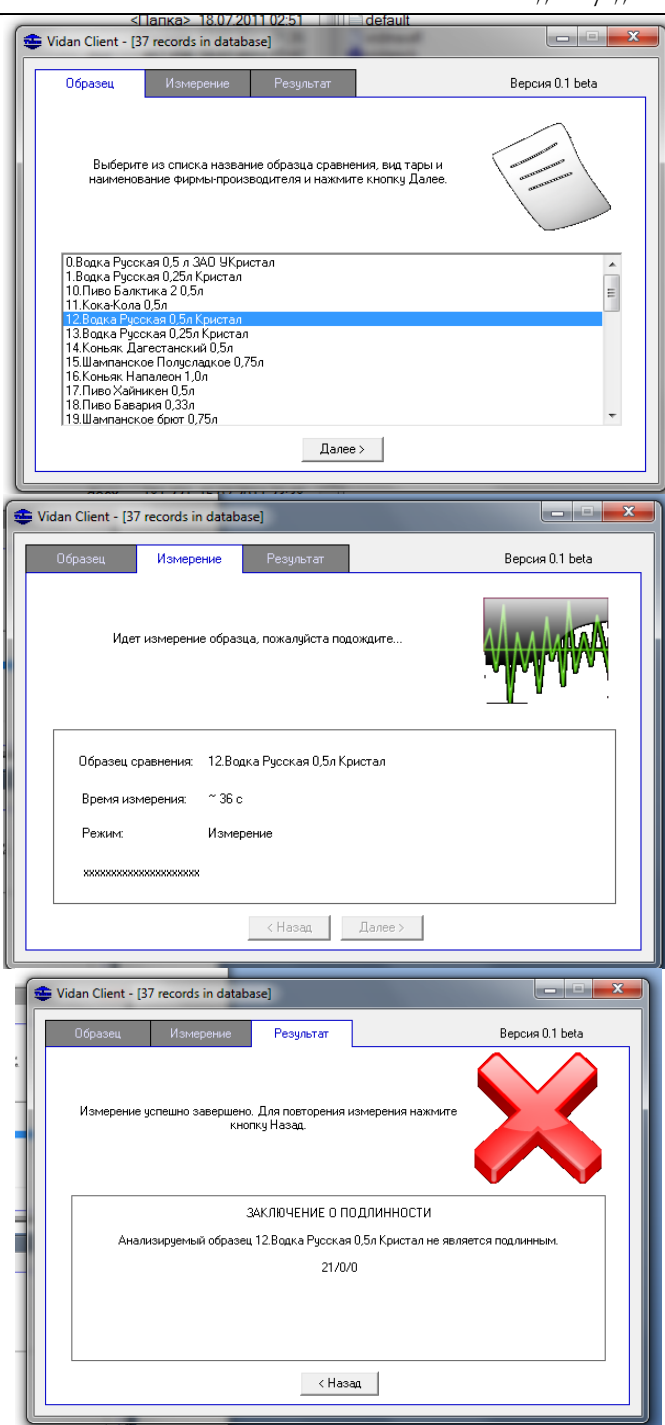


Рис. 5. Интерфейс программы Vidan Client. Показан порядок открытия трёх окон пользователя, иллюстрирующих взаимодействие оператора с автоматизированным комплексом экспресс-определения подлинности

---

**Литература**

1. Goncharuk V.V., Lapshin V.B., Burdeinaya T.N., Pleteneva T.V., Chernopyatko A.S., Atamanenko I.D., Ul'yantsev A.S., Uspenskaya E.V., Samsoni-Todorov A.O., Taranov V.V., Nikolaev G.M., Kavitskaya A.A., Romanyukina I.Yu., Prikhod'ko R.V., Orekhova E.A., Yaremenko V.A., Kotel'chuk A.S., and Syroeshkin A.V. Physicochemical Properties and Biological Activity of the Water Depleted of Heavy Isotopes// *Journal of Water Chemistry and Technology*, 2011, v. 33, №.1, p. 8-13.
2. Смирнов А.Н., Сыроешкин А.В. Супранадмолекулярные комплексы воды, 2004. т. XLVIII, №2, с. 125-135.
3. Фесенко Е.Е., Терпугов Е.Л. О необычных свойствах воды в тонком слое // *Биофизика*, 1999, т. 44, вып. 1, с. 5-9.
4. Успенская Е.В., Сыроешкин А.В. Применение малоуглового измерителя дисперсности для контроля качеств питьевых бутилированных вод.- Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции, 2006, вып. 61. – Пятигорск: ПГФА, с. 312-316.
5. Ульяновцев А.С., Успенская Е.В., Плетенева Т.В., Сыроешкин А.В. Экспресс-метод определения подлинности водных растворов лекарственных веществ // *Химико-фармацевтический журнал*, 2009, т. 43, № 11, с. 47-51
6. Успенская Е.В., Сыроешкин А.В., Смирнов А.Н., Гончарук В.В., Плетенева Т.В., Лапшин В.Б. Структура воды и лазерные экспресс-методы определения подлинности // *Фармация*, 2007, № 5, с. 21-23.
7. Попов П.И., Сыроешкин А.В. Vidan. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2005612135, РОСПАТЕНТ РФ, 19.08.2005.
8. Goncharuk V.V., Lapshin V.B., Karpov O.V., Lesnikov E.V., Balakhanov D.M., Dan'kin D.A., Syroeshkin A.V. Nanoparticles in Artesian Waters // *Journal of Water Chemistry and Technology*, 2011, v. 33, № 3, p. 235-242.
9. Сыроешкин А.В., Титорович О.В., Плетенева Т.В., Бурдейная Т.Н. Вода, обедненная по дейтерию, как адьювантное средство при лечении онкологических заболеваний// *Микроэлементы в медицине*, 2015, т. 16(3), с. 29-37.