



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.08.30

(51) Int. Cl. G01N 21/64 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.02.27

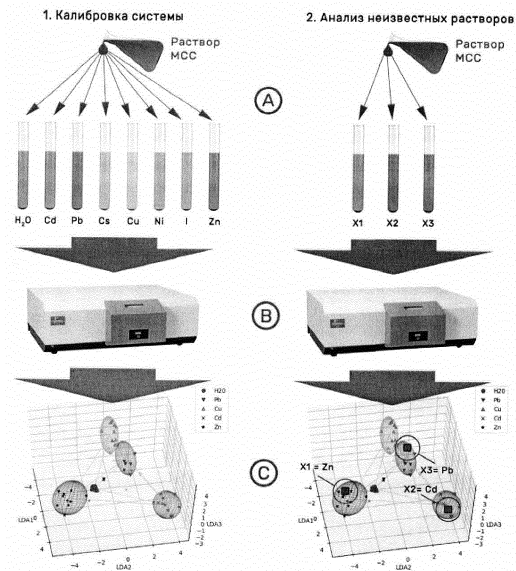
(54) СПОСОБ СЕЛЕКТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ВОДНЫХ СРЕДАХ С ПОМОЩЬЮ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ МУЛЬТИЗОНДОВОЙ СИСТЕМЫ

(96) 2018000025 (RU) 2018.02.27

(71) Заявитель:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "САРАТОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ГАГАРИНА Ю.А." (RU)**(72) Изобретатель:
**Мельников Андрей Геннадьевич,
Сысоев Виктор Владимирович,
Варежников Алексей Сергеевич,
Мельников Геннадий Васильевич,
Коваленко Александр Валерьевич,
Ефремова Виктория Викторовна,
Куенбаева Виктория Ренатовна (RU)**

(57) Настоящее изобретение раскрывает способ селективного определения. Отличительной особенностью данного способа является применение люминесцентной мультizonдовой системы, у которой в присутствии различных ионов спектр флуоресценции меняется различным образом. Изменения интенсивности флуоресценции различных зондов, входящих в мультizonдовую систему, на длинах волн, соответствующих максимумам спектра, формируют векторный сигнал мультizonдовой системы. После калибровки этого векторного сигнала к воздействию требуемых ионов тяжелых

металлов его обрабатывают методами распознавания образов и после обработки записывают в калибровочную базу данных. Анализ ионного состава неизвестного тестового раствора проводят по той же процедуре, что и запись калибровочных данных. Полученные тестовые сигналы сравнивают с калибровочными и принимают решение о виде ионов, входящих в неизвестный тестовый раствор, и их концентрации. Технический результат заявляемого изобретения заключается в возможности эффективного распознавания в растворе вида ионов тяжелых металлов.



Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы

Настоящее изобретение относится к селективному определению солей ионов тяжелых металлов в жидких средах с помощью люминесцентного метода анализа. Предложенный способ характеризуется высокой чувствительностью и селективностью к наличию ионов тяжелых металлов в растворах и возможностью селективно обнаруживать наличие некоторых токсичных примесей на уровне ПДК.

Известен способ определения токсичности водных образцов, основанный на совокупности перекрестно-чувствительных сенсоров для получения сигналов, пропорциональных физико-химическим параметрам жидких сред. Как минимум, один сенсор из совокупности имеет полимерную мембрану, содержащую в качестве активного компонента соединение, выбранное из группы, включающей бромид тетрадодециламмония (TDAB), хлоридтриоктилметиламмония (ТОМА), олеиновую кислоту, 1-гексадеканол, галловую кислоту, эфир фосфорной кислоты, димаид дипиколиновой кислоты (2,6-пиридинкарбоновой), фосфиноксид, металлопорфирин, калликсарен (Патент РФ №2514115). Перекрестно-чувствительные сенсоры представляют собой два или более сенсора одного типа или разных типов, выбранных из группы, включающей вольтамперометрические сенсоры, потенциометрические сенсоры, полевые транзисторы, оптические сенсоры, потенциометрические сенсоры с лазерным сканированием, кварцевые пьезоэлектрические устройства, сенсоры на акустических волнах, сенсоры, работающие на основе метода поверхностного фотопотенциала.

Недостатком данного способа является то, что построение селективной потенциометрической сенсорной системы затруднено необходимостью использования набора дорогостоящих и сложных в производстве сенсоров.

Известен способ и устройство для исследования жидкости сложного солевого и химического состава, основанное на использовании набора рабочих электродов и электрода сравнения из диэлектрических полимеров, с закрепленными электрохимическими сенсорными мембранами с ионоселективными и/или перекрестно-чувствительными свойствами (Патент РФ №2370759). Также устройство содержит герметично укрепленный датчик электропроводности и датчик температуры. В основе принципа действия устройства лежат электрохимические методы анализа с использованием ионоселективных электродов.

К недостаткам способа можно отнести сложность и высокую стоимость производства системы электродов и электролитов.

Известен способ определения концентраций ионов тяжёлых металлов посредством обработки данных мультисенсорной системы для мониторинга водных сред, основанный на потенциометрических методах анализа водных сред (Алхасов С.С. и др. Определение концентраций ионов тяжёлых металлов посредством блока обработки данных мультисенсорной системы для мониторинга водных сред // Известия Южного федерального университета. Технические науки. №4(141).- 2013.- С. 161-168). Для реализации способа предлагаются мультисенсорные системы, включающие в себя набор ионоселективных электродов, имеющих независимые отклики на различные тяжелые металлы. Вторым блоком системы является программа обработки данных, которая выполняет количественную идентификацию с помощью радиальных базисных сетей. Обучающий массив концентраций формируется генератором псевдослучайных чисел.

Недостатком данной системы является то, что построение селективной потенциометрической сенсорной системы затруднено необходимостью использования специальных электродов.

Известен флуоресцентный способ селективного определения ионов Cu^{2+} в водных растворах на основе флуоресцентных зондов, в состав которых

входят квантовые точки CdTe, покрытые различными стабилизирующими добавками, такими как тиогликолевая кислота (ТГК), 3-меркаптопропионовая кислота (МПК) и глутатион (ГТ). Квантовые точки, покрытые ТГК, обладают наибольшей интенсивностью флуоресценции. Далее в порядке уменьшения интенсивности следуют квантовые точки, покрытые МПК и ГТ (Nurerk P. et al. A selective determination of copper ions in water samples based on the fluorescence quenching of thiol-capped CdTe quantum dots // Luminescence.- Т. 31(2).- 2016.- С. 515-522). Квантовые точки CdTe, покрытые ГТ, нечувствительны к ионам Ag^+ , что показывает их сравнительную селективность к наличию ионов Cu^{2+} в водных средах с концентрацией ионов $[Cu^{2+}]$ в диапазоне от $1,57 \cdot 10^{-6}$ М до $6,29 \cdot 10^{-6}$ М. Предел детектирования составляет $9,44 \cdot 10^{-7}$ М.

Недостатком способа является сложность и высокая стоимость получения квантовых точек CdTe, покрытых стабилизирующими оболочками, а также возможность селективного определения только ионов Cu^{2+} .

Известен способ селективного определения концентрации ионов $[Zn^{2+}]$, $[Co^{2+}]$, $[Cu^{2+}]$ в водных средах с использованием культур бактерий *Pseudomonas* sp. B4251, *Bacillus cereus* B4368, *E.coli* 1257 (Gruzina T. G. et al A bacterial multisensor for determination of the contents of heavy metals in water // Journal of Water Chemistry and Technology.- Т. 29(1).- 2007.- С. 50-53). Разработанная мульти-биосенсорная система основана на изменении емкостных характеристик электролитического диэлектрического полупроводника и ион-чувствительного слоя нитрида кремния. Порог детектирования ионов данным способом составляют для цинка – $3,06 \cdot 10^{-6}$ М, для кобальта – $8,48 \cdot 10^{-7}$ М, для меди – $1,57 \cdot 10^{-6}$ М.

Недостатком способа является сложность подготовки сенсорной системы, связанная с необходимостью соблюдения особых условий хранения бактериальных культур, а также низкая селективность способа.

Известен способ распознавания состава многокомпонентных газовых смесей в газовой фазе, характеризующийся повышенной чувствительностью к малым концентрациям компонентов газовых смесей. Способ включает нагрев газочувствительного металлооксидного слоя до температуры 100-400°C, размещение нагретого слоя в исследуемой газовой смеси, приложение электрического напряжения вдоль поверхности газочувствительного металлооксидного слоя с последующим измерением распределения потенциала между точками приложения электрического напряжения, обработку измеренных распределений потенциала методами распознавания образов и сравнение результатов обработки с предварительно полученными калибровочными результатами для известных газов, по которому делают вывод о составе газовой смеси и концентрации входящих в нее компонентов (Патент РФ №2392614). Способ обеспечивает возможность распознавания примесей газов, особенно в малых концентрациях, и формирование с помощью групповых технологий микроэлектроники сенсорных устройств на основе металлооксидных слоев с минимизированным влиянием электродов и/или материала электродов, характеризующихся малыми массогабаритными характеристиками и низким энергопотреблением.

Недостатком способа является невозможность использования данного типа сенсоров для определения примесей веществ в жидкой и твердой фазе.

Известен способ одновременного люминесцентного определения концентрации ряда соединений, использующий различия во временах затухания их люминесценции (Патент РФ № 2303254). В способе люминесцентного анализа для одновременного определения концентрации различных химических соединений в пробе, имеющих отличающиеся времена затухания люминесценции, измеряют интенсивность люминесценции пробы посредством спектрофлуориметра с импульсным частотным возбуждением, обеспечивающим измерение указанной

интенсивности с регулируемой задержкой по времени после возбуждающего импульса и с регулируемой длительностью строба, в течение которого интегрируется сигнал люминесценции, после заданной задержки его включения. Используют длительность строба и величину задержки, позволяющие разделить сигналы от химических соединений, обладающих различными временами затухания люминесценции при сопоставимых квантовых выходах люминесценции, и обеспечить селективное определение концентрации указанных соединений в одной пробе.

Недостатком способа является то, что с его помощью можно определять только флуоресцирующие анализируемые химические соединения, а также сложность системы синхронизации для регистрации сигналов люминесценции с разным временем затухания.

Ближайшим аналогом данного изобретения является способ определения наличия тяжелых металлов в водных растворах, основанный на тушении флуоресценции люминесцентных зондов (Патент РФ № 2431132). При осуществлении способа в исследуемый раствор добавляют заданное количество белка и люминесцентного зонда, деоксигенируют его, затем полученный раствор облучают импульсным источником света. Определяют люминесцентно-кинетические характеристики выхода фосфоресценции зонда и сравнивают их с люминесцентно-кинетическими характеристиками предварительно подготовленного эталонного водного раствора фосфоресцентного зонда. По изменению интенсивности и времени жизни фосфоресценции люминесцентного зонда судят о наличии тяжелых металлов в исследуемом растворе. Устройство содержит: импульсный источник света, блок питания источника света, параболическое зеркало, кювету, светофильтры, линзу, фотоэлектронный умножитель (ФЭУ), блок управления задержкой ФЭУ и блок синхронизации.

Недостатком способа является отсутствие селективности определения тяжелых металлов в растворе, возможна только регистрация их наличия.

Технической задачей заявляемого изобретения является реализация способа селективного анализа ионов тяжелых металлов в растворе с помощью измерения спектра флуоресценции не единичного люминесцентного зонда, а набора люминесцентных зондов или мультizonдовой системы, совокупный векторный сигнал которых обрабатывается методами распознавания образов.

Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы заключается в том, что подбирают набор люминесцентных зондов для составления мультizonдовой системы в водном или спиртовом растворе и проводят калибровку ее отклика к воздействию требуемых тестовых ионов тяжелых металлов в растворе, для чего к тестовому раствору-аналиту добавляют малые концентрации мультizonдовой системы, воздействуют на полученный раствор импульсным источником света и записывают с помощью флуоресцентного спектрометра спектры флуоресценции всех зондов системы на длинах волн возбуждения, соответствующих электронным переходам $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_0 \rightarrow S_2$, определяют набор максимальных значений интенсивности флуоресценции каждого зонда системы, которые используют как компоненты векторного отклика системы для обработки методами распознавания образов, записывают полученные обработанные сигналы в память вычислительного устройства; описанную калибровку отклика мультizonдовой системы проводят к воздействию всех необходимых тестовых аналитов, формируя базу данных, хранящуюся в вычислительном устройстве; на этапе анализа ионного состава неизвестного раствора аналита к нему добавляют малые концентрации мультizonдовой системы, воздействуют на полученный раствор импульсным источником света и записывают с помощью флуоресцентного спектрометра спектры флуоресценции всех зондов системы на длинах волн возбуждения, соответствующим электронным переходам $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_0 \rightarrow S_2$, определяют

набор максимальных значений интенсивности флуоресценции каждого зонда системы, которые используют как компоненты векторного отклика системы для обработки методами распознавания образов, полученные обработанные сигналы сравнивают с сигналами, записанными в базе данных вычислительного устройства; при совпадении калибровочных и тестовых данных делают вывод об ионном составе раствора и концентрации входящих в него компонентов.

При проведении анализа как во время калибровки, так и во время тестирования раствор аналита могут добавлять в малых объемах в раствор, содержащий мультizonдовую систему.

В составе мультizonдовой системы применяют не менее трех люминесцентных зондов, у которых расстояние между длинами волн, соответствующих максимумам спектров флуоресценции и поглощения, составляет не менее 3х-кратной разрешающей способности используемого флуоресцентного спектрометра.

В качестве дополнительного аналитического сигнала для построения векторного отклика мультizonдовой системы используют значения максимумов спектра флуоресценции зондов мультizonдовой системы при возбуждении излучением в ультрафиолетовой области длин волн.

В качестве метода распознавания образов используют метод линейно-дискриминантного анализа и/или корреляционного анализа и/или главных компонент и/или кластерного анализа и/или искусственных нейронных сетей.

Технический результат заявляемого изобретения заключается в возможности эффективного селективного детектирования наличия в растворе ионов тяжелых металлов. Способ позволяет определять наличие в растворе различных металлов концентрацией от 10^{-4} М. Невысокая стоимость химических веществ, необходимых для проведения анализа, определяет низкую себестоимость одного анализа. Предварительная

калибровка позволяет настраивать систему на детектирование большого количества веществ.

Изобретение поясняется чертежами: фиг. 1 – энергетическая диаграмма электронных переходов в молекуле люминесцентного зонда; фиг. 2 – схема применения предложенного способа селективного анализа состава неизвестных растворов на содержание в них ионов тяжелых металлов, обозначения: 1 – этап калибровки, 2 – этап анализа, А – приготовление раствора, содержащего мультizonдовую систему, В – производство измерений флуоресцентных спектров с помощью спектрометра, С – обработка полученных экспериментальных данных и получение результата анализа; фиг. 3 – типичные спектры флуоресценции мультizonдовой системы, составленной для примера из красителей акридина оранжевого концентрацией $C = 10^{-8}$ М, эозина Y концентрацией $C = 10^{-6}$ М и метилена синего концентрацией $C = 3 \cdot 10^{-4}$ М при добавлении ионов $[Cu^{2+}]$ из раствора, содержащего соли $CuSO_4$ с концентрацией $(2,6-11,6) \cdot 10^{-4}$ М. На рисунке показаны спектры флуоресценции мультizonдовой системы при возбуждении в УФ-области ($\lambda_{\text{возб}} = 260$ нм), в максимуме поглощения акридинового желтого ($\lambda_{\text{возб}} = 520$ нм), в максимуме поглощения эозина ($\lambda_{\text{возб}} = 520$ нм) и в максимуме поглощения метиленового синего ($\lambda_{\text{возб}} = 660$ нм); фиг. 4 – типичная фазовая диаграмма распределения векторных откликов мультizonдовой системы, полученная с помощью метода главных компонент, на примере отклика мультizonдовой системы, состоящей из акридина оранжевого, эозина Y и метиленового синего концентрациями 10^{-8} М, 10^{-6} М и $3 \cdot 10^{-4}$ М, соответственно, при воздействии ионов Cu^+ , Cd^+ , Pb^+ и Zn^+ .

Для реализации способа предлагается мультizonдовая система – раствор, содержащий смесь из трех и более флуоресцентных зондов на основе, например, красителей ксантенового и акридинового рядов – родамина 6Ж, эритрозина, акридинового желтого, эозина, метиленового синего и др.,

полициклических ароматических углеводородов – пирена, антрацена и др., белковых флуоресцирующих макромолекул - сывороточного альбумина человека и др., флуоресцирующих наночастиц диоксида титана и полититаната калия, квантовых точки различной структуры, в дистиллированной воде или этаноле в таких концентрациях, чтобы, 1) исключить влияние эффекта внутреннего фильтра (Паркер С. Фотолюминесценция растворов. М.: Мир, 1972 г.) и, 2) получить флуоресценцию от всех зондов, интенсивность которой лежит в диапазоне около одного порядка по величине. При этом для реализации возможности селективного возбуждения флуоресценции люминесцентные зонды подбирают так, чтобы длины волн λ_{max} , на которых наблюдаются максимумы их спектров излучения и поглощения, отличались на величину не менее чем $3 \cdot \delta\lambda$, где $\delta\lambda$ – спектральная ширина возбуждающего излучения используемого спектрометра. Дополнительной возможностью при составлении мультizonдовой системы является наличие общей полосы поглощения у применяемых люминесцентных зондов в области длин волн, например, ультрафиолетового диапазона, $\lambda=260$ нм. В этом случае имеется возможность осуществлять одновременное фотовозбуждение всей мультizonдовой системы и получение дополнительных сигналов, как компонентов для построения векторного отклика мультizonдовой системы, как описано далее. Общая схема применения предложенного способа селективного анализа состава неизвестных растворов на содержание в них ионов тяжелых металлов приведена на фиг. 2.

Приготовление растворов люминесцентных зондов, составляющих мультizonдовую систему, осуществляют путем разведения сухого вещества в дистиллированной воде в концентрации 0,15-0,5 г/л. Контроль концентраций люминесцентных зондов производят путем измерения оптической плотности поглощения и расчета по закону Бугера-Ламберта-Бера (Левшин Л.В., Салецкий А.М. Оптические методы исследования

молекулярных систем // М.: Изд-во МГУ, 1994 г.).

Анализ ионного состава неизвестных растворов, содержащих, например, соли тяжелых металлов, проводят в два этапа. На первом калибруют отклик мультizonдовой системы к требуемым ионам тяжелых металлов, содержащихся в растворе, а на втором выполняют непосредственно анализ ионного состава неизвестного раствора.

На этапе калибровки к тестовому раствору-аналиту добавляют раствор, содержащий мультizonдовую систему, или раствор аналита добавляют в малых объемах в раствор, содержащий мультizonдовую систему. После этого воздействуют на полученный раствор импульсным источником света и записывают с помощью флуоресцентного спектрометра спектры флуоресценции всех зондов системы. В данном случае основным аналитическим сигналом является интенсивность флуоресцентного излучения, которое испускается веществом после поглощения им возбуждающего излучения вследствие перехода молекул из возбужденного синглетного состояния в основное состояние (фиг. 1). Известно, что молекулы некоторых веществ, такие как ионы тяжелых металлов, обладают свойством уменьшать флуоресценцию флуорофора – люминисцентного зонда, что часто называется тушением, при диффузионной встрече с ним в растворе. Количественно эффективность тушения характеризуется константой тушения, связывающей изменение интенсивности излучения и концентрацию тушителя в растворе. Величина константы тушения зависит, в первую очередь, от вида тушителя, т.е. тестового аналита и его концентрации, что позволяет использовать процесс тушения в качестве основного принципа работы для рассмотренной мультizonдовой системы. Однако при применении единичного зонда невозможно отделить влияние концентрации ионов и их вида на тушение флуоресцирующего излучения зонда, если заранее неизвестен состав тестового ионного раствора. Тем не менее, в ряде работ показано, что составление мультисенсорного набора

сигналов в принципе позволяет разрешить данную неопределенность (например, Патенты РФ на изобретение № 2392614, № 2586446, Сысоев В. В., Мусатов В. Ю. Газоаналитические приборы «электронный нос» // Саратов: Сарат. гос. тех. ун-т.- 2011.- 100 с. ISBN 978-5-7433-2435-4). С этой целью в данном способе предлагается использовать не один, а несколько люминесцентных зондов в количестве не менее трех.

Для достижения максимальной селективности анализа в данном способе используют следующие аналитические параметры, полученные от зондов мультizonдовой системы: значения интенсивности флуоресценции красителей при возбуждении на длине волны, соответствующей максимуму их поглощения, и значения интенсивности флуоресценции красителей при возбуждении на единой длине волны, которую, как отмечено выше, подбирают так, чтобы у всех красителей, составляющих мультizonдовую систему, на данной длине волны имелась полоса поглощения перехода $S_0 \rightarrow S_2$. Таким образом, при реализации способа на этапе калибровки измеряют с помощью спектрометра спектры флуоресценции при возбуждении поочередно всех зондов-красителей, из которых состоит мультizonдовая система, в зоне перехода $S_0 \rightarrow S_1$, и получают один общий спектр флуоресценции при возбуждении на одной длине волны в области общей полосы поглощения. Так как физика процессов переходов $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_0 \rightarrow S_2$ отличается, это позволяет регистрировать отличия в их протекании при наличии в тестовом растворе аналитов – ионов тяжелых металлов. По полученным спектрам флуоресценции мультizonдовой системы определяют максимумы интенсивности свечения для каждого из зондов мультizonдовой системы и составляют из них, как компонентов, векторный сигнал, характеризующий данный аналит. Данную процедуру калибровки повторяют для различных концентраций в растворе данного типа ионов в требуемом диапазоне, начиная с порога детектирования, который определяется как минимальная концентрация ионов, ведущая к изменению интенсивности

флуоресценции на уровне, превышающем 3-кратную величину шума. После этого такую же калибровку сигнала мультizonдовой системы проводят в отношении всех ионов тяжелых металлов, которые требуется анализировать в требуемом диапазоне концентраций, и записывают полученные векторные сигналы мультizonдовой системы.

Далее все полученные векторные сигналы мультizonдовой системы обрабатывают методами распознавания образов, например, линейно-дискриминантным анализом или методом главных компонент или корреляционным анализом или искусственными нейронными сетями и др. Данные методы сравнивают полученные векторные сигналы и извлекают в явном или неявном виде характерные особенности – признаковые отличия между группами векторных сигналов, соответствующих различным анализам, и группируют их в фазовом пространстве признаков. Вид фазового пространства зависит от вида метода. Например, в методе главных компонент признаками являются главные компоненты. Полученные векторные сигналы мультizonдовой системы в данном пространстве признаков группируются в кластеры, соответствующие различным анализам. Если векторные отклики мультizonдовой системы к разным анализам различаются, то положение кластеров также различается. Технически принадлежность векторных сигналов к тому или иному кластеру может определяться различными известными способами, например, согласно мозаике Вороного (Voronoi, G. Nouvelles applications des paramètres continus à la théorie des formes quadratiques // J. Reine Angew. Math.- 1908.- V. 133.- P. 97–178; Theodoridis, S. Pattern Recognition, 4th ed. / S. Theodoridis, K. Koutroumbas.- Academic Press: New York, 2008). Данные, полученные после обработки методом распознавания образов, записывают в калибровочную базу данных, хранящуюся в памяти вычислительного устройства.

На этапе анализа ионного состава неизвестных тестовых растворов, процедуру, описанную выше для калибровки векторного отклика

мультизондовой системы, повторяют. Мультизондовую систему помещают в тестовый раствор, либо тестовый раствор помещают в раствор, содержащий мультизондовую систему, и облучают соответствующими излучениями, после чего записывают с помощью спектрометра векторный отклик мультизондовой системы, полученный на основе зарегистрированных спектров флуоресценции и обрабатывают тем же методом распознавания образов, который применялся на этапе калибровки. После обработки сравнивают полученные признаки векторного сигнала мультизондовой системы к неизвестному аналиту с признаками, хранящимся в калибровочной базе данных. При совпадении тестовых данных с калибровочными принимают решение об отнесении неизвестного типа ионов тяжелых металлов к одному из калибровочных.

Данный способ позволяет принципиально решить проблему селективности обнаружения различных ионов в широком диапазоне с помощью люминесцентных зондов с достаточно низкой себестоимостью одного анализа. Причем применение данного способа может выполняться в автоматическом режиме.

Пример реализации способа

Для демонстрации работоспособности способа мультизондовую систему изготавливали путем смешения трех различных люминесцентных зондов в определенных концентрациях, акридина оранжевого ($C = 10^{-8}$ М), эозина Y ($C = 10^{-6}$ М) и метиленового синего ($C = 3 \cdot 10^{-4}$ М), производства Sigma Aldrich (Германия), в дистиллированной воде или растворе этилового спирта, 95 %. Выбор люминесцентных зондов для составления мультизондовой системы производили таким образом, чтобы максимумы их спектров поглощения находились на длинах волн с величинами, отличающимся не менее чем на 30 нм, исходя из разрешающей способности используемого спектрофлуориметра (Perkin Elmer LS-55) 10 нм, с целью реализации возможности селективного возбуждения. Наличие общей полосы

поглощения зондов мультizonдовой системы в области 260 нм дает дополнительную возможность их фотовозбуждения излучением в ультрафиолетовом диапазоне. Указанные концентрации люминесцентных зондов в растворе были подобраны так, чтобы интенсивность их флуоресценции не отличалась более чем на порядок величины.

Калибровку векторного сигнала мультizonдовой системы осуществляли следующим образом. Вводный раствор, содержащий мультizonдовую систему, объемом 3 мл, добавляли в раствор, содержащий тестовые аналиты – ионы тяжелых металлов, объемом 0,1-0,5 мл. В качестве примера использовали водные растворы солей тяжелых металлов – меди (CuSO_4) концентрацией $(2,6-11,6) \cdot 10^{-4}$ М, кадмия (CdSO_4) концентрацией $(4,44-16,7) \cdot 10^{-5}$ М, свинца (PbSO_4) концентрацией $(2,8-12,4) \cdot 10^{-4}$ М и цинка (ZnSO_4) концентрацией $(6,4-24,8) \cdot 10^{-4}$ М.

При добавлении тестовых ионов-аналитов в раствор, содержащий мультizonдовую систему, с помощью спектрофлуориметра регистрировали спектры флуоресценции мультizonдовой системы, возбужденные на длинах волн, соответствующих максимумам поглощения зондов – 450 нм (для акридинового желтого), 500 нм (для эозина) и 650 нм (для метиленового синего), а также в УФ диапазоне на длине волны 260 нм. Для примера на фиг. 3 представлен типичный спектр флуоресценции мультizonдовой системы при возбуждении на длине волны 260 нм. Из рисунка видно, что при добавлении тяжелых металлов происходит изменение интенсивности люминесцентных зондов, составляющих мультizonдовую систему. Вследствие разного влияния различных ионов тяжелых металлов на фотофизические процессы в мультizonдовой системе становится возможным селективное определение ионов тяжелых металлов в растворе.

По полученным спектрам определяли значения максимумов интенсивности флуоресценции зондов, составляющих мультizonдовую систему, набор которых являлся векторным аналитическим сигналом.

Обработку векторных аналитических откликов мультizonдовой системы проводили с помощью метода главных компонент. На фиг. 4 приведены результаты такого анализа, выполненного для полученных векторных сигналов мультizonдовой системы к четырем видам ионов тяжелых металлов и воде. Как видно из фиг. 4, векторные сигналы мультizonдовой системы к различным ионам группируются отдельно при изменении концентрации.

На фиг. 4 представлены результаты тестирования с помощью предложенной люминисцентной мультizonдовой системы «неизвестных» растворов, содержащих ионы свинца, меди, кадмия и цинка. Как видно из рисунка, векторные отклики мультizonдовой системы к данным ионам попадают в области (кластеры) фазового пространства метода главных компонент, соответствующие данным ионам, и могут быть идентифицированы. Таким образом, имеется возможность селективного определения вида ионов. Концентрация ионов может быть оценена после распознавания их вида, используя либо аналитический сигнал одного из зондов мультizonдовой системы, либо аналитические сигналы всех зондов согласно построенной фазовой диаграмме.

Формула изобретения

1. Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах люминесцентной мультizonдовой системой, заключающийся в том, что подбирают набор люминесцентных зондов для составления мультizonдовой системы в водном или спиртовом растворе и проводят калибровку ее отклика к воздействию требуемых тестовых ионов тяжелых металлов в растворе, для чего к тестовому раствору-аналиту добавляют малые концентрации мультizonдовой системы, воздействуют на полученный раствор импульсным источником света и записывают с помощью флуоресцентного спектрометра спектры флуоресценции всех зондов системы на длинах волн возбуждения, соответствующих электронным переходам $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_0 \rightarrow S_2$, определяют набор максимальных значений интенсивности флуоресценции каждого зонда системы, которые используют как компоненты векторного отклика системы для обработки методами распознавания образов, записывают полученные обработанные сигналы в память вычислительного устройства; описанную калибровку отклика мультizonдовой системы проводят к воздействию всех необходимых тестовых аналитов, формируя базу данных, хранящуюся в вычислительном устройстве; на этапе анализа ионного состава неизвестного раствора аналита к нему добавляют малые концентрации мультizonдовой системы, воздействуют на полученный раствор импульсным источником света и записывают с помощью флуоресцентного спектрометра спектры флуоресценции всех зондов системы на длинах волн возбуждения, соответствующим электронным переходам $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_0 \rightarrow S_2$, определяют набор максимальных значений интенсивности флуоресценции каждого зонда системы, которые используют как компоненты векторного отклика системы для обработки методами распознавания образов, полученные обработанные сигналы сравнивают с сигналами, записанными в базе данных вычислительного устройства; при совпадении калибровочных и тестовых

данных делают вывод об ионном составе раствора и концентрации входящих в него компонентов.

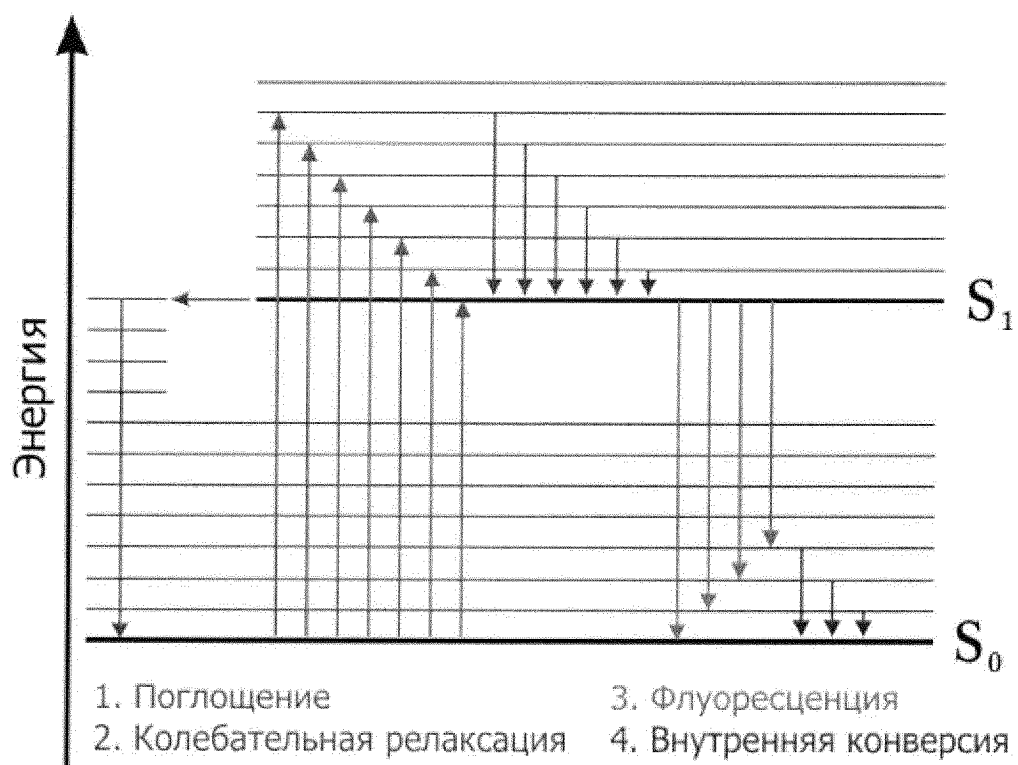
2. Способ по п.1, *отличающийся тем, что* при проведении анализа как во время калибровки, так и во время тестирования раствор аналита добавляют в малых объемах в раствор, содержащий мультizonдовую систему.

3. Способ по п. 1, *характеризующийся тем, что* в составе мультizonдовой системы применяют не менее трех люминесцентных зондов, у которых расстояние между длинами волн, соответствующих максимумам спектров флуоресценции и поглощения, составляет не менее 3х-кратной разрешающей способности используемого флуоресцентного спектрометра.

4. Способ по п. 1, *характеризующийся тем, что* в качестве дополнительного аналитического сигнала для построения векторного отклика мультizonдовой системы используют значения максимумов спектра флуоресценции зондов мультizonдовой системы при возбуждении излучением в ультрафиолетовой области длин волн.

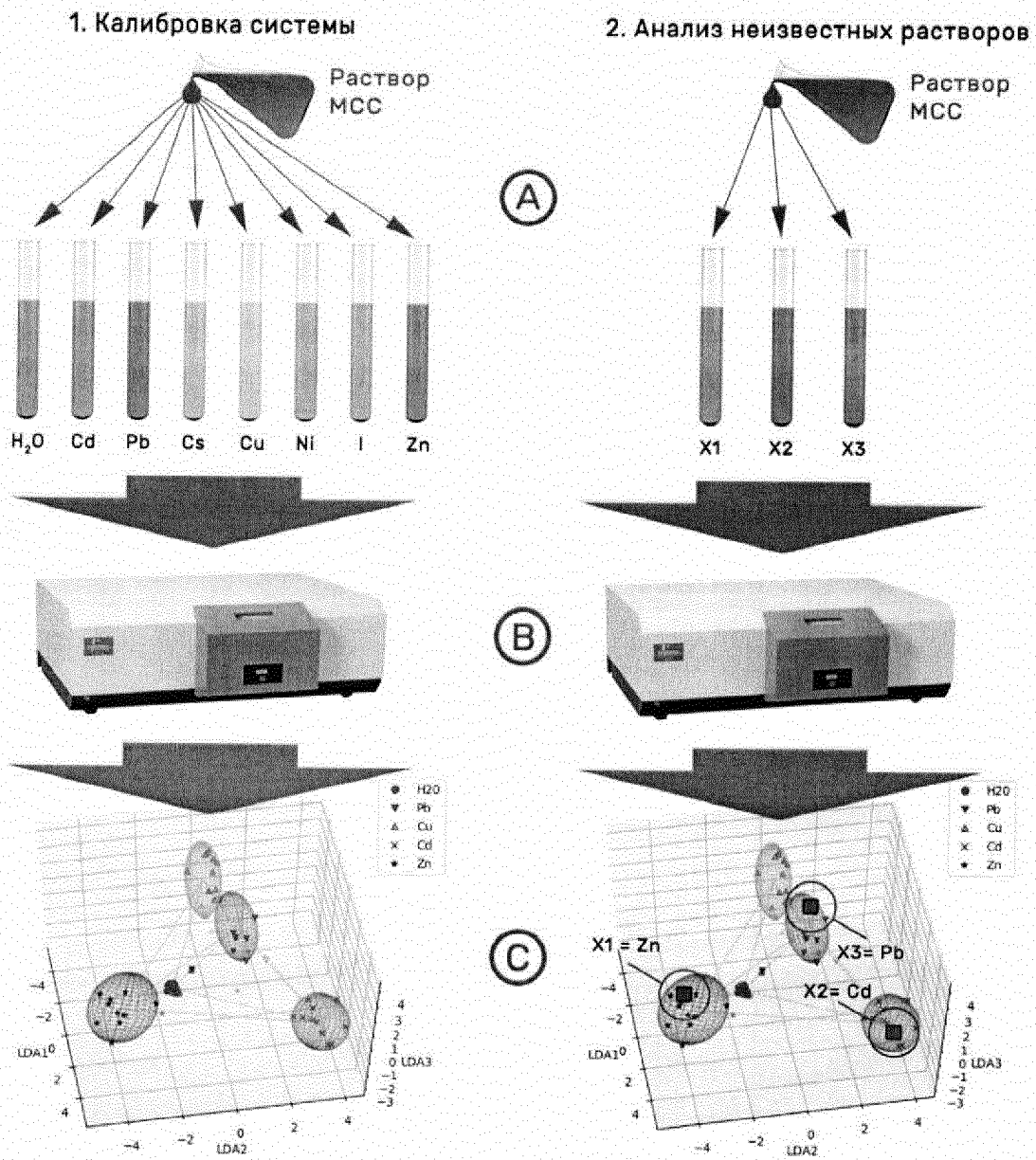
5. Способ по п. 1, *характеризующийся тем, что* в качестве метода распознавания образов используют метод линейно-дискриминантного анализа и/или корреляционного анализа и/или главных компонент и/или кластерного анализа и/или искусственных нейронных сетей.

Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы



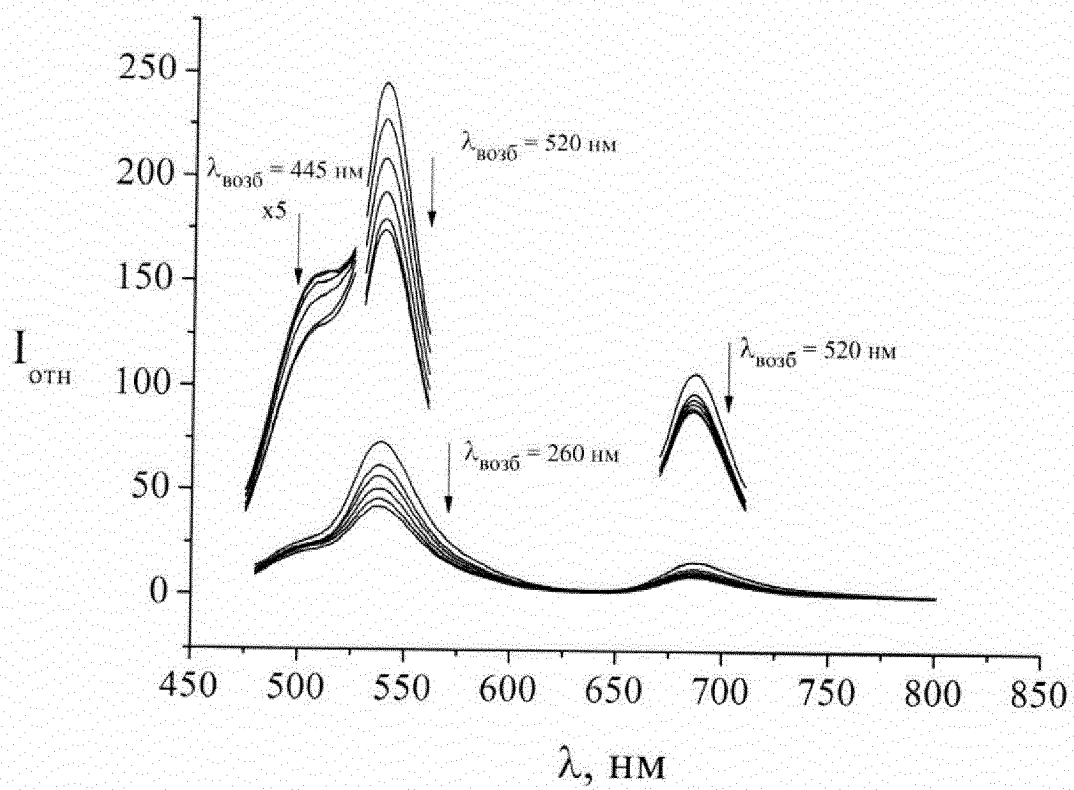
Фиг. 1

Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы



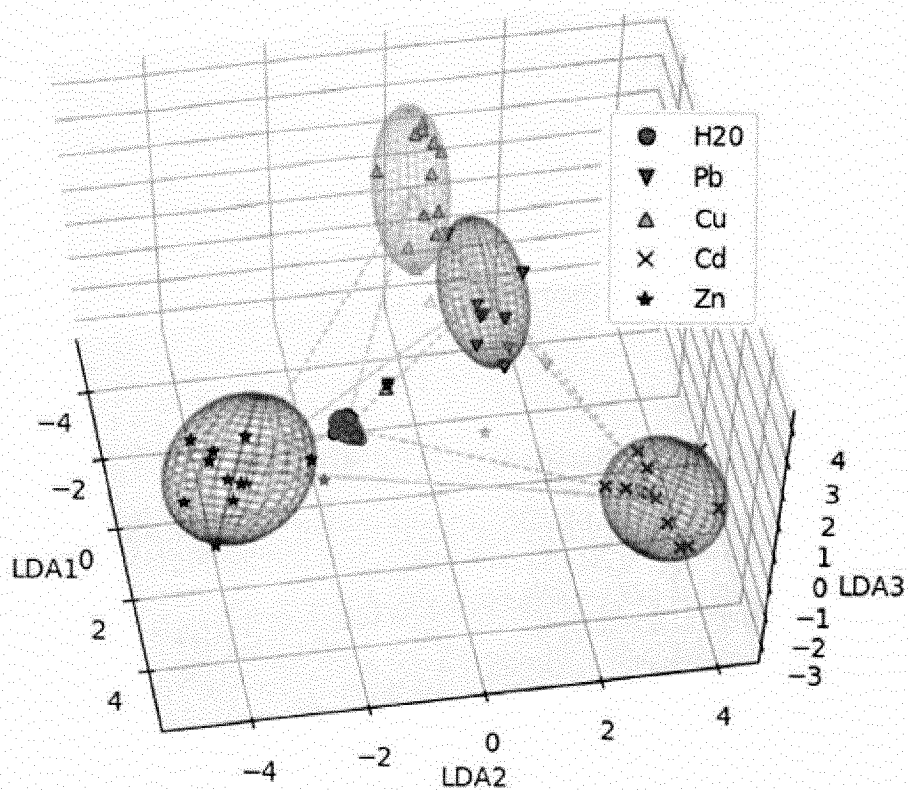
Фиг. 2

Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы



Фиг. 3

Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы




Фиг. 4

ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ(статья 15(3) ЕАПК и правило 42
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201800119

Дата подачи: 27 февраля 2018 (27.02.2018)		Дата испрашиваемого приоритета:	
Название изобретения: Способ селективного определения ионов тяжелых металлов в водных средах с помощью люминесцентной мультizonдовой системы			
Заявитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ГАГАРИНА Ю.А."			
<input type="checkbox"/> Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа)			
<input type="checkbox"/> Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)			
А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:			
МПК: G01N 21/64 (2006.01)		СПК: G01N 21/64 (2013-01)	
Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК			
Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:			
Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК) G01N 21/64, 21/00, 33/20, 21/77			
Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:			
В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ			
Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей		Относится к пункту №
A, D	RU 2431132 C1 (ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ "САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ") 10.10.2011		1-5
A	RU 2056628 C1 (ИНСТИТУТ ГЕОХИМИИ И АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. В. И. ВЕРНАДСКОГО РАН) 20.03.1996		1-5
A	JP 2009/034041 A (UNIV OSAKA t al.) 19.02.2009		1-5
A	RU 118755 U1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ "САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ГАГАРИНА Ю.А.) 27.07.2012		1-5
<input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы В		<input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении	
* Особые категории ссылочных документов:		"Г" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения	
"А" документ, определяющий общий уровень техники		"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности	
"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее		"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории	
"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.		"&" документ, являющийся патентом-аналогом	
"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета		"L" документ, приведенный в других целях	
"D" документ, приведенный в евразийской заявке			
Дата действительного завершения патентного поиска:		20 декабря 2018 (20.12.2018)	
Наименование и адрес Международного поискового органа:		Уполномоченное лицо :	
Федеральный институт промышленной собственности		 О.В. Кишкович	
РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб., д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА		Телефон № (499) 240-25-91	