

Томилин Вячеслав Иванович

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ И ТЕХНИЧЕСКИХ СРЕДСТВ АНАЛИЗА
НАНООБЪЕКТОВ НА ПРИМЕРЕ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ**

Специальность 05.11.15 «Метрология и метрологическое обеспечение»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук



Москва, 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)».

Научный руководитель: кандидат технических наук, старший научный сотрудник
Могильная Татьяна Юрьевна

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой электронных приборов ФГБОУ ВО «Рязанский государственный радиотехнический университет»
Чиркин Михаил Викторович

кандидат физико-математических наук, доцент кафедры биомедицинских технических систем ФГБОУ ВО «МГТУ им. Н.Э. Баумана»
Змиевской Григорий Николаевич

Ведущая организация: Научно-производственное предприятие «Полигон-МТ»

Защита диссертации состоится « » 2017 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.141.18, на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана» по адресу 105005, г. Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московского государственного технического университета имени Н.Э. Баумана и на сайте: www.bmstu.ru.

Автореферат разослан « » 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета Д 212.141.18, доктор технических наук, профессор



Цветков Юрий Борисович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Тема данной диссертации связана с повышением качества метрологического обеспечения процесса измерения состава питьевой воды.

Под качеством метрологического обеспечения процесса измерения параметров питьевой воды в работе понимается совокупность свойств, которыми характеризуется достоверность измерений. В рамках рассматриваемой научной работы целесообразно выделить следующее три свойства:

- точность результатов измерений, характеризуемая погрешностями средств измерений;
- сходимость, отражающая близость друг к другу результатов повторных измерений, осуществляемых в одинаковых условиях;
- быстрота получения результатов, зависящая от методики измерений, уровня автоматизации измерений и обработки полученных данных.

Так как в работе решаются задачи узкорегионального характера (район, город), то вопросы воспроизводимости, отражающие близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в различных регионах, не рассматриваются.

Естественно, в работе соблюдаются нормы и правила Государственной системы обеспечения единства измерений (ГСИ).

Если с метрологическим обеспечением первых двух свойств (точности и сходимости) положение в развитых странах можно считать в той или иной степени приемлемым, то с обеспечением третьего свойства (быстрота получения результатов) ситуация носит катастрофический характер. А это значит, что в настоящее время в целом качество метрологического обеспечения процесса измерения состава питьевой воды является неудовлетворительным.

Именно поэтому темой данной диссертационной работы является разработка методики и технических средств анализа нанообъектов на примере патогенных микроорганизмов в питьевой воде.

Актуальность работы

Из сказанного выше следует, что в настоящее время большое значение приобретает мониторинг микробиологических параметров состава питьевой воды. Системы водоснабжения являются ключевыми в обеспечении жизнедеятельности городов, в связи с чем, все острее стоит вопрос о реализации контроля параметров питьевой воды непосредственно в трубопроводном потоке в режиме реального времени. Проблема осложняется тем, что предельно-допустимая концентрация патогенных микроорганизмов может находиться в пределах даже несколько молекул на 100 мл. В связи с чем, большое внимание уделяется разработке принци-

пиально новых и высокоэффективных методов и инструментов измерений, относящихся к нанометрологии.

На сегодняшний день контроль производится лабораторными методами, процесс которых занимает в зависимости от метода от нескольких часов до нескольких дней. Кроме того, для измерения требуются лабораторные условия и квалифицированный персонал, что обуславливает необходимость разработки прибора, имеющего возможность быть встроенным в автоматизированную линию контроля питьевой воды.

Таким образом, значительную актуальность приобретает проблема оценки качества питьевой воды на предмет гарантированного отсутствия в ней опасных или вредных биологических и химических веществ, в том числе в малых и сверхмалых концентрациях, в реальном масштабе времени.

Степень разработанности темы

Проблема автоматизированного контроля параметров питьевой воды в трубопроводах в настоящее время не решена, несмотря на существующий ряд приборов и приборных комплексов для контроля жидких сред. Это вызвано следующими причинами:

1. Значительным количеством измеряемых параметров и низкими концентрациями объектов микробиологии в водном растворе.
2. Резким падением точности и надежности в автоматизированных линиях, вследствие известного экспоненциального падения этих параметров с ростом числа датчиков для их определения.
3. Высокой стоимостью оборудования линии вследствие необходимости применения прецизионных анализаторов спектральных распределений рассеянного излучения.
4. Очень сложным программным обеспечением, которое должно управлять не только информацией о качестве воды, но также компенсировать шумы анализаторов и обрабатывать отказы, происходящие как вследствие неисправностей не только каждого из датчиков, но и логических ошибок программного обеспечения. Поскольку методы регистрации анализаторов для контроля биологических параметров принципиально нелинейные, необходимо применять теорию распознавания образов.

Несмотря на это, во многих странах все большее внимание уделяется возможности создания автоматизированных линий для контроля питьевой воды. Задача усложнена тем, что определение наличия патогенных возбудителей в питьевой воде в настоящее время производится исключительно методами выращивания колониеобразующих единиц объектов микробиологии из данных проб водной среды. Однако данные методы не имеют возможности быть встроенными в авто-

матизированную линию контроля, требуют лабораторных условий для проведения анализа состава питьевой воды и участие высококвалифицированного персонала в его проведении.

Цели и задачи исследований

Цель диссертационной работы – повышение качества метрологического обеспечения процесса измерения микробиологических параметров путем разработки лазерного метода контроля питьевой воды на основе люминесцентного метода контроля и метода вынужденного рассеяния Мандельштама-Бриллюэна.

Достижение поставленной цели требует решения следующих задач:

- теоретический анализ применимости спектроскопии вынужденного рассеяния Мандельштама-Бриллюэна (ВРМБ) для обнаружения примесных ДНК-структур патогенных микроорганизмов;
- разработка методики проведения измерений и экспериментальное подтверждение применимости нового метода;
- анализ полученных данных и выработка критериев регистрации содержания патогенных микроорганизмов в питьевой воде;
- анализ эффективности решений и выбор информативных параметров для реализации предложенного метода ВРМБ;
- разработка требований к метрологическим характеристикам опытного образца прибора, основанного на разработанном комплексном лазерном методе.

Методология и методы исследования

При решении поставленных задач использованы теория молекулярного рассеяния света в жидкостях, методы исследования спектрального состава деполяризованного рассеяния, регрессионный анализ, а также методы математического моделирования. Для моделирования и проведения расчетов на ЭВМ применены программные пакеты ANSYS и MatLab/Simulink.

Научная новизна результатов

1. Разработан лазерный метод контроля патогенных микроорганизмов на основе люминесцентного анализа и явления вынужденного рассеяния Мандельштама-Бриллюэна для мониторинга непосредственно в потоке питьевой воды.

2. Впервые определены пороговые значения плотности мощности достижения эффекта ВРМБ для растворов бактериофаг (*E.coli*), шигеллы (*Sh.flex*), индикатора свежего фекального загрязнения, способного образовывать цепочки (*Enterococcus faecalis*), возбудителей пищевой инфекции (споры *B.subtilis* var.*niger*), а также смесей двух микроорганизмов, в том числе инактивированных и смесей, содержащих, помимо патогенных возбудителей, высокомолекулярные биоорганические соединения (белки и нуклеиновые кислоты).

3. Впервые получена зависимость оптических параметров рассеянного излучения для ряда патогенных микроорганизмов в питьевой воде с учетом их концентраций, показывающая уникальность набора данных параметров для каждого типа микроорганизмов.

4. Получена база данных стандартных образцов рассеянного патогенными микроорганизмами излучения, позволившая выявить информативные параметры, необходимые для автоматического контроля объектов микробиологии в питьевой воде.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Разработана математическая модель лазерного метода для контроля микробиологических параметров в питьевой воде, основанного на люминесцентном анализе и ВРМБ-спектроскопии. Данная модель связывает параметры излучения от источника и рассеянного патогенными микроорганизмами излучения.

2. Разработан лабораторный стенд и введен в опытную эксплуатацию в соответствии с заказом № 197-Н/20/14 Федеральной службы охраны Российской Федерации «Разработка автоматизированной линии контроля питьевой воды».

3. На основе теоретических расчетов и проведенных экспериментальных исследований выработаны требования к метрологическим характеристикам лабораторной установки для контроля патогенных микроорганизмов в питьевой воде.

4. Разработаны требования к метрологическим характеристикам макетного образца прибора и программное обеспечение, позволяющие производить контроль патогенных микроорганизмов в режиме реального времени, на основе исследований динамики возникновения стоковых и антистоковых составляющих рассеянного излучения.

Положения, выносимые на защиту

1. Впервые разработанный лазерный метод контроля патогенных микроорганизмов в питьевой воде, применяющий эффект ВРМБ, позволяет осуществлять непрерывный мониторинг патогенных микроорганизмов, и таким образом решает задачу повышения качества метрологического обеспечения процесса измерения микробиологических параметров питьевой воды.

2. Впервые определены требования к метрологическим характеристикам прибора для контроля патогенов в питьевой воде непосредственно в потоке: лазерный источник с длиной волны в диапазоне от 0,8 до 1,37 мкм и мощностью не менее 225 мВт, приемник излучения с порогом чувствительности не более -50 дБ, динамическим порогом не менее 60 дБм и спектральным разрешением не менее 0,02 нм. Полный список требований представлен в диссертации.

3. Разработанная математическая модель среды матричного типа и включенными в матрицу рассеивающими микрочастицами позволяет проводить

численное моделирование распространения когерентного излучения в коллоидных растворах и сравнивать результаты моделирования с результатами физических экспериментов.

4. Впервые математическая модель взаимодействия лазерного излучения с вынужденной люминесценцией патогенных микроорганизмов составлена в приближении антенной модели нелинейной оптики, что позволяет связать параметры излучений от источника и рассеянного патогенными микроорганизмами.

5. Обнаруженное явление инвариантности разности длин волн излучений ВРМБ патогенных микроорганизмов и основной лазерной моды, связанное только с типом микроорганизма, позволяет получать информацию о наличии патогенных примесей, существующих в исследуемом водном растворе. Погрешность данной разности длин волн не превышает 0,052 нм.

Степень достоверности результатов

Достоверность научных положений и выводов, представленных в диссертации, подтверждается:

1. Соответствием результатов численного моделирования распространения когерентного излучения в коллоидных растворах и данных, полученных в процессе экспериментального подтверждения достижения пороговых плотностей мощностей, проведенных с использованием люминесцирующих наномаркеров – имитаторов патогенных микроорганизмов.

2. Корреляцией теоретических расчетов и результатов измерений, полученных в процессе исследования растворов патогенных микроорганизмов.

3. Результатами испытаний разработанного лазерного метода в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ), а также в Государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Российской академии сельскохозяйственных наук» (ГНУ ВНИИВСГЭ Россельхозакадемии).

Реализация результатов работы

Результаты численного моделирования и экспериментальные данные использованы компанией ОАО «СЭРВЭТ-М» при выполнении НИОКР по заказу № 197-Н/20/14 «Разработка автоматизированной линии контроля параметров питьевой воды» Федеральной службы охраны Российской Федерации (ФСО РФ).

Полученные теоретические результаты использованы в учебном процессе кафедры «Технологии производства приборов и информационных систем управления летательных аппаратов» «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)».

Апробация результатов

Результаты работы докладывались на:

- XXXVIII, XXXIX, XL, XLI Международных молодежных конференциях «Гагаринские чтения», «МАТИ» – РГТУ им. К.Э. Циолковского. М., 2012, 2013, 2014, 2015;
- международной научной конференция «Новые материалы и технологии 2012», «МАТИ» – РГТУ им. К.Э. Циолковского. М. 2012;
- международных конференциях лазерной физики LPHYS'12. Calgary (Canada). 2012; LPHYS'13. Prague (Czech Republic). 2013; LPHYS'14. Sophia (Bulgary). 2014;
- международной научной конференции TechConnect World Innovation conference and Expo. Washington (DC, USA). 2014.

Публикации

По результатам проведенных исследований опубликовано 19 научных работ общим объемом 6,41 печатных листов, из них 7 публикаций в журналах из перечня ВАК РФ, и зарегистрирована заявка на патент РФ на изобретение № 2016101990.

Личный вклад

Изложенные в диссертации результаты получены Томилиным В.И. лично в ходе научно-исследовательских работ, проведенных в период с 2011 по 2016 год. Весь заимствованный материал отмечен в работе ссылками.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, четырех глав, общих выводов и заключения, списка литературы и приложения. Работа изложена на 167 страницах основного текста, содержит 56 рисунков, 16 таблиц и список литературы из 121 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулирована постановка задачи, ее текущее состояние, представлены научные положения, выносимые на защиту, показана научная новизна и практическая значимость полученных теоретических и экспериментальных результатов.

В первой главе диссертации выполнены обзор литературы, исследованы ограничения на параметры питьевой воды, представлен обобщенный анализ средств измерений для контроля патогенных микроорганизмов в питьевой воде, а также проведена оценка метрологических характеристик методов, имеющих пер-

спективу модификации и применения для автоматизированного мониторинга микробиологических параметров в питьевой воде. В качестве возможных для применения на практике в приборе контроля параметров питьевой воды представлены методы, основанные на спектрометрии (ИК-спектрометрия, люминесцентные методы, ВРМБ-метод и т.д.) и методы, основанные на измерениях электрических параметров, поскольку их показания линейны по первой производной. Показано, что принципиальной возможностью применения для непрерывного контроля параметров потока жидкости обладают только оптические методы. Однако существующие оптические приборы требуют адаптации под трубопровод, на котором они установлены.

Для микробиологических и паразитологических параметров необходимо практически полное отсутствие патогенных микроорганизмов в определенном количестве раствора. Данное требование может быть удовлетворено только биологическими, химико-оптическими (ПЦР-методы), атомно-адсорбционными и резонансными оптическими методами. Однако использование этих методов в автоматических линиях находится на стадии развития, при этом стоит заметить, что биологические и химико-оптические методы требуют забора проб, что делает невозможным применение подобного рода датчиков для мониторинга параметров непосредственно в потоке питьевой воды. Люминесцентный анализ не приспособлен для непрерывного автоматического контроля в связи с высоким уровнем шума и сложностью идентификации примесных объектов, вызванным высокой плотностью спектральных линий различных веществ, находящихся на небольшом участке люминесценции, а также необходимостью использования высококвалифицированного персонала для анализа полученных спектров.

В результате лазерный ВРМБ метод является наиболее перспективным с точки зрения точности и оперативности для применения в качестве мониторинговой онлайн системы.

В завершение главы представлено теоретическое исследование метрологических характеристик разрабатываемого метода, конкретизированы вопросы, подлежащие детальной проработке в диссертационной работе.

Во второй главе изложен теоретический анализ механизмов рассеяния патогенных микроорганизмов, состоящий из анализа процессов многокомпонентного рассеяния, разработки математической модели распространения излучения в приближении нелинейной оптики, расчета пороговых эффектов в колloidных растворах и анализа результатов моделирования лазерного метода.

В основе разрабатываемого метода лежит анализ вектора интенсивности стоксовых и антистоксовых составляющих сигнала, которые несут информацию об объекте. Обработка спектров сводится к следующему: выделению Лоренцевых составляющих пиков, вычислению полуширины линий каждого пика, определен-

нию максимумов относительных интенсивностей и частот, соответствующих максимумам линий.

Разработка математической модели распространения излучения в приближении нелинейной оптики и условий усиления ВРМБ. Для описания вынужденного рассеяния Мандельштама-Бриллюэна нужно решать совместно систему уравнений Максвелла и гидродинамики с учетом нелинейности среды, вызванной большой интенсивностью возбуждающего света. В исследуемой среде существуют четыре волны:

1. Возбуждающая волна (частота ω и волновой вектор k);
2. Звуковая или гиперзвуковая волна (частота Ω и волновой вектор q);
3. Рассеянная волна света (частота $\omega_1 = \omega - \Omega$ и волновой вектор k_1) – стоксова компонента;
4. Рассеянная волна света (частота $\omega_1 = \omega + \Omega$ и волновой вектор k_2) – антистоксова компонента.

В предположении, что распространяемые электрические $E_1(\bar{r}, t)$, $E_2(\bar{r}, t)$ и акустическое $U(\bar{r}, t)$ поля представлены плоскими волнами, бегущими в произвольных направлениях, распространение излучения в среде описывается следующим образом:

$$\begin{aligned} E_1(\bar{r}, t) &= \frac{1}{2} E_1(r_1) \exp[i(w_1 t - \bar{k}_1 \bar{r})] + \text{к. с.}, \\ E_2(\bar{r}, t) &= \frac{1}{2} E_2(r_2) \exp[i(w_2 t - \bar{k}_2 \bar{r})] + \text{к. с.}, \\ U(\bar{r}, t) &= \frac{1}{2} U_s(r_s) \exp[i(w_s t - \bar{k}_s \bar{r})] + \text{к. с.}, \end{aligned} \quad (1)$$

где r_1 , r_2 , r_s – расстояния с учетом знака вдоль направлений распространения волновых векторов \bar{k}_1 , \bar{k}_2 , \bar{k}_s , такие, что $r_i = \frac{(\bar{k}_i \cdot \bar{r}_i)}{\bar{k}_i}$.

По данным расчета пороговых эффектов в коллоидных растворах на основе разработанной математической модели были составлены требования к метрологическим характеристикам оборудования, а также разработана методика исследования применимости комплексного ВРМБ-метода контроля микробиологических параметров непосредственно в потоке питьевой воде.

Анализ результатов моделирования лазерного метода. Поскольку метод базируется на распознавании оптического сигнала, основные погрешности с которыми связан метод – совокупность оптических шумов. Разрабатываемый метод должен учитывать погрешности, вызванные неоднородностью исследуемой среды, четырехволновым смещением в волокне, колебаниями параметров возбуждающего лазера, возможными изгибом или деформациями волокна, а также шумы, порождаемые в результате загрязнения собирающей оптики или вибрацией оптической установки или измерительного оборудования. Так как число возможных шумов, влияющих на общий уровень сигнала, достаточно велико, оценить вклад

какого-либо из них не представляется возможным. В качестве естественного решения данной проблемы произведена классификация возможных помех на неподдающиеся физической компенсации и шумы, которые могут быть минимизированы. Первая группа шумов оценена по общему уровню, и, используя закон больших чисел, показано, что эти погрешности распределены случайным образом и в дальнейшем учитываются статистической обработкой.

Третья глава диссертации посвящена разработке средств измерений для исследования предложенного лазерного метода, методик исследования данного метода и обработки результатов. Вследствие серии теоретических и экспериментальных исследований получены следующие результаты:

1. Вычислена принципиальная длина волны лазерных источников излучения для реализации метода и разработаны требования к метрологическим параметрам источника излучения для лабораторных исследований и для автоматической системы контроля.

2. Определены требования к метрологическим параметрам оптической схемы, волноводного тракта и анализатору спектра. Проблема близкого по частоте расположения максимумов возбуждающего и рассеянного излучений (см. Рис. 1), решается применением анализатора спектра с высоким спектральным разрешением (0,02 нм).

3. Разработана лабораторная установка как для регистрации спектров в неподвижной воде, так и для определения динамических параметров спектральных характеристик объектов микробиологии.

4. Разработана методика обработки результатов измерений и оценки доверительных границ, а также методика аппроксимации спектральных распределений рассеянного излучения.

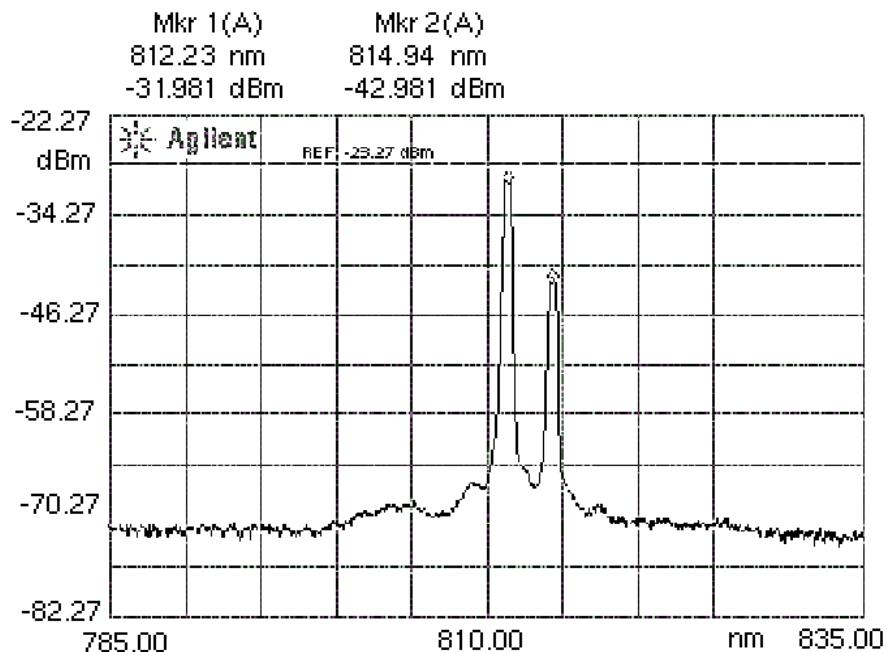


Рис. 1. Спектр излучения лазера с длиной волны $\lambda_1=810$ нм, прошедшего раствор кишечной палочки *E.coli*

Статистическая обработка результатов измерений производится в соответствии со стандартизованными методиками. В основу методики распознания патогенных микроорганизмов заложен метод, основанный на сравнении параметров исследуемых растворов со стандартными образцами в пределах погрешности с достоверностью определяемой стандартными методами.

Разработанный метод основан на исследовании нелинейных эффектов, связанных с взаимодействием вынужденной люминесценции ДНК под воздействием излучения лазера и самого лазерного излучения. Анализ эффектов показал, что для идентификации патогенных микроорганизмов необходимо использовать следующие типовые параметры:

1. Количество максимумов спектральных распределений, соответствующих рассеянному патогенной ДНК излучения;
2. Разница между центральной модой лазера и максимумами распределений Лоренца, выделенных из спектра патогена;
3. Положение относительно лазерной моды (стоковое или антистоковое распределение).

Для подтверждения работоспособности метода в условиях длительной непрерывной эксплуатации было смоделировано действие дополнительной погрешности, вызванной расслоением моды лазерного источника, вследствие нагрева излучателя (Рис. 2). Как видно, несмотря на разделение лазерной моды на две составляющие Mkr1 и Mkr2, резонансное излучение происходит на частотах (Mkr3, Mkr4), равноотстоящих от соответствующих им частот накачки. Дисперсия по данному параметру не превышает $\pm 0,55$ нм, что также подтверждает возможность использования разности частот в качестве наиболее стабильного информативного параметра для автоматического онлайн-мониторинга.

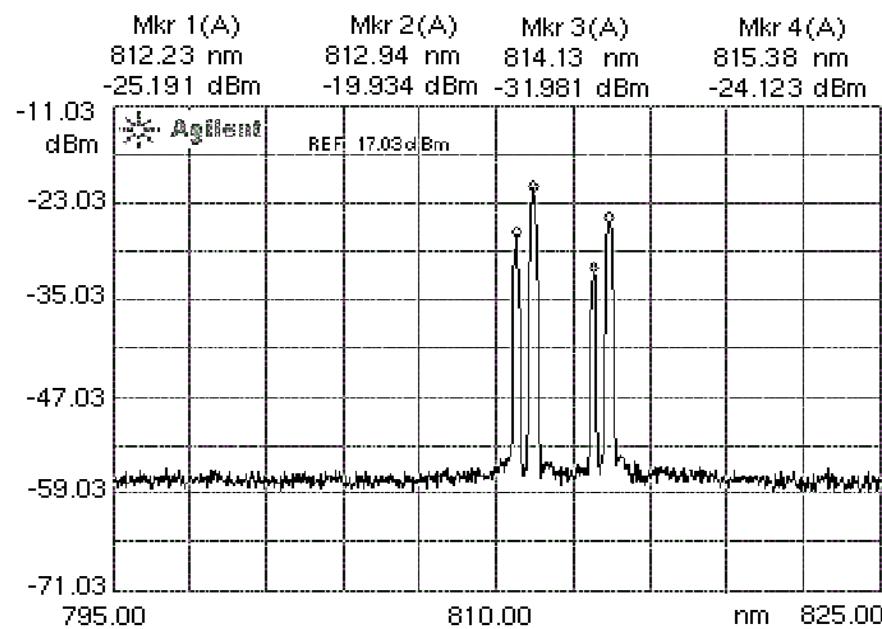


Рис. 2. Спектр рассеяния для раствора кишечной палочки: 1,2 – максимумы, соответствующие источнику излучения; 3,4 – соответствующие люминесценции патогена

Однако выбранные параметры статические и их недостаточно для определения жизнеспособности микроорганизма, поскольку мертвые клетки не имеют люминесценции, а ВРМБ порог достигается за счет выкачивания энергии из лазерной моды. Это явление не является однозначным, так как выкачивание энергии из лазерной моды существует и для различных типов патогенов. Для определения наличия не только активных, но и инактивированных патогенов необходимо переходить в динамический режим (запись спектральных характеристик без усреднения), что предъявляет дополнительные требования к программному обеспечению обработки спектральных распределений. Исходя из анализа базы данных полученной динамической модели, погрешность разности длин волн возбуждающего и рассеянного излучений не превышает 0,052 нм.

Анализ показал, что в качестве аппроксимирующей спектральные распределения функции наилучшие результаты показало представление смеси нормированных распределений интенсивности при уширении гауссова и лоренцевского типов:

$$z(x) = c \left((1 - \alpha) \exp \left(\frac{(x-p)}{\left(\frac{\Gamma}{2}\right)^2} \ln 2 \right) + \alpha \frac{\left(\frac{\Gamma}{2}\right)^2}{(x-p)^2 + \left(\frac{\Gamma}{2}\right)^2} \right), \quad (2)$$

где x – интенсивность излучения, p – интенсивность стоковой или антистоковой составляющей, Γ – параметр ширины спектральной линии, α – параметр, определяющий вклад лоренцева уширения в искомое распределение, при этом, если $\alpha=0$ – имеем чистое уширение гаусса, $\alpha=1$ – уширение лоренцевского типа.

В четвертой главе обоснован выбор критериев обнаружения патогенных микроорганизмов в питьевой воде и определены информативные параметры спектральных распределений.

На основе серии теоретических и экспериментальных исследований проведено статистическое исследование водопроводной воды и показано, что интенсивность шумов невелика по сравнению с интенсивностью лазера, и растворенные примеси не имеют дополнительных максимумов в диапазоне 870-1120 нм. Определены величины статистических поправок, необходимые для разработки программы создания стандартных образцов распределений. Среднеквадратичное отклонение величины сигнал/шум не превышает 0,5 дБ. Погрешность максимума длины волны основной лазерной моды не превышает 0.03% и может не учитываться при создании стандартных образцов.

Проведены исследования спектральных характеристик ряда типов патогенных организмов (Таблица 1) в питьевой воде в количестве, необходимом для первоначального распознавания типа патогенных микроорганизмов с доверительной вероятностью 0.95, заданной регламентированными требованиями контроля данных показателей.

Показано, что в случае создания стандартного образца по спектральным распределениям ВРМБ надо рассматривать области излучения лазера и люминесценции объекта. Для контроля другого типа патогенных микроорганизмов необходимо и достаточно произвести регистрацию его спектральных характеристик, добавление нового стандартного образца производится автоматически.

Таблица 1.

Список идентифицируемых патогенных микроорганизмов

Бактерии – 17 типов	Вирусы – 10 типов
Campylobacter jejuni	Human herpes virus type I
Chlamydia psittaci	Human herpes virus type II
Chlamydia trachomatis	Virus herpes Varicela-zoster
Enterococcus	Epstein-Barr virus
Helicobacter pylori	Cytomegalovirus
M. tuberculosis hominis	Hepatitis virus A
M. tuberculosis avium	Hepatitis virus B
M. tuberculosis bovis	Hepatitis virus C genotype 1B
Mycoplasma hominis	Hepatitis delta
Neisseria gonorrhoeae	Human Immunodeficiency Virus
Neisseria meningitidis	
Peptostreptococcus anaerobius	Грибы и паразиты – 4 типа
Proteus mirabilis	Candida albicans

В результате анализа динамики возникновения и затухания резонансной люминесценции патогенных микроорганизмов были выделены корреляция обнаружения сигнала по времени и дрейф частот спектральных линий, разработан алгоритм распознавания спектров, присущих патогенным возбудителям. Исходя из скорости реакции сигнала на наличие в исследуемом растворе патогенных возбудителей и времени жизни облучаемых возбудителей, временной интервал анализа патогенности состава для предупреждения возможности ошибки второго рода может устанавливаться от 75 секунд до 8 минут.

ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатами диссертационной работы являются:

1. Подтверждена возможность применения лазерного метода для контроля патогенных микроорганизмов, позволяющего производить мониторинг непосредственно в водопроводном потоке в режиме реального времени.

2. Впервые представлена рабочая методика не нарушающего состав контроля питьевой воды, дающая возможность непрерывного проведения измерений, обработки результатов и анализа патогенности состава коллоидного раствора непосредственно в водопроводном потоке, что решает задачу автоматизации измерений и таким образом выводит качество метрологического обеспечения всего процесса на новый уровень.

3. Разработан математический аппарат распознавания образов, позволяющий определять наличие активных патогенных возбудителей, несмотря на наличие в растворе инактивированных клеток патогенных микроорганизмов. Показано, что величина информативного параметра (инвариантности частот основной лазерной моды и максимума резонансной линии рассеяния патогенными микроорганизмами) остается в пределах допуска 0,05 нм.

4. Впервые представлено достижение пороговых мощностей возникновения ВРМБ патогенных микроорганизмов, перечисленных в Таблице 1, что позволило разработать метрологические требования к опытному образцу прибора, позволяющему на основе оценки характеристик рассеянного излучения обнаруживать в питьевой воде присутствие данных микроорганизмов. Минимальная мощность лазерного источника для достижения порогового эффекта 270 мВт.

5. Представлен опытный образец прибора, позволяющий производить мониторинг объектов микробиологии в питьевой воде с доверительной вероятностью 0.95, регламентированной для данного контроля. Для идентификации патогенных возбудителей для которых не содержится стандартных образцов в базе программного комплекса необходимо провести регистрацию спектральных характеристик интересующего типа патогена, после чего стандартный образец добавляется в базу данных и последовательно выделяется из общей картины спектральных распределений в диапазоне 800-1370 нм, и далее может быть использован для автоматического мониторинга содержания данного патогенного микроорганизма. База данных программного обеспечения прибора содержит стандартные образцы спектральных распределений для более 70 штаммов различных типов объектов микробиологии (Таблица 1).

6. В результате выполненного в диссертации анализа выявлена, как предполагается, возможность не только детектирования в составе воды патогенных микроорганизмов, но и вычисления типа обнаруженных микроорганизмов с точностью до штамма.

7. Работоспособность разработанных методики и технических средств реализации предложенного метода подтверждена также для наноразмерных структур небиологического происхождения – частиц наносеребра. В Государственном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Российской академии сель-

скохозяйственных наук» при проведении исследований антибактериальных свойств авиационных деталей, изготовленных из специальной резины с вкраплениями частиц наносеребра, контроль содержания данных частиц и измерение их концентрации проводились с применением лазерного метода, разработанного в диссертации.

8. Также разработанный метод адаптирован для определения концентрации наноразмерных структур в потоке газа. Заявка на патент РФ на изобретение № 2016101990 Способ оптического определения компонента, преимущественно, сероводорода и его концентрации в потоке газа. Авторы: В.И. Томилин [и др.], дата заявления: 22.01.2016, ФИПС отд. №17.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Разработка прибора для контроля суперэкотоксикантов в системе водоснабжения / В.И. Томилин [и др.] // Приборы. 2013. № 1 (151). С. 45-50. (0,8 п.л./0,36 п.л.)

2. Томилин В.И., Могильная Т.Ю., Кононенко А.Б. Исследование динамики обнаружения сигнала лазерного прибора при контроле патогенных микрорганизмов ВРМБ-методом // Экологические системы и приборы. 2014. № 12. С. 9-13. (0,69 п.л./0,45 п.л.)

3. Томилин В.И., Могильная Т.Ю. Исследование стоковых и антистоковых компонент сигнала лазерного прибора для контроля параметров питьевой воды // Вестник МГТУ им. Баумана. Серия приборостроение. 2015. № 2. С. 83-91. (1,1 п.л./0,73 п.л.)

4. Томилин В.И. Оценка информативных параметров прибора для подтверждения возможности встраивания в автоматизированную линию контроля водопроводных сетей // Промышленные АСУ и контроллеры». 2015. № 7. С. 52-57. (0,8 п.л.)

5. Tomilin V.I., Moguilnay T.Yu., Agibalov A.A. Experimental verification of the wave model of the genetic coding // Laser Physics. 2013. Conference series 414. doi:10.1088/1742-6596/414/1/012020. (0,92 п.л./0,42 п.л.)

6. Tomilin V.I., Moguilnay T.Yu., Bobkov P.V. Monitoring of toxicants by SBS in a turbulent flow of water // Laser Physics. 2013. doi:10.1088/1742-6596/414/1/12023 (1,39 п.л./0,7 п.л.)

7. Real-time monitoring of changes the pathogens concentration in water under influence of nanosilver particles by resonance laser spectroscopy techniques / V.I. Tomilin [et al.] // 23rd International Laser Physics Workshop, Conference Series 594. Sophia (Bulgary). 2015. doi: 10.1088/1742-6596/594/1/012026. (1,15 п.л./0,35 п.л.)

8. Способ оптического определения компонента, преимущественно, сероводорода и его концентрации в потоке газа : Заявка на патент РФ на изобретение № 2016101990 / В.И. Томилин [и др.] (Акционерное общество «Гипрогазоочистка»). заявл. 22.01.2016. вх. № 002785.

9. Monitoring E-coli and coliphages at turbulent flow of water by the methods of coherent spectroscopy / V.I. Tomilin [et al.] // 22nd International Laser Physics Workshop. Prague (Czech Republic). 2013. Volume 497 (1,04 п.л./0,42 п.л.) www.lasphys.com/workshops/lasphys13/proceedings

10. Real-time monitoring of pathogens and nanomarkers in water by resonance laser spectroscopy techniques / V.I. Tomilin [et al.] // Nanotech advanced Material & Applications. Washington (USA). 2014. Volume 2. P. 185-187. (0,35 п.л./0,14 п.л.) www.techconnectworld.com/Nanotech2014/sym/index.html#advmat

11. Tomilin V.I., Moguilnay T.Yu., Bobkov P.V. Monitoring of toxicants by stimulated Mandelshtamm-Brillouin scattering (SBS) in the turbulent water flow // LPHYS'12 : book of abstract. Calgary (Canada). 2013. Volume 414. doi: 10.1088/1742-6596/414/1/012023. (0,12 п.л./0,04 п.л.)

12. Tomilin V.I., Moguilnay T.Yu., Bobkov P.V. Monitoring E-coli and coliphages at turbulent flow of water by the methods of coherent spectroscopy // LPHYS'13 : book of abstract. Prague (Czech Republic). 2013. (0,12 п.л./0,04 п.л.) [www.iopscience.iop.org/1742-6596/497/1](http://iopscience.iop.org/1742-6596/497/1)

13. Real-time monitoring of pathogens and nanomarkers in water by resonance laser spectroscopy techniques / V.I. Tomilin [и др.] // Nanotech : book of abstract. Washington (DC, USA). 2014. Biosensing, Diagnostics & Imaging I. (2,2 п.л./0,9 п.л.) www.techconnectworld.com/Biotech2014/sym/Biosensing_Diagnostics_Imaging.html

14. Tomilin V.I., Moguilnay T.Yu., Bobkov P.V. Real-time monitoring of changes the pathogens concentration in under influence of nanosilver particles by resonance laser spectroscopy techniques // LPHYS'14 : book of abstract. Sophia (Bulgary). 2014. www.lasphys.com/workshops/lasphys14/proceedings (0,17 п.л./0,09 п.л.)

15. Томилин В.И., Могильная Т.Ю., Бобков П.В. Разработка метода контроля и исследование параметров питьевой воды повышенной кристалличности // Научные труды Международной молодежной научной конференции «XXXVIII Гагаринские чтения». М. 2012. С.42-43 (0,21 п.л./0,1 п.л.)

16. Экспресс анализ патогенных возбудителей и генномодифицированных добавок в продуктах питания методом регистрации вынужденной люминесценции / В.И. Томилин [и др.] // Научные труды Международной научной конференции «Новые материалы и технологии 2012», 2012. С. 219 (0,23 п.л./0,15 п.л.)

17. Разработка прибора для мониторинга суперэкотоксикантов в питьевой воде / В.И. Томилин [и др.] // Научные труды Международной научной конференции «Новые материалы и технологии 2012». 2012. С.218-219 (0,22 п.л./0,08 п.л.)

18. Томилин В.И. Разработка автоматизированного метода контроля питьевой воды // Научные труды Международной молодежной научной конференции «XXXIX Гагаринские чтения», 2013. С. 110 (0,25 п.л.)

19. Томилин В.И. Разработка методики определения сигнала активных и мертвых биоорганизмов методом когерентной спектроскопии // Научные труды Международной молодежной научной конференции «XL Гагаринские чтения», 2014. С. 119-120 (0,2 п.л.)

20. Томилин В.И. К вопросу об определении концентрации патогенных микроорганизмов, подверженных влиянию частиц наносеребра, резонансным лазерным методом // Научные труды Международной молодежной научной конференции «XLI Гагаринские чтения», 2015. С. 284-285 (0,19 п.л.)