



УДК 543.554: 664.

Мультисенсорные системы с ПД-сенсорами для анализа непастеризованного пива

Паршина А.В., Бобрешова О.В., Янкина К.Ю., Разуваев Ю.Ю.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 02.11.2015 г.

Исследовано влияние ионно-молекулярного состава непастеризованного пива на отклики ПД-сенсора, ионоселективных электродов и редоксметрического электрода. Разработаны мультисенсорные системы с перекрестно-чувствительными ПД-сенсорами для оценки качества пива в условиях розлива и хранения. Для обработки и интерпретации многомерных данных использован метод лепестковых диаграмм и метод главных компонент. Разработаны аппаратно-программные комплексы, включающие компьютерные программы для распознавания образов непастеризованного пива и многоканальный высокоомный потенциометр.

Ключевые слова: ПД-сенсор, потенциометрические мультисенсорные системы, перфторированные сульфокатионообменные мембраны, непастеризованное пиво, анализ пищевых продуктов.

Multisensory systems with PD-sensors for unpasteurized beer analysis

Parshina A.V., Bobreshova O.V., Yankina K.Yu., Razuvaev Yu.Yu.

Voronezh State University, Voronezh

The influence of ion-molecular composition of unpasteurized beer on the PD-sensor responses, ion-selective electrodes and redox-electrode was investigated. Multisensory systems with cross-sensitive PD-sensors for evaluating the quality of beer in a bottling and storage were developed. Methods of petal charts and principal component analysis for processing and interpretation of multivariate data were used. Developed hardware and software complex include computer program and multi-pot potentiometer. Developed computer program allows the recognize images of unpasteurized beer.

Keywords: PD-sensor, potentiometric multisensory systems, perfluorinated sulfocation-exchange membranes, unpasteurized beer, food analysis.

Введение

Возрастающее количество публикаций, посвященных разработке потенциометрических мультисенсорных систем для анализа качества пищевых сред (молоко, соки, алкогольные напитки), свидетельствует об их актуальности [1, 2]. Одним из объектов анализа таких систем является пиво: оценка горечи и других вкусовых свойств [3], распознавание различных сортов [4, 5]. При несоблюдении условий производства, бутилирования и хранения в непастеризованном пиве в результате ферментативных окислительно-восстановительных процессов образуются токсичные вещества, снижающие качество и срок годности продукта. Однако исследований, посвященных разработке мультисенсорных систем или

других методов для оценки изменения качества пива в течение его срока годности, в литературе не представлено.

В работе [6] показана возможность оценки качества восстановленного молока с помощью мультисенсорных систем, включающих ионоселективные электроды (ИСЭ) и сенсоры, аналитическим сигналом которых является потенциал Доннана (ПД-сенсоры). Поскольку ПД-сенсоры в полиионных средах являются перекрестно чувствительными, распознавание образов восстановленного молока было основано на зависимости их отклика от концентрации органических и неорганических ионов, а также мультипликативном изменении откликов ПД-сенсоров с ИСЭ при изменении состава образца [6]. Использование в ПД-сенсорах перфторированных сульфокатионообменных мембран, отличающихся высокой электрохимической стойкостью, обеспечило стабильность ПД-сенсоров в водно-органической среде [6]. Можно предположить, что изменение ионно-молекулярного состава непастеризованного пива в результате протекающих в нем в течение времени окислительно-восстановительных процессов будет оказывать значимое влияние на отклик ПД-сенсора.

Целью работы была разработка мультисенсорных систем с перекрестно чувствительными ПД-сенсорами и ИСЭ для оценки качества непастеризованного пива в условиях его розлива и при хранении.

Эксперимент

Объекты исследования. Объектами были образцы непастеризованного пива (темное, HansWeller) в условиях розлива и хранения в кеге. В первом случае исследовали образцы пива, находящиеся при комнатной температуре ($t +20...+25^{\circ}\text{C}$) в течение 1, 12 и 24 ч после розлива из кеги. Во втором случае образцы пива для анализа отбирали из одной кеги каждые 24 ч в течение 8 дней после вскрытия (кегу хранили закрытой в холодильнике при $t^{\circ} +5...+12^{\circ}\text{C}$ в соответствии с условиями хранения непастеризованного пива).

Электрохимическая ячейка для анализа пива. Конструкция ПД-сенсора описана в [7]. Для его организации использовали перфторированные сульфокатионообменные мембраны МФ-4СК (ОАО «Пластполимер», Санкт-Петербург). Электрохимическая цепь для оценки отклика ПД-сенсора имеет вид:
 $\text{Ag} | \text{AgCl}, 1\text{M KCl} | \text{мембрана в К-форме} | \text{исследуемый раствор} | \text{нас. KCl}, \text{AgCl} | \text{Ag}$ (1)

Помимо ПД-сенсора, чувствительного ко всем присутствующим в пиве катионам, в массив входили ИСЭ ($\text{CO}_3\text{-СЭ}$, S-СЭ , $\text{NO}_2\text{-СЭ}$, $\text{NO}_3\text{-СЭ}$), комбинированный редоксметрический электрод (RedOx-Э) и хлоридсеребряный электрод сравнения (рис. 1). Стекланный электрод для измерения pH, $\text{CO}_3\text{-СЭ}$ и RedOx-Э выбраны, поскольку в непастеризованном пиве в течение времени увеличивается концентрация ионов H_3O^+ и изменяется соотношение концентраций ионов HCO_3^- и растворенных молекул O_2 вследствие протекания процессов жизнедеятельности микроорганизмов и ферментативных реакций [8]. S-СЭ выбран в качестве чувствительного к сернистым соединениям (сероводороду, метилмеркаптану, этилмеркаптану, диметилсульфиду), присутствие которых снижает качество продукта [8]. $\text{NO}_2\text{-СЭ}$ и $\text{NO}_3\text{-СЭ}$ включены в массив, поскольку ионы NO_2^- и NO_3^- являются побочными продуктами окислительно-восстановительных реакций с участием присутствующих в пиве полипептидов и аминокислот [8].

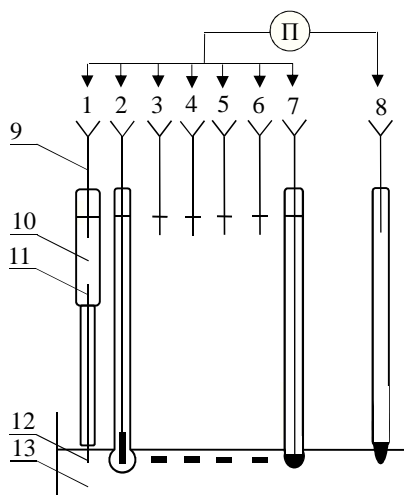


Рис. 1. Электрохимическая ячейка для анализа непастеризованного пива:
 1 – ПД-сенсор, 2 – рН-СЭ, 3 – CO_3 -СЭ, 4 – S-СЭ, 5 – NO_2 -СЭ, 6 – NO_3 -СЭ,
 7 – RedOx-Э, 8 – электрод сравнения, 9 – Ag/AgCl электрод, 10 – раствор сравнения
 1М KCl, 11 и 12 – концы мембраны, контактирующие с раствором сравнения
 ПД-сенсора и исследуемым образцом, 13 – исследуемый образец, П –
 многоканальный потенциометр.

Отклики всех сенсоров определяли одновременно относительно общего электрода сравнения с помощью многоканального высокоомного потенциометра. Для корректного измерения ЭДС входной каскад потенциометра имел много большее входное сопротивление и настолько малые входные токи, чтобы их влиянием можно было пренебречь.

Значения времени установления и дрейфа откликов сенсоров в образцах непастеризованного пива определяли на основе хронопотенциометрического измерения ЭДС цепей в течение 1 ч. Время установления откликов сенсоров не превышало 5 мин, после чего величины откликов изменялись незначимо. Стабильность во времени откликов сенсоров свидетельствует о том, что отравления их мембран при контакте с пивом не происходит.

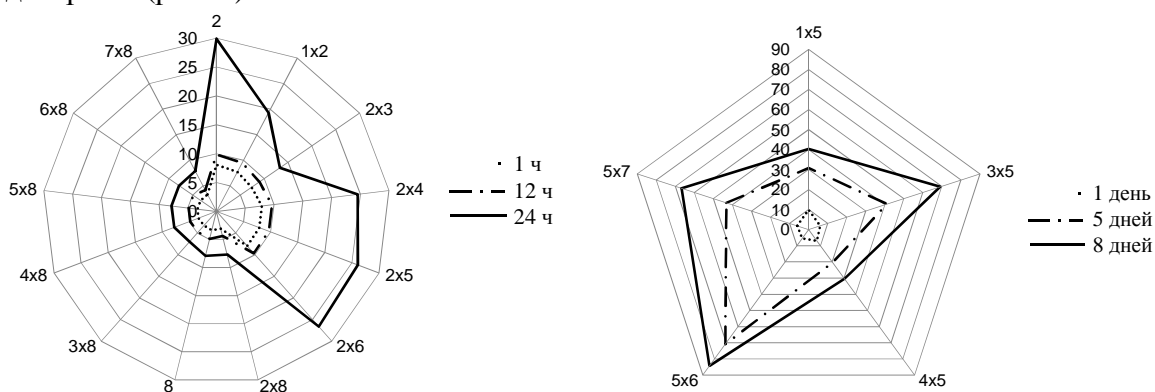
Алгоритм обработки данных для построения лепестковых диаграмм. Для выявления влияния ионно-молекулярного состава сложного раствора на отклики массива сенсоров возможен учет эффектов аддитивности и/или мультипликативности откликов, путем исследования их сумм и/или произведений [9]. Поэтому помимо изменения индивидуальных откликов сенсоров рассматривали мультипликативное изменение откликов каждой пары сенсоров в зависимости от состава исследуемого образца. Статистическую обработку величин откликов сенсоров, полученных в различных образцах пива, проводили по следующему алгоритму. Рассчитывали попарные произведения средних значений откликов всех сенсоров. Затем определяли дисперсии для средних значений откликов сенсоров и по закону умножения ошибок – для их произведений. Далее отбирали отклики сенсоров, значительно различающиеся для сравниваемых образцов пива, путем сравнения их дисперсий и средних значений по критериям Фишера и Стьюдента соответственно (статистический анализ проводили при доверительной вероятности 0.95). Для придания равного статистического веса откликам различных сенсоров необходимо предварительное приведение разбросов их откликов к одной шкале. Для этого проводили нормировку каждого среднего значения и их произведений на их

стандартные отклонения. Полученные нормированные значения откликов сенсоров и их произведений представляли в виде лепестковых диаграмм.

Обработка данных методом главных компонент (МГК). Для многомерного анализа откликов массива сенсоров использован модуль МГК программ Microsoft Excel и Unscrambler X 10.0.1 (CamoSoftware AS, Осло, Норвегия). МГК позволяет перевести данные в систему координат, начало которой лежит в центре области данных, и уменьшить их размерность за счет использования только отражающих структуру данных компонент [9]. Результатом анализа являются графики сетов и нагрузок. График счетов описывает взаимное расположение образцов в пространстве новых координат (главных компонент), которые проводятся в направлении максимальной дисперсии исходных данных для выявления сходства/различия образцов [9]. График нагрузок показывает положение исходных переменных в координатах главных компонент и по их взаимному расположению позволяет судить о корреляции между ними [9]. Исходными данными для анализа были средние значения откликов всех сенсоров и их попарные произведения.

Обсуждение результатов

Анализ пива методом лепестковых диаграмм. Полученные после нормировки средние значения откликов сенсоров и их произведений, которые значительно изменялись для исследуемых образцов пива, представлены в виде лепестковых диаграмм (рис. 2).



а) распознавание образцов пива в условиях розлива

б) распознавание образцов пива в условиях хранения

Рис. 2. Лепестковая диаграмма нормированных откликов мультисенсорной системы:

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 – нормированные величины откликов ПД-сенсора, RedOx-Э, pH-СЭ, CO₃-СЭ, S-СЭ, NO₂-СЭ, NO₃-СЭ, 1×2, 1×3, 1×4, 1×5, 1×6, 1×7, 2×4, 2×5, 2×6, 2×7 – нормированные величины произведений откликов соответствующих сенсоров

На диаграмме откликов мультисенсорной системы в образцах пива, изменяющего состав при розливе, можно выделить две области, отвечающие наибольшему изменению откликов ПД-сенсора и RedOx-Э, а также мультипликативному изменению их откликов с откликами CO₃-СЭ, S-СЭ, NO₂-СЭ, NO₃-СЭ (рис. 2, а). При этом максимальная чувствительность к компонентам пива наблюдалась для ПД-сенсора, являющегося перекрестно чувствительным к катионам. Это может быть обусловлено изменением ионно-молекулярного состава образцов за счет окислительно-восстановительных превращений ацетальдегид ↔ уксусная кислота, этанол ↔ ацетальдегид, молочная кислота ↔ пировиноградная

кислота, ацетоин \leftrightarrow диацетил \leftrightarrow 2,3-бутандиол, а также процессов жизнедеятельности микроорганизмов и ферментативных реакций с участием серосодержащих и азотсодержащих веществ.

Диаграмма, характеризующая зависимость отклика мультисенсорной системы в образцах пива, изменяющего состав при хранении (рис. 2, б), включает меньшее количество значимо различающихся откликов по сравнению с таковой в образцах пива, изменяющего состав при розливе (рис. 2, а). При этом изменение состава пива при хранении в кеге наиболее влияет на мультипликативное изменение отклика S-CЭ с откликами остальных ИСЭ и ПД-сенсора, а величина отклика RedOx-Э изменяется незначимо. Видимо, это обусловлено тем, что состав непастеризованного пива в таких условиях изменяется в основном за счет ферментативных процессов, а процессы жизнедеятельности микроорганизмов и окислительно-восстановительные реакции протекают менее интенсивно.

Полученные результаты могут быть использованы для распознавания образов непастеризованного пива различного состава путем отнесения величин откликов мультисенсорной системы к одному из рассчитанных интервалов нормированных значений.

Анализ пива методом главных компонент. Для выбора сенсоров, имеющих некоррелированные отклики в непастеризованном пиве, получены графики счетов МГК для индивидуальных образцов различного состава (рис. 3). На графиках счетов МГК можно выделить пары откликов (или производений откликов) с высокой корреляцией (точки на графике расположены близко или накладываются друг на друга). Наибольшая корреляция наблюдается для откликов индивидуальных сенсоров (точки 1-7, рис. 3), а также для производений откликов ПД-сенсора, RedOx-Э, pH-CЭ, CO₃-CЭ с откликами NO₂-CЭ и NO₃-CЭ (пары точек 12 и 13, 17 и 18, 21 и 22, 24 и 25 соответственно, рис. 3). При переходе от образца, взятого через 1 ч после розлива, к взятому через 24 ч (или от образца, взятого в 1 день после открытия кеги, к взятому через 8 дней) наблюдается снижение корреляции между произведениями откликов сенсоров. Согласно данным, представленным на графиках счетов МГК для образцов пива, взятых через 24 ч после розлива и 8 дней после открытия кеги, нецелесообразно учитывать отклики всех индивидуальных сенсоров (точки 1-7, рис. 3, в, е), а достаточно выбрать один из них. Кроме того, при анализе пива в условиях хранения необходимо учитывать только одно из производений отклика RedOx-Э с откликами NO₃-CЭ и NO₂-CЭ (точки 17 и 18, рис. 3, е).

Следует отметить, что для образцов пива, изменяющего состав в условиях розлива, получено большее количество некоррелированных откликов сенсоров (имеющих противоположный знак счетов МГК вдоль осей главных компонент), чем для образцов пива, изменяющего состав в условиях хранения (рис. 2, в, е). Это согласуется с результатами анализа и интерпретации данных методом лепестковых диаграмм.

Для оценки возможности распознавания образов непастеризованного пива на основе выбранных откликов сенсоров были получены графики нагрузок МГК для исследуемых образцов (рис. 4).

Исходные переменные для образцов пива, изменяющего состав в условиях розлива, расположены в разных четвертях пространства координат главных компонент, что свидетельствует об отрицательной корреляции между ними и возможности их распознавания путем изучения кластеризации образцов (рис. 4, а). На графике нагрузок МГК для образцов пива, изменяющего состав в условиях хранения, переменная, отвечающая образцу в первый день после открытия кеги, расположена в противоположной части графика по отношению к остальным

переменным (рис. 4, б). При этом переменные, отвечающие образцам со второго по восьмой день после открытия кеги, достаточно разделены между собой для классификации.

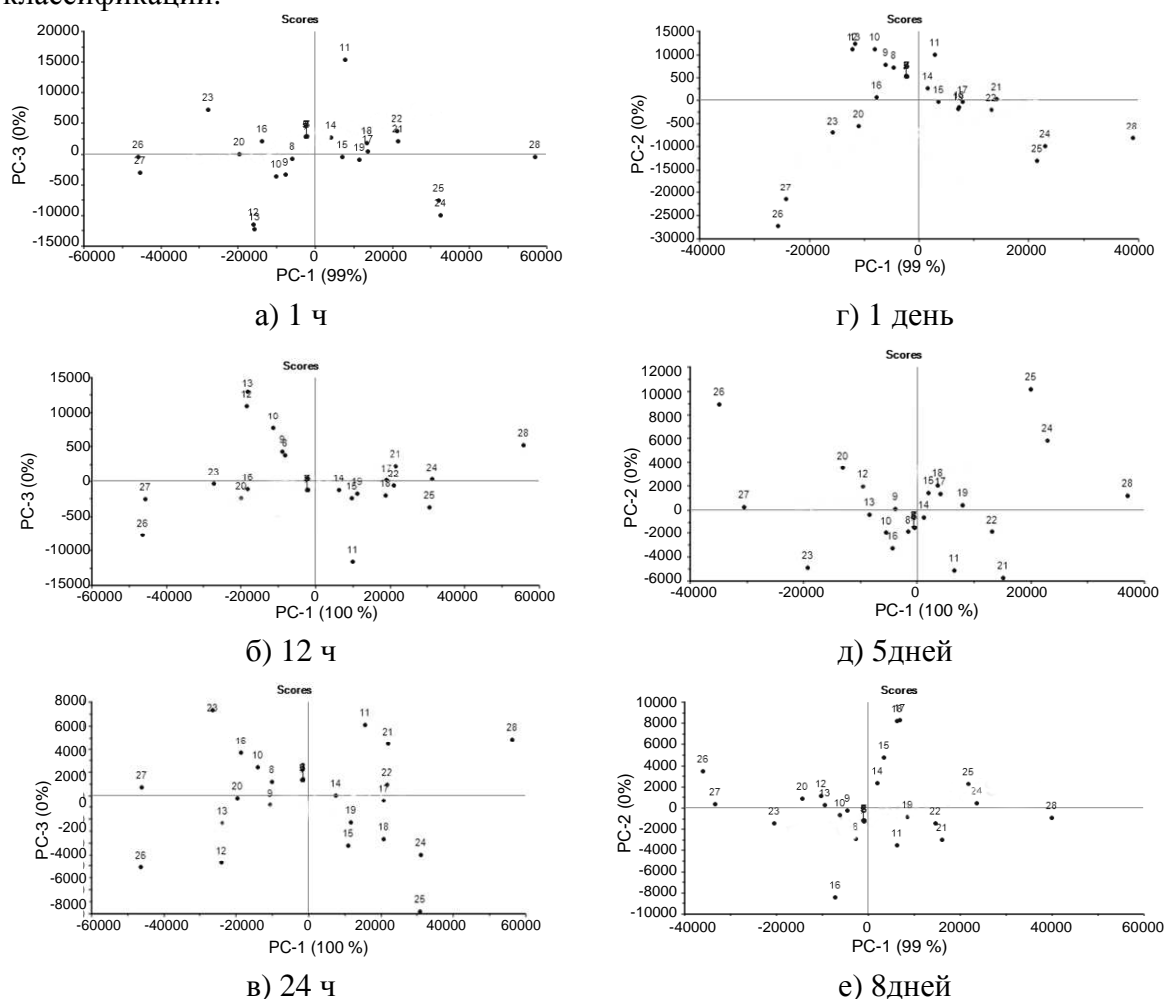
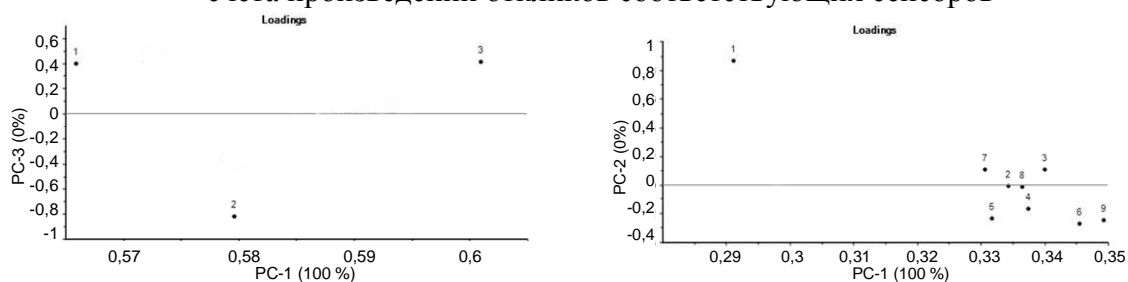


Рис. 3. Графики счетов МГК для выбора сенсоров в массив: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 – счета откликов ПД-сенсора, RedOx-Э, pH-СЭ, CO₃-СЭ, S-СЭ, NO₂-СЭ, NO₃-СЭ, 9-28 – счета произведений откликов соответствующих сенсоров



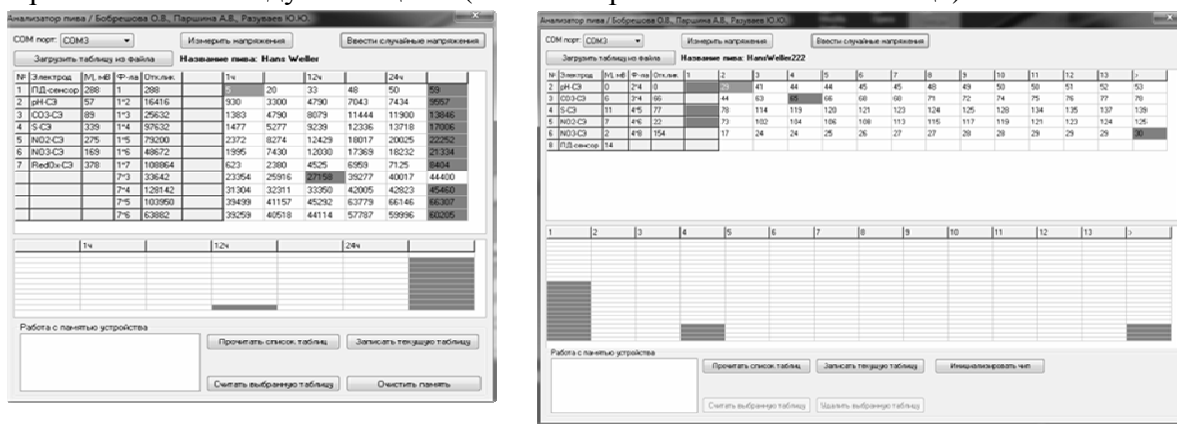
а) распознавание образов пива в условиях розлива: 1, 2 и 3 – 1, 12 и 24 ч б) распознавание образов пива в условиях хранения: 1-8 дней

Рис. 3. Графики нагрузок МГК

Проведенный анализ МГК свидетельствует о чувствительности выбранного массива сенсоров к компонентам пива, изменяющим свою концентрацию в условиях его розлива и хранения. Следует отметить, что МГК является методом представления данных и анализа структуры их дисперсии, но не позволяет проводить классификацию образцов. Распознавание образов пива различного

состава на основе МГК требует введения дополнительных сравнительных математических характеристик.

Компьютеризация анализа. На основе алгоритма анализа пива методом лепестковых диаграмм разработаны компьютерные программы для распознавания образов пива в различных условиях. Диалоговые окна программ изображены на рис. 5. Программы позволяют сохранять (кнопка «Записать текущую таблицу»), удалять (кнопка «Очистить память») и копировать (кнопка «Считать выбранную таблицу») данные, относящиеся к данному сорту пива, на внутренней памяти потенциометра или компьютере. Данные формируются в виде таблиц, содержащих нормированные величины откликов и произведений откликов сенсоров, значимо изменяющихся при изменении состава пива в течение его срока годности при розливе или хранении. Данные сохраняются на внутренней памяти прибора или в виде текстового файла на компьютере. Для анализа пива различных сортов можно переключаться между таблицами (кнопка «прочитать список таблиц»).



а) распознавание образов пива в условиях розлива

б) распознавание образов пива в условиях хранения

Рис. 5. Диалоговые окна программ

Для анализа необходимо, пользуясь кнопкой «прочитать список таблиц», выбрать данные, относящиеся к исследуемому сорту пива, погрузить массив сенсоров в исследуемый образец, дождаться установления откликов сенсоров (5 мин) и нажать кнопку «измерить напряжения». Определенные отклики каждого сенсора автоматически нормируются, центрируются и в диалоговом окне отображается гистограмма с максимумом в соответствующем интервале на шкале от «менее 1 ч» до «более 24ч» (для анализа пива в условиях розлива) или от «менее 1 дня хранения пива в кеге» до «более 14 дней хранения пива в кеге» (для анализа пива в условиях хранения).

Заключение

Разработаны потенциометрические мультисенсорные системы, включающие ПД-сенсор, ИСЭ и редоксметрический электрод, для оценки качества пива в условиях розлива и хранения. Применение метода лепестковых диаграмм и МГК показало необходимость учета мультипликативного изменения откликов ПД-сенсора, RedOx-Э и S-СЭ с откликами ИСЭ для увеличения чувствительности массива сенсоров к компонентам пива. Разработаны компьютерные программы для распознавания образов непастеризованного пива.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда
(проект № 15-13-10036).*

Список литературы

1. Gallardo J., Alegret S., Gallardo M. Valle // *Talanta*. 2005. No 66. pp. 1303-1309.
2. Bratov A., Abramova N., Ipatov A. // *Analytica Chimica Acta*. 2010. Vol. 678. No 2. pp.149-159.
3. Gutiérrez J.M. et al. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. Vol. 177. pp. 989-996.
4. Vera L. et al. // *Talanta*. 2011. Vol. 87. pp. 136-142.
5. Rudnitskaya A. et al. // *Analytica Chimica Acta*. 2009. Vol. 646. No 1-2. pp. 111-118.
6. Бобрешова О.В., Паршина А.В., Рыжкова Е.А., Титова Т.С. // *Аналитика и контроль*. 2013. Т. 17. № 4. С. 430-438
7. Бобрешова О.В., Паршина А.В., Агупова М.В., Полуместная К.А.// *Электрохимия*. 2010. Т. 46. № 11. С. 1338-1349.
8. Ghasemi-Varnamkhasti M. et al. // *Food Control*. 2012. Vol. 25. pp. 216-224.
9. Эсбенсен К. Анализ многомерных данных. Барнаул: изд-во Алт. ун-та, 2003. 159 с.

References

1. Gallardo J., Alegret S., Gallardo M. Valle, *Talanta*, 2005, No 66, pp. 1303-1309.
2. Bratov A., Abramova N., Ipatov A., *Analytica Chimica Acta*, 2010, Vol. 678, No 2, pp. 149-159.
3. Gutiérrez J.M. et al., *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 177, pp. 989-996.
4. Vera L. et al., *Talanta*, 2011, Vol. 87, pp. 136-142.
5. Rudnitskaya A. et al., *Analytica Chimica Acta*, 2009, Vol. 646, No 1-2, pp. 111-118.
6. Bobreshova O.V., Parshina A.V., Ryzhkova E.A., Titova T.S., *Analytica i control* [Analytical and control], 2013, Vol. 17, No 4, pp. 430-438.
7. Bobreshova O.V., Parshina A.V., Agupova M.V., Polumestnaya K.A., *Russian Journal of Electrochemistry*, 2010, Vol. 46, No 11, pp. 1252-1262.
8. Ghasemi-Varnamkhasti M. et al., *Food Control*, 2012, Vol. 25, pp. 216-224.
9. Esbensen K.H. *Multivariate Data Analysis – in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design*, 5th ed., CAMO AS, Oslo, 2001.

Паршина Анна Валерьевна – к.х.н., вед.н.с., докторант кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж

Бобрешова Ольга Владимировна – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж

Янкина Кристина Юрьевна – к.х.н., м.н.с. кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж

Разуваев Юрий Юрьевич – к.ф.-м.н., доцент кафедры электроники физического факультета Воронежского государственного университета, Воронеж

Parshina Anna V. – Ph.D., Leading Researcher, Department of Analytic chemical, Chemical faculty, Voronezh state university, Voronezh

Bobreshova Olga V. – Doctor of Chemistry, Professor, Department of Analytic chemical, Chemical faculty, Voronezh state university, Voronezh

Yankina Kristina J. – Ph.D., Jr. Researcher, Department of Analytic chemical, Chemical faculty, Voronezh state university, Voronezh

Razuvaev Yury Yu. – k.p.-m.s., assistant professor of electronics department of physics faculty, Voronezh state university, Voronezh