

**Martyna JAŃCZYK, Wojciech WRÓBLEWSKI, Patrycja CIOSEK**  
POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ CHEMICZNY, ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa

## Rozróżnianie aminokwasów z wykorzystaniem elektronicznego języka

**Mgr inż. Martyna JAŃCZYK**

Jest doktorantką w Zakładzie Mikrobiologii na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej od 2009 r.



e-mail: [mjanczyk@ch.pw.edu.pl](mailto:mjanczyk@ch.pw.edu.pl)

**Prof. dr hab. inż. Wojciech WRÓBLEWSKI**

Otrzymał stopień doktora (1995r.), doktora habilitowanego (2002r.) oraz profesora (2008r.) na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Jego tematyka badań obejmuje membranowe czujniki elektrochemiczne i optyczne, miniaturyzację czujników i systemów bioanalitycznych oraz systemy multisensorowe.



e-mail: [wuwu@ch.pw.edu.pl](mailto:wuwu@ch.pw.edu.pl)

**Dr inż. Patrycja CIOSEK**

Otrzymała stopień doktora nauk chemicznych na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej w 2006r. Aktualnie zajmuje się budową narzędzi multisensorowych w Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej.



e-mail: [pciosek@ch.edu.pl](mailto:pciosek@ch.edu.pl)

### Streszczenie

Obecnie potrzebne są metody szybkiego, dokładnego, a przede wszystkim taniego oznaczania aminokwasów w próbkach biologicznych. Do takich technik należy potencjometryczny elektroniczny język, który pozwala na rozróżnianie próbek ciekłych. W pracy przedstawiono zastosowanie potencjometrycznego elektronicznego języka do klasyfikowania 5 aminokwasów. Sprawdzone zostało rozpoznanie poszczególnych analitów w roztworach o różnych pH, a następnie wykorzystując metodę częściowych najmniejszych kwadratów (PLS) rozróżniono poszczególne aminokwasy.

**Słowa kluczowe:** elektroniczny język, aminokwasy, elektrody jonoselektywne, PLS.

### Discrimination of amino acids by electronic tongue

#### Abstract

In the last few years medical discoveries showed that presence of amino acids can be associated with many diseases. Usually, these compounds are determined using HPLC method (high performance liquid chromatography), however, due to its noxiousness, new methods are investigated. Application of electronic tongue system can be an alternative method for fast, accurate, affordable determination of amino acids in biological samples. This device is used for analysis and classification of complex liquid samples. Its main advantage is the ability to distinguish between samples containing various components on-line, without prior sample preparation and modification. In this paper there are presented preliminary studies on the recognition of 5 amino acids (glutamic acid, alanine, serine, arginine, aspartic acid) with use of a sensor array composed of ion-selective electrodes of various selectivity. Chemical images of the signals were obtained by measuring the electrode signals in solutions of amino acids for various pH ranging from 2.5 to 11.5. The possibility of identification of individual analytes in solutions of different pH was examined with use of the Partial Least Squares Analysis.

**Keywords:** electronic tongue, amino acids, ion-selective electrodes, PLS.

## 1. Elektroniczny język - wprowadzenie

Analiza aminokwasów, jako podstawowych składników białek, ma dziś ogromne znaczenie. Jest to spowodowane nowymi odkryciami medycznymi, które wiążą obecność tych związków z rozlicznymi chorobami. Zarówno brak, jak i kumulowanie aminokwasów w organizmie jest niekorzystne. Obecnie związki te oznacza się z wykorzystaniem HPLC (wysokosprawną chromatografią cieczową), jednak metoda ta jest droga oraz uciążliwa, ponieważ wymaga wcześniejszego przygotowania próbki. Dlatego prowadzone są badania nad opracowaniem nowych metod szybkiego, wystarczająco dokładnego, oraz taniego oznaczania tych związków w próbkach biologicznych.

W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój badań nad zastosowaniem elektronicznego języka (ang. *Electronic Tongue*, ET) do pomiarów próbek biologicznych. Elektroniczny język to urządzenie do analizy składu i klasyfikacji złożonych próbek ciekłych, którego głównym atutem jest możliwość rozróżniania wybranych składników próbki w trybie on-line bez konieczności wcześniejszego przygotowania i modyfikacji próbki.

Efektom prowadzonych badań są różne rozwiązania konstrukcyjne powstających ET, np. wykorzystujących sensory potencjometryczne, amperometryczne oraz optyczne i masowe. Z uwagi na niski koszt eksploatacji oraz możliwość automatyzacji pomiarów urządzenia tego typu znajdują zastosowanie w diagnostyce medycznej, analizach środowiskowych oraz przemyśle. W literaturze można znaleźć doniesienia o wykorzystaniu elektronicznego języka do oznaczania i klasyfikacji próbek mleka, piwa, wina, herbaty czy soków [1-9], wody i próbek roślinnych [10-12], ale również w maskowaniu smaku w próbkach leków [13-16].

Jednym z często spotykanych rodzajów ET jest potencjometryczny elektroniczny język, składający się z elektrod jonoselektywnych. Uwzględniając złożoność próbki, trudno jest skonstruować idealnie selektywny sensor, dlatego stosuje się kilka różnych elektrod o nieselektywnych membranach, co pozwala na uzyskanie obrazu chemicznego próbki. Uzyskane wyniki pozwalają na klasyfikowanie próbek i rozróżnianie ich między sobą. W tym celu stosuje się blok rozpoznawania obrazu, którego zadaniem jest porównanie uzyskanych wyników dla danej próbki z wynikami znajdującymi się w bazie danych. Ponieważ dane uzyskane z części sensorowej są trudne w analizie i wizualizacji, stosuje się metody matematyczne do ich opracowania. Do takich metod należy np. Analiza Głównych Składowych (ang. *Principal Components Analysis*, PCA), która za pomocą metod numerycznych wyodrębnia użyteczne informacje poprzez usunięcie szumów, wzmocnienie stosunku sygnał-szum i oddzielenie sygnału od tła. Inną metodą analizy jest Metoda Częściowych Najmniejszych Kwadratów (ang. *Partial Least Squares*, PLS), która dodatkowo uwzględnia przynależność klasową obiektów oraz może służyć jako klasyfikator.

Wyznaczone nowe kierunki w przestrzeni są liniową kombinacją zmiennych pierwotnych i pozwalają wyjaśnić zależność pomiędzy macierzą danych a macierzą celi. Główną zaletą tej metody jest zdolność klasyfikacyjna w przypadku danych obciążonych dużym szumem oraz danych wysoce skorelowanych ze sobą.

## 2. Część eksperymentalna

W pracy przedstawiono zastosowanie potencjometrycznego elektronicznego języka do klasyfikowania 5 aminokwasów: kwasu glutaminowego, alaniny, seryny, argininy, kwasu asparaginowego. Matryca składała się z 16 elektrod (po dwie z każdego rodzaju) selektywnych na:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ , aminy,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  oraz kationo- i anionoselektywne. Elektrody skonstruowano z wykorzystaniem membran o składach podanych w Tabeli 1. Odważone składniki rozpuszczono w 2 ml THF, a następnie wylano do szklanych pierścieni umieszczonych na szklanej płytce. Po odparowaniu rozpuszczalnika z przygotowanych membran wycięto krążki o odpowiedniej wielkości i umieszczono w korpusach typu Philips IS 561. Tak przygotowane elektrody kondycjonowano przez 24 h w odpowiednich roztworach, a następnie sprawdzono ich selektywność metodą roztworów rozdzielonych (ang. *Separate Solution Method*, SSM), w roztworach o stężeniu  $10^{-1}$  M.

Tab. 1. Składniki użyte do konstrukcji membran  
Tab. 1. Components used for sensor membrane preparation

Rodzaj elektrody	Plastyfikator	Sól lipofilowa	Jonofor
Amino-selektywna	DOS	-	5% jonofor aminowy I
$\text{NH}_4^+$	DOS	-	1% nonaktywna
$\text{Na}^+$	DOS	0,15% KTPCIPB	1,7% jonofor sodowy X
$\text{CH}_3\text{COO}^-$	DOS	1,1% KTFPB	1% ZrtBTPP
$\text{H}^+$	DOS	1,75% KTFPB	1,97% tridodecyloamina
$\text{CO}_3^{2-}$	DOS	0,3% TDMAC	0,7% ETH 6010
Kationo-selektywna	DOS	1% KTFPB	-
Aniono-selektywna	o-NPOE	3,5% TDMAC	-

Pomiary prowadzono w układzie elektroda referencyjna – elektroda jonoselektywna: Ag,AgCl; KCl 1 M/ $\text{CH}_3\text{COOLi}$  1 M/roztwór próbki/membrana/roztwór wewnętrzny; AgCl; Ag. Badania dotyczące rozróżniania aminokwasów prowadzono w zakwaszonych do pH=2,5 roztworach aminokwasów (o stężeniu  $10^{-3}$  M), które miareczkowano za pomocą  $10^{-1}$  M roztworu NaOH. Pomiar sygnałów elektrod tworzących matrycę prowadzono przez 3 minuty od ustalenia się pH roztworu, przy zachowaniu skoku pH o jednostkę w zakresie od 2,5 do 11,5 w trakcie miareczkowania. Tak przeprowadzone pomiary powtarzano trzykrotnie, a zarejestrowane wyniki (10 punktów pomiarowych zanotowanych dla każdej wartości pH) wizualizowano z wykorzystaniem metody PLS.

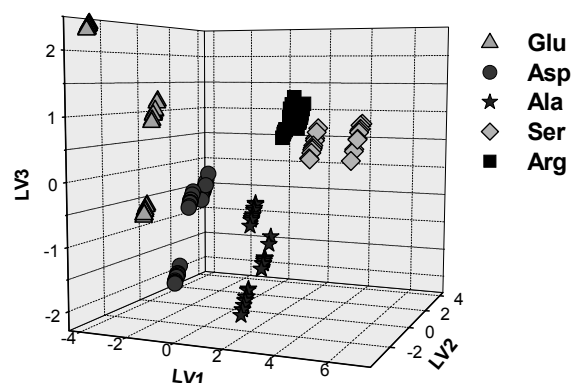
## 3. Wyniki i wnioski

Określenia współczynników selektywności elektrod, które ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego działania układu pomiarowego, dokonano przy zastosowaniu metody SSM. Uzyskane wyniki dla poszczególnych elektrod tj. wartości współczynników selektywności zgodne z wartościami podawanymi w literaturze pozwalają stwierdzić, że zestaw sensorów użytych w pomiarach działa prawidłowo.

Obrazy chemiczne uzyskane dla pomiarów przeprowadzonych w roztworach o różnym pH pozwalają na rozróżnienie klastrów pochodzących od aminokwasów. Jednak stopień rozdzielienia klastrów związanych z poszczególnymi aminokwasami zmienia się w zależności od pH roztworu. Dane uzyskane w roztworach o pH 4,5 i opracowane z wykorzystaniem metody PLS przedsta-

wiono na wykresie (rys. 1). Poszczególne aminokwasy zostały rozsunięte w przestrzeni trójwymiarowej, co pozwala na rozróżnienie poszczególnych związków. Można zaobserwować wysoką powtarzalność wyników uzyskanych dla argininy (Arg) oraz niską dla kwasu glutaminowego (Glu), co może być spowodowane zmiennością próbek w czasie trwania pomiarów. W pH 4,5 rozróżnienie pomiędzy arginina a seryną (Ser) nie jest wyraźne, ale ulega poprawie w pomiarach prowadzonych w pH 10,5. Niestety, w roztworach o tym pH klastry pochodzące od alaniny (Ala) i argininy nie rozdzieliły się.

Uzyskane wyniki wskazują, że możliwe jest klasyfikowanie próbek zawierających różne aminokwasy za pomocą potencjometrycznego elektronicznego języka. Potrzebne są jednak dodatkowe badania nad optymalizacją matrycy elektrod, tak aby uzyskiwane dane pozwalały na jeszcze wyraźniejsze rozróżnienie klastrów, a co za tym idzie – lepsze rozróżnianie próbek zawierających aminokwasy.



Rys. 1. Wykres 3-D PLS rozpoznania aminokwasów przez potencjometryczny elektroniczny język  
Fig. 1. 3-D graph PLS on recognition of amino acids by a potentiometric electronic tongue

Niniejsza praca jest współfinansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, projekt "Program Rozwojowy Politechniki Warszawskiej" oraz w ramach projektów MNS-DIAG Nr POIG.01.03.01-00-014/08-00.

## 4. Literatura

- [1] Ciosek P., Wróblewski W.: Miniaturized electronic tongue with an integrated reference microelectrode for the recognition of milk samples. *Talanta*. 76 2008. 548-556.
- [2] Dias L. A., Peres A. M., Veloso A. C. A., Reis F. S., Vilas-Boas M., Machado A. A. S. C.: An electronic tongue taste evaluation: Identification of goat milk adulteration with bovine milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 136 2009. 209-217.
- [3] Rudnitskaya A., Polshin E., Kirsanov D., Lammertyn J., Nicolai B., Saison D., Delvaux F. R., Delvaux F., A. Legin: Instrumental measurement of beer taste attributes using an electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*. 646 2009. 111-118.
- [4] Rudnitskaya A., Delgadillo I., Legin A., Rocha S. M., Costa A.-M., Simoes T.: Prediction of the Port wine age using an electronic tongue. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 88 2007. 125-131.
- [5] Codinachs L. M., Kloock J. P., Schoning M. J., Baldi A., Ipatov A., Bratov A., Jimenez-Jorguera C.: Electronic integrated multisensor tongue applied to grape juice and wine analysis. *The Analyst*. 133 2008. 1440-1448.
- [6] Chen Q., Zhao J., Vittayapadung S.: Identification of the green tea grade level using electronic tongue and pattern recognition. *Food Research International*. 41 2008. 500-504.

- [7] Wei Z., Wang J., Liao W.: Technique potential for classification of honey by electronic tongue. *Journal of Food Engineering*. 94 2009. 260-266.
- [8] Kantor D. B., Hitka G., Fekete A., Balla C.: Electronic tongue for sensing taste changes with apricots during storage. *Sensors and Actuators B*. 131 2008. 43-47.
- [9] Beullens K., Meszaros P., Vermeir S., Kirsanov D., Legin A., Buysens S., Cap N., Nicolai B. M., Lammertyn J.: Analysis of tomato taste using two types of electronic tongues. *Sensors and Actuators B*. 131 2008. 10-17.
- [10] Kuhlman G., Keymeulen D., Buehler M., Kounaves S.: Detecting heavy metals in solution using electronic tongue 3-REDOX water quality sensors. *IEEE Aerospace Conference Proceedings*. 1 2004. 363-377.
- [11] Rudnitskaya A., Ehlert A., Legin A., Vlasov Y., Buttgenbach S.: Multisensor system on the basis of an array of non-specific chemical sensors and artificial neural networks for determination of inorganic pollutant in a model groundwater. *Talanta*. 55 2001. 425-431.
- [12] Ciosek P., Pokorska B., Romanowska E., Wróblewski W.: The recognition of growth conditions and metabolic type of plants by a potentiometric electronic tongue. *Electroanalysis*. 18 2006. 1266-1272.
- [13] Li L., Naini V., S. Ahmed U.: Utilization of a Modified Special-Cubic Design and an Electronic Tongue for Bitterness Masking Formulation Optimisation. *Journal of pharmaceutical sciences*. 96 10 2007. 2723-2734.
- [14] Legin A., Rudnitskaya A., Clapham D., Seleznev B., Lord K., Vlasov Y.: Electronic tongue for pharmaceutical analytics: quantification of tastes and masking effects. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 380 2004. 36-45.
- [15] Lorenz J. K., Reo J. P., Hendl O., Worthington J. H., Petrossian V. D.: Evaluation of a taste sensor instrument (elec-tronic tongue) for use in formulation development. *International Journal of Pharmaceutics*. 367 2009. 65-72.
- [16] Zheng J. Y., Keeney M. P.: Taste masking analysis in pharmaceutical formulation development using an electronic tongue. *International Journal of Pharmaceutics*. 310 2006. 118-124.

otrzymano / received: 02.03.2010

przyjęto do druku / accepted: 04.05.2010

artykuł recenzowany

## INFORMACJE



# CONTROL-TECH

XII Targi Przemysłowej Techniki Pomiarowej

## 28-30.09.2010, Kielce

**TargiKielce**  
EXHIBITION & CONGRESS CENTRE

### Zakres branżowy targów:

1. Pomiary długości i kąta
2. Przyrządy pomiarowe
3. Maszyny pomiarowe
4. Urządzenia pomiarowe specjalnego zastosowania
5. Elementy do urządzeń pomiarowych i badawczych
6. Badanie materiału
7. Aparatura do prób nieniszczących
8. Aparatura analityczna
9. Przyrządy do pomiaru wytrzymałości
10. Aparatura do określania innych wielkości fizycznych
11. Inne urządzenia
12. Oprogramowanie do komputerowego wspomagania zapewnienia jakości
13. Analiza obrazu oraz systemy przetwarzania obrazu
14. Systemy optyczno-elektroniczne
15. Organizacje/ wydawnictwa/ usługi

Targi Kielce S.A., ul. Zakładowa 1, 25-672 Kielce  
Menedżer Targów - **Joanna Adamczyk**  
tel. 041 365 12 14, fax 041 365 13 13,  
e-mail: adamczyk.j@targikielce.pl

Patronat medialny:

Elektronika  
MAGAZYN ELEKTRONIKI PROFESJONALISTÓW

ELEKTRONIKA  
FABRYKA

www.control-tech.pl