

ELEKTRONICZNY JĘZYK

Wojciech Wróblewski

Zakład Mikrobioanalitiky

Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa

Streszczenie

Elektroniczny język jest nowoczesnym urządzeniem do automatycznej analizy i klasyfikacji próbek o złożonym składzie. Głównym elementem elektronicznego języka jest matryca sensorowa tj. zestaw wielu sensorów o zróżnicowanej selektywności, których sygnały mierzone w badanej próbce tworzą jej „obraz chemiczny”. Interpretacja sygnałów uzyskiwanych z matryc sensorowych, umożliwiającą identyfikację próbki i/lub określenie zawartości poszczególnych jej składników, wymaga użycia odpowiednich metod chemometrycznych (tzw. blok rozpoznawania obrazu).

W pracy przedstawiono problematykę elektronicznego języka i jego praktycznego zastosowania. Opisano stosowane rozwiązania konstrukcyjne, proces klasyfikacji próbek, potencjalne obszary aplikacji oraz jego komercjalizację. Na końcu zaprezentowano wyniki badań, prowadzonych na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej, poświęconych opracowaniu elektronicznego języka.

1. Sensory chemiczne – wprowadzenie

Sensor chemiczny jest małym urządzeniem analitycznym, które umożliwia selektywne oznaczenie określonego składnika złożonej próbki, bez konieczności jej pobierania i modyfikacji, w czasie rzeczywistym i w trybie on-line. Ze względu na połączenie czułości i selektywności klasycznych metod analizy z szerokim wachlarzem rozwiązań konstrukcyjnych, sensory chemiczne stosowane są powszechnie w nowoczesnych rozwiązaniach systemów kontroli analitycznej. Korzystne właściwości metrologiczne, prostota konstrukcji oraz niski koszt

spowodowały dynamiczny rozwój i komercjalizację tego typu urządzeń do zastosowań w: ochronie środowiska, chemii klinicznej, procesowej kontroli analitycznej, systemach bezpieczeństwa oraz przemyśle motoryzacyjnym. Przykładem może być: szklana elektroda pH, tlenowa elektroda Clarka, biosensory (np. glukometry), sensory do monitorowania gazów (np. sonda lambda, sensory do oznaczania gazów toksycznych i wybuchowych).

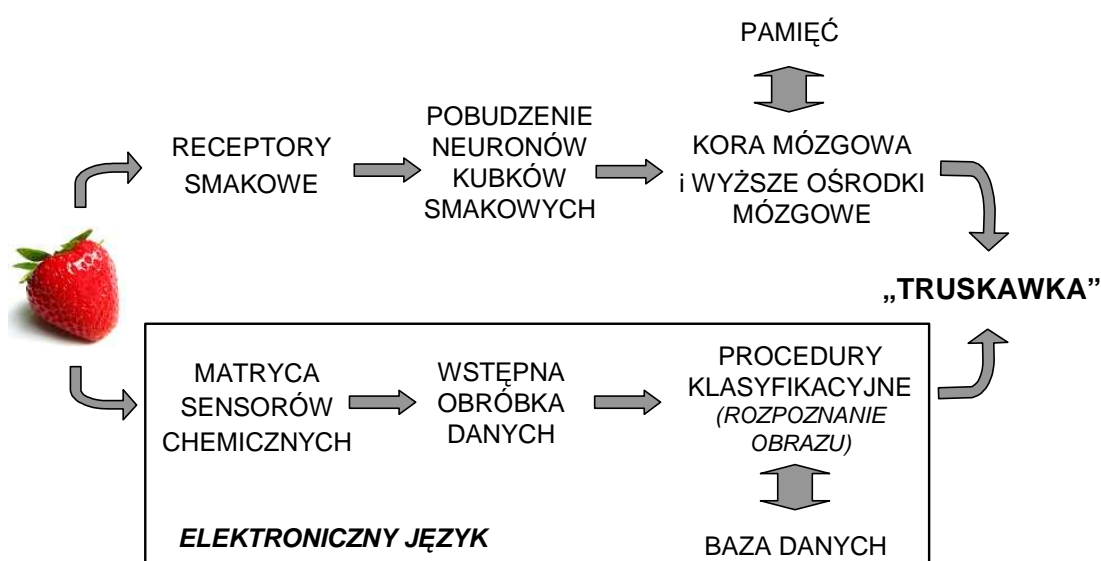
Istotnym atutem sensorów chemicznych jest ich selektywność, tj. zdolność do pomiaru stężenia określonego składnika w obecności innych składników złożonej próbki, wynikająca z obecności chemicznie selektywnej warstwy odpowiedzialnej za proces rozpoznawania analitu. W wielu przypadkach nie dysponujemy jednak sensorami o selektywności zapewniającej uzyskanie wiarygodnych wyników oznaczeń składnika złożonej próbki. Ponadto nie zawsze celem analizy chemicznej jest określenie zawartości poszczególnych składników próbki, lecz identyfikacja i/lub klasyfikacja próbki na podstawie jej charakterystycznych właściwości. Powyższe problemy można rozwiązać poprzez zastosowanie tzw. elektronicznego języka, którego sercem jest matryca sensorów chemicznych (*ang. sensor array*). Matryca sensorowa jest zestawem wielu sensorów o niskiej selektywności, które umożliwiają stworzenie „obrazu chemicznego próbki” (swoistego „odcisku palca” próbki). W ten sposób zwiększa się ilość informacji o próbce pozyskiwanych w trakcie pojedynczego pomiaru, ponieważ na sygnał każdego z nieselektywnych sensorów matrycy mają wpływ (w różnym stopniu) wszystkie składniki próbki. Tego typu podejście wymaga jednak użycia odpowiednich metod chemometrycznych do interpretacji sygnałów generowanych przez matrycę sensorów, co prowadzi do identyfikacji i/lub określenia zawartości poszczególnych składników próbki. Dlatego elektroniczny język (także elektroniczny nos) składa się z dwóch podstawowych elementów: matrycy sensorów chemicznych i tzw. bloku rozpoznawania obrazu (*ang. pattern recognition system*).

2. Matryce sensorów chemicznych – elektroniczny język

W latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku pojawiły się pierwsze urządzenia wykorzystujące matryce gazowych sensorów chemicznych. Ze względu na analogię ich działania ze zmysłem węchu tj. użycie wielu sensorów chemicznych – receptorów – oraz sposób analizy uzyskanych przy ich pomocy informacji (metody sztucznej inteligencji), urządzenia takie nazwano „elektronicznymi nosami” [1]. Obecnie elektroniczne nosy potrafią dokonywać całościowej oceny skomplikowanych próbek i

stosowane są z powodzeniem w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, farmaceutycznym, zarówno do kontroli jakości produktów jak i do monitoringu procesów technologicznych.

Równoległym nurtem prac było wykorzystanie matryc sensorów chemicznych do identyfikacji i klasyfikacji próbek ciekłych o złożonym składzie (analiza jakościowa). Ponadto zastosowanie zaawansowanych metod numerycznych (analiza głównych składowych i sztuczne sieci neuronowe) umożliwiły interpretację sygnałów matrycy, będącej podstawą oznaczenia ilościowego składników próbki. W ten sposób powstało, pod koniec lat osiemdziesiątych, narzędzie analityczne analogiczne do „elektronicznego nosa” – „elektroniczny język” [2,3] (rys. 1).



Rys. 1. Schemat działania elektronicznego języka i jego biologicznego odpowiednika.

W matrycach sensorowych elektronicznego języka stosowane są różnego typu sensory: elektrochemiczne (potencjometryczne, voltamperometryczne), optyczne, masowe a także biosensory. Do najczęściej spotykanych należą sensory potencjometryczne tzw. elektrody jonoselektywne (ang. *ion-selective electrodes*), w których warstwą odpowiedzialną za generowanie sygnału analitycznego (tj. potencjału elektrochemicznego mierzonego względem elektrody porównawczej w warunkach bezprądowych) są membrany polimerowe lub szkliste [4]. Tego typu elektroniczny język, w połączeniu z odpowiednim blokiem rozpoznawania obrazu, był testowany w klasyfikacji (rozpoznanie pochodzenia/producenta) wód mineralnych, mleka, kawy, wina a także innych produktów spożywczych [5]. Innym przykładem

zastosowania takiego urządzenia jest analiza ilościowa zawartości alkoholu, kwasu winowego i innych substancji organicznych w różnych rodzajach win. Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach dowiodły, że w skład matrycy mogą wchodzić zarówno nieselektywne sensory, których odpowiedź jest skorelowana z zawartością wielu składników w próbce (tzw. selektywność krzyżowa) jak i sensory potencjometryczne o wysokiej selektywności.

Sensory elektrochemiczne umożliwiają również opracowanie tzw. „sensora smaku”. Jest to wielokanałowa elektroda potencjometryczna, w której syntetyczne warstwy – membrany lipidowo-polimerowe – naśladują warstwy receptorowe w ścianach komórkowych kubków smakowych. Dzięki temu, sensor zdolny jest do „odczuwania” 5 rodzajów smaków (słodki, gorzki, słony, kwaśny oraz umami) i może rozróżniać próbki produktów spożywczych o różnych właściwościach smakowych: piwo, kawa, herbata, sake i pasta sojowa [6]. Możliwa jest także klasyfikacja aminokwasów o różnych właściwościach smakowych – glicyna, treonina i alanina o słodkim smaku miały inny wzór odpowiedzi od charakteryzujących się gorzkim smakiem fenyloalaniny i izoleucyny. Dzięki tym zaletom sensor smaku stał się urządzeniem kontrolno-pomiarowym stosowanym w przemyśle spożywczym.

Zdecydowanie rzadziej projektowane są woltamperometryczne elektroniczne języki [7], w których mierzone jest natężenie prądu płynącego w obwodzie w funkcji przyłożonego potencjału do elektrody pracującej. Z reguły stosowanych jest kilka elektrod pracujących, wykonanych z różnych metali (np. złoto, platyna, rod), dla których potencjał przy którym następuje reakcja elektrodowa jest wielkością charakterystyczną dla danego związku. Rejestrowany woltamperogram, zawierający nałożone na siebie piki poszczególnych składników, stanowi unikalny chemiczny obraz danej próbki, którego interpretacja wymaga różnych metod numerycznych. Urządzenia tego typu stosowane są głównie w ocenie jakości i pochodzenia produktów spożywczych a także np. do monitorowania kilkietapowego procesu oczyszczania wody w stacji uzdatniania.

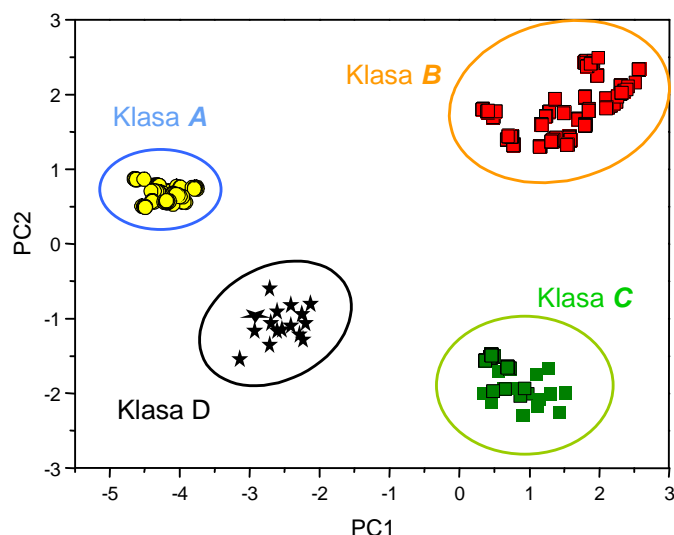
Ciekawym rozwiązaniem jest elektroniczny język, którego zdolności klasyfikacyjne zostają zwiększone dzięki integracji kilku technik pomiarowych np. sensorów potencjometrycznych i woltamperometrycznych a także hybrydowe elektroniczne języki i nosy, w których zintegrowane są sensory do analizy próbek ciekłych i sensory do próbek gazowych [8].

3. Rozpoznawanie obrazu – podstawa klasyfikacji próbki

Sensory chemiczne wchodzące w skład matrycy charakteryzują się zwykle niską selektywnością, dzięki czemu uzyskujemy zwiększenie ilości informacji o próbce w stosunku do ilości sensorów. Analiza sygnałów generowanych przez matrycę wymaga jednak użycia odpowiednich metod chemometrycznych, ponieważ odpowiedź każdego sensora jest funkcją stężeń wielu składników. Dlatego istotnym elementem elektronicznego nosa i języka jest, obok matrycy sensorowej, blok rozpoznawania obrazu. W bloku tym podstawą rozpoznania i klasyfikacji danej próbki jest porównanie jej obrazu ze wzorcami, znajdującymi się w bazie danych obejmującej zbiór obrazów wszystkich próbek, które ma rozróżniać to urządzenie.

Sygnały pochodzące z matrycy sensorów chemicznych są zapisywane w postaci macierzy danych. Każda próbka reprezentowana jest przez unikalny i charakterystyczny dla niej wektor obrazu – punkt w wielowymiarowej przestrzeni danych, będący charakterystycznym dla danej próbki unikalnym „odciskiem palca”, „obrazem chemicznym”. Próbki o podobnym obrazie chemicznym charakteryzują się dużym podobieństwem, mają podobny skład lub właściwości. Macierz danych poddawana jest wstępnemu przetworzeniu (*ang. preprocessing*), które polega na liniowej transformacji danych w celu umożliwienia i/lub ułatwienia dalszej analizy (np. normalizacja, standaryzacja i skalowanie odpowiedzi wszystkich sensorów w matrycy).

Wielowymiarowe dane pomiarowe pochodzące z matrycy czujnikowych są trudne do analizy i wizualizacji. Aby zredukować wymiarowość problemu i zlikwidować powtarzającą się informację, stosowane są odpowiednie procedury matematyczne np. analiza głównych składowych (*ang. Principal Components Analysis – PCA*) [9]. Podstawą PCA jest analiza rozkładu zmienności danych pochodzących z wielu pomiarów, a następnie znalezienie nowych, ortogonalnych względem siebie kierunków w przestrzeni, które w maksymalny sposób pozwolą na ukazanie tej zmienności. Przedstawienie danych na wykresie dwu- lub trzywymiarowym prowadzi do powstania skupień obiektów o podobnych właściwościach (zwykle pierwsze 2 główne składowe pozwalają na odpowiednie rozróżnienie próbek). Modelową klasyfikację próbek należących do czterech klas, dokonaną za pomocą analizy głównych składowych, przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Przykładowa klasyfikacja próbek należących do czterech klas.

Analiza głównych składowych oraz inne metody matematycznej analizy wielu zmiennych pozwalają na liniowe przetwarzanie odpowiedzi matrycy sensorów. Nieliniowe przetwarzanie sygnałów, bliższe biologicznemu odpowiednikowi elektronicznego języka, charakteryzuje sztuczne sieci neuronowe [9]. Najczęściej stosowane są sieci neuronowe warstwowe ze wsteczną propagacją błędów. Sieć neuronowa składa się z elementów przetwarzających informację – neuronów. Są to elementy sumujące o kilku wejściach i jednym wyjściu. Sygnał na wejściu poddawany jest wzmacnieniu proporcjonalnemu do wielkości wagi. Po przemnożeniu sygnałów przez odpowiednie wagi i zsumowaniu ich, otrzymana wartość może zostać zmodyfikowana o stałą wielkość (*ang. bias*). Otrzymany wynik jest argumentem funkcji aktywacji – jej wartość pojawia się na wyjściu neuronu. Sieć neuronowa to połączenie wielu neuronów w warstwy – wyjścia neuronów jednej warstwy stanowią wejścia dla neuronów następnej.

Sieci neuronowe wymagają przeprowadzenia procesu ich uczenia, który polega na odpowiedniej modyfikacji wag każdego neuronu tak, aby dla odpowiednich danych wejściowych na wyjściach sieci pojawiły się wielkości przypisujące obiekt do danej klasy. Jest to z reguły proces iteracyjny, polegający na minimalizacji liczby błędnych klasyfikacji obiektów zbioru uczącego. Po zakończeniu procesu uczenia sieć neuronowa działa jako klasyfikator tj. procedura numeryczna, mająca za zadanie przyporządkowanie danego „obrazu chemicznego” do rodzaju próbki.

4. Zastosowanie elektronicznego języka

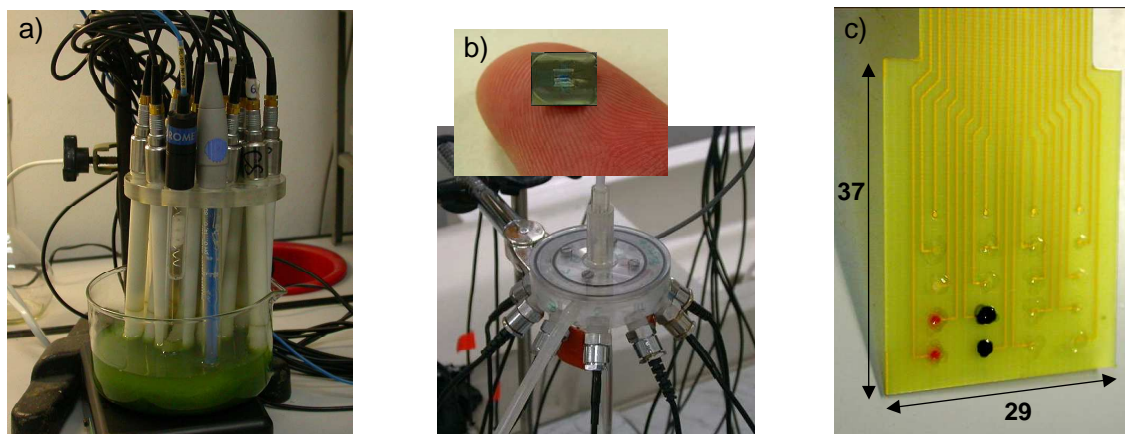
Efektom badań prowadzonych w wielu laboratoriach jest opracowanie elektronicznych języków dostosowanych do konkretnych aplikacji analitycznych. Dotyczy to przede wszystkim automatycznej kontroli analitycznej w przemyśle spożywczym (kontrola procesu produkcyjnego, klasyfikacja partii produkcyjnych, weryfikacja procesów starzenia i przydatności do spożycia). Do innych potencjalnych zastosowań elektronicznego języka zaliczyć można: monitorowanie procesów przemysłowych (ocena jakości a także czystości produktu), monitorowanie zanieczyszczeń rolniczych i przemysłowych (rzeki, wody gruntowe, powietrze), badania materiałów biologicznych (ocena warunków hodowli roślin) czy diagnostyka medyczna (nieinwazyjne rozpoznawanie chorób metabolicznych na podstawie analizy płynów ustrojowych). Ze względu na szerokie zapotrzebowanie oraz możliwości aplikacyjne wiele elektronicznych języków doczekało się komercjalizacji (np. Taste Testing System, ASTREE, Multiarray Chemical Sensor [3]). Podkreślić należy, że są to urządzenia dedykowane do rozpoznawania konkretnych grup produktów.

5. Elektroniczny język na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej

Prace badawcze związane z wykorzystaniem matrycy sensorów chemicznych – klasycznych elektrod jonoselektywnych – do realizacji koncepcji elektronicznego języka rozpoczęto na Wydziale Chemicznym w 2002 roku. Opracowanie takiej matrycy sensorowej wymagało właściwego doboru membranowych elektrod jonoselektywnych o odpowiednich parametrach pracy (rys. 3a). Dotychczas, w projektowanych systemach potencjometrycznych stosowano sensory o niskiej selektywności, których odpowiedź skorelowana była z obecnością wielu składników w próbce. Przeprowadzone badania dowiodły, że połączenie w matrycy sensorów selektywnych i częściowo selektywnych umożliwia pełniejszą charakterystykę próbek artykułów spożywczych, co wiąże się z uzyskaniem lepszych zdolności klasyfikacyjnych urządzenia [10]. Optymalizacja składu matrycy sensorowej elektronicznego języka dotyczyła także właściwego doboru liczby stosowanych elektrod jonoselektywnych.

Kolejnym etapem prowadzonych w zespole badań była próba miniaturyzacji elektronicznego języka poprzez zastosowanie jonoselektywnych mikroelektrod na stałym podłożu (rys. 3b). Podstawową zaletą takich mikrosensorów jest ich prosta

konstrukcja przystosowana do analizy przepływowej, niski koszt wytworzenia jaki i niski koszt jednostkowej analizy [11]. Opracowany system charakteryzował się zdolnościami klasyfikacyjnymi zbliżonymi do urządzeń, w których stosowano klasyczne elektrody jonoselektywne. Zaproponowano również zanurzeniową matrycę szesnastu mikroelektrod, zintegrowanych na tym samym podłożu o powierzchni kilku cm^2 , do pomiarów w trybie stacjonarnym [12] (rys. 3c). Matryca taka może stanowić podzespół przenośnego elektronicznego języka.



Rys. 3. Opracowane matryce sensorów potencjometrycznych: a) klasyczne elektrody jonoselektywne, b) miniaturowe elektrody jonoselektywne na stałym podłożu w celce przepływowej, c) mikroelektrody jonoselektywne zintegrowane na wspólnym podłożu.

Badania, dotyczące zarówno optymalizacji matrycy sensorowej jak i bloku rozpoznawania obrazu [13], doprowadziły do opracowania kilku elektronicznych języków o różnej konstrukcji. Wysokie zdolności klasyfikacyjne tych urządzeń potwierdzono w rozpoznawaniu pochodzenia (producenta) próbek artykułów spożywczych (woda mineralna, mleko, piwo, tonik, soki owocowe), w analizie starzeniowej soku oraz w określaniu zawartości tłuszczu w mleku. Ciekawym zastosowaniem, nie opisanym dotychczas w literaturze, była analiza próbek biologicznych – homogenatów liści zbóż, której efektem było rozpoznanie gatunku oraz warunków ich uprawy, a pośrednio ocena ich wartości odżywczej [14] (badania prowadzone we współpracy z zespołem prof. E. Romanowskiej z Zakładu Fizjologii Roślin, Wydziału Biologii, Uniwersytetu Warszawskiego). Podjęto dalej próbę oceny efektywności dializy na podstawie analizy zawartości mocznika i kreatyniny w płynach dializacyjnych [15]. Przedstawiono również możliwość wykorzystania

opracowanego elektronicznego języka w monitorowaniu hodowli kultur komórkowych. W oparciu o analizę medium, w którym hodowane były komórki, oceniano efekt toksyczny modelowego związku na hodowlę (metoda taka może zastąpić inwazyjny, cytometryczny, test oceny żywotności komórek) [16].

6. Podsumowanie

Konstrukcja elektronicznego języka stanowi przykład rozwoju nowoczesnych narzędzi analitycznych, powstałych na styku techniki sensorowej i chemometrii, użytecznych w szybkiej klasyfikacji oraz analizie jakościowej i ilościowej wybranych grup produktów. Inspirowany neurofizjologią zmysłu smaku działa analogicznie do odpowiedników biologicznych, jednak w przeciwieństwie do ludzkich zmysłów, których wadą jest subiektywność, nie ulega adaptacji i zmęczeniu. Ponadto, wyniki prowadzonych prac naukowo-badawczych wskazują na możliwość dalszego rozwoju tej dziedziny oraz rozszerzenia możliwości aplikacyjnych takich systemów.

Literatura:

1. Gardner J. W., Bartlett P. N., A brief history of electronic noses, *Sensors and Actuators B*, 18-19, (1994), 211.
2. Legin A., Rudnitskaya A., Vlasov Y., *Electronic tongues: sensors, systems, applications*, Sensor Update vol. 10 (G.K. Fedder, J.G. Korvink eds.), 2002, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
3. Ciosek P., Wróblewski W., Sensor arrays for liquid sensing – electronic tongue systems, *Analyst*, 132, (2007), 963.
4. Vlasov Y., Legin A., Rudnitskaya A. M., D'Amico A., Di Natale C., Electronic tongue - new analytical tool for liquid analysis on the basis of non-specific sensors and methods of pattern recognition, *Sensors and Actuators B*, 65, (2000), 235.
5. Legin A., Rudnitskaya A. M., Vlasov Y., Di Natale C., Mazzone E., D'Amico A., Application of electronic tongue for qualitative and quantitative analysis of complex liquid media, *Sensors and Actuators B*, 65, (2000), 232.
6. Toko K., Taste sensor with global selectivity, *Materials Science and Engineering*, C4, (1996), 69.

7. Winqvist F., Wide P., Lundstrom I., An electronic tongue based on voltammetry, *Analytica Chimica Acta*, 357, (1997), 21..
8. Winqvist F., Holmin S., Krantz-Ruckler C., Wide P., Lundstrom I., A hybrid electronic tongue, *Analytica Chimica Acta*, 406 (2000), 147.
9. Gardner J. W., Detection of vapours and odours from a multisensor array using pattern recognition Part I. Principal Component and Cluster Analysis, *Sensors and Actuators B*, 4, (1991), 109; Gardner J. W., Hines E. L., Tang H. C., Detection of vapours and odours from a multisensor array using pattern recognition Part II. Artificial Neural Networks, *Sensors and Actuators B*, 9, (1992), 9.
10. Ciosek P., Augustyniak E., Wróblewski W., Polymeric membrane ion-selective and cross-sensitive electrodes – based electronic tongue for qualitative analysis of beverages, *Analyst*, 129, (2004), 639.
11. Ciosek P., Brzózka Z., Wróblewski W., Electronic tongue for flow-through analysis of beverages, *Sens. Actuators B*, 118, (2006), 454.
12. Ciosek P., Mamińska R., Dybko A., Wróblewski W., Potentiometric electronic tongue based on integrated array of microelectrodes, *Sens. Actuators B*, 125, (2007), 8.
13. Ciosek P., Wróblewski W., The analysis of sensor array data with various pattern recognition techniques, *Sensors and Actuators B*, 114, (2006), 85.
14. 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.
15. Ciosek P., Grabowska I., Brzózka Z., Wróblewski W., The analysis of dialysate fluids with the use of potentiometric electronic tongue, *Microchimica Acta*, 163, (2008), 139.
16. Ciosek P., Zawadzki K., Łopacińska J., Skolimowski M., Bemnowicz P., Golonka L.J., Brzózka Z., Wróblewski W., Monitoring of cell cultures with LTCC microelectrode array, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, (2009), 2029.