

УДК 543.554.6: 543.865

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАТИОНОВ ЛИЗИНА И ТИАМИНА В ВОССТАНОВЛЕННОМ МОЛОКЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПД-СЕНСОРОВ

О.В. Бобрешова, А.В. Паршина, Е.А. Рыжкова, Т.С. Титова

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»
394006, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1
olga1@box.vsi.ru

Поступила в редакцию 12 июля 2013 г.,
после исправления 4 октября 2013 г.

Исследованы чувствительность и стабильность откликов сенсоров, аналитическим сигналом которых является потенциал Доннана на границе ионообменная мембрана/раствор электролита (**ПД-сенсоров**), на основе мембран МФ-4СК в калиевой, водородной и лизиновой формах в растворах восстановленного молока. Разработана мультисенсорная система с ПД-сенсорами и ионоселективными электродами для распознавания образов восстановленного молока с массовой долей сухого от 0.40 до 8.46 %. ПД-сенсоры на основе мембран МФ-4СК в калиевой форме использованы для количественного определения катионов лизина и тиамина в восстановленном молоке с концентрацией сухого молока 0.40 % мас. и 0.40-3.40 % мас. соответственно. Предел обнаружения катионов лизина и тиамина в восстановленном молоке составил $4.0 \cdot 10^{-6}$ М и $2.9 \cdot 10^{-6}$ М соответственно. Относительная погрешность определения не превышала 10 %.

Ключевые слова: потенциометрия, ПД-сенсор, мультисенсорные системы, перфторированные мембраны, восстановленное молоко, лизин, тиамин.

Бобрешова Ольга Владимировна – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

Область научных интересов – электрохимия ионообменных мембран, хемотрифика, электроаналитика, потенциометрические сенсоры и мультисенсорные системы для качественного и количественного анализа многокомпонентных растворов.

Автор более 300 научных публикаций.

Паршина Анна Валерьевна – кандидат химических наук, докторант кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

Область научных интересов – потенциометрические мультисенсорные системы, ионообменные мембраны, гибридные мембраны, хемотрифика, автоматизация измерений, аминокислоты, витамины, лекарственные вещества.

Автор более 100 научных публикаций.

Рыжкова Елена Александровна – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

Область научных интересов – потенциометрические мультисенсорные системы, перфторированные мембраны, аминокислоты, витамины, пищевые продукты.

Автор 15 научных публикаций.

Титова Татьяна Сергеевна – студентка магистратуры кафедры аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета.

Область научных интересов – потенциометрия, ПД-сенсоры, перфторированные мембраны, водные растворы аминокислот.

Автор 3 научных публикаций.

Введение

В состав натурального и сухого обезжиренного молока входят до 200 различных химических веществ (аминокислоты, витамины, минеральные вещества и др.) [1, 2]. Поскольку сухое молоко со-

держит меньшее, чем натуральное, количество алергенов – это обуславливает его применение в изготовлении смесей для детского питания. Однако в процессе производства сухого молока происходит снижение пищевой ценности продукта за счет по-

ть аминокислот (лизина, цистеина) и витаминов (В1, В6, С) при многократной тепловой обработке [1, 2]. Поэтому контроль за содержанием в молоке наиболее полезных и необходимых для полноценного питания и роста детей лизина и тиамина (витамин В1) является важным и актуальным.

Для контроля качества пищевых продуктов, в частности молочных, в настоящее время большое внимание уделяется разработке мультисенсорных систем типа «электронный язык» [3-7] и «электронный нос» [8, 9]. Разрабатываемые мультисенсорные системы предназначены, в основном, для контроля соответствия стандарту качества продукта и, в меньшей степени, для определения концентраций ключевых компонентов продукта. Известны потенциометрические мультисенсорные системы для определения количества бактерий в портящемся молоке [4], для идентификации козьего и коровьего молока [5], для распознавания различных сортов молока и йогуртов [6].

В предыдущих работах нами обосновано и практически реализовано использование перекрестно чувствительных сенсоров, аналитическим сигналом которых является потенциал Доннана на границе ионообменная мембрана/раствор электролита (**ПД-сенсоров**), в составе потенциометрических мультисенсорных систем для количественного определения катионов лизина, тиамина, щелочных и щелочноземельных металлов в многокомпонентных водных растворах [10, 11] и пищевых продуктах [12]. В качестве электродноактивного материала ПД-сенсоров, сочетающего чувствительность к органическим и неорганическим ионам и времен-

ную стабильность электрохимических характеристик, использовали перфторированные сульфокатионообменные мембраны [13]. В таких мембранах происходит процесс самоорганизации с образованием наноразмерных пор и каналов, что позволяет варьировать чувствительность ПД-сенсоров к определяемым ионам (в первую очередь к органическим ионам, размеры которых сопоставимы с размерами пор мембран) за счёт изменения ионной формы мембран [11, 14].

Целью данной работы была разработка потенциометрических систем с ПД-сенсорами для распознавания образов восстановленного молока и количественного определения лизина и тиамин в восстановленном молоке.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. В качестве объектов исследования выбраны водные растворы с концентрациями сухого молока от 0.40 до 8.46 % мас., что соответствует концентрациям сухого молока в восстановленном, в соответствии с российскими технологиями производства молочных продуктов. Растворение сухого молока проводили по ГОСТ Р 52791-2007 «Консервы молочные. Молоко сухое. Технические условия»: навеску сухого молока растворяли маленькими порциями воды с температурой $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$, тщательно растирая комочки стеклянной палочкой, доводили объем водой до 100 см^3 и выдерживали в течение 15-20 мин; измерение проводили после охлаждения водных растворов молока до температуры $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Значения pH растворов восстановленного молока составляли 6.87 ± 0.06 . Концентрации лизина моногидрохлорида (**LysHCl**) и тиамин хлорида (**ThiaminCl**, витамин В1) в водных растворах и в восстановленном молоке варьировались от $1.0 \cdot 10^{-4}\text{ М}$ до $1.0 \cdot 10^{-1}\text{ М}$. Растворы готовили с использованием дистиллированной воды с сопротивлением $0.35\text{ МОм}\cdot\text{см}$.

Для оценки воспроизводимости определений рассчитывали относительное стандартное отклонение $s_r = s/\bar{C}_{\text{экс}}$ (где $\bar{C}_{\text{экс}}$ – среднее значение концентрации, определенное с помощью градуировочного уравнения, s – стандартное отклонение определения среднего значения концентрации).

Мембраны для ПД-сенсоров. Для организации ПД-сенсоров использовали перфторированные сульфокатионообменные мембраны МФ-4СК в Н-, К-, и LysH_2^{2+} -формах. Мембраны в LysH_2^{2+} -форме получали по методике, описанной в [14]. Полная обменная емкость мембран составляла $0.91 \pm 0.02\text{ мг-экв/г}$ сухого образца. Структура мембран МФ-4СК представляет собой систему пор с характерным размером около 5 нм, соединенных узкими каналами (около 1 нм), сформированную гидрофобными перфторированными цепями и гидрофильными сульфокислотными группами, ориентированными в объем каналов [13]. Преимущества МФ-4СК по сравнению с гидрофильными углеводородными

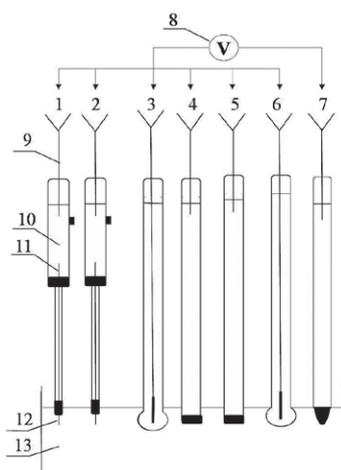


Рис. 1. Схема электрохимической ячейки для исследования растворов восстановленного молока: 1 – ПД-сенсор на основе мембраны МФ-4СК в К-форме; 2 – ПД-сенсор на основе мембраны МФ-4СК в Н-форме; 3 – Na-CЭ; 4 – NH_4 -СЭ; 5 – Ca-CЭ; 6 – стеклянный электрод для измерения pH; 7 – хлоридсеребряный электрод сравнения; 8 – многоканальный высокоомный потенциометр; 9 – Ag/AgCl электрод; 10 – раствор сравнения 1 М KCl (для МФ-4СК в К-форме) или 1 М HCl (для МФ-4СК в Н-форме); 11 и 12 – концы мембраны, контактирующие с раствором сравнения ПД-сенсора и исследуемым раствором, соответственно; 13 – исследуемый раствор

Таблица 1

Дрейф и время установления отклика ПД-сенсоров в растворах восстановленного молока с концентрацией сухого, % мас.: 1 – 0.40; 2 – 1.30; 3 – 3.40; 4 – 8.46

$\omega_{\text{сухого молока}}, \% \text{ мас.}$	Дрейф отклика ПД-сенсоров, мВ/час		Время установления отклика ПД-сенсоров, мин	
	МФ-4СК в Н-форме	МФ-4СК в К-форме	МФ-4СК в Н-форме	МФ-4СК в К-форме
0.40	7	9	8	10
1.30	7	7	9	10
3.40	9	7	9	12
8.46	10	9	10	10

мембранами для потенциометрических сенсоров отражены в [14, 15].

Аппаратура. Электрохимическая ячейка, используемая для распознавания образов восстановленного молока, представлена на рис. 1. Массив мультисенсорной системы включал ПД-сенсоры (1, 2) на основе мембран МФ-4СК в К- и Н-формах, ионоселективные электроды (ИСЭ) (3-6), хлорид-серебряный электрод сравнения (7). Измерение потенциалов ПД-сенсоров и ИСЭ осуществляли одновременно относительно электрода сравнения с помощью многоканального потенциометра (8). Значения откликов сенсоров фиксировали через 10-12 минут (время установления квазиравновесия).

Электрохимическая ячейка для количественного определения ионов лизина и тиамина в восстановленном молоке включала ПД-сенсор на основе мембраны МФ-4СК в К-форме (или в Н-, LysH_2^{2+} -формах), хлоридсеребряный электрод сравнения и высокоомный потенциометр.

Результаты и их обсуждение

Исследование влияние концентрации восстановленного молока на отклики мультисенсорной системы. Ионный состав молока представлен преимущественно ионами Na^+ , K^+ (~0.81 % мас. сухого молока) и ионами азотсодержащих аминокислот и витаминов (1.0-1.5 % мас. сухого молока) [16]. Поэтому кроме стандартных ионоселективных электродов (**Na-СЭ**, **NH₄-СЭ**, **Ca-СЭ**; стеклянный электрод для измерения pH), используемых для анализа молочных продуктов, в массив мультисенсорной системы были включены два ПД-сенсора на основе мембран МФ-4СК в К- и Н- формах.

В табл. 1 показаны дрейф и время установления отклика ПД-сенсоров в Н- и К-формах в растворах восстановленного молока с различным содержанием сухого. Согласно данным, представленным в табл. 1, квазиравновесие в исследуемых системах устанавливается в течение первых 10-12 минут. Дрейф откликов ПД-сенсоров после установления квазиравновесия не превышал 10 мВ/час. Стабильность во времени откликов ПД-сенсоров свидетельствует о том, что отравления перфторированных мембран в растворах восстановленного молока не происходят.

ПД-сенсоры в многокомпонентных растворах являются перекрестно чувствительными к органическим и неорганическим ионам, способным участвовать в реакциях ионного обмена и протолита на границе мембрана/исследуемый раствор [11, 14, 15]. Следует отметить, что изменение концентрации ионных компонентов (ионов лизина, аргинина, глутаминовой кислоты, тиамина, пиридоксина, ионно-молекулярного кальция, Na^+ и K^+) в водных растворах сухого молока может влиять на отклики нескольких сенсоров в мультисенсорной системе. Поэтому для учета эффектов мультипликативности откликов сенсоров помимо изменения индивидуальных откликов сенсоров мы исследовали изменение произведений откликов каждой пары сенсоров.

Экспериментальные данные оптимизировали по следующему алгоритму. Для получения положительных безразмерных величин откликов проводили нормирование исходных экспериментальных данных путем деления средних значений откликов сенсоров на единицу размерности l с учетом знака:

$$\tilde{E} = \frac{E}{l}, \quad (1)$$

где E (мВ) – значения откликов; \tilde{E} – безразмерные нормированные величины откликов; l – единица размерности (± 1.0 мВ).

После нормирования исходных экспериментальных данных рассчитывали попарные произведения откликов всех сенсоров для учета взаимного изменения откликов каждой пары сенсоров в восстановленном молоке с различным содержанием сухого.

Затем полученные безразмерные величины откликов делили на эмпирическую постоянную величину d таким образом, чтобы значения попали в сопоставимые по величине интервалы [17]:

$$\tilde{E}' = \frac{\tilde{E}}{d}, \quad (E_i \cdot E_j)'_{i \neq j} = \frac{E_i \cdot E_j}{d}, \quad (2)$$

где \tilde{E}' , $(E_i \cdot E_j)'$ – величины откликов, полученные после нормирования исходных данных и деления на эмпирический коэффициент; d – постоянный для каждого сенсора (пары сенсоров) эмпирический коэффициент (для индивидуальных откликов $d = 1$, для произведений откликов $d = 100$).

Далее рассчитывали дисперсии по формуле (3) для индивидуальных значений откликов сенсоров и по закону умножения ошибок (4) для произведений откликов.

$$S_E^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\tilde{E}_i - \tilde{E}'_{cp})^2}{n-1}, \quad (3)$$

$$S_{E_i, E_j (\neq i)}^2 = (E'_i \cdot S_{E_i})^2 + (E'_j \cdot S_{E_j})^2, \quad (4)$$

где n – число дублей эксперимента при определении экспериментальных значений откликов индивидуальных сенсоров; S_E^2 , – дисперсии для индивидуальных значений откликов сенсоров, полученных после нормирования; S_{E_i, E_j}^2 – дисперсии для произведений значений откликов сенсоров, полученных после нормирования.

Для выбора значимо различающихся откликов сенсоров в восстановленном молоке с содержанием сухого от 0.40 до 8.46 % мас. сравнивали дисперсии (по критерию Фишера [18]) и средние значения (по критерию Стьюдента [18]) откликов каждого сенсора (каждой пары сенсоров), полученных после нормирования. Статистический анализ проводили при доверительной вероятности $p = 0.95$.

Для значимо различающихся нормированных значений откликов и произведений откликов мультисенсорной системы в растворах восстановленного молока были рассчитаны доверительные интервалы. Рассчитанные интервалы значений, которым принадлежат средние значения откликов мультисенсорной системы в растворах восстановленного молока с содержанием сухого от 0.40 до 8.46 % мас., представлены в виде лепестковой диаграммы (рис. 2).

Согласно данным, представленным на рис. 2, для откликов мультисенсорной системы в растворах восстановленного молока с различным содержанием сухого характерен общий вид геометрии

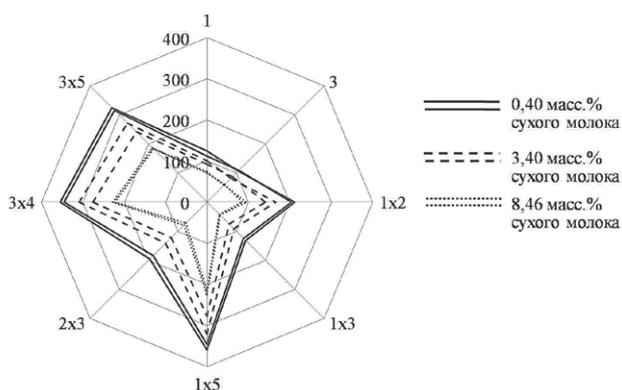


Рис. 2. Лепестковая диаграмма оптимизированных откликов мультисенсорной системы в растворах восстановленного молока с содержанием сухого от 0.40 до 8.46 % мас.: 1, 2, 3, 4, 5 – нормированные величины откликов ПД-сенсоров на основе мембран МФ-4СК в К- и Н-формах, Na-СЭ, NH₄-СЭ, Са-СЭ, соответственно; 1x2, 1x3, 1x5, 2x3, 3x4, 3x5 – нормированные величины произведений откликов соответствующих сенсоров

лепестковой диаграммы. При этом площадь на лепестковой диаграмме, ограниченная величинами откликов массива сенсоров, уменьшается при увеличении концентрации сухого молока в растворе.

Обнаружено, что наибольшее влияние концентрации сухого молока в восстановленном оказывает на величину откликов ПД-сенсоров и Na-СЭ с другими ИСЭ. Вклад в отклик ПД-сенсоров вносят неорганические и органические ионы, участвующие в реакциях ионного обмена и протолиза на границе мембрана/раствор молока. Поэтому снижение концентрации ионов аминокислот, витаминов (прежде всего лизина, тиамина, пиридоксина, аргинина и глутаминовой кислоты) и ионов Na⁺, K⁺ приводит к увеличению откликов ПД-сенсоров. Увеличение отклика Na-СЭ обусловлено снижением концентрации ионов Na⁺ и K⁺. Незначимое изменение отклика NH₄-СЭ свидетельствует о снижении его чувствительности к азотсодержащим ионам в присутствии других компонентов восстановленного молока. Незначимое изменение отклика Са-СЭ, видимо, обусловлено низким содержанием ионно-молекулярного кальция в растворах восстановленного молока. Значимое взаимное изменение откликов ПД-сенсоров и Na-СЭ с другими ИСЭ свидетельствует о симбатном влиянии ионных компонентов молока на отклики соответствующих пар сенсоров.

Отнесение величин откликов мультисенсорной системы в растворе восстановленного молока к одному из рассчитанных интервалов средних значений (рис. 2) позволяет проводить распознавание образцов восстановленного молока с содержанием сухого от 0.40 до 8.46 % мас.

Определение лизина в восстановленном молоке. На рис. 3 представлены зависимости откликов ПД-сенсоров на основе мембран в К-, Н-, LysH₂²⁺-формах от концентрации LysHCl в растворах восстановленного молока с различным содержанием сухого молока.

Наибольшая чувствительность сенсоров к катионам лизина в индивидуальных водных растворах и в восстановленном молоке получены для мембраны в К-форме. При этом величина отклика ПД-сенсоров на основе мембран в Н- и LysH₂²⁺-формах мало зависит от концентрации лизина в растворе, хотя значимо зависит от концентрации сухого молока. Это может свидетельствовать о том, что для мембран в Н-, LysH₂²⁺-формах вклад ионов лизина в отклик сенсора нивелируется влиянием других ионов, содержащихся в восстановленном молоке, концентрация которых постоянна при фиксированном содержании сухого молока. В случае Н-формы, вероятно, потенциал определяющими реакциями ПД-сенсоров являются протолитические реакции с участием объемных катионов и цвиттерионов витаминов (тиамин, пиридоксин) и аминокислот (аргинина, глутаминовой кислоты), размер которых соизмерим с размером пор мембран и превышает размер катионов лизина. Такое предположение со-

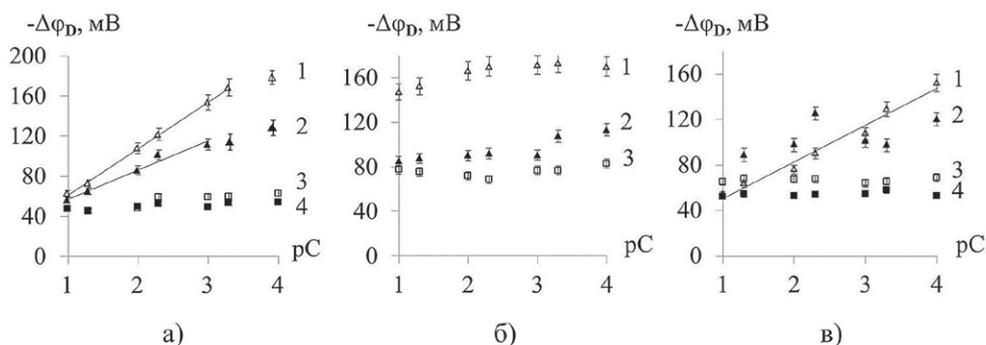


Рис. 3. Зависимости откликов ПД-сенсоров на основе мембран в К-форме (а), в Н-форме (б) и LysH₂²⁺-форме (в) от концентрации LysHCl в растворах восстановленного молока с содержанием сухого, % мас.: 1 – 0; 2 – 0.40; 3 – 3.40; 4 – 8.46

гласуется с тем, что величины отклика ПД-сенсора на основе мембран в Н-форме в 1.5-2 раза превышают таковые для солевых форм мембран. Следует отметить, что для LysH₂²⁺-формы мембраны наблюдается наименьшее влияние концентрации сухого молока на отклик ПД-сенсора. Это может быть обусловлено тем, что объемные двухзарядные катионы LysH₂²⁺ в фазе мембраны стерически ограничивают сорбцию других органических и неорганических ионов, содержащихся в молоке.

Таким образом, для определения катионов лизина в индивидуальных водных растворах и в восстановленном молоке была выбрана мембрана в К-форме. Определение лизина проводили в растворах восстановленного молока концентрацией сухого молока 0.40 % мас., т.к. для более высоких концентраций сухого молока чувствительность ПД-сенсоров к LysH⁺ не превышала 10 мВ/рС (рис. 3). В табл. 2 представлены заданные и определенные значения концентраций ионов LysH⁺ для некоторых исследуемых растворов. Воспроизводимость результатов определения (s_r) составила 0.04-0.11. Рассчитанная на основании данных, представленных в табл. 2, относительная погрешность определения концентрации ионов LysH⁺ в водных растворах и в восстановленном молоке составила 5-10 %.

В табл. 3 представлены основные характеристики ПД-сенсора на основе мембраны в К-форме для определения концентрации катионов LysH⁺ в водных растворах и восстановленном молоке. Предел обнаружения C_{min} оценивали по правилу 3σ с использованием формулы (5) [18]:

$$C_{\min} = \frac{3s^{\text{фон}}}{\Delta\varphi_D^{\text{исслед}} - \Delta\varphi_D^{\text{фон}}} \cdot C^{\text{исслед}}, \quad (5)$$

где Δφ_D^{исслед} – отклик ПД-сенсора в исследуемом растворе с минимальной концентрацией электролита, мВ; Δφ_D^{фон} – отклик ПД-сенсора в дистиллированной воде (165 мВ) или восстановленном молоке (101 мВ); s^{фон} – стандартное отклонение фонового сигнала, 1,0 мВ; C^{исслед} – минимальная исследуемая концентрация электролита, М.

Рассчитанные значения предела обнаружения C_{min} ионов LysH⁺ в водных растворах и в восстановленном молоке составили 2.7·10⁻⁶ М и 4.0·10⁻⁶ М соответственно.

Определение тиамин в восстановленном молоке. В [11] было показано, что чувствительность ПД-сенсоров на основе мембран МФ-4СК в Н-форме к катионам тиамин в индивидуальных водных растворах в 1.2 раза

Таблица 3

Характеристики ПД-сенсора для определения LysH⁺ в водных растворах и восстановленном молоке

Характеристики	Водный раствор LysHCl	Водный раствор LysHCl и сухого молока 0.40 % мас.
		К
Ионная форма мембраны МФ-4СК		К
S, мВ/рС	47 ± 4	29 ± 5
Относительная погрешность определения концентрации, %	≤10	≤5
Воспроизводимость определения концентрации (s _r)	≤0.14	≤0.11
C _{min} , М	2.7·10 ⁻⁶	4.0·10 ⁻⁶
Рабочий диапазон концентраций LysHCl, М	1.0·10 ⁻³ -1.0·10 ⁻¹	

Таблица 2

Определение LysHCl в водных растворах и восстановленном молоке при n = 8 и P = 0.95

Исследуемый раствор	Введено	Найдено	
	C (LysH ⁺), М	C (LysH ⁺), М	s _r
Водный раствор LysHCl	1.0·10 ⁻³	(1.10 ± 0.03)·10 ⁻³	0.04
	5.0·10 ⁻²	(4.8 ± 0.6)·10 ⁻²	0.14
Водный раствор LysHCl и сухого молока (0.40 % мас.)	1.0·10 ⁻²	(1.05 ± 0.09)·10 ⁻²	0.11
	1.0·10 ⁻¹	(1.00 ± 0.07)·10 ⁻¹	0.09

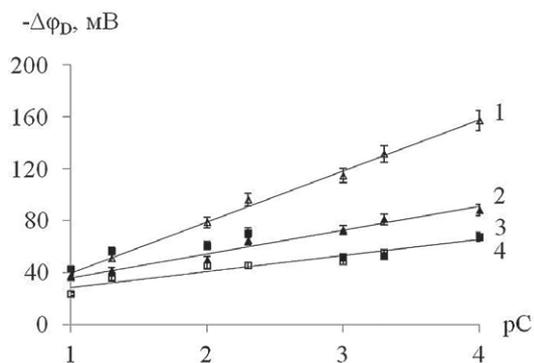


Рис. 4. Зависимости откликов ПД-сенсоров на основе мембраны в К-форме от концентрации ThiaminCl в растворах восстановленного молока с содержанием сухого, % мас.: 1 – 0; 2 – 0.40; 3 – 3.40; 4 – 8.46

меньше по сравнению с таковой для мембран в К-форме. Это обусловлено тем, что при использовании Н-формы дополнительный вклад в формирование потенциала Доннана (отклик ПД-сенсора) вносят ионы гидроксония, которые на межфазной границе конкурируют с объемными органическими катионами. Кроме того, часть однозарядных катионов тиамин не участвует в реакциях ионного обмена, а в результате гетерогенной протолитической реакции переходит в фазе полимера в двухзарядные, которые могут адсорбироваться и блокировать поры мембран. В [14] показано, что вследствие адсорбции катионов (Thiamin⁺, ThiaminH²⁺), размер которых соизмерим с размерами пор мембран, наблюдалось значительное снижение величины и чув-

ствительности отклика ПД-сенсоров на основе мембран, обработанных в растворах ThiaminCl при температуре кипения.

Поэтому для определения катионов тиамин в растворах восстановленного молока были выбраны мембраны в К-форме. На рис. 4 представлены зависимости откликов ПД-сенсоров на основе мембран в К-форме от концентрации ThiaminCl в восстановленном молоке с различным содержанием сухого. Определение тиамин проводили при концентрациях сухого молока 0.40 и 3.40 % мас., для которых чувствительность ПД-сенсоров к Thiamin^{z+} (Thiamin⁺, ThiaminH²⁺) превышала 10 мВ/рС (рис. 4).

В табл. 4 представлены результаты определения концентраций ионов Thiamin^{z+} для некоторых исследуемых растворов. Воспроизводимость (s_r) определения концентрации ионов Thiamin^{z+} составила 0.02-0.12. Относительная погрешность определения концентрации ионов Thiamin^{z+} в водных растворах и восстановленном молоке составила 4-10 %.

Характеристики ПД-сенсора на основе мембраны в К-форме для определения концентрации ионов Thiamin^{z+} в водных растворах и восстановленном молоке представлены в табл. 5. Рассчитанные значения предела обнаружения C_{min} ионов Thiamin^{z+} в водных растворах и в восстановленном молоке составили 3.7·10⁻⁶ М и от 2.9·10⁻⁶ М до 3.9·10⁻⁶ М (при содержании сухого молока от 0.40 до 3.40 % мас.) соответственно.

Таблица 4

Определение ThiaminCl в водных растворах и восстановленном молоке при n = 8 и P = 0.95

Исследуемый раствор	Введено	Найдено	
	C (Thiamin ^{z+}), М	C(Thiamin ^{z+}), М	s _r
Водный раствор ThiaminCl	1.0·10 ⁻⁴	(1.10 ± 0.02)·10 ⁻⁴	0.02
	5.0·10 ⁻²	(5.0 ± 0.3)·10 ⁻²	0.07
Водный раствор ThiaminCl и сухого молока (0.40 % мас.)	5.0·10 ⁻³	(5.0 ± 0.5)·10 ⁻³	0.12
	1.0·10 ⁻²	(1.00 ± 0.07)·10 ⁻²	0.09
Водный раствор ThiaminCl и сухого молока (3.40 % мас.)	1.0·10 ⁻³	(1.07 ± 0.05)·10 ⁻³	0.06
	1.0·10 ⁻²	(0.96 ± 0.09)·10 ⁻²	0.11

Таблица 5

Характеристики ПД-сенсора для определения Thiamin^{z+} в водных растворах и в восстановленном молоке

Характеристики	Водный раствор ThiaminCl	Водный раствор ThiaminCl и сухого молока	
		0.40 % мас.	3.40 % мас.
Ионная форма мембраны МФ-4СК		К	
S, мВ/рС	40 ± 4	18 ± 4	12 ± 4
Относительная погрешность определения концентрации, %	≤ 10	≤ 8	
Воспроизводимость определения концентрации (s _r)	≤ 0.02	≤ 0.12	≤ 0.11
C _{min} , М	3.7·10 ⁻⁶	3.9·10 ⁻⁶	2.9·10 ⁻⁶
Рабочий диапазон концентраций ThiaminCl, М	1.0·10 ⁻⁴ -1.0·10 ⁻¹		

Заключение

Разработана мультисенсорная система с ПД-сенсорами и ИСЭ для распознавания образов восстановленного молока с массовой долей сухого от 0.40 до 8.46 %. Распознавание образов восстановленного молока основано на зависимости откликов мультисенсорной системы от концентрации ионов азотсодержащих аминокислот, витаминов (прежде всего лизина, тиамина, пиридоксина, аргинина и глутаминовой кислоты) и ионов Na^+ , K^+ в молоке. Исследование стабильности во времени откликов ПД-сенсоров на основе мембран МФ-4СК в растворах восстановленного молока показало, что квазиравновесие на границе мембрана/раствор восстановленного молока устанавливается в течение первых 10-15 минут, а дрейф отклика после установления квазиравновесия не превышает 7 мВ/час. Исследована чувствительность откликов ПД-сенсоров на основе мембран МФ-4СК в K^- , H^- , LysH_2^+ -формах в растворах восстановленного молока, содержащих лизин моногидрохлорид и тиамин хлорид. ПД-сенсоры на основе мембран МФ-4СК в K^- -форме использованы для количественного определения катионов лизина и тиамина в восстановленном молоке с концентрацией сухого молока 0.40 % мас. и 0.40-3.40 % мас. соответственно. Предел обнаружения катионов лизина и тиамина в восстановленном молоке составил $4.0 \cdot 10^{-6}$ М и $2.9 \cdot 10^{-6}$ М соответственно. Относительная погрешность определения не превышала 10 %.

Следует отметить, что для определения витаминов и аминокислот в молочных продуктах могут быть использованы методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, метод ионообменной хроматографии, капиллярного электрофореза и атомно-абсорбционной спектроскопии [19, 20, 21]. Несмотря на хорошую избирательность, высокую чувствительность и низкий предел обнаружения основных компонентов молочных продуктов, эти методы требуют процедуру сложной многоступенчатой пробоподготовки продукта, длительность анализа, высококвалифицированного персонала, а также высокую стоимость оборудования. Поэтому разрабатываемые потенциометрические способы количественного определения лизина и тиамин в восстановленном молоке с использованием ПД-сенсоров могут иметь преимущества в части экспрессности, простоты и автоматизации анализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 12-08-00743-а, № 12-08-31471/ мол_а, № 13-03-97502 р_центр_а) и программы «У.М.Н.И.К.» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (проект 12128р/20823 от 29.07.2013).

ЛИТЕРАТУРА

1. Твердохлеб Г.В., Раманаускас Р.И. Химия и физика молока и молочных продуктов. М.: ДеЛипринт, 2006. 360 с.
2. Горбатова К.К. Химия и физика молока: учебник для вузов. СПб.: ГИОРД, 2004. 288 с.
3. Electronic nose and electronic tongue integration for improved classification of clinical and food samples / C.Di Natale [et al.] // Sensors and Actuators B. 2000. V. 64, № 1-3. P. 15-21.
4. Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry / F. Winquist [et al.] // Meas. Sci. Technol. 1998. V. 9, № 12. P. 1937-1946.
5. An electronic tongue taste evaluation: identification of goat milk adulteration with bovine milk / L.G. Dias [et al.] // Sensors and Actuators B. 2009. V. 136, № 1. P. 209-217.
6. Evaluation of milk and dairy products by electronic tongue / M. Hruškar [et al.] // Mljekarstvo. 2009. V. 59, № 3. P. 193-200.
7. Highly sensitive discrimination of taste of milk with homogenization treatment using a taste sensor / H. Yamada [et al.] // Materials Science and Engineering: C. 1997. V. 5, № 1. P. 41-45.
8. Способ установления фальсификации молочных, кисломолочных продуктов для детского и лечебного питания искусственными ароматизаторами. Пат. 2334228 Рос. Федерация; МПК G01N 33/04; Заявка № 2007106338; заявл. 19.02.2007; опубл. 20.09.2008. Бюл. № 26.
9. Способ установления ранней порчи молочных и кисломолочных продуктов: Пат. 2345358 Рос. Федерация, МПК G01N 33/04; Заявка № 2007113082/13; заявл. 10.04.2007; опубл. 27.01.2009. Бюл. № 3.
10. Бобрешова О.В., Паршина А.В., Рыжкова Е.А. Потенциометрическая мультисенсорная система для определения лизина в водных растворах с хлоридами калия и натрия // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65, № 8. С. 885-891.
11. Потенциометрические сенсоры нового типа на основе перфторированных сульфокатионитовых мембран для количественного анализа многокомпонентных водных сред / О.В. Бобрешова [и др.] // Мембраны и мембранные технологии. 2011. Т.1, № 1. С. 27-36.
12. Бобрешова О.В., Паршина А.В., Рыжкова Е.А. Потенциометрическая мультисенсорная система для совместного определения ионов лизина, натрия, калия и магния в водных растворах // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2011. Т. 77, № 10. С. 22-25.
13. Ярославцев А.Б. Ионообменные мембранные материалы: свойства, модификация и практическое применение // Обзоры Российские нанотехнологии. 2009. Т. 4, № 3. С. 44-63.
14. Бобрешова О.В. Потенциометрические сенсоры на основе ионообменников для анализа водных растворов (учебное пособие) / О.В. Бобрешова, А.В. Паршина // Воронеж: Издательско-полиграфиче-

ский центр Воронежского государственного университета, 2012. 154 с.

15. Определение аминокислот, витаминов и лекарственных веществ в водных растворах с использованием новых потенциометрических сенсоров, аналитическим сигналом которых является потенциал Доннана / О.В. Бобрешова [и др.] // Электрохимия. 2010. Т. 46, № 8. С 1338-1349.

16. Химический состав пищевых продуктов: справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов: под ред. М.Ф. Нестерина, И.М. Скурихина. М.: Пищевая промышленность, 1979. 120 с.

17. Дёрффель К. Статистика в аналитической химии. М.: Мир, 1994. 268 с.

18. Кристиан Г. Аналитическая химия: в 2 т.; пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. Т. 1. 623 с.

19. Юрова Е.А. Хроматографические методы анализа // Журн. Молочная промышленность. 2010. № 2. С. 16-18.

20. Современные методы анализа и оборудование в санитарно-гигиенических исследованиях (научно-практическое руководство). М.: ФГУП «Интерсэн», 1999. 496 с.

21. Luginbuhl W. Evaluation of designed calibration samples for casein calibration in Fourier transform infrared analysis of milk // Lebensmittel-Wissenschaft Und Technology - Food Science and Technology. 2002. V 35, № 6. P. 554 – 558.

DEVELOPMENT THE METHOD OF DETERMINATION OF CATIONS LYSINE AND THIAMINE IN THE RECONSTITUTED MILK WITH USING PD-SENSORS

O. V. Bobreshova, A. V. Parshina, E.A. Ryzhkova, T. S. Titova

*Voronezh State University
Universitetskaya pl. 1, Voronezh, 394006, Russia Federation
olga1@box.vsi.ru*

The sensitivity and stability of the response of the PD-sensors based on membranes MF-4SC in K-, H-, Lys-forms in solutions of the reconstituted milk were investigated. A multisensory systems with PD-sensors and ion-selective electrodes for the recognition of reconstituted milk containing powdered milk from 0.40 to 8.46 mas. % is developed. The sensitivity of PD-sensors to cations of lysine in the test solutions containing 0.40 wt. % of powdered milk and $1.0 \cdot 10^{-3}$ - $1.0 \cdot 10^{-1}$ M of LysHCl was 29 mV/pC for membranes in the K-type. The sensitivity of PD-sensors to cations of thiamine in the test solutions containing from 0.40-3.40 wt. % of powdered milk and $1.0 \cdot 10^{-4}$ - $1.0 \cdot 10^{-1}$ M of ThiaminCl was from 18 to 12 mV/pC for membranes in the K-type. This sensitivity is sufficient for the quantitative determination of cations of lysine and of thiamine in solutions of reconstituted milk. The limit of detection of cations of lysine and thiamine in reconstituted milk was $4.0 \cdot 10^{-6}$ M and $2.9 \cdot 10^{-6}$ M respectively. The relative error of measurement was not more 10 %.

Keywords: PD-sensor, Donnan potential, multisensory systems, reconstituted milk, lysine, thiamine.

REFERENCES

1. Tverdokhlebo G.V., Ramanauskas R.I. *Khimiia i fizika moloka i molochnykh produktov* [Chemistry and physics of milk and dairy products]. Moscow, DeLi print Publ., 2006. 360 p. (in Russian).

2. Gorbatoва K.K. *Khimiia i fizika moloka* [Chemistry and physics of milk]. Saint Petersburg, GIORД Publ., 2004. 288 p. (in Russian).

3. Di Natale C., Mantini A., D'Amico A., Paolesse R., Macagnano A., Legin A., Lvova L., Rudnitskaya A., Vlasov Y. Electronic nose and electronic tongue integration for improved classification of clinical and food samples. *Sensors and Actuators B*, 2000, no. 1-3. pp. 15-21.

4. Winquist F., Krantz-Rülcker C., Wide P., Lundstrom I. Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry. *Measurement Science and Technology*, 1998, no.12, pp. 1937-1946.

5. 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*, 2009, vol. 136, no. 1, pp. 209-217. doi: 10.1016/j.snb.2008.09.025.

6. Hruškar M., Major N., Krpan M., Krbavčić I.P., Šarić G., Marković K., Vahčić N. Evaluation of milk and dairy products by electronic tongue. *Mljekarstvo*, 2009, no. 3, pp. 193-200.

7. Yamada H., Mizota Y., Toko K., Doi T. Highly sensitive discrimination of taste of milk with homogenization treatment using a taste sensor. *Materials Science and Engineering*, 1997, no. C5, pp. 41-45.

8. Kuchmenko T.A., e.a. *Sposob ustanovleniia fal'sifikatsii molochnykh, kislomolochnykh produktov dlia detskogo i lechebnogo pitaniia iskusstvennymi aromatizatorami* [The method for establishing of falsification of milk, dairy

- products for infants and therapeutic feeding artificial flavorings]. Patent RF, no 2334228, 2008 (in Russian).
9. Kuchmenko T.A., e.a. *Sposob ustanovleniia rannei porchi molochnykh i kislomolochnykh produktov* [A method for establishing an early spoilage milk and dairy products]: Patent RF, no 2345358, 2009 (in Russian).
10. Bobreshova O.V., Parshina A.V., Ryzhkova E.A. [A potentiometric multisensor system for determining lysine in aqueous solutions containing potassium and sodium chloride]. *Zhurnal Analiticheskoi Khimii* [Journal of Analytical Chemistry], 2010, no 8. pp. 866-872 (in Russian).
11. Bobreshova O.V., Parshina A.V., Polumestnaya K.A., Timofeev S.V. [A new type of potentiometric sensors based on perfluorinated, sulfonated cation-exchange membranes for quantitative analysis of multicomponent aqueous solutions]. *Membrany i membrannye tekhnologii* [Membranes and Membrane Technology], 2011, no. 1, pp. 27-36 (in Russian).
12. Bobreshova O.V., Parshina A.V., Ryzhkova E.A. [Potentiometric multisensor system for co-determination of lysine, sodium, potassium, and magnesium ions in aqueous solutions]. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov* [Industrial Laboratory], 2011, no. 10, pp. 22-25 (in Russian).
13. Yaroslavtsev A.B., Nikonenko V.V. [Ion-exchange membrane materials: Properties, modification, and practical application]. *Obzory Rossiiskie nanotekhnologii* [Nanotechnologies in Russia], 2009, no. 3-4, pp. 33-53 (in Russian).
14. Bobreshova O.V., Parshina A.V. *Potentsiometricheskie sensory na osnove ionoobmennikov dlia analiza vodnykh rastvorov* [Potentiometric sensors based on ion-exchangers for the analysis of aqueous solutions]. Voronezh, Publishing center of Voronezh State University, 2012. 154 p. (in Russian).
15. Bobreshova O.V., Parshina A.V., Agupova M.V., Polumestnaya K.A. [Determination of amino acids, vitamins, and drug substances in aqueous solutions using new potentiometric sensors with Donnan potential as analytical signal]. *Russian Journal of Electrochemistry*, 2010, vol. 46, no. 11. pp. 1252-1262. doi: 10.1134/S1023193510110066 (in Russian).
16. Nesterin M.F., Skurikhina I.M. *Khimicheskii sostav pishchevykh produktov: spravochnye tablitsy soderzhanii aminokislot, zhirnykh kislot, vitaminov, makro- i mikroelementov, organicheskikh kislot i uglevodov* [The chemical composition of foods: reference the table of contents of amino acids, fatty acids, vitamins, macro- and micronutrients, organic acids and carbohydrates]. Moscow, Food Industry Publ., 1979. 120 p. (in Russian).
17. Derfel K. *Statistika v analiticheskoi khimii* [Statistics in analytical chemistry]. Moscow, Mir Publ., 1994. 268 p. (in Russian).
18. Christian G. *Analiticheskaya khimiya* [Analytical chemistry]. Kn.1, per. from English. Moscow, BINOM Knowledge laboratory Publ., 2009. 623 p.
19. Yurova E.A. [Chromatographic methods of analysis]. *Molochnaia promyshlennost'* [Dairy Industry], 2010, no. 2, pp. 16-18 (in Russian).
20. *Sovremennye metody analiza i oborudovanie v sanitarno-gigienicheskikh issledovaniyakh* [Modern methods of analysis and equipment in sanitary-hygienic studies]. Moscow, FGUP «Intersen» Publ., 1999. 496 p. (in Russian).
21. Luginbuhl W. Evaluation of designed calibration samples for casein calibration in Fourier transform infrared analysis of milk. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technology - Food Science and Technology*, 2002, vol. 35, no. 6, pp. 554-558.