

Использование флуориметрии в ближней ИК-области с фотографической регистрацией сигнала в методе «отпечатков пальцев» с добавкой флуорофора к объекту: дискриминация яблочных соков

Е.В. Скоробогатов, И.А. Степанова, В.С. Орехов, *М.К. Беклемишев

Химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Российская Федерация, 119991, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 3

*Адрес для переписки: Беклемишев Михаил Константинович, E-mail: beklem@inbox.ru

Поступила в редакцию 17 ноября 2021 г., после доработки – 6 декабря 2021 г.

Предложено использовать красители, флуоресцирующие в ближней ИК (БИК) области спектра (700–800 нм), для распознавания объектов методом «отпечатков пальцев», основанным на добавке флуорофоров к объекту («флуоресцентный глаз»). Метод успешно применяется в классификации объектов различной природы. В данной работе метод опробован на примере дискриминации 17 образцов яблочного сока разных производителей, выпущенных в разное время. В качестве добавляемого флуорофора использовали гептаметиновый карбоцианиновый краситель индоленинового ряда в присутствии ПАВ, в качестве источника излучения – красные светодиоды, а сигнал регистрировали с помощью цифрового фотоаппарата с дополнительным ИК-светофильтром; для записи спектров применяли спектрофлуориметр с приставкой для 96-луночного флуориметрического планшета. Фотографические изображения обрабатывали с помощью стандартного программного обеспечения Unscrambler X и Excel. Результаты представили в координатах: интенсивность БИК-флуоресценции – интенсивность отражения видимого света (с использованием соответствующих фотографий). Обнаружили, что такое представление позволяет разделить образцы на группы, связанные с производителем. Получали также спектры собственной флуоресценции, в том числе с добавкой БИК-красителя, обрабатывая эти результаты методом главных компонент. По собственной эмиссии можно выделить 5–6 групп образцов, не считая контрольного, тогда как по спектрам с добавкой красителя удастся добиться выделения наибольшего числа групп образцов (девяти). При этом классификация с использованием спектров не позволяет группировать соки по производителям. Кроме того, получение фотографий с помощью визуализатора проще и экспресснее, чем регистрация спектров флуоресценции. Совместная обработка эмиссионных спектров и фотографий не позволяет повысить качество дискриминации образцов.

Ключевые слова: метод «отпечатков пальцев», флуориметрия в ближней ИК-области, яблочный сок, метод главных компонент.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2022, vol. 26, no. 1, pp. 21-30

DOI: 10.15826/analitika.2022.26.1.005

The use of NIR Fluorimetry with photographic data acquisition in the fingerprinting method with the addition of fluorophores to the samples: discrimination of apple juices

E.V. Skorobogatov, I.A. Stepanova, V.S. Orekhov, *M.K. Beklemishev

Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Russian Federation, 119991, GSP-1, Moscow, Leninskie gory, 1, building 3

* Correspondence: Mikhail K. Beklemishev, E-mail: beklem@inbox.ru

Received 17 November 2021, received in revised form 06 December 2021

The application of dyes, that fluoresce in the near infrared (NIR, 700–800 nm) region, for the recognition of samples using a fingerprinting method with the addition of fluorophores to the samples (“fluorescent eye”) is proposed. The technique has been successfully applied to the classification of samples of various nature. In the current work, this strategy has been tested on the example of discrimination of 17 samples of apple juice from different manufacturers, purchased at different times. An indolenine series heptamethine carbocyanine dye in the presence of surfactants was used as the added fluorophore, red LEDs were used as an excitation source, and the signal was recorded using a digital camera with an additional IR filter installed; a spectrofluorimeter with a 96-well plate accessory was used to record the spectra. Photographic images were processed using Unscrambler X and Excel software. The results were presented using the following coordinates: intensity of NIR fluorescence - intensity of visible light reflection (using the photographic images). It was found that such presentation allowed the samples to be divided into groups associated with the manufacturer. We have also obtained intrinsic fluorescence spectra, including those with the addition of NIR dye, and these results were processed by the principal component analysis. It was possible to distinguish 5–6 groups of samples by their intrinsic emission, not counting the blank, while the spectra with the addition of the dye allowed to isolate the largest number of groups of samples (9). At the same time, the classification using spectra did not allow juices to be grouped by the producer. Also, obtaining photographs using a visualizer was easier and faster than recording the fluorescence spectra. The joint processing of emission spectra and photographs did not improve the quality of discrimination.

Keywords: fingerprinting method, NIR fluorimetry, apple juice, principal component analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Задачи распознавания и классификации объектов решают путем получения «отпечатка пальцев» образца: спектра, хроматограммы, вольтамперограммы и т.п. и их анализа методами хемометрики (методы главных компонент, проекции на латентные структуры, дискриминантного и кластерного анализа и др.). Успешно применяют для дискриминации и классификации объектов различной природы флуориметрические методы, при этом традиционно используют собственную флуоресценцию образцов [1–3]. В одном из вариантов метода к объектам добавляют флуорофоры, что позволяет повысить качество дискриминации по сравнению с использованием собственной флуоресценции [4–14]. Таким методом классифицировали вина [6], виски [7, 8], чай [9], соки [10], мед [11], молочные смеси [12], выявляли подделки лекарств [13], определяли принадлежность бактерий к той или иной группе [14].

Эффективный способ регистрации сигнала, часто не уступающий по качеству дискриминации использованию полных спектров эмиссии – получение цифровых фотографий объекта в флуориметрическом планшете [8, 11]. Для обеспечения стабильных условий получения изображения возможно использование коммерческих визуализаторов, однако они малодоступны для большинства реальных пользователей.

Необходимость работы с биологическими объектами вызывает интерес к флуорофорам, излучающим в ближней ИК (БИК) области спектра, в «первом окне прозрачности» биологических тканей (около 650–1000 нм). К числу распространенных БИК-флуорофоров относятся карбоцианиновые красители [15], однако эти соединения пока не использовали в качестве добавок к объектам при их дискриминации и классификации.

Цель настоящей работы – демонстрация возможности использования БИК-флуориметрии для дискриминации объектов методом «отпечатков

пальцев» с добавками карбоцианинового красителя (схема 1) при регистрации сигнала с помощью обратного в лаборатории простого БИК-визуализатора.

Известно [3], что совместная обработка сигналов разной природы улучшает качество дискриминации в методах «отпечатков пальцев». В данной работе БИК-флуориметрии использована в сочетании с фотометрией отражения (на основе фотографий в видимом свете). Проведено также сравнение результатов дискриминации образцов предлагаемым способом и с использованием спектров флуоресценции образцов.

Предлагаемые подходы опробованы на примере дискриминации образцов яблочного сока. Ранее яблочные соки неоднократно классифицировали с помощью флуориметрии в сочетании с методами хемометрики. Так, распознавали продукт прямого отжима и восстановленный сок из концентрата [16–18], иногда выделяя пастеризованный сок [16]; устанавливали сорт яблок (всего рассматривали два сорта) [19, 20], полуколичественно определяли фенолы, флавоноиды и антиоксидантную активность [17], контролировали порчу сока [21]. В качестве методов использовали синхронную [16–18] или обычную флуориметрию [19–21], иногда в комбинации с другими спектроскопическими методами (ИК-спектроскопия) [21].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы яблочных соков приобретали в розничной торговой сети (таблица). Образцы 1–9, приобретенные весной 2021 г., хранили в полипропиленовых флаконах вместимостью 20 мл в замороженном виде до проведения опытов (октябрь 2021 г.). Образцы 10–17 были приобретены в октябре 2021 г., с ними работали непосредственно после вскрытия упаковки.

В качестве БИК-красителя использовали гептаметиновый карбоцианин 4-((E)-2-((E)-2-(2-(3,4-дикарбоксифенил)амино)-3-((E)-2-(3,3-диме-

Таблица

Образцы соков, изученные в работе

Table

Juice samples studied

Изготовитель	№ образ-ца	Бренд	Название, характеристики	Дата изготов-ления
«Южная соковая компания», Россия, Краснодарский край, Белореченский район, г. Белореченск, ул. Победы, 132	1	Global Village	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	20.03.2021
	2	Дары Кубани	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	24.03.2021
	3	Дары Кубани	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	24.03.2021
	11	Сок яблоко ВкусВилл	Сок яблочный прямого отжима для детей, 0.2 л	07.09.2021
	12	Дары Кубани	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	17.09.2021
АО «Мултон», Россия, Санкт-Петербург, ул. Софийская, 14	4	Добрый	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	18.02.2021
	5	Добрый для детей	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	24.03.2021
	14	Добрый для детей	Сок яблочный восстановленный осветленный, 0.2 л	09.07.2021
ООО «Лебедянский» РФ, Липецкая обл., г. Лебедянь, ул. Матросова, 7	6	Агуша Первая ложка	Сок яблочный восстановленный осветленный детский, 0.2 л	21.03.2021
АО «Прогресс» Липецк, ул. Ангарская, владение 2	7	Малышам	Сок яблочный восстановленный осветленный для питания детей раннего возраста, 0.2 л	31.07.2020
Steinrieser Getraenke GmbH, A-8933 St. Gallen, Oberhof 122, Austria	8	Fleur Alpine	Сок с водой яблочный (сок прямого отжима с родниковой водой). Объемная доля сока не менее 60%, 0.2 л	02.02.2021
АО «Прогресс» Липецк, ул. Ангарская, владение 2	9	Фруто няня	Сок детский яблоко осветленный гипоаллергенный, 0.5 л	24.09.2021
	10	Малышам	Сок яблочный осветленный, 0.2 л, для питания детей раннего возраста	24.07.2021
АО «ВБД», Москва, Дмитровское ш., 108	13	Агуша	Сок яблочный восстановленный осветленный для детского питания, стерилизованный, 0.5 л	12.07.2021
ОАО «Сады придонья», Россия, Волгоградская обл., Городищенский р-н, пос. Сады придонья.	15	Сады придонья	Сок яблочный из зеленых яблок осветленный восстановленный для детского питания, 0.2 л	15.09.2021
	16	Сады придонья	Сок яблочный прямого отжима осветленный для детского питания, 0.2 л	17.09.2021
ООО «Пепсико холдингс», Моск. область, Солнечногорский р-н, территория свободной экономической зоны «Шерризон», стр. 1. Производство: Владивосток, Стрелочная, 19.	17	Фруктовый сад	Сок яблочный осветленный для детского питания, 0.2 л	31.08.2021

Примечание: образцы 2 и 3 – идентичные пакеты сока, приобретенные в одно время в одной торговой точке.

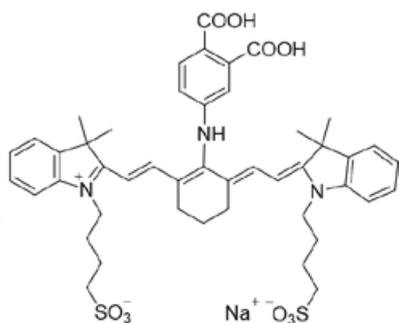


Схема. Структура использованного карбоцианинового красителя.

Scheme. Structure of the carbocyanine dye used.

тил-1-(4-сульфинатобутил)-3Н-индол-1-иум-2-ил) винил)циклогекс-2-ен-1-илиден)этилиден)-3,3-диметилиндолин-1-ил) бутан-1-сульфонат натрия (схема), синтезированный на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза МГУ им. М.В.Ломоносова. Раствор красителя в 95 %-ном этаноле (10 г/л) хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. В день эксперимента из него готовили водный раствор концентрацией 0.033 г/л.

Эксперимент проводили в 96-луночных планшетах для флуориметрии (Thermo Scientific Nunc F96 MicroWell, номер по каталогу 136101). В лунку планшета помещали 100 мкл образца сока, 30 мкл буферного раствора с pH 7.4 (фосфатный, 0.067M), 30 мкл 0.001M раствора бромиды цетилтриметиламмония (ЦТАБ) (ИРЕА2000) и 140 мкл водного раствора красителя концентрацией 0.033 г/л. Каждый образец помещали в 6 рядом расположенных лунок (6 параллельных опытов).

Интенсивность флуоресценции измеряли с помощью БИК-визуализатора (рис. 1), спектры флуоресценции получали с помощью спектрофлуориметра Cary Eclipse (Agilent, США). На визуализаторе каждый снимок делали в двух положениях планшета (с поворотом на 180° друг относительно друга) для компенсации неравномерности освещения планшета.

та. Кроме того, получали изображение планшета в видимом свете с помощью фотокамеры смартфона (Google Pixel 2) и с помощью коммерческого визуализатора Visualizer 2 (Camag, Швейцария).

Изображения лунок планшета оцифровывали с помощью пакета ImageJ. На фотографии выделяли центральные части лунок (около $\frac{1}{4}$ площади лунки) и получали усредненные по выбранной площади значения интенсивностей красного, зеленого и синего каналов (R, G, B) в диапазоне от 0 до 255. Общую интенсивность I рассчитывали как усредненное по трем каналам значение: $I = (R + G + B) / 3$. Эти операции проводили как с видимыми, так и с БИК-изображениями для каждой лунки планшета.

Спектры флуоресценции, а также совместные данные (спектры и фотографии) обрабатывали методом главных компонент в программе Unscrambler X (Camo Software), получая графики счетов в координатах PC-1 – PC-2 (другие главные компоненты давали худшую дискриминацию).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 2 приведены фотографии планшета с образцами соков: в БИК-области при облучении красным светом (а) и в видимом свете (б). Во всех образцах краситель флуоресцирует слабее, чем в контрольном опыте (в водном растворе), видимо, из-за присутствия тушителей, содержание которых может различаться в разных образцах. Однако возможен и другой механизм появления различий. Следует принять во внимание, что присутствие ПАВ существенно влияет на возможность распознавания образцов. В отсутствие ПАВ сигнал одинаков в присутствии всех соков; та же картина наблюдается и в случае добавки анионного ПАВ (додецилсульфата натрия). При добавлении бромиды цетилтриметиламмония (ЦТАБ) в концентрациях выше 0.001 M (то есть мицеллярных) краситель дает высокий сигнал БИК-флуоресценции (видимо, вследствие распределения в мицеллы), на фоне

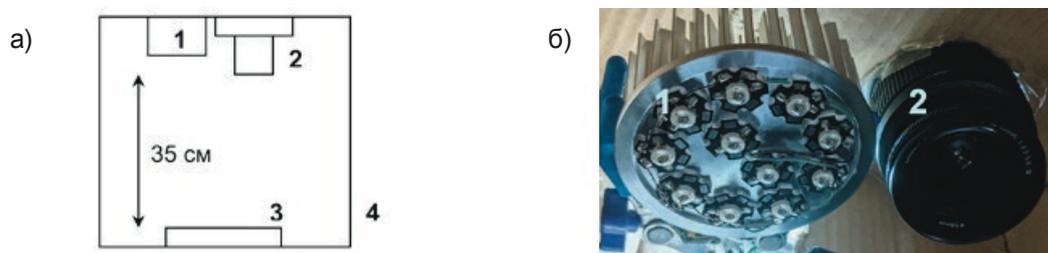


Рис. 1. а) Схема визуализатора и б) его вид изнутри. 1 – источник света (11 светодиодов мощностью по 3 Вт, длина волны излучения 660 нм, расположенные на охлаждающем радиаторе (все – Minifermer, Москва); 2 – фотоаппарат Canon EOS 350D, в котором стандартный светофильтр, располагающийся перед матрицей и удаляющий ИК-излучение, заменен на светофильтр, пропускающий только излучение выше 700 нм (Photodrom, Москва); 3 – флуориметрический планшет; 4 – светозащитный кожух.

Fig. 1. а) Schematic of the visualizer and б) its view from the inside. 1 – light source (11 LEDs with 3W power, radiation wavelength of 660 nm, placed on the cooling radiator (all from Minifermer, Moscow); 2 – Canon EOS 350D camera, in which the standard light filter located before the matrix and removing IR radiation was replaced by the filter only transmitting the light with wavelengths above 700 nm (Photodrom, Moscow); 3 – fluorimetric 96-well plate; 4 – light shielding casing.

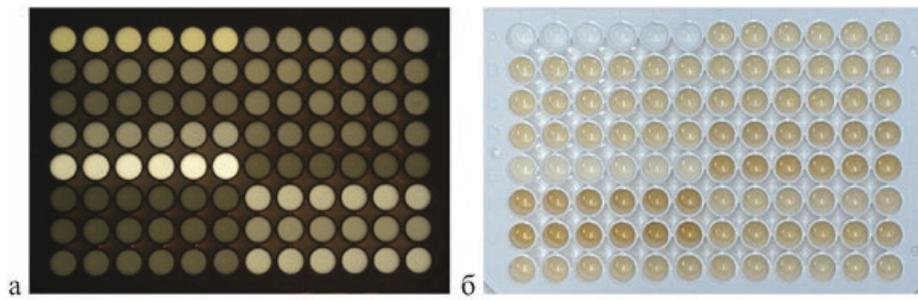


Рис. 2. а) Фотография планшета в ближней ИК-области (700–800 нм), полученная с помощью визуализатора (рис. 1). По 6 лунок подряд для каждого образца; 1-й ряд: контроль (вода) и образец 1; 2-й ряд: образцы 2 и 3; и т. п., 8-й ряд: образцы 14 и 15. б) Фотография того же планшета в видимом свете, полученная с помощью смартфона Google Pixel 2 до добавления раствора красителя.

Fig. 2. а) NIR (700–800 nm) photograph of the plate obtained with the visualizer (Fig. 1). 6 wells in a row were filled for each sample; 1st row: blank (water) and sample 1; 2nd row: samples 2 and 3; etc., 8th row: samples 14 and 15. б) Photograph of the same plate in visible light, taken with a Google Pixel 2 smartphone before adding the dye solution.

которого различия образцов сока малозаметны. И только в присутствии ЦТАБ предмицеллярной концентрации ($1 \cdot 10^{-4}$ М) наблюдается дискриминация соков по интенсивности БИК-флуоресценции. Причина появления различий может заключаться в образовании мицеллоподобных агрегатов ПАВ с анионами органических кислот (в основном, лимонной, яблочной, хинной и хлорогеновой [22]), присутствующих в соке. В таких агрегатах должны существовать гидрофобные области, образованные углеводородными радикалами ПАВ, в которых краситель может флуоресцировать более интенсивно,

чем в воде. Если подобный эффект накладывается на тушение, а состав соков по кислотам различен, может иметь место дискриминация образцов.

Как видно из рис. 2, имеется взаимосвязь между интенсивностью БИК-флуоресценции и интенсивностью поглощения образцов в видимом свете: чем слабее окрашен образец, тем интенсивнее он флуоресцирует, что можно связать с меньшим поглощением возбуждающего излучения (эффектом внутреннего фильтра). Однако коэффициент корреляции между интенсивностями БИК-сигнала и интенсивностью окраски лунок в видимом све-

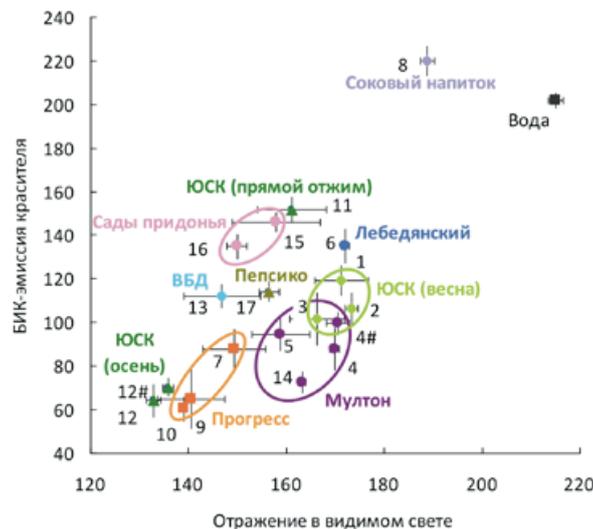


Рис. 3. Описание образцов яблочного сока разных производителей в координатах: интенсивность отражения в видимом свете – интенсивность БИК-флуоресценции. Цифры на диаграмме – номера образцов, надписи – производители (по табл. 1), точки – средние значения для данного образца (6 параллельных измерений в соседних лунках планшета), планки погрешностей соответствуют одному стандартному отклонению. Номера с решеткой (4#, 12#) – дополнительные 6 параллельных измерений образцов 4 и 12 в другом планшете. Эллипсы проведены только для удобства восприятия.

Fig. 3. Presentation of apple juice samples from different manufacturers in the coordinates: intensity of reflection in visible light - intensity of NIR fluorescence. Figures on the diagram are sample numbers, lettering is manufacturers (according to Table 1), points are average values for a given sample (6 parallel measurements in adjacent wells of the plate), error bars correspond to one standard deviation. Numbers with a hashtag (4#, 12#) – additional 6 parallel measurements of samples 4 and 12 in a different plate. Ellipses are just a guide to the eye.

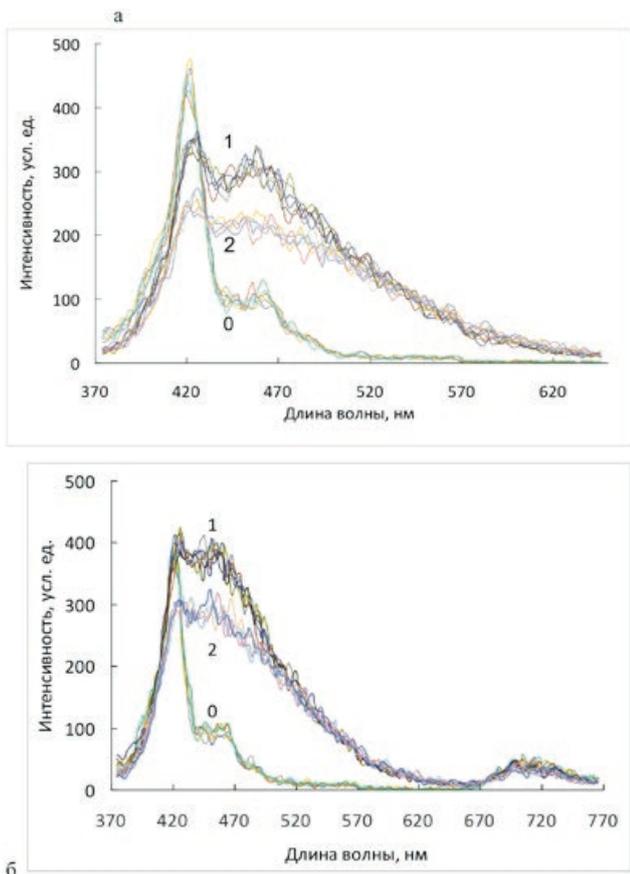


Рис. 4. а) Спектры собственной флуоресценции на примере образцов сока № 1 (группа кривых 1) и № 9 (группа кривых 2). Контрольные опыты – группа кривых 0. Возбуждение при 340 нм, 6 параллельных опытов для каждого образца; б) спектры тех же образцов после добавления красителя.

Fig. 4. а) Spectra of intrinsic fluorescence of juice samples No. 1 (group of curves 1) and No. 9 (group of curves 2). Blank experiments: group of curves 0. Excitation at 340 nm, 6 parallel experiments for each sample; б) spectra of the same samples after adding the dye.

те составляет лишь 0.50 (без учета контрольного образца). Рассмотрение интенсивностей в этих координатах (рис. 3) позволяет наглядно представить дискриминацию образцов. Использовали средние интенсивности отражения и флуоресценции, полученные усреднением интенсивностей красного, зеленого и синего каналов фотоприемника (диапазон варьирования – от 0 до 255).

Из рис. 3 можно видеть, что образцы одного и того же завода можно объединить в группы (Мултон, Прогресс, Сады Придонья). Исключением является Южная соковая компания, у которой сильно различаются образцы, приобретенные весной (№№ 1–3) и осенью (№ 12) 2021 г. Кроме того, у этого производителя выделяется сок прямого отжима №11 (другой сок прямого отжима, Садов придонья (№ 16), не отделяется от другого образца этого же завода). Сильно выделяется соковый напиток (60% сок) австрийской компании Fleur Alpine (№ 8).

Альтернативный (и более традиционный) способ дискриминации образцов основан на использовании спектров их собственной флуоресценции. Мы получили такие спектры в планшете перед добавлением красителя (рис. 4). Использовали длину волны возбуждения, отвечающую максимальной интенсивности полосы флуоресценции сока при 450 нм. Полоса при 420 нм отвечает собственной эмиссии планшета. Для сокращения времени анализа спектры регистрировали в режиме быстрого сканирования Ultrafast (96-луночный планшет обрабатывается в течение 15 мин). Обработанные методом главных компонент (МГК) спектры 17 образцов, двух контрольных образцов и двух повторов (образцов 4 и 12) приведены на рис. 5.

По сравнению с предлагаемым способом (рис. 3) по спектрам собственной флуоресценции (рис. 5, а) не удается выделить образцы № 11 и № 15, а пары образцов № 9 и № 17, № 10 и № 16 разделяются менее полно. При этом по спектрам собственной флуоресценции лучше отделяются образцы №№ 9, 10 и 12. После добавления флуорофора картина дискриминации образцов улучшается (на рис. 5, а можно выделить только 5–6 разделенных групп точек, а на рис 5, б – уже 9). Однако при использовании спектров флуоресценции не удастся сгруппировать вместе образцы одного и того же производителя.

Для выявления длин волн, в наибольшей степени влияющих на дискриминацию, построили графики нагрузок для первой и второй главных компонент спектров флуоресценции (рис. 6). Оказалось неожиданным, что наибольшее влияние оказывает интервал длин волн 410–430 нм, что отвечает собственной эмиссии планшета. Эта полоса в различной степени тушится образцами (рис. 4), т.е. планшет выступает дополнительным «добавляемым флуорофором». При этом интервал длин волн 700–720 нм, соответствующий флуоресценции красителя, фактически не вносит вклада в дискриминацию; более чувствительной к изменению сигнала в БИК-области спектра оказывается фотография (видимо, за счет длительной выдержки – 0.25 с).

Рассмотрели также объединение имеющихся данных: спектров эмиссии в присутствии флуорофора и фотографий – по БИК-флуоресценции и в видимой области (рис. 5, в). В этом случае для обработки данных методом главных компонент использовали первую главную компоненту спектров флуоресценции и усредненные по RGB-каналам интенсивности фотографий (всего три столбца данных, которым придали равные весовые коэффициенты). Обработка объединенных данных не позволила повысить качество дискриминации: 9 разделенных групп удается выделить при объединении как спектров с БИК-фотографиями, так и спектров и обоих видов фотографий. Следует, однако, заметить, что при этом выделяются иные группы образцов, чем при обработке одних фотографий. Так, при использовании объединенных данных (рис. 5, в) соки №13

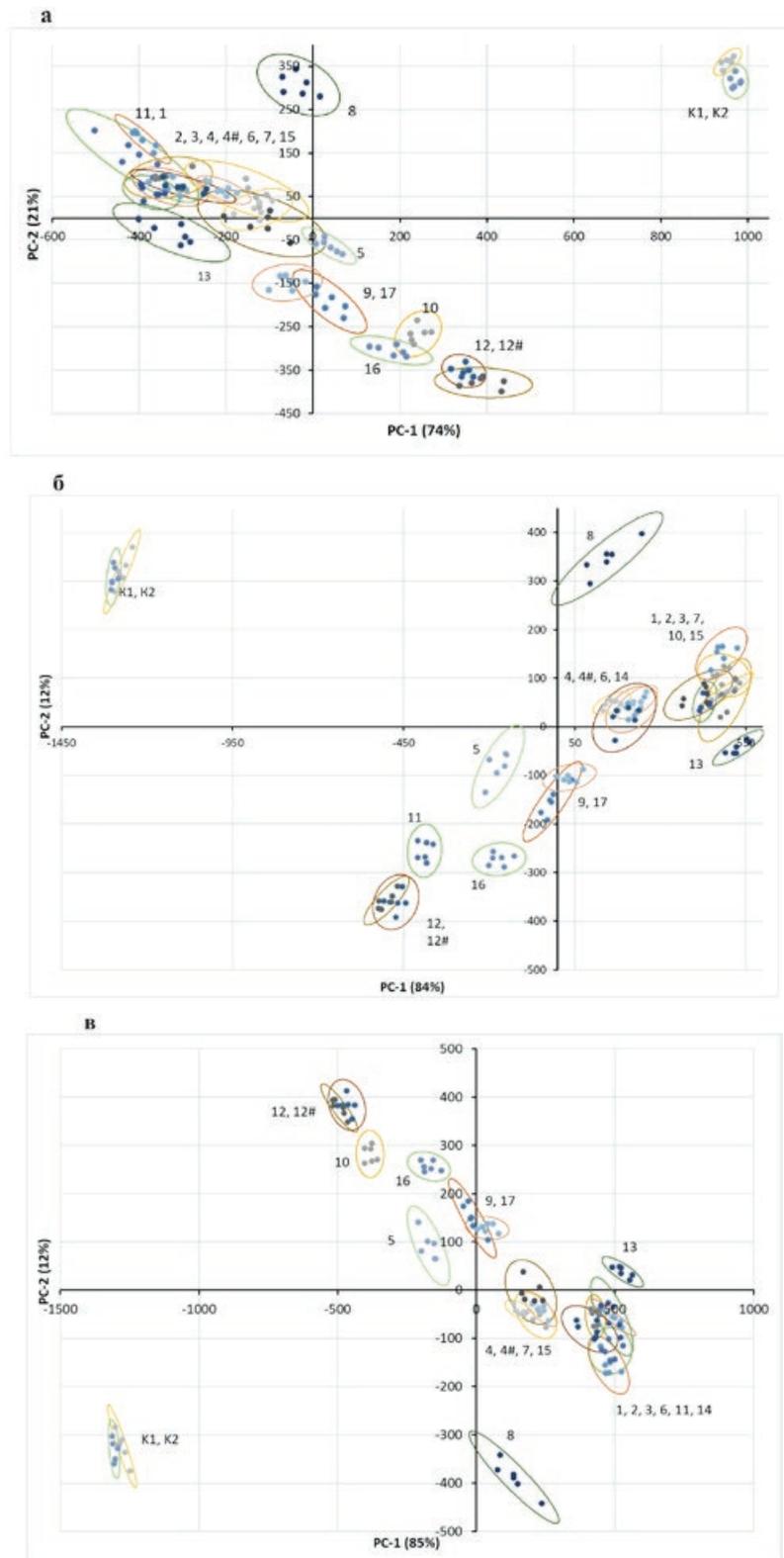


Рис. 5. Графики счетов метода главных компонент: а) для спектров собственной флуоресценции образцов; б) для спектров образцов с добавкой красителя (условия см. на рис. 4); в) результат обработки объединенных данных: спектров флуоресценции с добавкой красителя, фотографий в видимой области и в БИК-визуализаторе. Точки – результаты параллельных измерений, эллипсами (доверительная вероятность – 82 %) выделены образцы, их номера указаны цифрами (табл. 1); K1, K2 – контрольные опыты (вода).

Fig. 5. Scores plots of principal component analysis: а) for the spectra of intrinsic fluorescence of the samples; б) for the spectra of samples with the addition of the dye (see Fig. 4 for the conditions); в) the result of processing of the combined data: fluorescence spectra with the addition of the dye, photographs in the visible region and in the NIR probability of 82% encircle the samples, the sample numbers are indicated by figures, as in Table 1; K1, K2 - blank experiments (water).

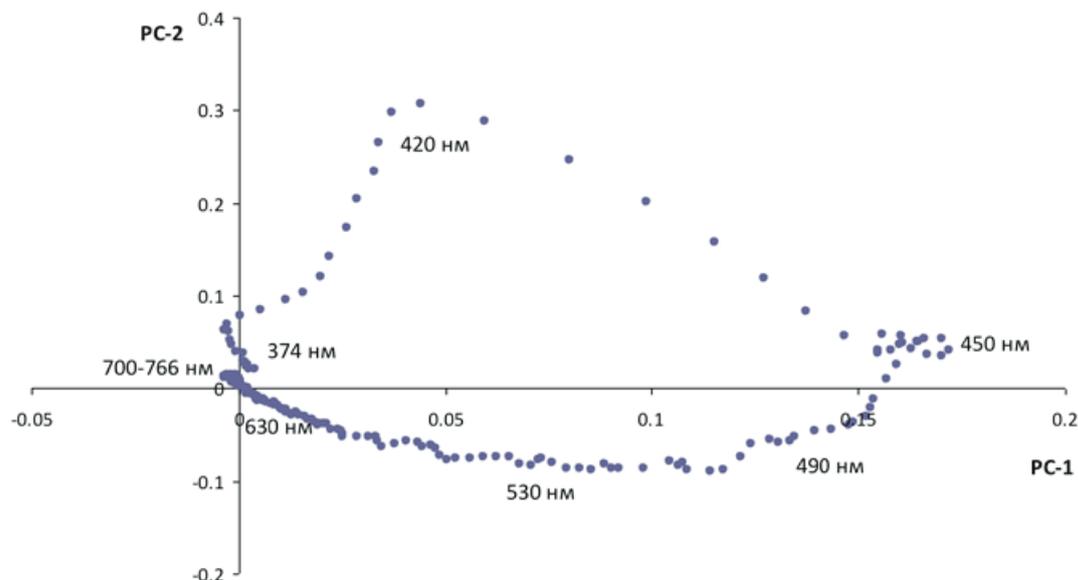


Рис. 6. График нагрузок метода главных компонент для спектров флуоресценции образцов с добавкой красителя (для данных, приведенных на рис. 5,б).

Fig. 6. Loadings plot of the principal component analysis method for the fluorescence spectra of samples with the addition of the dye (for the data shown in Fig. 5,б).

и №7 пересекаются с другими образцами, тогда как в случае использования БИК-флуоресценции и отражения в видимой области по фотографиям эти образцы полностью отделяются (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на примере дискриминации образцов яблочного сока показана возможность применения БИК-флуориметрии с использованием простого визуализатора с фотографической регистрацией сигнала, при этом результаты удобно представлять в координатах: интенсивность БИК-сигнала – интенсивность отражения в видимом свете. В такой форме целесообразно представлять результаты для дискриминации соков по производителям. По сравнению с получением спектров предлагаемый способ регистрации отклика образцов существенно экспресснее и позволяет обойтись без использования спектрофлуориметра. Однако при необходимости разбиения образцов на наибольшее число групп целесообразно использовать спектры эмиссии, получаемые после добавки флуорофора к образцам.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 20-13-00330). Авторы благодарят доцента Т.А.Подругину за предоставление карбоцианинового красителя и А.Добровотворского за предоставление ИК-фотоаппарата.

ACKNOWLEDGEMENTS

Current work was supported by the Russian Science Foundation (grant No 20-13-00330). The authors are grateful to Associate Professor T.A. Podrugina for providing the carbocyanine dye and A. Dobrotvorskyy for providing the IR photo camera

ЛИТЕРАТУРА

1. Sádecká J., Tóthová J. Fluorescence spectroscopy and chemometrics in the food classification—A review // *Czech J. Food Sci.* 2007. V. 25. P. 159–173.
2. Karoui R., Blecker C. Fluorescence spectroscopy measurement for quality assessment of food systems—A review // *Food Bioproc. Technol.* 2011. V. 4. P. 364–386.
3. Левин А.Д., Нагаев А.И., Садагов А.Ю., Карахотин С.Н. Качественный анализ вин на основе совместного использования их оптических спектров различной физической природы // *Аналитика и контроль.* 2018. Т. 22, № 2. С. 147-156.
4. Li Z., Suslick K. S. The Optoelectronic Nose // *Acc. Chem. Res.* 2020. V. 54, № 4. P. 950–960.
5. Gitlina A.Y., Surkova A., Ivonina M.V., Sizov V.V., Petrovskii S.K., Legin A., Starova G.L., Koshevoy I.O., Grachova E.V., Kirsanov D.O. Cyclometalated Ir(III) complexes as tuneable multiband light sources for optical multisensor systems: Feasibility study // *Dyes. Pigm.* 2020. V. 180. 108428.
6. Han J., Bender M., Seehafer K., Bunz U.H.F. Identification of White Wines by using Two Oppositely Charged Poly(p-phenyleneethynylene)s Individually and in Complex // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016. V. 55. P. 7689–7692.
7. Han J., Ma C., Wang B., Bender M., Bojanowski M., Hergert M., Seehafer K., Herrmann A., Bunz U.H.F. A Hypothesis-Free Sensor Array Discriminates Whiskies for Brand, Age, and Taste // *Chem.* 2017. V. 2. P. 817–824.
8. Rukosueva E.A., Dobrolyubov E., Goryacheva I.Y., Beklemishev M.K. Discrimination of whiskies using an “add-a-flu-

orophore" fluorescent fingerprinting strategy // *Microchem. J.* 2019. V. 145. P. 397–405. DOI:

9. Yanchao Zhu, Jie Wang, Yusen Wu, Zhikun Shang, Yun Ding, Aiguo Hu. A fluorescent sensor array-based electronic tongue for Chinese tea discrimination // *J. Mater. Chem. C*, 2021. V. 9. P. 5676–5681.
10. Han J., Wang B., Bender M., Seehafer K., Bunz U.H.F. Poly(p-phenyleneethynylene)-based tongues discriminate fruit juices // *Analyst*. 2017. V. 142. P. 537–543.
11. Rukosueva E.A., Belikova V.A., Krylov I.N., Orekhov V.S., Skorobogatov E.V., Garmash A.V., Beklemishev M.K. Evaluation of Discrimination Performance in Case for Multiple Non-Discriminated Samples: Classification of Honeys by Fluorescent Fingerprinting // *Sensors*. 2020. V. 20, № 18. P. 5351.
12. Xin Yu Zhao, Nan Du, Yuanfang Huang, Yishun Shen, Ying Tan, Chunyan Tan. Discrimination of Powdered Infant Formula According to Species, Country of Origin, and Brand Using a Fluorescent Sensor Array // *ACS Food Sci. Technol.* 2021. V. 1, № 8. Pp. 1392–1398.
13. Han J., Wang, B., Bender, M., Kushida, S., Seehafer, K., Bunz, U.H.F. Bunz, Poly(aryleneethynylene) Tongue Identifies Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Water: A Test Case for Combating Counterfeit Drugs // *ACS Appl. Mater. Interf.* 2017. V. 9. P. 790–797.
14. Han, J., Cheng, H., Wang, B., Braun, M.S., Fan, X., Bender, M., Huang, W., Domhan, C., Mier, W., Lindner, T., et al. A Polymer/Peptide Complex-Based Sensor Array That Discriminates Bacteria in Urine // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017. V. 56. P. 15246–15251.
15. Gopika G.S., Prasad P.M.H., Lekshmi A.G., Lekshmyprya S., Sreesaila S., Arunima C., Kumar M.S., Anil A., Sree Kumar A., Pillai Z.S. Chemistry of cyanine dyes-A review // *Materials Today: Proceedings*, V. 46, pt. 8, 2021. P. 3102–3108.
16. Poryvkina L., Tsvetkova N., Sobolev I. Evaluation of apple juice quality using spectral fluorescence signatures // *Food Chem.* 2014. V. 152. P. 573–577.
17. Włodarska K., Pawlak-Lemańska K., Khmelinskii, I., Sikorska E. Screening of Antioxidant Properties of the Apple Juice Using the Front-Face Synchronous Fluorescence and Chemometrics. // *Food Anal. Methods*. 2017. V. 10. P. 1582–1591.
18. Włodarska K., Khmelinskii I., Sikorska E. Authentication of apple juice categories based on multivariate analysis of the synchronous fluorescence spectra // *Food Control*. 2018. V. 86. P. 42–49.
19. Seiden P., Bro R., Poll L., Munck L. Exploring Fluorescence Spectra of Apple Juice and Their Connection to Quality Parameters by Chemometrics // *J. Agric. Food Chem.* 1996. V. 44. P. 3202–3205.
20. Bian H., Sheng L., Yao H., Ji R., Yu Y., Chen R., Wei D., Han Y. Application of fluorescence spectroscopy in classifying apple juice according to the variety // *Optik*. 2021. V. 231, P. 166361.
21. Zhu D., Ji B., Qing Z., Wang C., Zude-Sasse M. The detection of quality deterioration of apple juice by near infrared and fluorescence spectroscopy. In book: Li D., Liu Y., Chen Y. (eds.) *Computer and Computing Technologies in Agriculture IV*. 4th IFIP TC 12 Conference, CCTA. Springer, Heidelberg, 2010.
22. Coppola E.D., Starr M.S., Chang G.H., DeVries J., Durst R., ... Zurawski J.W. Liquid Chromatographic Determination of Major Organic Acids in Apple Juice and Cranberry Juice Cocktail: Collaborative Study // *J. AOAC Int.* 1986. V. 69, № 4. P. 594–597.

REFERENCES

1. Sádecká J., Tóthová J. Fluorescence spectroscopy and chemometrics in the food classification — A review. *Czech J. Food Sci.*, 2007, vol. 25, pp. 159–173. DOI: 10.17221/687-CJFS.
2. Karoui R., Blecker C. Fluorescence spectroscopy measurement for quality assessment of food systems — A review. *Food Bioproc. Technol.*, 2011, vol. 4, pp. 364–386. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0370-0>.
3. Levin A.D., Nagaev A.I., Sadagov A.Yu., Karakhotin S.N. [Qualitative analysis of wines based on the joint use of their optical spectra of different physical nature]. *Analika i Kontrol [Analytics and Control]*, 2018, vol. 22, no. 2, pp. 147–156. <http://dx.doi.org/10.15826/analitika.2018.22.2.001>.
4. Li Z., Suslick K. S. The Optoelectronic Nose. *Acc. Chem. Res.*, 2020, vol. 54, no 4, pp. 950–960. DOI: 10.1021 / acs.accounts.0c00671.
5. Gitlina A.Y., Surkova A., Ivonina M.V., Sizov V.V., Petrovskii S.K., Legin A., Starova G.L., Koshevoy I.O., Grachova E.V., Kirsanov D.O. Cyclometalated Ir (III) complexes as tuneable multiband light sources for optical multisensor systems: Feasibility study. *Dyes. Pigm.*, 2020, vol. 180, 108428. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108428>.
6. Han J., Bender M., Seehafer K., Bunz U.H.F. Identification of White Wines by using Two Oppositely Charged Poly (p-phenyleneethynylene) s Individually and in Complex. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, vol. 55, pp. 7689–7692. <https://doi.org/10.1002/anie.201602385>.
7. Han J., Ma C., Wang B., Bender M., Bojanowski M., Hergert M., Seehafer, K., Herrmann A., Bunz U.H.F. A Hypothesis-Free Sensor Array Discriminates Whiskies for Brand, Age, and Taste. *Chem.* 2017, vol. 2, pp. 817–824. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2017.04.008>.
8. Rukosueva E.A., Dobrolyubov E., Goryacheva I.Y., Beklemishev M.K. Discrimination of whiskies using an “add-a-fluorophore” fluorescent fingerprinting strategy. *Microchem. J.* 2019, vol. 145, pp. 397–405. DOI: 10.1016/j.microc.2018.11.002.
9. Yanchao Zhu, Jie Wang, Yusen Wu, Zhikun Shang, Yun Ding, Aiguo Hu. A fluorescent sensor array-based electronic tongue for Chinese tea discrimination. *J. Mater. Chem. C*, 2021, vol. 9, pp. 5676–5681. DOI: 10.1039 / d1tc00491c.
10. Han J., Wang B., Bender M., Seehafer K., Bunz U.H.F. Poly (p-phenyleneethynylene) -based tongues discriminate fruit juices. *Analyst*, 2017, vol. 142, pp. 537–543. <https://doi.org/10.1039/C6AN02387H>.
11. Rukosueva E.A., Belikova V.A., Krylov I.N., Orekhov V.S., Skorobogatov E.V., Garmash A.V., Beklemishev M.K. Evaluation of Discrimination Performance in Case for Multiple Non-Discriminated Samples: Classification of Honeys by Fluorescent Fingerprinting. *Sensors*, 2020, vol. 20, No 18, p. 5351. <https://doi.org/10.3390/s20185351>.
12. Xin Yu Zhao, Nan Du, Yuanfang Huang, Yishun Shen, Ying Tan, Chunyan Tan. Discrimination of Powdered Infant Formula According to Species, Country of Origin, and Brand Using a Fluorescent Sensor Array. *ACS Food Sci. Technol.*, 2021, vol. 1, no. 8, pp. 1392–1398. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00014>
13. Han J., Wang, B., Bender, M., Kushida, S., Seehafer, K., Bunz, U.H.F. Bunz, Poly(aryleneethynylene) Tongue Identifies Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Water: A Test Case for Combating Counterfeit Drugs. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2017, vol. 9, pp. 790–797. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b11690>.
14. Han J., Cheng, H., Wang B., Braun MS, Fan X., Bender M., Huang W., Domhan C., Mier W., Lindner T., Seehafer K., Wink M., Bunz U.H.F. A Polymer. Peptide Complex-Based Sensor Array That Discriminates Bacteria in Urine. *Angew.*

Chem. Int. Ed., 2017, vol. 56, pp. 15246-15251. <https://doi.org/10.1002/anie.201706101>

15. Gopika G.S., Prasad P.M.H., Lekshmi A.G., Lekshmypriya S., Sreesaila S., Arunima C., Kumar M.S., Anil A., Sreekumar A., Pillai Z.S. Chemistry of cyanine dyes-A review. *Materials Today: Proceedings*, 2021, vol. 46, pt. 8, pp. 3102-3108. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.622>

16. Poryvkina L., Tsvetkova N., Sobolev I. Evaluation of apple juice quality using spectral fluorescence signatures. *Food Chem.*, 2014, vol. 152, pp. 573-577. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.131.

17. Włodarska K., Pawlak-Lemańska K., Khmelinskii I., Sikorska E. Screening of Antioxidant Properties of the Apple Juice Using the Front-Face Synchronous Fluorescence and Chemometrics. *Food Anal. Methods*, 2017, vol. 10, pp. 1582-1591. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0711-3>.

18. Włodarska K., Khmelinskii I., Sikorska E. Authentication of apple juice categories based on multivariate analysis of the synchronous fluorescence spectra, *Food Control*, 2018, vol. 86, pp. 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.004>.

19. Seiden P., Bro R., Poll L., Munck L. Exploring Fluorescence Spectra of Apple Juice and Their Connection to Quality

Parameters by Chemometrics. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, vol. 44, pp. 3202-3205. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.004>.

20. Bian H., Sheng L., Yao H., Ji R., Yu Y., Chen R., Wei D., Han Y. Application of fluorescence spectroscopy in classifying apple juice according to the variety. *Optik*, 2021, vol. 231, pp. 166361. DOI: 10.1016/J.IJLEO.2021.166361.

21. Zhu D., Ji B., Qing Z., Wang C., Zude-Sasse M. The detection of quality deterioration of apple juice by near infrared and fluorescence spectroscopy. In book: Li D., Liu Y., Chen Y. (eds.) *Computer and Computing Technologies in Agriculture IV. 4th IFIP TC 12 Conference*, CCTA. Springer, Heidelberg, 2010. ISBN 978-3-642-18353-9. Pp. 84-91. DOI: 10.1007/978-3-642-18354-6_12.

22. Coppola E.D., Starr M.S., Chang G.H., DeVries J., Durst R., Chang G.H., DeVries J., Durst R., Elkins E., Frost B., Funk B., Hastings H.J., Lento H.G., Morawski S., Munsey J., Post S., Reese B.I., Rovella M.A., Schmoeger D.R., Schwartz H., Smith W., Thomas L.V., Thornburg W.H., Virkler W., Wrolstad R.E., Wu A., Zurawski J.W. Liquid Chromatographic Determination of Major Organic Acids in Apple Juice and Cranberry Juice Cocktail: Collaborative Study. *J. AOAC Int.*, 1986, vol. 69, no 4, pp. 594-597. DOI:10.1093/jaoac/69.4.594.