



KATIA LUMI FUKUSHIMA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES
NANOESTRUTURADOS PARA ANÁLISE DE
REALÇADORES DE SABOR EM ÁGUA**

**LAVRAS-MG
2017**

KATIA LUMI FUKUSHIMA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES NANOESTRUTURADOS PARA
ANÁLISE DE REALÇADORES DE SABOR EM ÁGUA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Ana Carla Marques Pinheiro
Orientadora
Prof. Dr. Juliano Elvis Oliveira
Coorientador
Prof. Dr. Daniel Sousa Corrêa
Coorientador

**LAVRAS–MG
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Fukushima, Katia Lumi.

Desenvolvimento de sensores nanoestruturados para análise de
realçadores de sabor em água / Katia Lumi Fukushima. - 2017.
66 p.

Orientador(a): Ana Carla Marques Pinheiro.

Coorientador(a): Juliano Elvis Oliveira, Daniel Souza Corrêa.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Sensores. 2. Língua eletrônica. 3. PCA. I. Pinheiro, Ana
Carla Marques. II. Oliveira, Juliano Elvis. III. Corrêa, Daniel
Souza. IV. Título.

KATIA LUMI FUKUSHIMA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSORES NANOESTRUTURADOS PARA
ANÁLISE DE REALÇADORES DE SABOR EM ÁGUA
DEVELOPMENT OF NANOSTRUCTURED SENSORS FOR THE
ANALYSIS OF WATER FLAVOR ENHANCERS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em Produtos e Nanoprodutos Alimentícios, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 05 de Setembro de 2017

Dr. Juliano Elvis Oliveira UFLA
Dr. Roney Alves da Rocha UFLA
Dr. Flávio Makoto Shimizu USP
Dra. Ana Carla Marques Pinheiro UFLA

Dra. Ana Carla Marques Pinheiro
Orientadora

**LAVRAS-MG
2017**

Aos meus pais,
dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar comigo sempre.

Aos meus pais e à minha tia por sempre estarem meu lado, me apoiando.

À Profa. Ana Carla pela orientação, amizade, carinho, paciência e por acreditar que eu era capaz de executar o projeto.

Ao Prof. Juliano pela coorientação neste projeto e por ter participado da banca avaliadora.

Ao programa de pós-graduação em Engenharia de Biomateriais, por ter me proporcionado a oportunidade de aprendizado intelectual e pessoal.

Ao Professor Daniel Souza Corrêa, por ter me supervisionado durante o desenvolvimento deste projeto na EMBRAPA.

Aos colegas do GIP, por me apoiarem durante o meu Mestrado.

Ao professor Dr. Roney, por ter participado da banca examinadora e, também, pela amizade.

Ao Dr. Flávio Makoto por ter participado banca examinadora.

Ao professor Júlio (DFI) pela amizade e por ter participado como membro suplente da banca avaliadora.

A todos os meus amigos do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais, os quais tive a oportunidade de conhecer; Ana Catarina, Kelvi, Lays, Luciana e Lenizy, obrigada por sempre estarem ao meu lado. Jamais me esquecerei dos momentos maravilhosos que passamos juntos e de todo aprendizado durante os momentos ruins.

Aos funcionários do departamento de Ciências dos Alimentos, em especial a Tina e a Creusa, por sempre me apoiarem durante todos esses anos.

Às minhas amigas, Nádia e Luciana, pela amizade e pelo apoio durante todo esse período.

Aos amigos, Marília e Luís Carlos, por terem me apoiado, principalmente no final do mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Análise Sensorial, em especial a Jéssica e Angélica, as minhas nutricionistas preferidas, por sempre estarem comigo todos os dias no laboratório e pelos cafés da tarde.

Aos colegas do Laboratório de Grãos e Cereais, Joelma, Raul, Giulia, Sara, Sabrina, Ana Alice, Lucas e Raí, por aguentarem o meu mau humor e por tornarem os meus dias mais alegres.

Aos colegas da EMBRAPA, Juliana, João, Adriana, Rafaela, Luiza, Vânia e Idelma, pelos bons momentos juntos; em especial ao Murilo e à Vanessa por me ajudarem nesse trabalho, bem como pela amizade.

Aos meus amigos, Juliana, Ana Cláudia e Bianca, por sempre me apoiarem, mesmo a distância, durante todos esses anos de amizade.

Às minhas companheiras de república, Josiane e Débora, por me aguentarem nos meus dias bons e ruins, e por terem me ensinado tanto. Jamais me esquecerei dos momentos que passamos juntas.

Às minhas primas, Karina e Emília, por sempre estarem ao meu lado.

A CAPES pelo apoio financeiro, a EMBRAPA instrumentação, por ter disponibilizado os laboratórios para que fosse possível a execução dos experimentos.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver, caracterizar e aplicar sensores nanoestruturados para análise de realçadores de sabor em solução aquosa. Para tanto, foram utilizados eletrodos interdigitados de ouro, fabricados sobre lâminas de vidro para a elaboração dos sensores. A modificação da superfície do eletrodo foi feita através de filmes manométricos, utilizando a técnica de automontagem (do inglês, *Layer-by-Layer*, LbL), por meio de diferentes arquiteturas, como a ftalocianin tetrassulfonada de cobre (CuTsPc), poli(anilina) (PANI) (em seu estado condutor), óxido de grafeno reduzido (RGO), poli(alilamina hidrocloreada) (PAH) e nanopartículas de prata (AgNP). A caracterização dos filmes nanoestruturados foi feita utilizando as técnicas de espectroscopia de absorção UV-Vis e a avaliação das propriedades elétricas; já a caracterização das soluções foi feita utilizando as técnicas: espectroscopia na região do infravermelho, utilizando a transformada de Fourier, microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) e potencial zeta. Para a aplicação na língua eletrônica, foi utilizado um sistema de aquisição de dados, o qual é formado por um arranjo de unidades sensoriais (sensores). Na superfície dos sensores, foram gotejadas as soluções com diferentes concentrações de realçadores de sabor (guanilato e inosinato) e de NaCl, medindo-se a impedância elétrica, a qual é convertida em resistência em 1kHz. Os dados foram analisados utilizando a Análise de Componentes Principais (PCA). É possível observar que os filmes foram formados, devido às interações intermoleculares, entre as substâncias, as quais foram confirmadas pelas análises de FTIR e Potencial Zeta. O conjunto de eletrodos apresentou-se eficiente na identificação dos realçadores de sabor e do cloreto de Sódio em diferentes, sendo possível ser utilizado como uma ferramenta para a análise em indústrias alimentícias.

Palavras-chave: Sensores, Língua eletrônica, PCA.

ABSTRACT

The objective of this work to develop, characterize and apply nanostructured sensors for the analysis of water flavor enhancers. For then, the gold interdigitated electrodes were made on glass substrate and were used for sensors elaboration. The modification of the electrode surface was done through films using the Layer by Layer technique. Different architectures with Copper Tetrasulfonate Phthalocyanine, PANI (in its conductive state), Reduced Graphene Oxide, PAH and silver nanoparticles were used. The characterization of the sensors was done using the techniques of characterization with UV-VIS Spectroscopy and the evaluation of the electrical properties. The characterization of the solutions was done using FTIR, Field Emission Scanning Electron Microscopy (FEG-SEM) and Zeta Potential. For the application in the electronic tongue, a data acquisition system was used which is formed by an array of sensorial units (sensors). The solutions with different concentrations of flavor enhancer (guanylate and inosinate) and NaCl, were placed on sensors measuring the Electrical Impedance, which is converted into resistance at 1 kHz. Data were analyzed using Principal Component Analysis (PCA). It is possible to observe that the films were formed, because of the interaction of negative and positive charges which were confirmed by the FTIR and Zeta Potential. The electrode array was efficient to the identification of flavor enhancers and sodium chloride in high and low concentrations, being possible to use as a tool for analysis in the food industry.

Keywords: Sensors, Electronic tongue, PCA.

LISTA DE FIGURAS

PARTE 1

Figura 1 - Escala Condutividade.....	19
Figura 2 - Imagem ilustrativa de um filme feito por Layer by Layer (LbL).....	24
Figura 3 - Imagem representativa do sistema de Língua Eletrônica.....	25
Figura 4 - Avaliação sensorial de sopas com diferentes dosagens de sal (com e sem glutamato)	28

PARTE 2

Figura 1 - Espectro UV-VIS dos filmes de 1 a 4 tetracamadas de (PAH/rGO/PANI/CuTsPc) (A); (PAH/rGO/PAH/CuTsPc) (C); (PANI/AgNPs/PANI/CuTsPc)(E) e (PAH/AgNPs/PAH/CuTsPc) (G). Respectivas curvas de crescimento dos filmes em (B); (D); (F) e (H).....	45
Figura 2- Espectro UV-VIS (PANI/CuTsPc) de 1 a 8 bicamadas (A); Curva de crescimento dos filmes do eletrodo (B); Espectro UV-VIS (PAH/CuTsPc) de 1 a 8 bicamadas (C) e Curva crescimento dos filmes (PAH/CuTsPc) (D).....	46
Figura 3 - Espectros de FTIR a) PANI b) óxido de grafeno reduzido c) CuTsPc d) PAH e) AgNPs.....	47
Figura 4- MEV- FEG das Nanopartículas de prata.....	50
Figura 5 - Gráfico da resistência dos eletrodos para cada realçador de sabor.....	52
Figura 6 - PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Glutamato monossódico.....	53
Figura 7 - Dendrograma do Glutamato monossódico em relação ao Cloreto de Sódio.....	54

Figura 8 - PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Inosinato Dissódico com o Guanilato Dissódico.....	55
Figura 9 - Dendrograma do Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico em relação ao Cloreto de Sódio.....	56
Figura 10 - PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Inosinato Dissódico.....	56
Figura 11 - Dendrograma do Inosinato dissódico em relação ao Cloreto de Sódio.....	57

LISTA DE TABELAS

PARTE 1

Tabela da quantidade de inosinato dissódico e guanilato dissódico nos alimentos.....27

PARTE 2

Tabela 1 - Concentrações de realçadores de sabor em água.....43

Tabela 2 - Potencial Zeta.....47

LISTA DE SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
AgNPs	Nanopartículas de Prata
AgNO ₃	Nitrato de prata
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CuTsPc	Ftalocianina Tetrassulfonada de Cobre
DMA	Dimetilacetamida
FTIR	Fourier- Transform Infrared Spectroscopy
HCl	Ácido clorídrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
KMnO ₄	Permanganato de potássio
LbL	<i>Layer by Layer</i>
NaCl	Cloreto de sódio
NaBH ₄	Borohidreto de sódio
PAH	Poli(alilamina Hidroclorada)
PANI	Poli(anilina)
PCA	Principal Component Analysis
RGO	Óxido de Grafeno Reduzido
UV-Vis	Espectroscopia na Região da luz UV-Visível

SUMÁRIO

PARTE 1.....	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 Polímeros condutores	18
3.2 Aplicação dos sensores na área de Engenharia de Alimentos	20
3.3 Automontagem ou Layer By Layer	23
3.4 Língua Eletrônica	24
3.5 Gosto Umami	26
3.6 Inosinato Dissódico, Guanilato Dissódico e Glutamato Monossódico	27
REFERÊNCIAS	30
PARTE 2.....	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAIS E MÉTODOS	39
2.1 Reagentes.....	39
2.2 Eletrodos interdigitados.....	39
2.3 Soluções e Preparo dos Filmes.....	40
2.4 Caracterização das Soluções.....	41
2.5 Caracterização dos Filmes nanoestruturados dos eletrodos.....	42
2.6 Aplicação dos realçadores de sabor e do cloreto de sódio na Língua Eletrônica	42
3 ANÁLISE DE DADOS	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Caracterização dos filmes e das soluções.....	44

4.2	Medidas na Língua Eletrônica	52
5	CONCLUSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS	59

PARTE 1

1 INTRODUÇÃO

A população mundial vem buscando, cada vez mais, produtos saudáveis e com teores reduzidos de sódio. Essa busca deve-se aos danos provocados na saúde humana pelo consumo em excesso do cloreto de sódio, a dizer, doenças crônicas, como a hipertensão e os problemas cardiovasculares que são os mais comuns devido ao excesso de sódio (MANCIA et al 2017). Nesse sentido, a redução da concentração do sódio vem sendo um grande desafio para a indústria de alimentos, visto que o cloreto de sódio influencia diretamente nas propriedades sensoriais dos alimentos, como: sabor, cor, textura, e conservação (ALBARRACIN *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2015; SILVA; MORAIS; SILVESTRE, 2003; KREMER; MOJET; SHIMOJO, 2009).

A utilização de substitutos do cloreto de sódio vem sendo estudada como uma estratégia para a redução da concentração, entre elas, a substituição parcial ou total do cloreto de sódio por cloreto de potássio, ou fosfato de potássio. Outra estratégia que vem sendo estudada é a utilização de realçadores de sabor (RODRIGUES et al., 2016, FREIRE et al., 2015). No entanto, a utilização de substitutos de sódio pode promover um gosto residual nos alimentos, afetando diretamente a qualidade sensorial do produto (CRUZ et al., 2011; GOU et al., 1996; RUUSUNEN; PUOLANNE, 2005; SILVA et al., 2013; SOUZA et al., 2013; FREIRE et al., 2015).

Os realçadores de sabor, quando adicionados nos alimentos, promovem o gosto Umami, conseqüentemente melhorando o gosto dos produtos. O primeiro realçador de sabor descoberto foi o glutamato monossódico, no início do século 20, presente em algas; posteriormente, outros realçadores (guanilato dissódico e inosinato dissódico) foram descobertos em cogumelos e peixes (SANO, 2009). A identificação do gosto umami é um grande desafio para a

indústria alimentícia, visto que é difícil de ser identificado. Existem vários fatores que interferem no resultado da análise sensorial, tais como: fatores fisiológicos, psicológicos e físicos (MEILGAARD; CARR; CIVILLE, 2006).

O desenvolvimento de sensores específicos para avaliação de produtos que contém realçadores de sabor pode ser promissor na avaliação da qualidade sensorial de produtos industrializados, análise sensorial tradicional. Tendo em vista esses problemas, a língua eletrônica vem sendo cada vez mais estudada e, além disso, é considerada como um importante instrumento para o controle de qualidade de bebidas em indústrias, pois discrimina os compostos de gostos básicos em níveis muito mais abaixo do limite de detecção da capacidade humana (CARVALHO et al., 2006; COSTELL et al., 2002; DEISINGH et al., 2004; MATTOSO et al., 2002; PATERNO et al., 2001; SILVA et al., 2012; TOKO, 1998). A língua eletrônica apresenta uma maior eficiência em relação à análise sensorial comum, visto que a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) exige muito do aplicador e do painel sensorial (SILVA et al., 2012), e a HPLC (SCAGION et al., 2016) é uma análise demorada e de alto custo.

A língua eletrônica vem sendo aplicada na avaliação sensorial de várias bebidas, entre elas, o café (BURATTI et al., 2015), o vinho (YU et al., 2017), chá (ZHI et al., 2017) etc.

Materiais, como os polímeros condutores (expor exemplo, polipirrol)(Paterno, 2001), vêm sendo cada vez mais estudados para o desenvolvimento de sensores para a Língua Eletrônica. A polianilina, por exemplo, é um dos polímeros mais utilizados para o desenvolvimento de sensores (MATTOSO, 1996).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver sensores nanoestruturados por meio da técnica Layer by Layer para língua eletrônica, capaz de classificar realçadores de sabor (glutamato monossódico, inosinato dissódico, guanilato dissódico) e o cloreto de sódio.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Objetiva-se com esse trabalho o desenvolvimento, a caracterização e a aplicação de sensores nanoestruturados para análise de realçadores de sabor em água.

2.2 Objetivos específicos

1. Elaborar sensores com diferentes arquiteturas, utilizando ftalocianina tetrassulfonada de cobre (CuTsPc), poli(anilina) (PANI) (em seu estado condutor), óxido de grafeno reduzido (RGO), poli(alilamina hidrocloreada) (PAH) e nanopartículas de prata (AgNPs).
2. Caracterizar as substâncias utilizadas, usando as técnicas de caracterização: Potencial Zeta, MEV-FEG e Espectroscopia na região do infravermelho utilizando a transformada de Fourier. Caracterizar os sensores, fazendo uso das técnicas de caracterização: Espectroscopia na região UV-visível e Propriedades elétricas.
3. Avaliar os diferentes realçadores de sabor (guanilato dissódico, glutamato monossódico, inosinato dissódico) e de cloreto de sódio em diferentes concentrações, utilizando a Língua Eletrônica.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

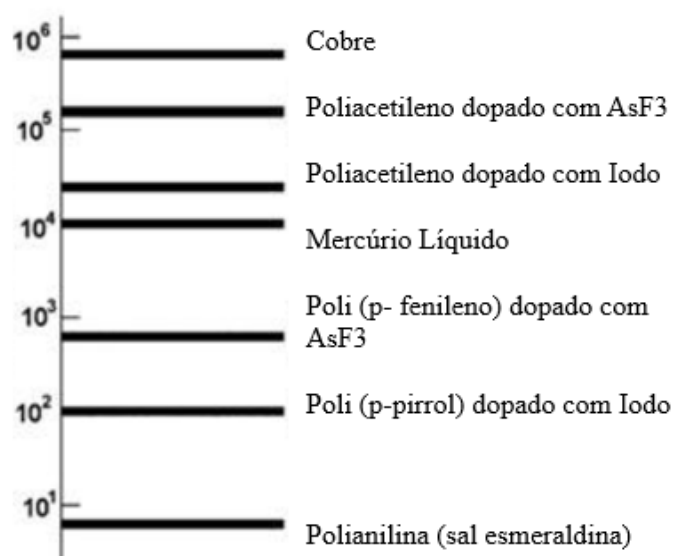
3.1 Polímeros condutores

Até o início dos anos 70, os materiais orgânicos (entre eles os polímeros) eram considerados apenas como isolantes ou semicondutores. No entanto, em 1975, o físico Dr. Alan J. Heeger e o químico Dr. Allan MacDiarmid estudaram o polímero poli (nitreto de enxofre), por possuir comportamento elétrico em temperatura ambiente como supercondutor a baixas temperaturas. Posteriormente, o professor MacDiarmid visitou a Universidade de Tsukuda (Japão), no laboratório do Dr. Shirakawa, o qual também pesquisava sobre polímeros condutores. Após essas visitas entre Japão e Estados Unidos, os pesquisadores decidiram unir as suas pesquisas para os polímeros condutores. Juntos ganharam o Prêmio Nobel de Química em 2000 (CHIANG et al., 2016; CORREA et al., 2014; MACDIARMID, 2001; MATTOSO, 1996). Os polímeros condutores vêm sendo cada vez mais estudados. Esse aumento deve-se ao rápido crescimento da tecnologia e conseqüentemente à necessidade de materiais condutores de eletricidade para a fabricação de baterias recarregáveis, sensores eletroquímicos, biossensores, dispositivos eletrônicos, recobrimento de materiais (MATTOSO, 1996).

Os polímeros condutores possuem as propriedades parecidas com os polímeros comuns, porém, com um comportamento elétrico, óptico e magnético semelhante ao dos metais e semicondutores orgânicos/inorgânicos. São conhecidos como metais sintéticos por possuírem tais características semelhantes. Quando adicionados a agentes dopantes, os polímeros podem se tornar condutores elétricos intrínsecos (FAEZ; REZENDE, 2000; MATTOSO, 1996).

A Figura 1 apresenta uma escala, comparando a condutividade elétrica entre alguns polímeros condutores, o cobre e o mercúrio líquido. Podemos observar a variação de condutividade elétrica de acordo com a variação do dopante, bem como em relação aos outros dois metais.

Figura 1 - Escala Condutividade.



Fonte: Bhadra et al. (2009) adaptada.

A estrutura sal esmeraldina é a mais estudada atualmente por estar no estado condutor. Apresenta-se no estado parcialmente reduzido, devido à ação dos ácidos durante o processo de dopagem (STEJSKAL; GILBERT, 2002; MATTOSO, 1996; MEDEIROS et al., 2012).

Para que a polianilina conduza eletricidade, são necessárias substâncias dopantes. MacDiarmid (2001) define a substância dopante como “uma substância, em que uma quantidade relativamente pequena da mesma altera drasticamente as propriedades elétricas, óticas, magnéticas e/ou estruturais do

polímero, acompanhadas por um grande aumento na condutividade (elétrica)”. Segundo Paula (2005), “A inserção de prótons na polianilina torna o polímero condutor devido à formação de um polícatión estável, o sal de esmeraldina, que contém a banda polarônica semi-preenchida” (PAULA, 2005).

Além dos polímeros condutores, outros materiais também estão sendo utilizados na elaboração de sensores, tais como o óxido de grafeno reduzido, nanopartículas de prata, PAH, e complexos, como as ftalocianinas (LAKADE; SUNDAR; SHETTY, 2017; LEE et al., 2015; LI et al., 2011; CUI et al., 2013).

As principais técnicas utilizadas no processamento na elaboração de filmes são: fiação por solução (*solution spinning*), Lagmuir-Blodgett (LB). Entretanto, a técnica *Layer by Layer* (automontagem) é a mais utilizada (CORREA et al., 2014).

3.2 Aplicação dos sensores na área de Engenharia de Alimentos

O desenvolvimento de dispositivos que facilitam as análises de qualidade, bem como para o controle de processos industriais, vem sendo cada vez mais estudados. Nanoestruturas podem ser incorporadas em embalagens para alimentos, bem como outros dispositivos capazes de identificar substâncias e evitar problemas durante o processo produtivo (WANG; DUNCAN, 2017).

Os sensores eletroquímicos medem a mudança de corrente, o potencial elétrico, condutância ou impedância na interface do eletrodo em contato com a amostra, devido à sua sensibilidade, simplicidade, velocidade e compatibilidade, as quais são inerentes com dispositivos de medição portáteis. Possuem a capacidade de identificar e quantificar substâncias químicas nos alimentos (WANG; DUNCAN, 2017).

Além desses sensores, existem os que são classificados de acordo com a sua especificidade, sendo específicos e semi-específicos (seletividade global). A

ideia da seletividade global consiste em unidades que geram respostas individuais diferentes, e o conjunto dessas respostas fornecem a impressão digital do analito. São sensores denominados de língua e nariz eletrônicos. Estes sensores são utilizados para a análise de substâncias líquidas e gasosas de alimentos, respectivamente. Possuem a capacidade de simular os sistemas gustativos e olfativos, devido à sua similaridade com os estágios de detecção, reconhecimento e transdução de sinais (MEDEIROS et al., 2012).

Scagion e colaboradores (2016) elaboraram um arranjo de sensores com a superfície dos eletrodos interdigitados, modificados com poliamida e nanofibras de polianilina. O arranjo de sensores conectados à Língua Eletrônica foi elaborado com o objetivo de detectar Tetraciclina no leite. A tetraciclina é um antibiótico muito utilizado na medicina veterinária, pois é um dos antibióticos mais eficazes contra infecções. No entanto, esse antibiótico pode causar riscos à saúde humana. A partir das análises realizadas no leite desnatado e integral, os autores concluíram que a língua eletrônica é capaz de detectar baixas quantidades de tetraciclina (as quais as concentrações utilizadas foram de 1, 5,25, 50, 100, 200 e 300 ppb), inclusive abaixo dos níveis máximos exigidos pela ANVISA.

Rudnitskaya e colaboradores (2017) fizeram um trabalho cujo objetivo era avaliar a maceração do vinho artificial e tinto com diferentes concentrações de chips de carvalho, utilizando a Língua Eletrônica como uma ferramenta de análise. A partir das análises realizadas, o grupo concluiu que a língua eletrônica potenciométrica pode ser utilizada na detecção de componentes presentes no envelhecimento do vinho (RUDNITSKAYA, 2017).

Newman e colaboradores (2014) estudaram a utilização da língua eletrônica para avaliar o gosto amargo de cafeína e de caseína provenientes de hidrolisados de soro de leite. Esses hidrolisados estão sendo estudados como fonte proteica para o enriquecimento nutricional de alimentos. As análises foram

realizadas utilizando provadores treinados para a comparação com a língua eletrônica. A partir dos dados obtidos, os pesquisadores concluíram que houve forte correlação mostrada entre os dois métodos na análise da cafeína. O estudo apresentou que a língua eletrônica pode ser usada no rastreamento da amargura para reduzir os custos além de reduzir a necessidade de provadores.

Estudos feitos por Marx e colaboradores (2017) avaliaram a intensidade dos atributos sensoriais das azeitonas. O trabalho foi feito com provadores treinados de acordo com as recomendações do Conselho Internacional Oleícola, e os resultados foram comparados com os dados obtidos pela língua eletrônica. A avaliação sensorial foi feita utilizando a língua eletrônica acoplada a ferramentas estatísticas multivariadas, as quais avaliaram a intensidade dos gostos ácidos, amargo e salgado perceptíveis em azeitonas. Os resultados mostraram que a língua eletrônica, juntamente com análise sensorial discriminativa, pode ser usada como um sensor para a identificação de gostos, permitindo a classificação de soluções padrão aquosas de acordo com os três gostos básicos avaliados durante a análise, com base nos sinais eletroquímicos dos 5 sensores. Os resultados obtidos foram satisfatórios e mostraram que a língua eletrônica tem a capacidade de avaliar as intensidades dos atributos gustativos das azeitonas de mesa, anteriormente feitos apenas pela análise sensorial tradicional.

Yang e colaboradores (2013) avaliaram realçadores de sabor (glutamato monossódico, inosinato dissódico e guanilato), utilizando a língua eletrônica com sensores comerciais. O objetivo era comparar os realçadores de sabor com os gostos comuns - salgado, ácido, amargo, doce e umami - e investigar o potencial uso de língua eletrônica para comparar diferentes realçadores de sabor. Os dados obtidos foram analisados por análise de componentes principais (PCA). A equipe de pesquisadores concluiu que os resultados indicaram que a língua eletrônica foi eficiente para avaliar o gosto umami e discriminar

diferentes realçadores. Segundo os resultados obtidos no trabalho, Tal utilização pode ser um método eficiente para complementar os painéis sensoriais na avaliação de um realçador de sabor.

3.3 Automontagem ou Layer By Layer

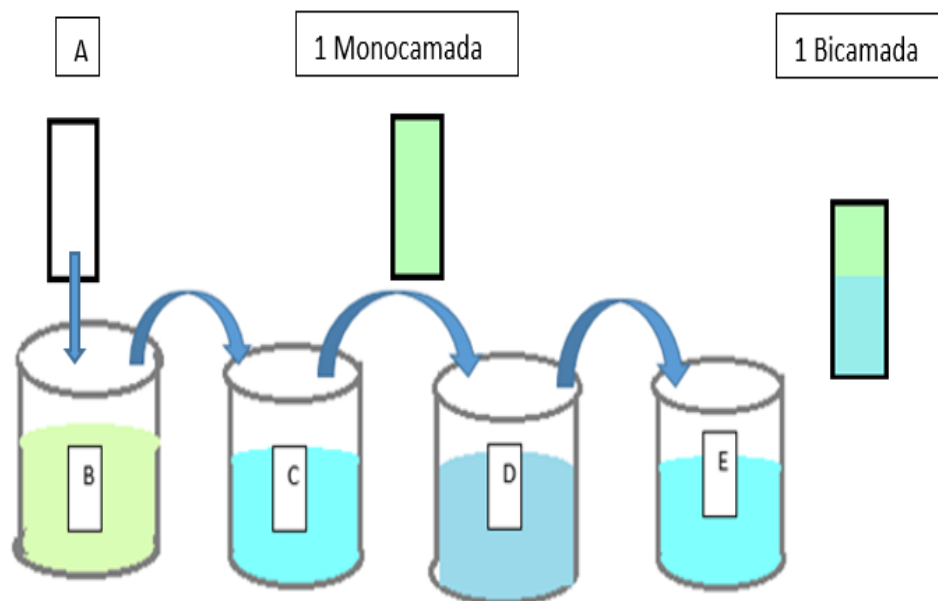
Segundo Iler (1966) apud Correa et al., (2014), a técnica da automontagem, também conhecida como *Layer by Layer*, foi desenvolvida por Iler em 1966, o qual estudou a adsorção de partículas coloidais, como a sílica e a alumina na superfície do vidro. No entanto, essa técnica foi atualizada em 1980 por Sagiv e posteriormente aplicada aos polieletrólitos. (CORRÊA, 2014; DECHER; HONG, 1991; SAGIV, 1980).

A técnica da automontagem é um processo no qual é possível ter o conhecimento em nível molecular de mecanismos de adsorção e estabilidade de filmes ultrafinos. O processo é feito a partir de interações eletrostáticas entre policátions e poliânions, os quais são responsáveis pela formação de pares iônicos, resultando na formação de um filme (PATERNO; MATTOSO; OLIVEIRA, 2001).

A figura 2 representa o modelo esquemático do processo da técnica *LbL*. O item A representa o substrato o qual é imerso em uma solução catiônica (B), em uma solução de lavagem (C) formando a primeira monocamada (D). Logo em seguida, o substrato é imerso em uma solução aniônica (E) e na segunda solução de lavagem (F) formando assim, a primeira Bicamada (G). a repetição desse processo leva à formação de multicamadas.

Algumas vantagens da utilização do *LbL* é a capacidade de formar filmes finos com estrutura organizada e espessuras controladas em diversos substratos, além de não possuir a necessidade de um equipamento específico, sendo assim, uma técnica de baixo custo (RAOUFI et al., 2014).

Figura 2 - Imagem ilustrativa de um filme feito por *Layer by Layer* (LbL).



Legenda: a) Substrato b) Solução Policatiônica c) Solução de lavagem d) Solução Aniônica e) Solução de lavagem f) 1 Bicamada Formada.

Fonte: Do autor (2017).

3.4 Língua Eletrônica

O estudo de língua eletrônica vem crescendo cada vez mais nas áreas de tecnologia em alimentos, no controle de qualidade de matérias primas, produtos acabados semiacabados e durante processos industriais, devido a sua rapidez e simplicidade (ALVES, 2010).

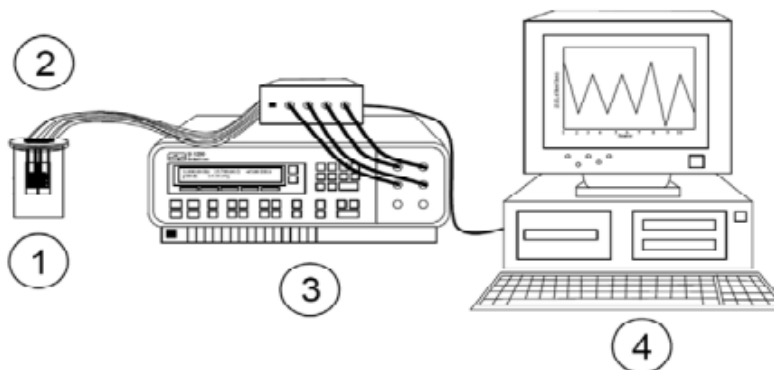
A ideia da seletividade global consiste em unidades que geram respostas individuais diferentes, e o conjunto dessas respostas fornecem a impressão digital do analito. São sensores denominados de língua e nariz eletrônicos. Estes

são utilizados para a análise de substâncias líquidas e gasosas de alimentos. Possuem a capacidade de simular os sistemas gustativos e olfativos devido à sua similaridade com os estágios de detecção, reconhecimento e transdução de sinais (MEDEIROS et al., 2012). A língua eletrônica consiste em um dispositivo inspirado no sistema sensorial humano, fornecendo a impressão digital do analito (CORREA et al., 2014).

O desenvolvimento da língua eletrônica consiste em um conceito diferenciado dos sensores elétricos convencionais, que são baseados na seletividade específica, ou seja, um sensor identifica uma substância química. A relação entre as substâncias químicas e o gosto não é clara. Assim, não seria viável elaborar sensores químicos devido ao número de substâncias químicas nos alimentos, visto que para cada produto estão presentes cerca de 1000 moléculas (TOKO, 1998).

A língua eletrônica é composta por: um porta amostra, arranjo de sensores, sistema de controle e sistema eletrônico de dados, e um programa de reconhecimento de padrões (figura 3).

Figura 3 - Imagem representativa do sistema de língua eletrônica.



Legenda: 1- Porta amostra, 2- arranjo de sensores, 3- amplificador e gerador de sinal, 4 - computador com software de aquisição de dados.

Fonte: Alves (2010).

3.5 Gosto Umami

A busca por alimentos mais saudáveis está em expansão devido ao aumento da obesidade, doenças cardiovasculares entre outras (CAPRILES; ARÊAS, 2005). O cloreto de sódio é usualmente utilizado como o principal aditivo alimentar no processamento de alimentos. Além de ter um papel de grande importância no sabor dos alimentos, possui as funções de conservar e manter as características sensoriais dos produtos. Entretanto, o NaCl vem sendo associado ao aumento da hipertensão, ao desenvolvimento de osteoporose, doenças cardiovasculares e à incidência de pedras nos rins, devido ao alto teor de sódio (RODRIGUES et al., 2014; WHO, 2007).

O sal, além de melhorar o sabor, atua como conservador e também influencia no aroma e sabor de outros ingredientes, reduzindo a doçura e o amargor. Além de melhorar a textura dos alimentos e a densidade, consequentemente proporcionando um produto de melhor qualidade sensorial (HENNEY; TAYLOR; BOON, 2010).

Os efeitos sensoriais causados pela redução da concentração do cloreto de sódio e pela adição do cloreto de potássio podem ser amenizados com a utilização de alguns realçadores de sabor, tais como os 5'-ribonucleotídeos (CAMPAGNOL et al., 2011; SANTOS et al., 2014).

Estudos feitos por Santos e colaboradores (2014) tinham o objetivo de avaliar os impactos tecnológicos e sensoriais após a redução de 50 e 75 % de cloreto de sódio na salsicha. Para que fosse possível essa redução, foram adicionados cloreto de potássio e realçadores de sabor (inosinato dissódico, glutamato monossódico, guanilato dissódico, lisina e taurina). Foram realizadas as análises: pH, atividade de água, perfil sensorial, cor e textura. As salsichas reformuladas contendo glutamato monossódico combinado com lisina, taurina, inosinato dissódico e guanilato dissódico mascararam os atributos sensoriais

indesejáveis associados à substituição de 50% e 75% de NaCl por KCl, permitindo a produção de salsichas cozidas fermentadas com boa aceitação sensorial e aproximadamente 68% de redução de sódio.

3.6 Inosinato Dissódico, Guanilato Dissódico e Glutamato Monossódico

O inosinato dissódico é um aditivo alimentar encontrado em alimentos de origem animal, incluindo sardinhas secas, atum, carnes suína, bovina e de frango, em concentrações que variam de 100-300 mg/100 g. O peixe fresco, em sua maioria possui pouco inosinato livre e não apresenta gosto umami quando fresco, porém, após o *rigor mortis*, ocorre aumento da concentração de inosinato, intensificando o gosto umami característico (YAMAGUCHI; NINOMIYA, 2000).

O guanilato dissódico, está presente apenas nos alimentos de origem vegetal e alguns cogumelos, porém as concentrações variam entre 10 e 150 mg / 100 g (YAMAGUCHI, 1967).

Tabela 1 - Tabela da quantidade de inosinato dissódico e guanilato dissódico nos alimentos.

Alimentos que contém Ribonucleotídeos		
Alimento	Guanilato (mg/100 g)	Inosinato (mg/100 g)
Carne bovina	4	70
Carne suína	2	200
Frango	5	201
Cogumelo shiitake seco	150	-

Fonte: Yamaguchi E Ninomiya (2000).

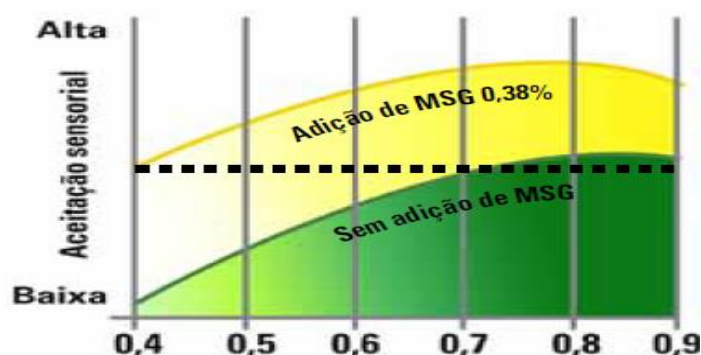
A Tabela 1 apresenta as quantidades de guanilato dissódico e inosinato dissódico em alguns alimentos. É possível observar a diferença de quantidade de inosinato e guanilato em cada alimento.

O ácido glutâmico é o glutamato na sua forma ionizada. É um aminoácido não essencial encontrado naturalmente em alimentos e em organismos vivos. Este aminoácido está presente nos alimentos nas formas ligada (componente das proteínas) e livre (SANO, 2009).

O glutamato, assim como o inosinato e o guanilato, é um aditivo alimentar, o qual é detectado por receptores gustativos e proporciona o quinto gosto básico Umami, que em japonês significa “delicioso” (SANO, 2009).

É um realçador de sabor muito utilizado comercialmente e também vem sendo utilizado pelas indústrias de alimentos para o desenvolvimento de produtos com a redução da concentração de sódio. O sabor intenso do glutamato monossódico permite reduzir sódio, pois possui apenas uma molécula de sódio em sua estrutura, cerca de 70% menos sódio do que o cloreto de sódio sem comprometer muito o perfil sensorial dos alimentos (AJINOMOTO, 2000).

Figura 4 - Avaliação sensorial de sopas com diferentes dosagens de sal (com e sem glutamato).



Fonte: Ajinomoto (2000).

Luscombe-Marsh, Smeets e Westerterp-Plantenga (2016) fizeram um trabalho, no qual o objetivo era determinar o limiar de percepção do gosto individual para glutamato monossódico (MSG) e em combinação com inosina monofosfato (IMP-5). Os limiares variaram de zero a infinito, os quais são apresentados pela figura 5, usando uma sopa clara com MSG adicionado nas concentrações de 0,1 a 0,8% (p/p) de MSG. Os provadores avaliaram catorze atributos sensoriais da sopa e também seu "gosto", "Frequência de consumo e preferência de vinte e dois alimentos comuns ricos em proteínas, em carboidratos e em gorduras". O limiar de percepção do MSG foi reduzido de 0,33% para 0,26 % MSG quando se adicionou 0,25% (p / p) de IMP-5. No entanto, o sabor "*meatiness*" foi associado aos dados limiar para os indivíduos que percebiam o gosto concentrações de 0,4% de MSG.

REFERÊNCIAS

AJINOMOTO. Glutamato monossódico conceitos, aplicação na indústria, segurança alimentar e benefícios. **Aditivos & Ingredientes**, p. 25–28, 2000.

ALBARRACÍN, W. et al. Salt in food processing; usage and reduction: A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 7, p. 1329–1336, 2011.

ALVES, W. F. **Preparação e caracterização mecânica, térmica e elétrica de misturas de poliuretano derivado do óleo de mamona e poli (o-metoxianilina) para avaliação na aplicação como sensores para língua eletrônica**. 2010. 122 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

BAI, H. S. G. Gas sensors based on conducting polymers. **Sensors**, v. 7, p. 267–307, 2007.

BHADRA, S. et al. Progress in preparation, processing and applications of polyaniline. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 783–810, 2009.

BURATTI, S. et al. Discrimination between washed Arabica, natural Arabica and Robusta coffee by using near infrared spectroscopy, electronic nose and electronic tongue analysis. **Journal of the Science Food and Agriculture**. v. 95, p.2192–2200, 2015.

CAMPAGNOL, P. C. B. *et al.* Application of lysine, taurine, disodium inosinate and disodium guanylate in fermented cooked sausages with 50% replacement of NaCl by KCl. **Meat Science**, v. 87, n. 3, p. 239–243, 2011.

CAPRILES, V. D.; ARÊAS, J. A. G. Desenvolvimento de salgadinhos com teores reduzidos de gordura saturada e de ácidos graxos trans. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 363–369, 2005.

CARVALHO, E. R. et al. Sensorial system to detect chloroform in water. **Sensors Letters**, v. 4, p. 129, 2006.

CHIANG, C. K. et al. Polyacetylene, (CH)_x: n-type and p-type doping and compensation. **Applied Physics Letters**, v. 33, n. 1, p. 18-20, 1978.

CORREA, D. S. et al. Nanostructured Conjugated Polymers in Chemical Sensors: Synthesis, Properties and Applications. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 9, p. 6509–6527, 2014.

COSTELL, E. A comparison of sensory methods in quality control. **Food Quality and Preference**, v. 35, n. 35, p. 341–353, 2002.

CRUZ, A. G. et al. Cheeses with reduced sodium content: Effects on functionality, public health benefits and sensory properties. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 6, p. 276–291, 2011.

CUI, L. et al. Layer-by-layer construction of graphene/cobalt phthalocyanine composite film on activated GCE for application as a nitrite sensor. **Electrochimica Acta** v. 88, p. 559–564, 2013.

DECHER, G.; HONG, J. D. Buildup of Ultrathin Multilayer Films by a Self-Assembly Process .1. Consecutive Adsorption of Anionic and Cationic Bipolar Amphiphiles on Charged Surfaces. **Makromolekulare Chemie-Macromolecular Symposia**, v. 46, p. 321–327, 1991.

DEISINGH, A. K.; STONE, D. C.; THOMPSON, M. Applications of electronic noses and tongues in food analysis. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 39, p. 587–604, 2004.

FAEZ, R.; REZENDE, M. C. Polímeros condutores intrínsecos e seu potencial em blindagem de radiações eletromagnéticas. **Polímeros**, v. 10, n. 3, p. 130–137, 2000.

FEAST, W. J.; TSIBOUKLIS, J.; POWWER, K.L.. Properties of conjugated polymers. **Polymer**, v. 37, p. 5017, 1996.

FREIRE, T. V. M. et al. Salting Potency and Time-Intensity Profile of Microparticulated Sodium Chloride in Shoestring Potatoes. **Journal of Sensory Studies**, v. 30, n. 1, p. 1–9, 2015.

GERARD, M.; CHAUBEY, A. M. B. Application of conducting polymers to biosensors. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 17, p. 345–59, 2002.

GOU, P. et al. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. **Meat Science**, v. 42, n. 1, p. 37–48, 1996.

BOON C. S.; TAYLOR C. L.; HENNEY J. E . **Strategies to Reduce Sodium Intake in the United States**. Washington (DC): National Academies Press, 2010.

KREMER, S.; MOJET, J.; SHIMOJO, R. Salt reduction in foods using naturally brewed soy sauce. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 6, 2009.

LEE, T. et al. **Layer-by-Layer Assembly for Graphene based Multilayer Nanocomposites: Synthesis and Applications**. 2015.

LAKADE, A. J.; SUNDAR, K.; SHETTY, P. H. Nanomaterial-based sensor for the detection of milk spoilage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 702–709, 2017.

LI, H. et al. Layer-by-Layer Assembly and UV Photoreduction of Graphene–Polyoxometalate Composite Films for Electronics. **Journal of American Chemical Society** v 133, p 9423-9429, 2011.

LUSCOMBE-MARSH, N. D.; SMEETS, A. J. P. G.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. **Taste sensitivity for monosodium glutamate and an increased liking of dietary protein**. *British Journal of Nutrition*, v. 99, n. 2008, p. 904–908, 2016.

MACDIARMID, A. G. "Synthetic metals": A novel role for organic polymers (Nobel lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 14, p. 2581–2590, 2001.

MANCIA, G. et al. The technical report on sodium intake and cardiovascular disease in low- and middle-income countries by the joint working group of the World Heart Federation, the European Society of Hypertension and the European Public Health Association. **European of Healf Journal**, v.38, p. 712-719, Jan 2017.

MARX, I. M. G. et al. Quantification of table olives' acid, bitter and salty tastes using potentiometric electronic tongue fingerprints. **Food Science and Technology**, v. 79, p. 394–401, 2017.

MATTOSO, L. H. C. et al. An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline. **Synthetic Metals**, v. 132, p. 109–116, 2002.

MATTOSO, L. H. C. Polianilinas: síntese, estrutura e propriedades. **Química Nova**, v. 19, n. 4, p. 388-399, 1996.

MEDEIROS, E. S. *et al.* Uso de Polímeros Condutores em Sensores. Parte 1: Introdução aos Polímeros Condutores. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, p. 62–77, 2012.

MEILGAARD, M. C.; CARR B. T.; CIVILLE, G. V. **Sensory Evaluation Techniques**. 4.ed. New York: CRC Press, p. 464, 2006.

NEWMAN, J. *et al.* **Comparison of a trained sensory panel and an electronic tongue in the assessment of bitter dairy protein hydrolysates**. **Journal of Food Engineering**, v. 128, p. 127–131, 2014.

PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA, O. N. **Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: Preparação, propriedades e aplicações**. *Química Nova*, v. 24, n. 2, p. 228–235, 2001.

PAULA, G. F. **Desenvolvimento de filmes nano estruturados de polímeros condutores aplicados a sensores gustativos para avaliação de cafés**. 2005. 99 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

PEREIRA, H. C. *et al.* Optimization of Low Sodium Salts Mix for Shoestring Potatoes. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 6, p. 1399–1403, 2015.

RAOUFI, N. *et al.* Chemical Optical sensor for pH monitoring using a layer-by-layer deposition technique emphasizing enhanced stability and re-usability. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 195, p. 692–701, 2014.

RICHARDS, E.; BESSANT, C. S. S. Multivariate data analysis in electroanalytical chemistry. **Electroanalysis**, v. 14, p. 1533–1542, 2002.

RODRIGUES, D. M. *et al.* Microparticulated salts mix: An alternative to reducing sodium in shoestring potatoes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 390–399, 2016.

RODRIGUES, J. F. *et al.* Utilization of temporal dominance of sensations and time intensity methodology for development of low-sodium Mozzarella cheese using a mixture of salts. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 8, p. 4733–44, Jan. 2014.

RUDNITSKAYA, A. *et al.* Measurements of the effects of wine maceration with oak chips using an electronic tongue. **Food Chemistry**, v. 229, p. 20–27, 2017.

RUUSUNEN, M.; PUOLANNE, E. Reducing sodium intake from meat products. **Meat Science**, v. 70, p. 531–541, 2005.

SAGIV, J. Organized monolayers by adsorption. 1. Formation and structure of oleophobic mixed monolayers on solid surfaces. **Journal of the American Chemical Society**, v. 102, n. 1, p. 92–98, Jan. 1980.

SANO, C. History of glutamate production. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 90, n. 3, p. 728–732, 2009.

SANTOS B. A. dos et al. Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 509–513, 2014.

SCAGION, V. P. et al. An electronic tongue based on conducting electrospun nano fibers for detecting tetracycline in milk samples. **RSC Advances**, v. 6, p. 103740–103746, 2016.

SILVA, J. et al. Study on the flavour of soybean cultivars by sensory analysis and electronic tongue. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 1630-1638, 2012.

SILVA, J. G.; MORAIS, H. A.; SILVESTRE, M. P. C. Comparative study of the functional properties of bovine globin isolates and sodium caseinate. **Food Research International**, v. 36, p. 73-80, 2003.

SILVA, T. L. T. et al. Equivalence salting and temporal dominance of sensations analysis for different sodium chloride substitutes in cream cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 67, n. 1, p. 31–38, 2014.

SOUZA, V. R. et al. Salt equivalence and temporal dominance of sensations of different sodium chloride substitutes in butter. **The Journal of dairy research**, v. 80, n. 3, p. 319–25, 2013.

STEJSKAL, J.; GILBERT, R. G. Polyaniline. Preparation of a conducting polymer. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 857-867, 2002.

TOKO, K. A taste sensor. **Measurement Science and Technology**, v. 9, n. 12, p. 1919, 1998.

WANG, Y.; DUNCAN, T. V. Nanoscale sensors for assuring the safety of food products. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 44, p. 74-86, 2017.

WHITCOMBE, M. J. V. E. **Imprinted polymers**. *Advanced Materials*, v. 13, p. 467, 2001.

WHO. **Prevention of cardiovascular disease: Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk**. Switzerland: World Health Organization, 2007. 86 p.

WIZIACK, N. K. L. **Desenvolvimento de sistemas multissensoriais híbridos, língua e narizes eletrônicos para a avaliação de combustíveis**. 2010. 159 p. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

YAMAGUCHI, S.; NINOMIYA, K. **The Use and Utility of Glutamates as Flavoring Agents in Food**. *The Journal of Nutrition*, v. 130, p. 921–926, 2000.

YAMAGUCHI, S. The synergistic effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate. **Journal of Food Science**, v.32, p.473–478, 1967.

YANG, Y. et al. **Evaluation of monosodium glutamate, disodium inosinate and guanylate umami taste by an electronic tongue**. *Journal of Food Engineering*, v. 116, n. 3, p. 627–632, 2013.

YU H. Discrimination of wine age of Chinese rice wine by electronic tongue based on amino acid profiles. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**. v. 33, n.2, Jan 2017.

ZERAVIK, J.; HLAVACEK, A.; LACINA, K. S. P. **State of the Art in the Field of Electronic and Bioelectronic Tongues - Towards the Analysis of Wines**. *Electroanalysis*, v. 21, p. 2509–2520, 2009.

ZHI R, A. Framework for the Multi-Level Fusion of Electronic Nose and Electronic Tongue for Tea Quality Assessment. **Sensors**, v.17, n.1007, 2017.

PARTE 2

DESENVOLVIMENTO DE SENSORES NANOESTRUTURADOS PARA ANÁLISE DE REALÇADORES DE SABOR EM ÁGUA

K.L Fukushima^a, V.P. Scagion*, M.H. Facure *, A.C.M. Pinheiro^b, D.S. Corrêa***, J.E. de Oliveira^c

^aBioaterials Engineering Department, Federal University of Lavras (UFLA),37200-000,

^bFood Sciene Department, Federal University of Lavras (UFLA),37200-000, Lavras, MG, Brazil,

^c Materials Engineering, Engineering Department, Federal University of Lavras (UFLA),37200-000, Lavras, MG, Brazil,

*National Laboratory for Nanotechnology in Agribusiness (LNNA), Embrapa Instrumentation, 13560 970 São Carlos, SP, Brazil

**Center for Exact Sciences and Technology, Federal University of São Carlos (UFSCar), 13565-905 São Carlos, SP, Brazil

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver, caracterizar e aplicar sensores nanoestruturados para análise de realçadores de sabor em solução aquosa. Foram utilizados eletrodos interdigitados de ouro fabricados sobre lâminas de vidro para a elaboração dos sensores. A modificação da superfície do eletrodo foi feita através de filmes manométricos, utilizando a técnica de automontagem (do inglês, *Layer-by-Layer*, LbL), por meio de diferentes arquiteturas como a ftalocianina tetrassulfonada de cobre (CuTsPc), poli(anilina) (PANI) (em seu estado condutor), óxido de grafeno reduzido (RGO), poli(alilamina hidrocloreada) (PAH) e nanopartículas de prata (AgNPs). A caracterização dos filmes nanoestruturados foi feita utilizando as técnicas de espectroscopia de absorção UV-Vis e a avaliação das propriedades elétricas, já a caracterização das soluções foi feita utilizando as técnicas: espectroscopia na região do infravermelho utilizando a transformada de Fourier, microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) e potencial zeta. Para a aplicação na língua eletrônica, foi utilizado um sistema de aquisição de dados, o qual é formado por um arranjo de sensores. Na superfície dos sensores, foram

gotejadas as soluções com diferentes concentrações de realçadores de sabor (guanilato e inosinato) e de NaCl, medindo-se a impedância elétrica, a qual é convertida em resistência em 1kHz. Os dados foram analisados utilizando a Análise de Componentes Principais (PCA). É possível observar que os filmes foram formados, devido às interações intermoleculares entre as substâncias, as quais foram confirmadas pelas análises de FTIR e Potencial Zeta. O conjunto de eletrodos apresentou-se eficiente na identificação dos realçadores de sabor e do cloreto de Sódio em diferentes, sendo possível ser utilizado como uma ferramenta para a análise em indústrias alimentícias.

Palavras-chave: Filmes, Língua eletrônica, Realçadores de sabor.

1 INTRODUÇÃO

A população mundial vem buscando cada vez mais produtos saudáveis e com teores reduzidos de sódio. Algumas doenças crônicas como a hipertensão e problemas cardiovasculares são as mais comuns ocasionadas pelo excesso de sódio [1]. Em 2011, foi assinado o primeiro acordo entre a ANVISA e a Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos para reduzir a concentração do sódio em alguns alimentos processados, os quais seriam fiscalizados anualmente pela ANVISA [2]. A redução da concentração do sódio vem sendo um grande desafio para a indústria de alimentos, visto que o cloreto de sódio influencia diretamente nas propriedades sensoriais dos alimentos como: sabor, textura, e conservação (pois o cloreto de sódio reduz a atividade de água[1,2,3,4,5,6]).

A utilização de substitutos do cloreto de sódio vem sendo estudada como uma estratégia para a redução por substituição parcial ou total do cloreto de sódio pelo cloreto de potássio, fosfato de potássio. Outra estratégia que vem sendo estudada é a utilização de realçadores de sabor [7,8]. Porém, essa substituição tende a promover um sabor residual nos alimentos, afetando diretamente a qualidade sensorial do produto[9,10,11,12,13,8].

Os realçadores de sabor, quando adicionados aos alimentos, promovem o gosto Umami e conseqüentemente melhoram o sabor dos produtos. O primeiro realçador de sabor descoberto foi o glutamato monossódico, no início do século 20, presente em algas, posteriormente, outros realçadores (guanilato dissódico e inosinato dissódico) foram descobertos em cogumelos e peixes [14]. A identificação do gosto umami é um grande desafio para a indústria alimentícia, visto que é um gosto difícil de ser identificado. Existem vários fatores que interferem no resultado da análise sensorial, tais como: fatores fisiológicos, psicológicos e má condição física [15].

Entretanto, reduzir a quantidade de sódio, sem comprometer as características sensoriais dos produtos é tarefa árdua e requer dedicação nos testes sensoriais para alcançar a qualidade tão almejada. Nesse sentido, o desenvolvimento de novas técnicas que permitam garantir a qualidade sensorial dos produtos poderia trazer agilidade no desenvolvimento de produtos, em especial, os produtos com redução no teor de sódio. O desenvolvimento de sensores para avaliação de produtos, como os realçadores de sabor, pode ser promissor na avaliação da qualidade sensorial de produtos industrializados. É considerada uma importante ferramenta para o controle de qualidade de bebidas em indústrias, pois discrimina os compostos de gostos básicos em níveis muito mais abaixo do limite de detecção da capacidade humana [16,17,18,19,20,21,22]. Apresenta uma maior eficiência em relação à análise sensorial tradicional, devido à sua praticidade, rapidez, e apresenta resultados semelhantes à Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) [21], e a HPLC [23] é uma análise demorada e cara. a língua eletrônica vem sendo aplicada em várias bebidas, entre elas, o café [24], o vinho [25], a chá [26].

A utilização de novos métodos eletroquímicos de análise incentivou as pesquisas de polímeros condutores e outros tipos de materiais, como as ftalocianina [27]. As Ftalocianinas, bem como o óxido de grafeno reduzido e

outros polímeros, vêm sendo empregadas no desenvolvimento de sensores de interesse para a indústria de alimentos, podendo ser utilizados na língua eletrônica [28,29,30,31]. A PANI, por exemplo, é um dos polímeros mais utilizados para o desenvolvimento de sensores [32].

Este trabalho teve como objetivo desenvolver sensores nanoestruturados por meio da técnica Layer by Layer para língua eletrônica, capaz de identificar realçadores de sabor (glutamato monossódico, inosinato dissódico, guanilato dissódico) e o cloreto de sódio.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes

Poli(anilina) (PANI) ($M_w = 20.000$ g/mol), ftalocianina tetrassulfonada de cobre (CuTsPc) ($M_w = 984,25$ g/mol), poli(alilamina hidrocloreada) (PAH) ($M_w = 56 \times 10^3$ g/mol), nitrato de prata (AgNO_3 , $M_w = 169,88$ g/mol), o ácido ascórbico (AA) e borohidreto de sódio (NaBH_4), foram obtidos pela Sigma-Aldrich. Grafite, ácido sulfúrico (H_2SO_4), permanganato de potássio (KMnO_4), Dimetilacetamida (DMA), ácido clorídrico (HCl) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) utilizados na síntese do óxido de grafeno (GO) foram obtidos da Dinâmica, Brasil. Os realçadores de sabor, glutamato monossódico (Lote: 05.09.13 validade: 05.09.18), guanilato dissódico e inosinato dissódico (Lote: 13131A-2B validade: 16/07/18) e inosinato dissódico (Lote: 15.01.22 validade: 22/01/2020) foram doados pela AJINOMOTO Ltda.

2.2 Eletrodos interdigitados

Os filmes foram depositados sobre eletrodos interdigitados de ouro (Ids), obtidos pela técnica convencional de fotolitografia no Laboratório de Microfabricação do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano-LNLS) em Campinas, no estado de São Paulo. Os eletrodos interdigitados são

compostos por 50 pares de trilhas com comprimento de 4 mm e apresentando interdigitados com 10 μm de largura e de separação entre eles [33].

2.3 Soluções e Preparo dos Filmes

A solução de PANI (solução catiônica) foi dopada com HCl [34] adaptada pelo autor do presente artigo, a qual foi mantida diluída (obtendo-se uma concentração de $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$) em pH 3. As soluções de CuTsPc (solução aniônica) e de PAH (solução catiônica), foram utilizadas na concentração de $0,15 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e $0,27 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ [35]. O óxido de grafeno (GO) foi obtido através da síntese de Hummers modificada [36]. Na síntese adaptada por [37], três gramas de grafite foram dissolvidas em $1,26 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 em banho de gelo. Após o grafite dissolver completamente, $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ de KMnO_4 foram lentamente adicionadas à mistura, mantendo-se a temperatura do sistema abaixo de $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, a temperatura foi elevada para $40 \text{ }^\circ\text{C}$, e o sistema foi agitado por 30 min. Em seguida, adicionou-se 150 mL de água, então, adicionados à mistura e a solução foi mantida a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 min. Outros 500 mL de água foram adicionados, seguidos da adição de $0,07 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$, levando a uma mudança na cor da mistura de marrom para amarelo. A mistura foi filtrada e lavada com 250 ml uma solução aquosa $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl. O GO foi seco durante 12 horas à temperatura ambiente. Finalmente, o sólido foi redisperso em água Milli-Q, utilizando banho de ultrassom por 30 min. Centrifugação (4000 rpm por 5 min) foi utilizada na remoção do material não esfoliado. A solução sobrenadante foi coletada e teve sua concentração determinada para ser utilizada como solução estoque. O óxido de grafeno reduzido (rGO) foi preparado a partir da redução do GO, utilizando um ultrassom de ponta (Branson Digital Sonifier 450). Na síntese, uma dispersão de GO (40 mL) com uma concentração de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ foi preparada e $0,56 \times 10^{-4}$

mol L⁻¹ de Ácido Ascórbico foi adicionada à dispersão. A solução foi levada ao ultrassom de ponta por 25 minutos (5 KHz). A concentração do óxido de grafeno reduzido (solução aniônica) foi de 0,1 g L⁻¹. As substâncias foram escolhidas devido à sua carga, (a qual pode ser comprovada através do potencial zeta) e suas características condutoras. As Nanopartículas de prata foram obtidas segundo [38] e colaboradores adaptada, utilizando borohidreto de sódio (como agente redutor) e citrato de sódio. Os filmes foram elaborados utilizando a técnica de LbL, segundo Corrêa e colaboradores [39]. Foram elaboradas 6 diferentes arquiteturas sob os eletrodos interdigitados de ouro utilizados: PAH/rGO/PANI/CuTsPc, PAH/rGO/PAH/CuTsPc, PANI/AgNPs/PANI/CuTsPc, PANI/CuTsPc, PAH/CuTsPc, PAH/AgNPs/PAH/CuTsPc.

Foram elaborados 4 eletrodos, contendo 2 tetracamadas, as quais são compostas por 2 polycations e 2 poliânions intercalados cada tetracamada (PAH/rGO/PANI/CuTsPc, PAH/rGO/PAH/CuTsPc, PANI/AgNPs/PANI/CuTsPc e PAH/AgNPs/PAH/CuTsPc). Outros 2 eletrodos foram elaborados contendo 4 bicamadas, nas quais cada bicamada é composta por um poliânion e um polycation (PANI/CuTsPc e PAH/CuTsPc). No entanto, para a avaliação do crescimento foram feitas 4 tetracamadas e 8 bicamadas, respectivamente.

2.4 Caracterização das Soluções

A caracterização morfológica das nanopartículas de prata foi feita utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG), usando o equipamento JEOL-JSM 6701F [40], com o objetivo de avaliar a morfologia e o tamanho das partículas. As soluções, tanto para o MEV-FEG quanto para o FTIR, foram depositadas por drop-casting sob lâminas de

silício limpas. A análise de FTIR foi feita utilizando o equipamento do modelo Vector 22 na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} e com resolução espectral de 4 cm^{-1} [33]. A presença de cargas superficiais foi feita utilizando a análise de potencial zeta, as medidas foram feitas utilizando-se um equipamento Malverne 3000 Zetasizer NanoZS, (Malverne Instruments, UK). Foram realizadas duas medidas de cada suspensão.

2.5 Caracterização dos Filmes nanoestruturados dos eletrodos

O crescimento dos filmes foi monitorado utilizando a espectroscopia de UV-vis, segundo [41], no qual foi utilizado o equipamento UV-vis Shimadzu 1800, onde foi feita a varredura entre 400 e 800 nm. Para a avaliação do crescimento dos filmes, as medidas foram feitas utilizando lâminas de vidro. As propriedades elétricas dos eletrodos foram avaliadas utilizando o equipamento analisador de impedância, modelo 1260 A, Solartron, UK. O crescimento dos filmes é um fator importante que deve ser monitorado na elaboração de um sensor. O monitoramento pode ser feito através do aumento da intensidade de absorbância dos filmes à medida que novas camadas são depositadas. Assim, é possível garantir a formação dos filmes e, conseqüentemente, verificar a reprodutibilidade do processo [42].

2.6 Aplicação dos realçadores de sabor e do cloreto de sódio na Língua Eletrônica

Os realçadores de sabor utilizados foram: Glutamato Monossódico, Inosinato Dissódico, e uma mistura 1:1 (50% m/m) de guanilato dissódico com inosinato dissódico, as soluções que estão representadas na Tabela 1 a seguir.

As concentrações foram determinadas segundo as instruções fornecidas pela AJINOMOTO, considerando a utilização de uma porção de

caldo em cubo diluído em 250 ml de água. Já a concentração de cloreto de sódio, utilizada no presente trabalho é $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, a qual foi determinada baseando-se no Manual técnico da ANVISA de 2016 para caldo em cubo diluído [2].

Tabela 1: Concentrações de realçadores de sabor.

Concentrações de realçadores de sabor			
	Glutamato Monossódico (mol L ⁻¹)	Guanilato Dissódico /Inosinato Dissódico (mol L ⁻¹)	Inosinato Dissódico (mol L ⁻¹)
C1	$3,54 \times 10^{-4}$	5×10^{-4}	$1,01 \times 10^{-4}$
C2	$3,54 \times 10^{-10}$	5×10^{-10}	$1,01 \times 10^{-10}$
C3	1×10^{-3}	1×10^{-3}	1×10^{-3}
C4	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}
C5	1×10^{-9}	1×10^{-9}	1×10^{-9}
C6	1×10^{-12}	1×10^{-12}	1×10^{-12}

As medidas na língua Eletrônica foram feitas usando seis unidades sensoriais conectadas aos canais para as leituras, as quais foram feitas em triplicata utilizando os softwares Z plot2.6 e Zview 2.6. Os dados foram coletados a partir das medidas de resistência em função da frequência de 10 Hz a 1 MHz, utilizando uma tensão aplicada de 50 mV e potencial fixo[33].

A caracterização, a elaboração e a aplicação do conjunto de unidades sensoriais foram feitas no Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), Embrapa Instrumentação (CNPDIÁ).

3 ANÁLISE DE DADOS

Os dados de resistências foram coletadas na frequência de 1kHz escolhida, pois as medidas feitas em frequências menores são referentes ao

efeito dupla camada, já as medidas feitas posteriormente são decorrentes da geometria do eletrodo[43].

Os dados foram centrados na média que consiste de um pré-processamento, que consiste em calcular a média dos dados e subtrair dos dados reais[44], os quais foram posteriormente analisados utilizando a Análise de Componentes Principais (PCA), fazendo uso do software Chemoface [45]. As matrizes foram organizadas da seguinte forma: sendo os realçadores as linhas, e os eletrodos as colunas. Essa análise consiste em reduzir um conjunto grande de dados através de combinações lineares [46]. Para o agrupamento dos dados, foi utilizada a Análise estatística de Agrupamento (ou Análise de Cluster), a qual consiste em agrupar o PCA de acordo com a distância Euclidiana, além do programa Chemoface [45].

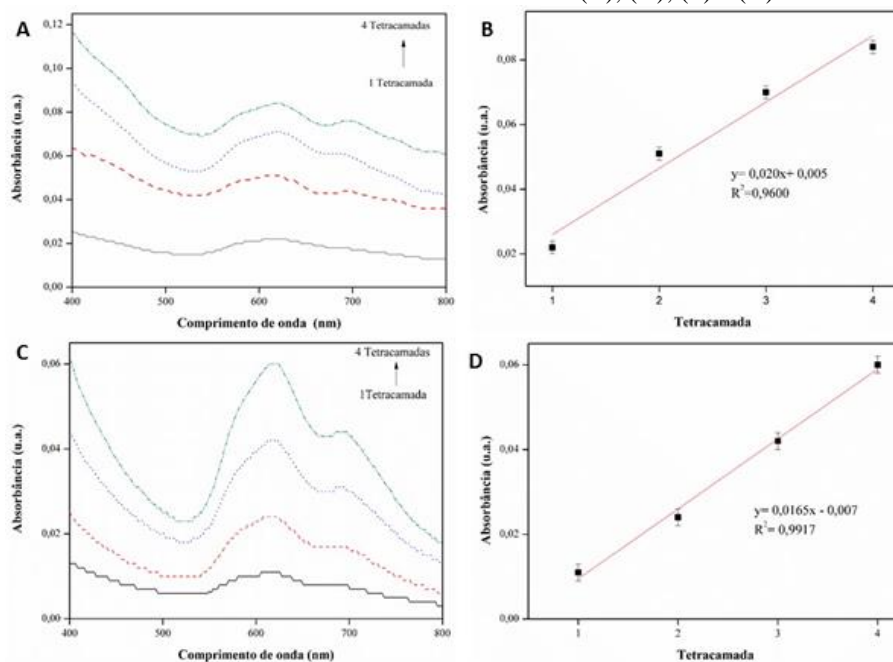
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos filmes e das soluções

A Figura 1 representa os espectros de UV-VIS dos filmes contendo as tetracamadas, já a Figura 2 apresenta os espectros dos filmes contendo as bicamadas. Cada curva colorida representa uma tetracamada (Figura 1) e uma bicamada (Figura 2), ou seja, em todos os espectros podemos observar que houve um aumento da intensidade da absorbância e, conseqüentemente, o crescimento do filme. Em todas as curvas, podemos observar a presença das bandas Q localizadas em 613 e 694 nm. Segundo [47] e [48] apud [49], duas bandas em cerca de 620 e 690 nm, as quais correspondem às espécies diméricas e monoméricas, respectivamente. Ainda conforme [49], a intensidade da absorbância aumenta linearmente com o número de bicamadas, indicando um crescimento regular. As regressões foram feitas utilizando os valores obtidos de absorbância no comprimento de onda de 613 nm, pico mais intenso referente à

absorbância na região da luz visível da Ftalocianina Tetrassulfonada de cobre, complexo presente em todos os filmes. Observa-se que o crescimento foi linear e positivo, ou seja, houve um aumento da massa adsorvida em relação à quantidade de tetracamadas e às bicamadas para todos os filmes. As intensidades são diferentes devido à diferença das arquiteturas de cada eletrodo, visto que a massa adsorvida varia de acordo com a quantidade de carga de cada material, as quais podemos observar através do potencial zeta (Tabela 2). O crescimento dos filmes é importante, pois a quantidade e o tipo de material depositado alteram as propriedades elétricas dos eletrodos, como, por exemplo, a resistência.

Figura 1 - Espectro UV-VIS dos filmes de 1 a 4 tetracamadas de (PAH/rGO/PANI/CuTsPc) (A); (PAH/rGO/PAH/CuTsPc) (C); (PANI/AgNPs/PANI/CuTsPc) (E) e (PAH/AgNPs/PAH/CuTsPc) (G). Respectivas curvas de crescimento dos filmes em (B); (D); (F) e (H).



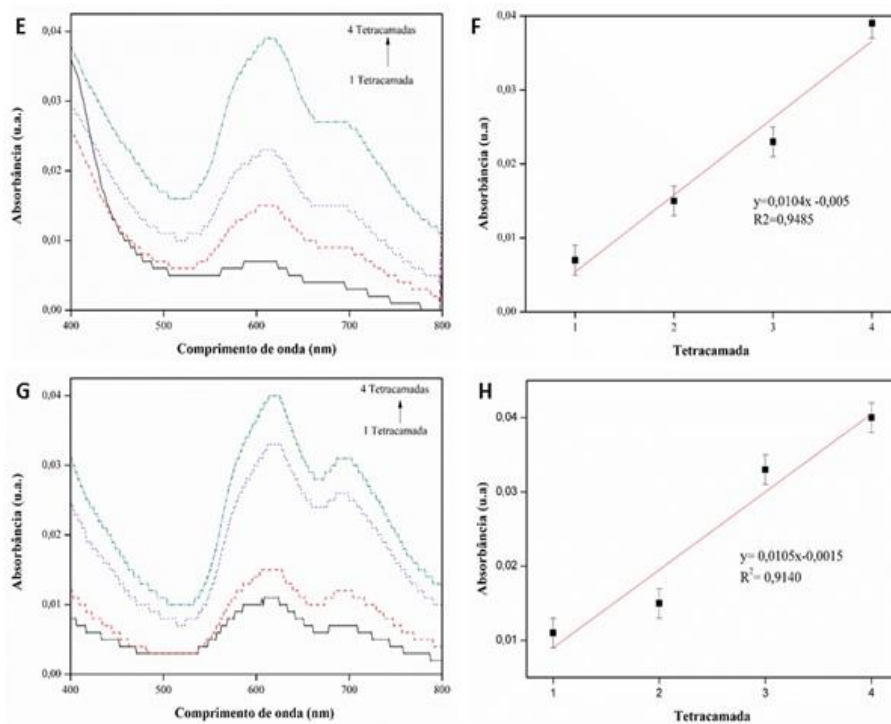
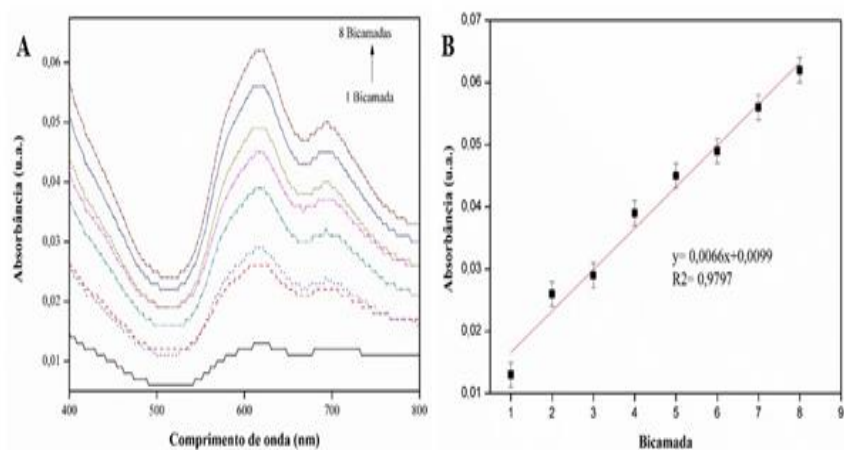
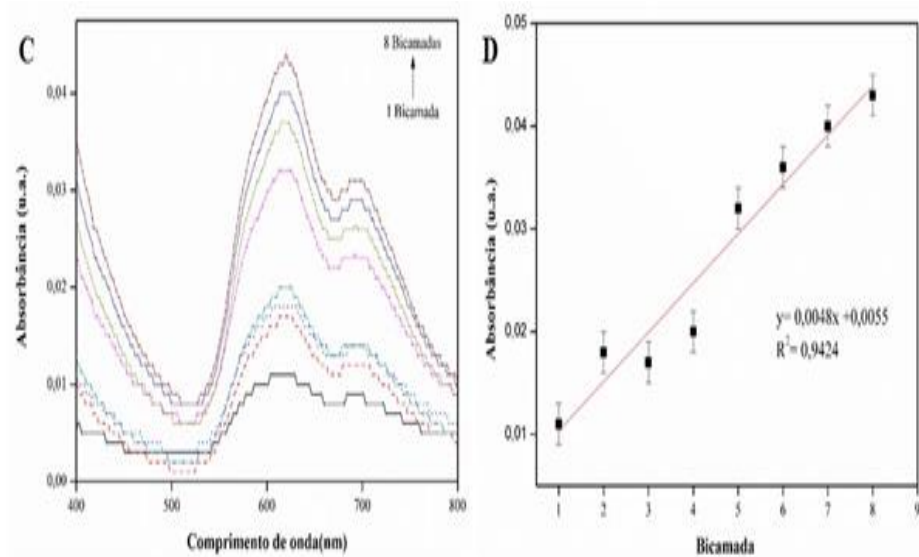


Figura 2- Espectro UV-VIS (PANI/CuTsPc) de 1 a 8 bicamadas (A); Curva de crescimento dos filmes do eletrodo (B); Espectro UV-VIS (PAH/CuTsPc) de 1 a 8 bicamadas (C) e Curva crescimento dos filmes (PAH/CuTsPc) (D).





A Tabela 2 a seguir apresenta os dados do potencial zeta das substâncias, as quais foram utilizadas na elaboração dos sensores.

Tabela 2. Potencial Zeta das substâncias

Material	Potencial Zeta (mV)
Ftalocianina Tetrassulfonada de Cobre	-52,05±0,49
Nanopartículas de Prata	-39,35±1,2
Óxido de Grafeno Reduzido	-35,05±0,91
PANI	+30,7±0,09
PAH	+15±1,27

É possível observar que as Nanopartículas de prata, o óxido de grafeno reduzido e a Ftalocianina Tetrassulfonada de Cobre apresentaram cargas negativas. Já a PANI e a PAH apresentaram-se com carga positiva. A presença dessas cargas é essencial para a formação dos filmes LbL através de ligações intermoleculares entre substâncias de carga negativa e positiva intercaladas. É

possível observar que, entre os filmes contendo bicamadas (PAH/CuTsPc) e (PANI/ CuTsPc), o filme contendo PANI apresentou uma maior intensidade em seu crescimento (como podemos observar através do pico de absorbância da ftalocianina na análise de UV-VIS). Mesmo estando com uma concentração inferior ao da PAH, a diferença pode ser justificada devido ao fato da PAH ser um polieletrólito fraco, diferente da PANI.

No espectro, podemos observar as principais ligações presentes nas substâncias: PANI (estado sal esmeraldina), PAH, óxido de grafeno reduzido, Nanopartículas de prata e Ftalocianina Tetrassulfonada de Cobre. A análise para a identificação de ligações químicas presentes nas substâncias é de grande importância para a formação dos filmes por LbL, visto que a presença de determinadas ligações pode ocasionar ou não a formação dos filmes. A Figura 3 (a) apresenta o espectro da PANI no estado sal esmeraldina, ou seja, no estado condutor. A banda localizada em 1583 cm^{-1} representa a ligação C=C do anel quinóide, assim como em 1446 cm^{-1} representa também a ligação C=C do anel benzóide. Já as bandas 1309 cm^{-1} e 1133 cm^{-1} representam a ligação C-N, do anel benzóide e quinoide, respectivamente [50]. Segundo Mattoso e colaboradores, a PANI em seu estado condutor é composta por anéis benzóides e quinóides alternados [32].

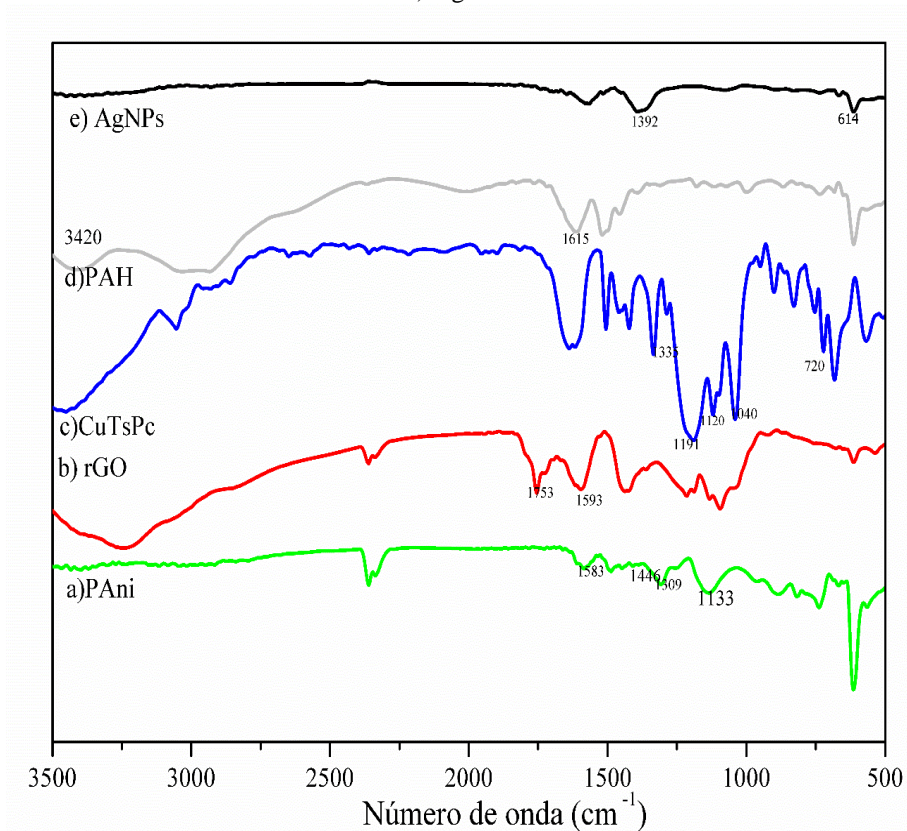
A figura 3b apresenta o espectro do óxido de grafeno reduzido, no qual a banda localizada em 1753 cm^{-1} é proveniente da ligação C=O segundo [51], essa ligação devido à presença de ácido ascórbico residual proveniente da redução. Já a ligação localizada em 1593 cm^{-1} representa a ligação C=C; no entanto, significa que a solução não foi completamente reduzida [33] e, conseqüentemente, alterando as suas propriedades elétricas. O espectro da Ftalocianina Tetrassulfonada de cobre (Figura 3c) apresenta a banda localizada em 1628 cm^{-1} que representa a ligação C=C dos anéis benzeno presentes no complexo. As bandas localizadas em 1191 cm^{-1} , 1120 cm^{-1} (deformação angular

da ligação S=O), 1040 cm^{-1} [52,35] representa a ligação SO_3^- . A banda 720 cm^{-1} é responsável pela deformação fora do plano referente a ligação C-H do anel benzeno [53]. A banda localizada em 1335 cm^{-1} é referente à ligação C-N, que corresponde ao grupo amina presente no complexo [49]. Na Figura 3d representa o espectro do polímero PAH, no qual a ligação localizada em 1615 cm^{-1} , corresponde à ligação do NH_2 [54]. A banda localizada em 3420 cm^{-1} apresenta a ligação NH_3^+ , principal cátion responsável pela característica catiônica do polímero. A figura 3e apresenta o espectro da Nanopartícula de prata, a banda 1392 cm^{-1} representa o alongamento vibracional da ligação N=O, composto nitrato resultante da síntese [55].

A presença de ligações do agrupamento S=O na ftalocianina Tetrassulfonada de cobre são os responsáveis pela formação do íon SO_3^- . Esse íon se liga aos Cátions NH_3^+ presentes na PANI e na PAH, através de ligações intermoleculares, o que justifica a formação dos filmes. Já o óxido de grafeno, em seu estado reduzido, possui cargas negativas, as quais são capazes de interagir com as aminas presentes na PANI e na PAH. É possível confirmar a redução do óxido de grafeno através das ligações provenientes do ácido ascórbico. Já as Nanopartículas de prata, podemos observar que há a presença de substâncias resultantes da síntese. A presença das Nanopartículas pode ser confirmada através da caracterização morfológica, bem como o seu tamanho. A presença das cargas negativas e positivas provenientes dessas ligações são apresentadas pela técnica de caracterização Potencial Zeta.

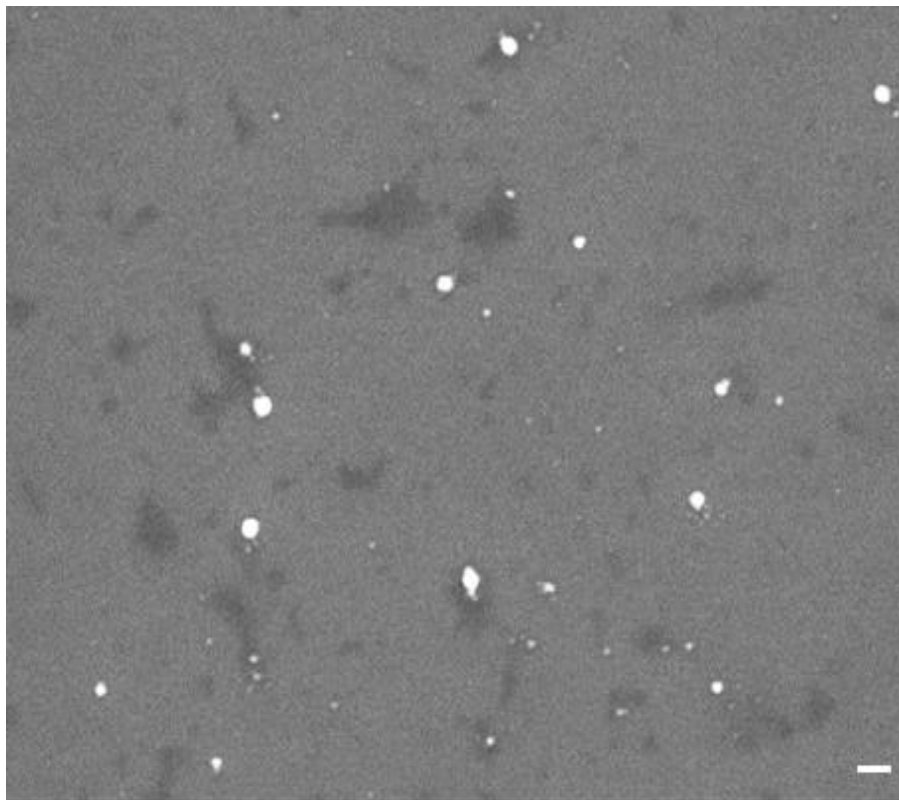
A presença dessas ligações é responsável pela formação dos filmes, visto que, na técnica Layer By Layer aplicada na formação dos mesmos, é feito um intercalamento entre os poliânions e os policátions, sendo assim, o crescimento dos filmes através das interações eletrostáticas.

Figura 3 - Espectros de FTIR a) PANI b) óxido de grafeno reduzido c) CuTsPc d) PAH e) AgNPs.



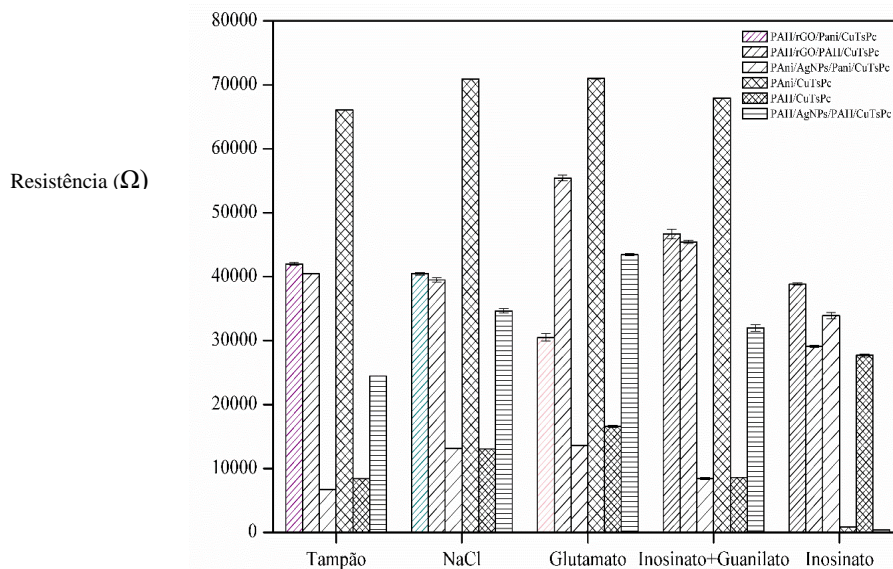
A Figura 4 apresenta a imagem das Nanopartículas de prata, as quais são apresentadas através dos pontos luminosos arredondados. As aglomerações mais escuras apresentadas na figura são resíduos provenientes da síntese tais como o Borohidreto de sódio e o Citrato de sódio. As Nanopartículas de prata apresentaram tamanho médio de 25nm. Segundo [56] são chamadas “Nanopartículas aquelas que possuem tamanho entre 1 e 100 nm” [56]. Com redução do tamanho da partícula, há o aumento da área superficial existente, e conseqüentemente um aumento da condutividade elétrica, melhorando, assim, o desempenho do sensor [57].

Figura 4 - MEV-FEG das Nanopartículas de prata



A Figura 5 apresenta o gráfico das resistências dos eletrodos em relação ao tampão fosfato pH 7, aos realçadores de sabor e do Cloreto de Sódio. É possível observar que houve diferença entre os eletrodos, ou seja, cada realçador interagiu de uma forma diferente nos filmes presentes na superfície de cada eletrodo. A alteração da resistência é causada devido à essa interação entre o analito e o filme. No entanto, no eletrodo contendo PANI/CuTsPc, o cloreto de sódio e o glutamato monossódico apresentaram-se semelhantes, o que significa que ambos interagem da mesma forma com o filme nanométrico.

Figura 5 - Gráfico da resistência dos eletrodos para cada realçador de sabor.



4.2 Medidas na Língua Eletrônica

As medidas, na Língua Eletrônica, foram feitas após o preparo dos filmes nos eletrodos interdigitados, os quais sofrem alterações em suas propriedades elétricas de acordo com o tipo de material usado na formação do filme, conforme podemos observar na figura 6. A figura 6 apresenta a Análise de Componentes Principais referente às concentrações das soluções de glutamato em relação aos diferentes sensores desenvolvidos. Cerca de 98,4 % da variabilidade foi justificada através da somatória do PC1 e PC2. Conforme apresentado pela figura, é possível observar que houve o agrupamento dos eletrodos, o que significa que houve a repetibilidade, visto que as repetições estão próximas. Observa-se que o conjunto de sensores foi capaz de identificar o gosto umami e o gosto salgado, além de diferenciar as concentrações do Glutamato monossódico. Pela análise de agrupamento (figura 7), foi possível separar o PCA em 3 grupos, observa-se que os grupos foram separados de

acordo com a sua concentração. É possível observar que a concentração $3,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do glutamato apresenta-se no mesmo grupo que o NaCl, além de estar muito próximo em relação ao componente principal 1, o qual justifica cerca de 71,50% da variabilidade dos dados. As concentrações $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ apresentam-se próximas, pois elas são semelhantes, assim como as concentrações $3,54 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ e $1 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$. Segundo os resultados apresentados pela Língua Eletrônica para o Glutamato monossódico, a concentração ideal é a $3,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, visto que é a concentração que mais se assemelha ao cloreto de sódio no PCA.

Figura 6 - PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Glutamato monossódico.

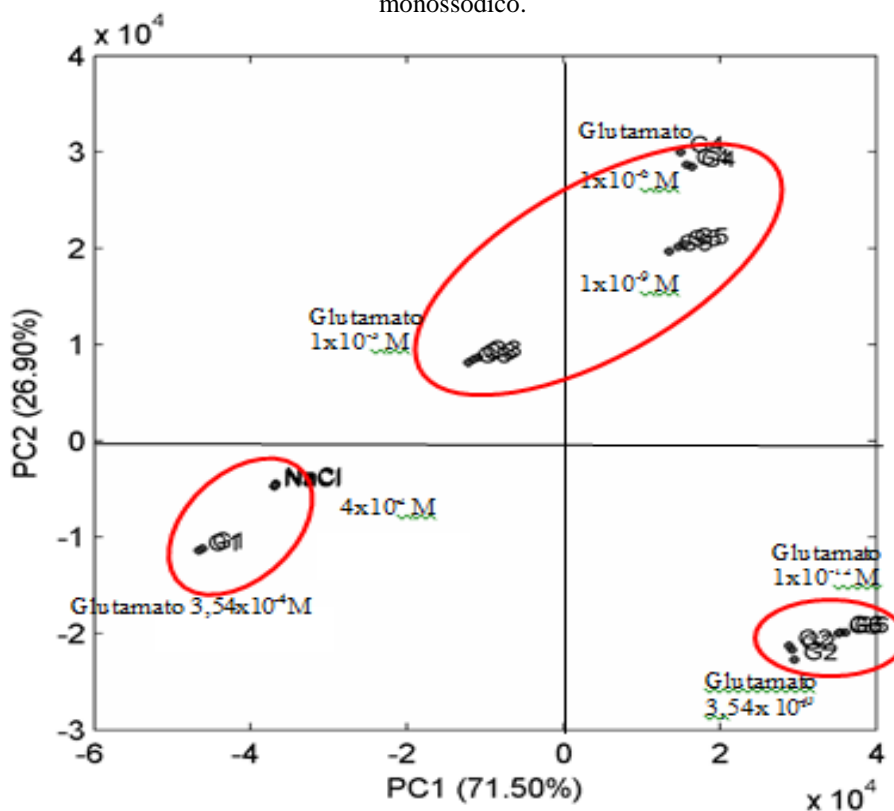
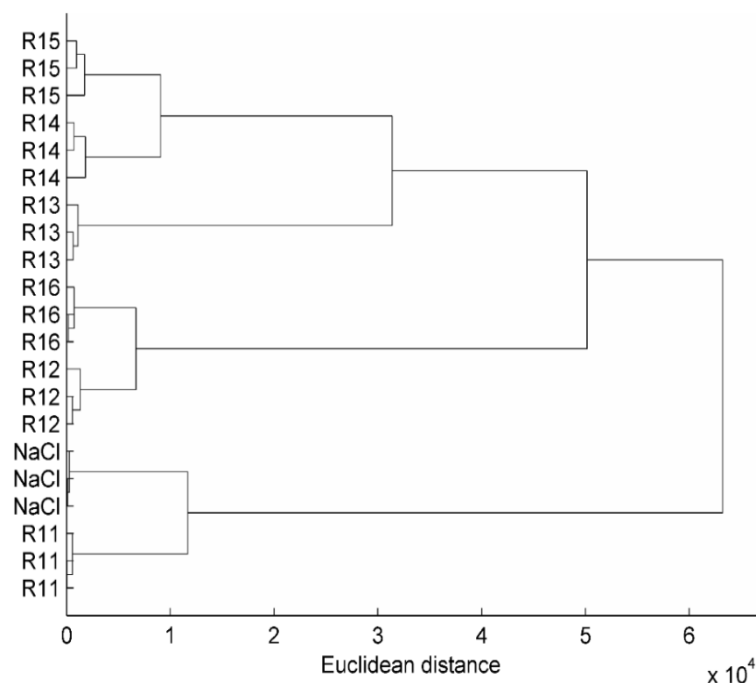


Figura 7 - Dendrograma do Glutamato monossódico (R1) em relação ao Cloreto de Sódio.



Legenda: R11: Glutamato monossódico concentração $3,54 \times 10^{-4} \text{M}$; R12: Glutamato monossódico concentração $3,54 \times 10^{-10} \text{M}$; R13: Glutamato monossódico concentração $1 \times 10^{-3} \text{M}$; R14: Glutamato monossódico concentração $1 \times 10^{-6} \text{M}$; R15: Glutamato monossódico concentração $1 \times 10^{-9} \text{M}$; R16: Glutamato monossódico concentração $1 \times 10^{-12} \text{M}$.

Na figura 8, temos o PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Inosinato Dissódico com o Guanilato Dissódico, a qual 98,40 % da variabilidade foi justificada através do PC1 e PC 2. Foi possível separar em 3 grupos (segundo a análise de agrupamentos na figura 9), os quais observa-se que o conjunto de sensores foi capaz de identificar o gosto umami, proveniente da mistura do inosinato com o guanilato, além de diferenciar as concentrações. É possível observar que a concentração $1 \times 10^{-3} \text{mol L}^{-1}$ apresenta-se mais próximo do NaCl, em relação ao componente principal 1, o qual justifica

cerca de 96,27% da variabilidade dos dados. Porém, a concentração 5×10^{-4} mol L^{-1} (concentração indicada pelo fornecedor para caldos) apresenta-se muito próxima ao NaCl em relação ao PC2. Para a mistura Inosinato Dissódico e Guanilato Dissódico, a concentração ideal para substituir o cloreto de sódio, seria a concentração 1×10^{-3} M.

Figura 8 - PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Inosinato Dissódico com o Guanilato Dissódico.

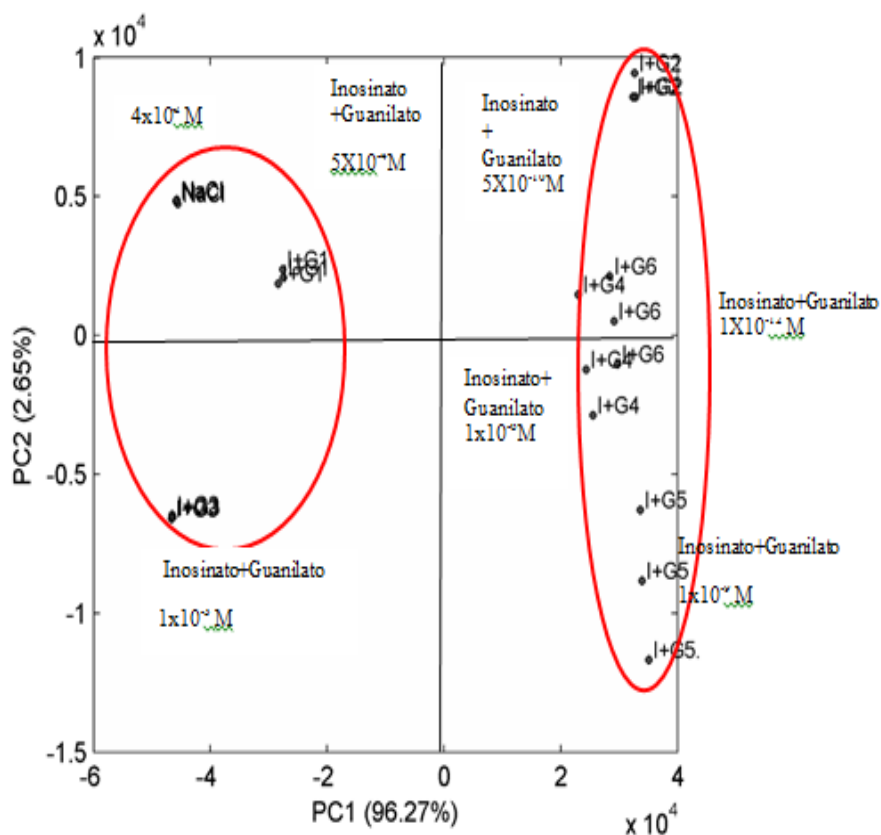
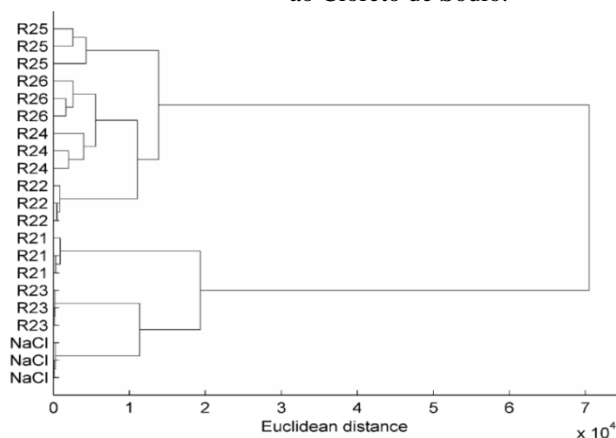


Figura 9 - Dendrograma do Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico em relação ao Cloreto de Sódio.



Legenda: R21: Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico concentração $5 \times 10^{-4} \text{M}$; R22: Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico concentração $5 \times 10^{-10} \text{M}$; R23: Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico concentração $1 \times 10^{-3} \text{M}$; R24: Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico concentração $1 \times 10^{-6} \text{M}$; R25: Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico concentração $1 \times 10^{-9} \text{M}$; R26: Inosinato dissódico com o Guanilato Dissódico concentração $1 \times 10^{-12} \text{M}$

Figura 10 - PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Inosinato Dissódico

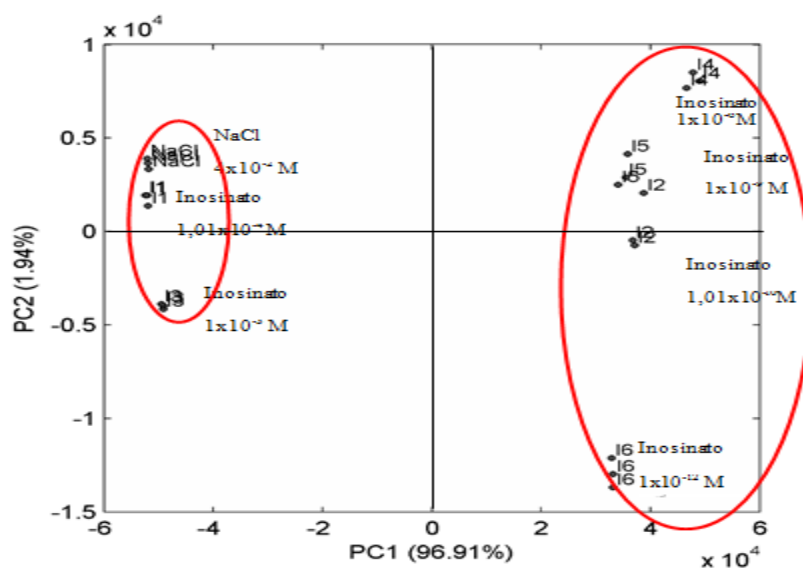
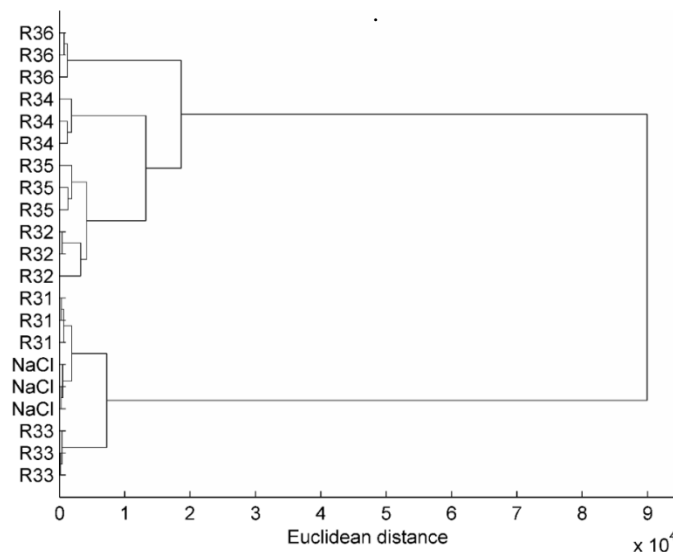


Figura 11 - Dendrograma do Inosinato dissódico em relação ao Cloreto de Sódio.



Legenda: R31: Inosinato dissódico concentração $1,01 \times 10^{-4} \text{M}$; R32: Inosinato dissódico concentração $1,01 \times 10^{-10} \text{M}$; R33: Inosinato dissódico concentração $1 \times 10^{-3} \text{M}$; R34: Inosinato dissódico concentração $1 \times 10^{-6} \text{M}$; R35: Inosinato dissódico concentração $1 \times 10^{-9} \text{M}$; R36: Inosinato dissódico concentração $1 \times 10^{-12} \text{M}$.

Foi observado que a figura 10 apresenta o PCA do Cloreto de sódio e de todas as concentrações do Inosinato Dissódico, na qual 99,56 % da variabilidade foi justificada através do PC1 e PC 2, além de apresentar o PCA referente às concentrações do Inosinato Dissódico. Foi possível dividir o PCA em 2 grupos (segundo a análise de agrupamentos na figura 11), sendo um grupo com as 4 concentrações menores ($1 \times 10^{-6} \text{M}$, $1 \times 10^{-9} \text{M}$, $1,01 \times 10^{-10} \text{M}$, $1 \times 10^{-12} \text{M}$) e outro grupo com as concentrações maiores ($1,01 \times 10^{-4} \text{M}$ e $1 \times 10^{-3} \text{M}$). Observa-se que as concentrações que mais se aproximaram do cloreto de sódio foram as concentrações $1,01 \times 10^{-4} \text{M}$ e $1 \times 10^{-3} \text{M}$. Porém, tratando-se do Inosinato Dissódico, a concentração $1,01 \times 10^{-4} \text{M}$ é a mais indicada para atuar como substituto do cloreto de sódio.

Yang e colaboradores (2013) em seu trabalho avaliaram o glutamato, o inosinato e o inosinato com o guanilato, utilizando a língua eletrônica comercial, na qual as concentrações avaliadas foram de 0,5%, 0,05% e 0,005%. O presente trabalho apresentou maior eficiência, devido à capacidade de detectar concentrações inferiores ao trabalho já publicado com sensores comerciais [58].

5 Conclusão

É possível observar que houve o crescimento dos filmes através da análise de UV-VIS, devido à presença e à interação de cargas negativas e positivas, as quais foram confirmadas pelas análises de FTIR e Potencial Zeta, bem como as caracterizações morfológicas. O conjunto de eletrodos apresentou-se eficiente na identificação dos realçadores de sabor e do cloreto de Sódio em altas e baixas concentrações. Podemos observar, desse modo, a afinidade dos realçadores pelas arquiteturas elaboradas, sendo possível ser utilizado como uma ferramenta para a análise em indústrias alimentícias.

Referências

- [1] G. Mancia, S. Oparil, P.K. Whelton, M. McKee, A. Dominiczak, F.C. Luft, K. AlHabib, F. Lanas, A. Damasceno, D.P.G. L. Torre, M. Weber, M. O'Donnell, S. C. Smith, J. Narula. The technical report on sodium intake and cardiovascular disease in low- and middle-income countries by the joint working group of the World Heart Federation, the European Society of Hypertension and the European Public Health Association. **Eur Heart J**.38 (2017). 712-719, <<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw549>>.
- [2] BRASIL. **Informe Técnico**, 72(2016) GGALI/ANVISA – GGALI. 1–9.
- [3] W. Albarraci, I.C. Sanchez, R. Grau, J. M. Barat. Salt in food processing; usage and reduction: a review. **Int J Food Sci Tech**, 46(2011)1329–1336, <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02492>>.
- [4] H.C. Pereira, V. R. de Souza, N.C. Azevedo, D. M. Rodrigues, C. A. Nunes, A. C. M. Pinheiro. Optimization of Low Sodium Salts Mix for Shoestring Potatoes. **J Food Sci** 80(2015) 1399–1403, <<http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12884>>.
- [5] J.G. Silva, H. A. Morais, M.P.C. Silvestre. Comparative study of the functional properties of bovine globin isolates and sodium caseinate. **Food Res Int**, 36(2003) 73–80, <[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00110-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00110-2)>.
- [6] S. Kremer, J. Mojet, R. Shimojo. Salt Reduction in Foods Using Naturally Brewed Soy Sauce. **J Food Sci**, 74(2009), 255–262, <<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01232.x>>.
- [7] D.M. Rodrigues, J.F. Mendes, V.R. Souza, C.A. Nunes Rodrigues, A.C.M. Pinheiro. Microparticulated salts mix: An alternative to reducing sodium in shoestring potatoes. **LWT - Food Sci Tech** 69(2016) 390–399, <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.056>>.
- [8] V. M. Freire, D. O. Freire, V. R. De Souza, C.S. Gonçalves, J. D. S. Carneiro, C. A. Nunes; Pinheiro, A. C. M. Salting Potency And Time-Intensity Profile Of Microparticulated Sodium Chloride In Shoestring Potatoes. **J Sens Stud**, 30(2015) 1–9, <<https://doi.org/10.1111/joss.12129>>.
- [9] A. G. Cruz, J. A.F. Faria, M. A.R. Pollonio, H. M.A. Bolini, R. M.S. Celeghini, D. Granato, N. P. Shah. Cheeses with reduced sodium content: Effects

on functionality, public health benefits and sensory properties. **Trends in Food Sci & Technol** 22(2011)276–291, <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.003>>.

[10] P.Gou, L. Guerrero, J. Gelabert, J. Arnau. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. **Meat Sci**, 42(1996) 37–48, <[https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00017-8](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00017-8)>.

[11] M. Russunen, E. Puolanne. Reducing sodium intake from meat products. **Meat Sci**, 70(2005) 531–54, <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.016>>

[12] T.L.T Silva, V.R.Souza, A.C.M. Pinheiro, C.A. Nunes, T. V. M. Freire. Equivalence salting and temporal dominance of sensations analysis for different sodium chloride substitutes in cream cheese. **Int. J. Dairy Technol**, 66(2013), 1–8, <<https://doi.org/10.1111/1471-0307.12100>>.

[13] V.R Souza, T.V. Marques, C.S.Goncalves, J.D.S. Carneiro, A.C.M Pinheiro, C.A. Nunes. Salt equivalence and temporal dominance of sensations of different sodium chloride substitutes in butter. **J. Dairy Res.** 80(2013)319–325, <<https://doi.org/10.1017/S0022029913000204>>.

[14] C. Sano. History of glutamate production. **Am. J. Clin. Nutr.**, 90 (2009),728–732.

[15] M. C. Meilgaard; B. T. Carr; G. V. Civille **Sensory Evaluation Techniques**. 4, (2006) 464.

[16] E.R. Carvalho , A.A. Correa, N.C. Filho, O.N Oliveira, H.L. Gomes, Henrique, L.H. Mattoso, L. Martin-Neto. Detection of Chloroform with a Sensor Array Consisting of Electrochemically Deposited Polythiophenes Films: Processes Governing the Electrical Response. **Sensors Letters**, 5(2007), 374–379, <<https://doi.org/10.1166/sl.2007.204>>

[17] E. Costell, A comparison of sensory methods in quality control. **Food Qual Prefer**, 35 (2002),341–353. <[https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(02\)00020-4](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(02)00020-4)>.

[18] A.K. Deisingh, D.C. Stone, M. Thompson. Applications of electronic noses and tongues in food analysis. **Int J Food Sci Tech**, 39 (2004), 587–604, <<http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00821.x>>.

[19] L. H. C. Mattoso et al. An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline. **Synthetic Metals**, 132(2002) 109–116.

- [20] L.G. Paterno, L.H.C. Mattoso, O. N. Oliveira. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: Preparação, propriedades e aplicações. **Quím. Nova**, 24 (2001), 228–235.
- [21] J.D. Silva, S. Prudencio, M.C. Panizzi, C. Gregorut, F. Fonseca, L.H. Mattoso. Study on the flavour of soybean cultivars by sensory analysis and electronic tongue. **Int J Food Sci Tech**, 47 (2012), 1630-1638, <<http://doi.10.1111/j.1365-2621.2012.03013.x>>.
- [22] K. Toko, A taste sensor. **Meas. Sci. Technol**, 9, (1998), 1919, <<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-0233/9/12/001>>.
- [23] V. P. Scagion, L. A. Mercante, K. Y. Sakamoto, J.E. Oliveira, F. J. Fonseca, L. H. C. Mattoso, M.D. Ferreira, D. S. Correa. An electronic tongue based on conducting electrospun nanofibers for detecting tetracycline in milk samples. **RSC Advances**, 6(2016) 103740–103746, <<http://dx.doi.org/10.1039/C6RA21326J>>.
- [24] S. Buratti, N. Sinelli, E. Bertone, A. Venturello, E. Casiraghi, F. Geobaldo. Discrimination between washed Arabica, natural Arabica and Robusta coffees by using near infrared spectroscopy, electronic nose and electronic tongue analysis. **J Sci Food Agric** 95(2015)2192–2200, <<https://doi.10.1002/jsfa.6933>>
- [25] H. Yu, Z. Yan, X. Chunhua, T. Huaixiang. Discrimination of wine age of Chinese rice wine by electronic tongue based on amino acid profiles. **T Chin Soc of Agr Eng**. 33,(2017), 297-302.
- [26] R. Zhi, L. Zhao, D. Zhang. A Framework for the Multi-Level Fusion of Electronic Nose and Electronic Tongue for Tea Quality Assessment. **Sensors**, 17 (2017), 1007, <<http://doi:10.3390/s17051007>>
- [27] A. R. Jr. Dantas, A.R. Cleber, C. M. Miyazaki, O. N. Oliveira. Recent advances in electronic Tongues. **Analyst**, 135(2010) 2481–2495, <<https://doi.10.1039/C0AN00292E>>.
- [28] A. J. Lakade; K. Sundar; P. H. Shetty. Nanomaterial-based sensor for the detection of milk spoilage. **Food Sci. Technol** . 75 (2017), 702-709.
- [29] T. Lee, S. H. Min, M. Gu, Y.K. Jung, W. Lee, J. U. Lee, D. G. Seong, B.S.Kim. Layer-by-Layer Assembly for Graphene-Based Multilayer

Nanocomposites: Synthesis and Applications. **Chem. Mater.** 27 (2015) 3785–3796.

[30] H. Li; S. Pang; S. Wu; X. Feng; K. Müllen; C. Bubeck. Layer-by-Layer Assembly and UV Photoreduction of Graphene–Polyoxometalate Composite Films for Electronics. **J. Am. Chem. Soc.**, 133 (2011), 9423–9429, <[http://DOI: 10.1021/ja201594k](http://doi.org/10.1021/ja201594k)>

[31] L. Cui; P. Tao; L. Ying; H. Xingquan. Layer-by-layer construction of graphene/cobalt phthalocyanine composite film on activated GCE for application as a nitrite sensor. **Electrochim Acta**, 88 (2013)559– 564, <<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.10.127>>.

[32]L. H. C. Mattoso. Polyanilines: Synthesis, structure and properties. **Quim Nova**. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1996VN48600010>, 1996.

[33] H. M. Facure, L.A. Mercante, L.H.C. Mattoso, D.S. Corrêa. Detection of trace levels of organophosphate pesticides using an electronic tongue based on graphene hybrid nanocomposites. **Talanta**,167(2017) 59–66, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2017.02.005>>.

[34] R. S. Andre, F. M. Shimizu, C.M. Miyazak, A. Riul Jr,D. Manzani, S. J.L. Ribeiro, O. N. Oliveira Jrc, L. H.C. Mattoso,D. S. Correa. Chemical Hybrid layer-by-layer (LbL) films of polyaniline, graphene oxide and zinc oxide to detect ammonia. **Sensor Actuat B-Chem**, 238 (2017)795–801, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.07.099>>.

[35] V.Zucolotto, M Ferreira, M. R. Cordeiro, C.J.L. Constantino, W.C. Moreira, O.N. Oliveira Jr. Nanoscale processing of polyaniline and phthalocyanines for sensing applications. **Sensor Actuat B-Chem**, 113 (2006) 809–815 <<https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.03.114>>.

[36] W.S.Hummers, R.E.Offeman. Preparation of Graphitic Oxide. **J Am Chem Soc**, 80(1958) 1339–1339, <<https://doi.org/10.1021/ja01539a017>>.

[37] J. Chen, B. Yao, C. Li, G. Shi. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. **Carbon**. 64 (2013), 225–229. <<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2013.07.055>>.

- [38] N.R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy. Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio, **Chem. Commun.**, 7 (2001), 617–618, <[http://doi: 10.1039/b100521i](http://doi:10.1039/b100521i)>.
- [39] D. S. Correa, E. S. Medeiros, J. E. Oliveira, L. G. Paterno, Luiz H. C. Mattoso. Nanostructured Conjugated Polymers in Chemical Sensors: Synthesis, Properties and Applications. **J. Nanosci. Nanotechnol.** 14(2014) 6509–6527. <[http:// doi:10.1166/jnn.2014.9362](http://doi:10.1166/jnn.2014.9362)>.
- [40] A. Manzoli, F. M. Shimizu, L. A. Mercante, E. C. Paris, O. N. Oliveira Jr., D. S. Correa, L.H. C. Mattoso. Layer-by-layer fabrication of AgCl – PANI hybrid nanocomposite films for electronic tongues. **PCCP Phys Chem Ch Ph.** 16(2014) 242724281, <<http://dx.doi.org/10.1039/c4cp04150j>>.
- [41] L. M. P. C. Centurion, W.C. Moreira, V. Zucolotto. Tailoring Molecular Architectures with Cobalt Tetrasulfonated Phthalocyanine: Immobilization in Layer-by-Layer Films and Sensing Applications. **J Nanosci Nanotechnol.**, 12(2012) 2399–2405, <<https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5782>>.
- [42] P. Alessio, C. S. Martin, J.A. de Saja, M. L.R. Mendez. Sensors and Actuators B: Chemical Mimetic biosensors composed by layer-by-layer films of phospholipid, phthalocyanine and silver nanoparticles to polyphenol detection. **Sensor Actuat B-Chem.**, 233(2016) 654–666, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.139>>.
- [43] D. M. Taylor, A.G. Macdonald. AC admittance of the metal / insulator / electrolyte interface. **J. Phys. D: Appl. Phys.** 20(1987)1277–1283. <<http://iopscience.iop.org/0022-3727/20/10/010>>.
- [44] A.M. de Souza, R. J. Poppi. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte i. **Quim.Nova**, 35(2012)223–229, <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000100039>>.
- [45] C.A. Nunes, V.R. Souza, J.F. Rodrigues, A.C.M. Pinheiro, M.P. Freitas, S.C. Bastos. Prediction of consumer acceptance in some thermoprocessed food by physical measurements and multivariate modeling. **J Food Process Preserv.** (2017)1–7, <[http://DOI: 10.1111/jfpp.13178](http://DOI:10.1111/jfpp.13178)>.
- [46] M. Ringner. What is principal component analysis? **Nat Biotechnol.** 26(2008), 303–304, <<http://dx.doi.org/10.1038/nbt0308-303>>

- [47] N.B. McKeown, **Phthalocyanine Materials. Synthesis, Structure and Function**. Cambridge University Press, Cambridge, (1998) 193.
- [48] C.C. Leznoff, A.B.P. Lever. Phthalocyanines Properties and Applications, **VCH Publishers**, 4(1996), 481-514.
- [49] P.Bertoncello, M.Peruffo. An investigation on the self-aggregation properties of sulfonated copper (II) phthalocyanine (CuTsPc) thin films. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*.321 (2008) 106–112, <<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.01.054>>.
- [50] Y.P. Dong, Y.Zhou , Y.Ding , X. F. Chu, C. M. Wang. Analytical Methods polyaniline / graphene modified electrode using. **Anal Methods** ,6 (2014) 9367–9374, <<http://dx.doi.org/10.1039/C4AY01908C>>.
- [51] J. Zhang, H. Yang, G. Shen, P. Cheng, J. Zhang, S. Guo. Reduction of graphene oxide via L -ascorbic acid. **Chem. Commun**, 46 (2010), 1112-1114.
- [52] L.A. Mercante, V.P. Scagion, A. Pavinatto, R.C. Sanfelice, L.H. C. Mattoso, D. S. Correa. Electronic Tongue Based on Nanostructured Hybrid Films of Gold Nanoparticles and Phthalocyanines for Milk Analysis. **J. of Nanomaterials**, 2015 (2015), <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/890637>>.
- [53] C. Berríos, G. I. Cárdenas-Jirón, J. F. Marco, C. Gutiérrez, M.S. Ureta-Zañartu. Theoretical and Spectroscopic Study of Nickel (II) Porphyrin Derivatives. **J. Phys. Chem.** (2007)2706–2714. <<https://doi.10.1021/jp0653961>>.
- [54] E. Podstawka, M. S'wiatłowska, E. Borowiec, L. M. Proniewicz. Food additives characterization by infrared, Raman, and surface-enhanced Raman spectroscopies. **J. Raman Spectrosc.** 38 (2007) 356–363. <<https://doi.10.1002/jrs.1653>>.
- [55] K.Jyoti, M. Baunthiyal,A.Singh. Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, 9(2015) 217–227, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.10.002>>.1368228062>.
- [56] S.D. Paul. Nanotechnology: Past, Present and Future Trends. **Current Nanomedicine**, 7(2017) 3–4.
- [57] F. Lorestani, P. Mn, Y. Alias, N.S.A. Manan. One-step hydrothermal green

synthesis of silver nanoparticle-carbon nanotube reduced-graphene oxide composite and its application as hydrogen peroxide sensor. **Sensor Actuat B-Chem**, 208(2015) 389–398, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.074>>.

[58] Y. Yang, Q. Chen, C. Shen, S. Zhang, Z. Gan, R. Hu, J. Zhao, Y. Ni Evaluation of monosodium glutamate, disodium inosinate and guanylate umami taste by an electronic tongue. **J. Food. Eng.** 3 (2013) 627–632.