

BACTERIA DISCRIMINATION AND CLASSIFICATION BY USING AN ELECTRONIC NOSE AND TONGUE FOR MILK QUALITY CONTROL

DISCRIMINACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE BACTERIAS USANDO UNA NARIZ Y LENGUA ELECTRÓNICA PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE

PhD (c). Jeniffer Katherine Carrillo Gómez*, PhD. Cristhian Manuel Durán Acevedo*, PhD. Ramon Ovidio Garcia Rico**

*Universidad de Pamplona, Facultad de ingenierías y arquitectura, Grupo de investigación GISM.
E-mail: jeniffer.carrillo@unipamplona.edu.co, cmduran@unipamplona.edu.co

**Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de investigación GIMBIO.
E-mail: ovidio.garcia@unipamplona.edu.co

Abstract: This article shows the development of a methodology for the discrimination and classification in pasteurized milk of three most important species of the *Enterobacteriaceae* family, such as: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica*, through alternative instrumental methods such as: Electronic Nose and Tongue. To carry out the tests, a set of milk samples were contaminated with each of the bacterial strains under study at a final concentration of 1×10^6 CFU / ml. The discrimination of the milk samples was carried out through pattern recognition methods and artificial intelligence, obtaining a 94.7% of accuracy in classifying the measurements through Vector Support Machines (SVM) by using the electronic nose. On the other hand, with the electronic tongue and applying Linear Discriminant Analysis (LDA) by using the gold electrode (220AT), the classification of the bacteria was 92.5% of success rate in the data set, achieving a very similar response with both methods. The results showed that the proposed methodology allowed the discrimination and classification of bacteria in milk among contaminated and uncontaminated samples.

Keywords: E-nose, E-tongue, milk quality control, pattern recognition, machine learning

Resumen: El presente artículo muestra el desarrollo de una metodología para la discriminación y clasificación en leche pasteurizada, de tres especies de la familia Enterobacteriaceae de mayor importancia, como son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enterica*, a través de métodos instrumentales alternativos como: Nariz Electrónica y Lengua Electrónica. Para la realización de los ensayos se preparó un conjunto de muestras de leche que fueron contaminadas con cada una de las cepas bacterianas objeto de estudio a una concentración final de 1×10^6 CFU/ml. La discriminación de las muestras de leche se realizó a través de métodos de reconocimiento de patrones e inteligencia artificial, alcanzando un 94.7 % de acierto en la clasificación de las medidas a través de Máquinas de Soporte Vectorial (SVM) mediante la nariz electrónica. Por otro lado, con la lengua electrónica y aplicando Análisis Discriminante Lineal (LDA) usando el electrodo de oro (220AT) la clasificación de las bacterias fue del 92.5 % de acierto en el conjunto de datos, obteniendo una respuesta muy similar con ambos métodos. Los resultados demostraron que la metodología propuesta permitió la discriminación y clasificación de bacterias en la leche entre las muestras contaminadas y las muestras sin contaminar.

Palabras clave: E-nose, E-tongue, control de calidad de la leche, reconocimiento de patrones, aprendizaje automático

1. INTRODUCCION

Según la Organización Mundial de la Salud, actualmente en el mundo, se estima que una de cada diez personas se enferma después de consumir alimentos contaminados y que 420 mil personas mueren cada año, siendo los niños menores de 5 años los más afectados, con 125 mil muertes anuales que corresponden a un 40% de las cifras (Inocuidad de Los Alimentos, 2020; OMS, 2016). Por tanto, la detección de patógenos se ha convertido en una de las prioridades para la industria láctea, ya que sus productos alimenticios son consumidos por un amplio sector de la población, incluyendo niños de edades muy tempranas (Bari & Yeasmin, 2018).

Actualmente, la principal estrategia para efectuar la vigilancia de las condiciones higiénicas en la producción de leche y sus derivados, es el uso de microorganismos indicadores; y en ese sentido, el grupo más usado es el de los coliformes (Martin et al., 2016). De este grupo, y debido a su origen intestinal, la bacteria considerada como indicador de contaminación fecal es *Escherichia coli* (Metz et al., 2020). En el grupo de los coliformes también se incluye el género *Klebsiella*, que a diferencia de *E. coli*, es considerado como coliforme ambiental. De hecho, la familia Enterobacteriaceae incluye un grupo de bacterias de enorme relevancia por su capacidad patógena y su prevalencia en leche y productos lácteos (Anand & Griffiths, 2011).

Los análisis microbiológicos en la leche son una práctica estándar para garantizar la seguridad y la calidad del producto; sin embargo, detectar la presencia de microorganismos en la leche antes de que puedan multiplicarse exponencialmente no es nada fácil. Actualmente los métodos tradicionales para la detección de bacterias en alimentos, están basados en el crecimiento de las cepas bacterianas en medios de cultivo sólido, lo cual demanda insumos, una infraestructura específica, un tiempo que puede variar de 1 a 3 días para los resultados iniciales, e incluso puede ser mayor para llegar a confirmar microorganismos patógenos específicos siendo, incapaces para aplicaciones “in-situ” en tiempo real, lo que implica que se genere un interés en el desarrollo de nuevas tecnologías que puedan evitar la propagación de enfermedades infecciosas generadas por la presencia de microorganismo, en especial *E. Coli*, en la leche destinada para el consumo humano.

Haciendo una revisión bibliográfica de las técnicas más prometedoras, encontramos que la implementación de una matriz de sensores de gases (Nariz electrónica) y sensores electroquímicos (lengua electrónica), pueden

lograr una detección rápida ya que en comparación con las demás técnicas, no requieren de laboratorios especializados con equipamiento y personal calificado, ni de complicados pasos para la preparación de las muestras (Adley, 2014), adicionalmente, tienen el potencial para ser usados, en el futuro, como dispositivos alternativos para el monitoreo en tiempo real (Poghossian et al., 2019).

Las narices electrónicas (E-Nose) tienen amplias aplicaciones en el monitoreo del procesamiento relacionado con el olor. Partiendo que el olor es uno de los parámetros más importantes para evaluar la frescura de los alimentos, basándose en que cada producto tiene definido un perfil característico de compuestos orgánicos volátiles y que del mismo modo el deterioro dará un perfil diferente pero aun característico del alimento. Por ejemplo, algunas bacterias en la leche producen COVs tales como el butirato de etilo, el acetaldehído, el ácido acético, el etanol, etc., que pueden usarse como un indicador del crecimiento de bacterias y, por lo tanto, como marcadores para la detección temprana del deterioro de la leche (Poghossian et al., 2019).

Dentro de las investigaciones en el sector lácteo incluyen: la clasificación de la leche por marca registrada y tipo, determinación del sabor desagradable en la leche UHT, predicción de la vida útil de la leche, control de frescura y diferenciación de especies microbianas causantes de deterioro, adulteración de leche desnatada con agua o leche desnatada en polvo reconstituida, etc (Yu et al., 2007; Baldwin et al., 2011; Casalnuovo et al., 2006; Kalit et al., 2014).

En cuanto al uso de la lengua electrónica (E-Tongue) se destacan aplicaciones en el sector agroalimentario (Vagin et al., 2016; Titova & Nachev, 2020; Jiang et al., 2018; Wang & Liu, 2019). Por ejemplo, Zhenbo Wei, 2017, usaron una lengua electrónica voltamétrica para monitorear los procesos de fermentación, post-madurez y almacenamiento del yogurt (Wei et al., 2017), también se ha usado para la evaluación del sabor, frescura, monitoreo del crecimiento microbiano, detección de adulteración de la leche (Dias et al., 2009), discriminación entre la leche natural, fermentada y UHT (Tazi et al., 2018; Ciosek & Wróblewski, 2008), calidad y el tiempo de almacenamiento de la leche pasteurizada sin sellar (Wei et al., 2013) y discriminación de la leche adulterada con urea, formaldehído y melamina (Bueno et al., 2014).

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, tanto la E-Nose y E-Tongue son herramientas de medida muy prometedoras para evaluar el

deterioro de los alimentos (Ghasemi-Varnamkhasti et al., 2018) entre otras aplicaciones (Monsalve & Durán, 2015), (Díaz, et al, 2017). En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo principal desarrollar una metodología novedosa para una rápida detección de bacterias de importancia en la industria láctea como lo son: *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 27736™) y *Salmonella enterica* (ATCC® 31194™).

2. METODOLOGÍA

2.1 Preparación de las muestras

Las bacterias empleadas en esta investigación se cultivaron en agar nutritivo a 37 °C / 24 h. A partir de estos cultivos se prepararon 10 ml de una suspensión bacteriana en viales con agua esterilizada y con una concentración aproximada de 3×10^8 UFC / ml usando para ello el patrón de McFarland No. 1. Esta suspensión se diluyó 300 veces (1/300) a un volumen final de 300 ml en leche pasteurizada, previamente esterilizada, obteniendo una concentración final de 1×10^6 CFU/ml. Este procedimiento se llevó a cabo para cada cepa bacteriana generando tres erlenmeyers con leche, cada uno inoculado con: *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 27736™) y *Salmonella enterica* (ATCC® 31194™). Adicionalmente, se preparó un erlenmeyer con leche estéril, que fue usado como control negativo en los análisis.

2.2 E-Nose y E-Tongue

La Fig. 1 presenta cada una de las etapas que se llevaron a cabo para el desarrollo e implementación de los sistemas de percepción sensorial para realizar las pruebas experimentales.

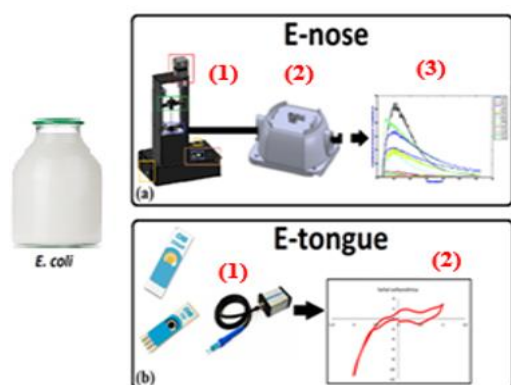


Fig. 1. Esquema general de la metodología implementada. a) Nariz electrónica, b) Lengua electrónica.

Las pruebas fueron realizadas en el laboratorio de microbiología del grupo de investigación GIMBIO de la Universidad de Pamplona.

2.2.1 Nariz electrónica

La Figura 1(a) describe la secuencia usada para la realización de las muestras usando una nariz electrónica. Con el objetivo de aumentar la concentración de analitos presentes en las muestras de leche fue necesario realizar un acondicionamiento de estas mediante un sistema de espacio de cabeza estático (1) que se basó en el control de temperatura de una resistencia de calentamiento y el funcionamiento de un motor paso a paso para el control automático del inyector. La temperatura de la cápsula calefactora fue regulada por un controlador proporcional, integral y derivativo (PID) de tipo discreto implementado en una tarjeta de adquisición de datos de bajo costo (Arduino Mega, 2560). Por otro lado, en un vial de 20 ml se adicionaron 10 ml de muestra el cual se calentaron a 50°C durante 10 minutos para generar los compuestos volátiles. Una vez alcanzado el tiempo y la temperatura de incubación, las muestras se extrajeron mediante el encendido de una electrobomba y luego se trasladaron a una cámara de equipada con una matriz de 16 sensores comerciales de óxidos metálicos con sensibilidades superpuestas (2). A continuación, en la tabla 1 se describe los 16 sensores gases de óxidos metálicos, Taguchis de la empresa FÍGARO sensor.

Tabla 1: Lista de sensores que componen la matriz de sensores de la nariz electrónica.

No	Sensor	Aplicación	Detección
1	TGS 826	Detección de gas tóxico	Amonio
2	TGS 831	Detección de Halocarbon	R-22 Monoclorodifluorometano
3	TGS 821	Gases combustibles	Hidrogeno
4	TGS 826	Detección de gas tóxico	Amonio
5	TGS 842	Detección de gas combustible	Gas natural metano
6	TGS 880	Cooking control	Smoke of the food (Alcohol, odour)
7	TGS 825	Toxic gas detection	Hydrogen sulphide
8	TGS 813	Combustible gas detection	Hydrocarbons in general
9	TGS 800	Air quality monitoring	Air pollutants in general

10	TGS 880	Cooking control	Smoke of the food (Alcohol, odour)
11	TGHS 822	Solvent vapour detection	Alcohol and organic solvents
12	TGS 821	Combustible gas detection	Hydrogen
13	TGS 832	Halocarbons gas detection (refrigerant gases)	R-134a 1,1,1,2-Tetrafluoroethane
14	TGS 842	Combustible gas detection	Methane and natural gas
15	TGS 831	Halocarbons gas detection (refrigerant gases)	R-22 Monochlorodifluoromethane
16	TGS 830	Halocarbons gas detection (refrigerant gases)	R-22 Monochlorodifluoromethane

2.2.2 Lengua electrónica

En la Figura 1(b) se observan las diferentes etapas para realizar la lengua electrónica, que consta de un potenciostato portátil (1) μ STAT200 fabricado por la empresa Dropsens con electrodos impresos en carbón: C110 y electrodos de oro: 220AT. Para configurar el potenciostato se utilizó el software DropView 200, donde se aplicó la técnica de voltamperometría cíclica con los siguientes parámetros: Ebegin: 0, indica el potencial donde comienza el escaneo, Evtx1: -2 (Voltios) es el potencial donde invierte la dirección del escaneo, Evtx2: +1 (Voltios) es el potencial donde la dirección de escaneo se invierte nuevamente o donde el escaneo se detiene (sí Evtx2 = Ebegin), Srate (V / s): 0.5, tiempo de escaneo y nscans: 1, número de escaneos.

El rango actual se ubicó en modo automático. Es importante destacar que se seleccionó una corriente más alta cuando la corriente excedió 2 veces la corriente aplicada. Así mismo, se seleccionó una corriente más baja cuando la corriente medida llegó a menos de 0.05 veces el rango de corriente aplicado.

Los rangos de corriente seleccionables se especifican en la pestaña "Método".

Tabla 2: Características de los sensores utilizados en las diferentes pruebas.

Sensor	DRP-220AT (Gold)	DRP-C110 (Carbon)
Electrical Contact	Silver	Silver
Electrodo de trabajo	Oro	Carbono
Counter Electrode	Oro	Carbono
Reference Electrode	Silver	Silver

2.2.3 Procesamiento de datos

El procesamiento de datos fue realizado inicialmente extrayendo los parámetros estáticos de las señales adquiridas, donde posteriormente se aplicaron dos métodos de normalización con el fin de reducir la magnitud de las variables, estos son normalmente llamados "Meancentring" y "Autoscaling". La discriminación de medidas fue realizada mediante el método de Análisis de Componentes Principales (PCA) y por otro lado para la clasificación de las medidas fue aplicado el método de Análisis de funciones discriminantes (LDA).

Las muestras fueron clasificadas por medio de máquinas de soporte vectorial (SVM) y el método de vecinos cercanos (K-NN), aplicando las técnica de validación cruzada k-fold (k=5) el cual fue aplicado para determinar el porcentaje de clasificación de cada uno de los clasificadores.

Por otro lado el gráfico boxplot fue aplicado a las variables usadas tanto por la E-Nose y la E-Tongue, llegando a evidenciar el mejor comportamiento de dicha variable ante la discriminación de las medidas de las bacterias y leche estéril. La matriz de confusión fue determinante para verificar la exactitud del algoritmo y el porcentaje de acierto en la clasificación de las medidas.

3. RESULTADOS

A continuación, se describen los resultados obtenidos a partir de las pruebas realizadas.

Nariz Electrónica:

Primero consideramos los resultados obtenidos de las muestras que fueron procesadas con la nariz electrónica. La Fig. 2 presenta el resultado del análisis PCA obteniendo una varianza entre los dos scores del 86.69 %. En el score PC1 se obtiene una mayor representación de las concentraciones de leche donde los clusters de *Salmonella* y *E. Coli* se discriminan muy cerca del uno al otro llegando a concluir similitudes entre las dos clases. Sin embargo, se logran discriminar claramente dichas clases. Es importante resaltar que dos medidas erróneas o outliers fueron descartadas del grupo de las 40 medidas.

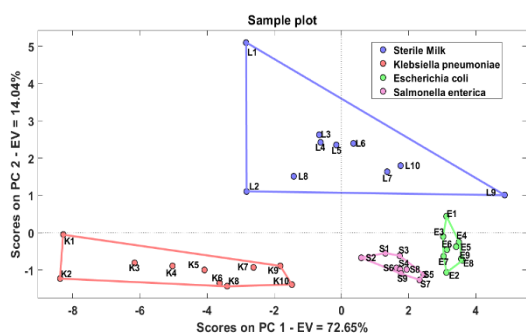


Fig. 2. Gráfica de scores para el análisis PCA usando la E-nose

En la Fig. 3 se observa el comportamiento de las clases para la variable o sensor 1 (TGS 826) aplicando el gráfico Boxplot, donde se ve claramente las diferencias entre clases de bacterias y la leche estéril.

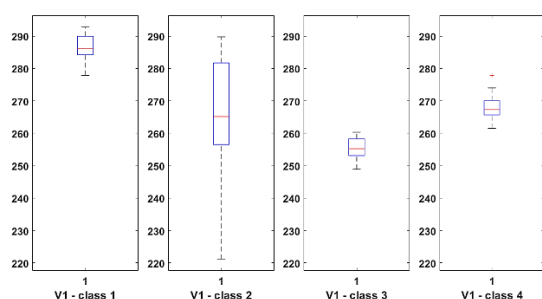


Fig. 3. Gráfica de Boxplot para el análisis de las muestras usando el sensor 1 (TGS 826)

Para la clasificación de las medidas se utilizó el clasificador SVM el cual obtuvo una tasa de acierto de 94.7 % con el método de validación cruzada y un k-fold = 5. Las clases están representadas como: 1) Leche estéril, 2) Klebsiella, 3) E. coli, y 4) Salmonella. (Ver Fig. 4)

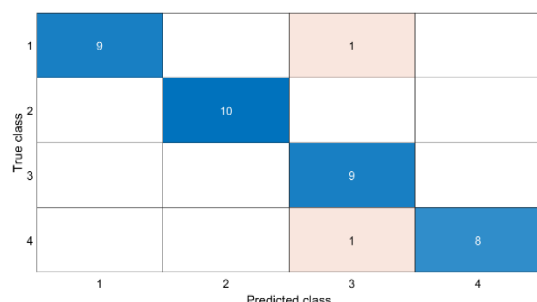


Fig. 4. Matriz de confusión obtenida del clasificador SVM para la clasificación de bacterias

Lengua Electrónica:

El procesamiento con la lengua electrónica se realizó teniendo en cuenta dos características de la señal voltamétrica obtenida por los electrodos serigrafados tanto de carbono (C110) y de oro (220AT). Las características corresponden al

valor máximo y mínimo extraído de la señal junto con el valor final e inicial del voltagrama. Los valores de las dos características fueron adquiridas con el fin de obtener una mejor información relevante del conjunto de datos.

Sensor de carbono:

En la Fig. 5 se observa la discriminación de las diferentes categorías de bacterias y las muestras de leche estéril. Con un 99.66 % de la varianza total en el PC1 se logran discriminar las bacterias *E. coli* y *Salmonella* con buena repetitividad entre las muestras y selectividad entre las categorías. Sin embargo, la bacteria *Klebsiella* presenta una leve dispersión de las muestras llegando a estar cerca a *E. coli*.

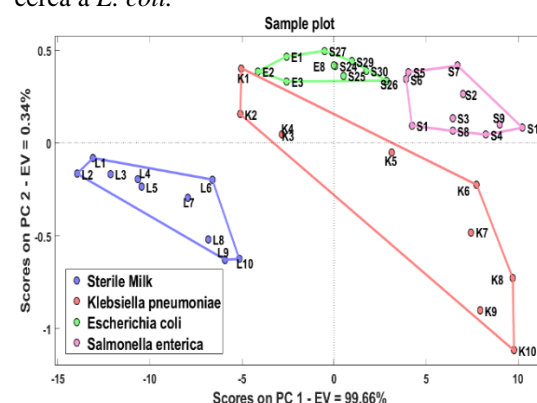


Fig. 5. Gráfica de scores para el análisis PCA usando el electrodo de carbón

En la gráfica Boxplot (Fig. 6) se ilustra al igual que la E-nose la distribución de las clases usando el electrodo de carbono (C110), donde se ve claramente las diferencias entre clases de bacterias y la leche estéril. En la clase 2 (*Klebsiella*) se observan valores atípicos más altos lo que conlleva a la dispersión de las muestras.

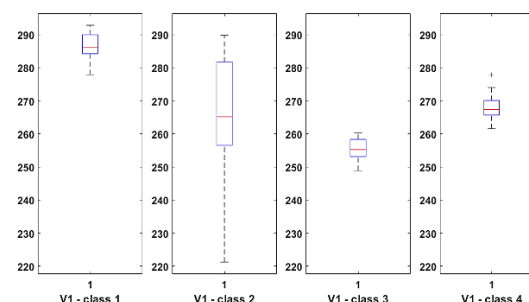


Fig. 6. Boxplot para el análisis de las muestras usando el electrodo de carbono

En la Fig. 7 se observa la matriz de confusión para la clasificación de las medidas utilizando los clasificadores de LDA y K-NN, los cuales obtuvieron tasas de acierto de 87.5 % con el método de validación cruzada con k-fold = 5 y 10. Es de notar que la clasificación obtenida para este

caso se tuvo 5 errores a comparación de la E-nose donde solo se obtuvieron 2 muestras sin clasificar.

True class	Predicted class			
	1	2	3	4
1	10			
2		7	3	
3			9	1
4			1	9

Fig. 7. Matriz de confusión obtenida de los clasificadores LDA y K-NN con el electrodo C110 para la clasificación de bacterias y leche

Sensor de Oro:

De la misma forma realizada para el electrodo serigrafiado C110, en la Fig. 8 se observa la discriminación de las diferentes categorías de bacterias y leche estéril, donde un 100 % de la varianza total en los dos PC's fue obtenido, llegando a diferenciar las bacterias en relación a la repetitividad y selectividad entre categorías. De igual forma al sensor de carbono, la bacteria *Klebsiella* presentó una dispersión de las muestras llegando a estar cerca a *E. coli*.

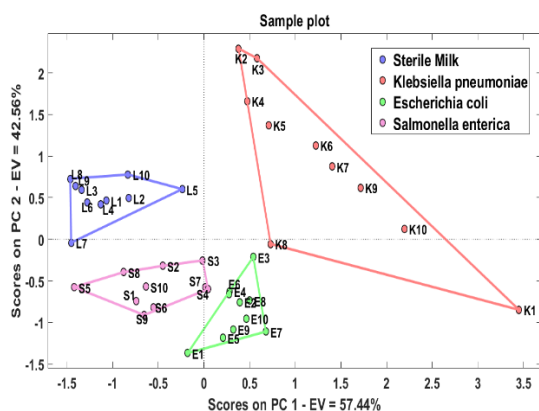


Fig. 8. Gráfica de scores para el análisis PCA usando el electrodo de oro

En la gráfica Boxplot se ilustra al igual que la E-nose la distribución de las clases usando el electrodo de oro (220AT) aplicando el gráfico Boxplot, donde se ve claramente las diferencias entre clases de bacterias y la leche estéril. En la clase 2 (*Klebsiella*) se observan valores atípicos más altos lo que conlleva la dispersión de las muestras.

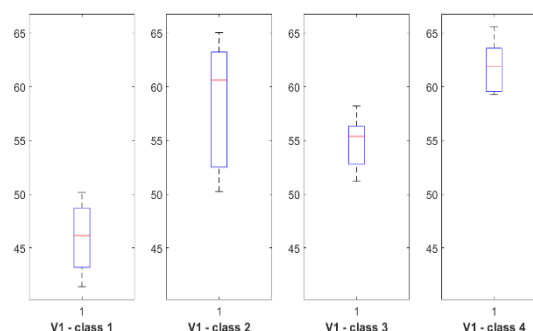


Fig. 9. Boxplot para el análisis de las muestras usando el electrodo de carbono

Para la clasificación de las medidas se utilizó el clasificador LDA el cual obtuvo una tasa de acierto de 92.5 % con el método de validación cruzada y un k-fold = 5. Es de notar que la clasificación realizada en este caso obtuvo 3 errores (ver Fig. 10) a comparación del electrodo de carbono el cual falló en la clasificación de 5 muestras.

True class	Predicted class			
	1	2	3	4
1	10			
2		8	2	
3			10	
4			1	9

Fig. 10. Matriz de confusión obtenida del clasificador LDA con el sensor de oro (220AT) para la clasificación de bacterias y leche

La nariz electrónica mostró una elevada capacidad de discriminación entre las bacterias ensayadas; no solamente por la clara separación entre las mismas y con respecto a la leche estéril, sino porque el resultado del PCA y SVM permiten inferir que existe una relación más cercana entre las cepas de *E. coli* y *S. enterica* que con respecto a *K. pneumoniae*. Este resultado se ve respaldado por diversos estudios de inferencia filogenética basada en secuencias de ácidos nucleicos (RNA ribosomal 16S y otros), que se han realizado en la familia *Enterobacteriaceae* (Paradis S et al., 2005; Baumler DJ et al., 2013; Hata H et al., 2016). Tal y como lo muestra la Fig.11, en efecto, existe una evidente cercanía evolutiva entre los géneros *Escherichia* y *Salmonella*, mientras que el género *Klebsiella* muestra una mayor distancia filogenética. Lo anterior puede resaltarse como uno de los resultados más interesantes de este trabajo.

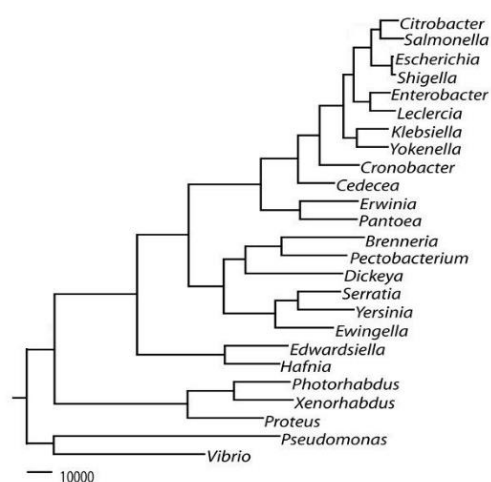


Fig.11. Reconstrucción de la relación filogenética de la familia enterobacteriaceae. (Tomado de Baumler DJ, Ma B, Reed JL and Perna NT 2013).

De otra parte, el uso de la lengua electrónica produjo resultados satisfactorios, tanto con el sensor de carbono como con el de oro. Sin embargo, el uso del sensor de oro generó unos datos más consistentes y con una distribución más parecida a lo observado con la nariz.

4. CONCLUSIONES

El uso de la E-nose y la E-tongue permitió clasificar de manera clara y efectiva la presencia de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. entérica* en leche pasteurizada, obteniendo una buena discriminación y clasificación de dichas bacterias frente a la leche estéril. Además, el procedimiento permitió evidenciar la estrecha relación filogenética que existe entre *E. coli* y el género *Klebsiella* ya que fue donde hubo mayor solapamiento entre las medidas.

A través del uso del método de reconocimiento de patrones (PCA) y clasificadores (LDA, K-NN y SVM) se obtuvo para el caso de la E-nose un porcentaje de varianza del 86.69%, sin embargo, los mejores resultados fueron obtenidos con la E-tongue llegando a un 99.96% de discriminación con el sensor de carbono y un 100% con el sensor de oro. No obstante el uso y la implementación de estas nuevas técnicas demuestran su potencial a la hora de detectar y clasificar varias especies bacterias de la leche estéril.

REFERENCIAS

Día Mundial de la Inocuidad de los Alimentos 2020 - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. (n.d.). Retrieved July 10, 2020, from

<https://www.paho.org/es/campañas/dia-mundial-inocuidad-alimentos-2020>

Bari, M. L., & Yeasmin, S. (2018). Foodborne Diseases and Responsible Agents. In Food Safety and Preservation (pp. 195–229). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814956-0.00008-1>

Martin, N. H., Trmčić, A., Hsieh, T.-H., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The Evolving Role of Coliforms As Indicators of Unhygienic Processing Conditions in Dairy Foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(SEP), 1549.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549>

Metz, M., Sheehan, J., & Feng, P. C. H. (2020). Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses – A literature review. In *Food Microbiology* (Vol. 85, p. 103283). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103283>

Anand SK & Griffiths MW. (2011). Pathogens in Milk: Enterobacteriaceae. 10.1016/B978-0-12-374407-4.00270-3. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp.67-71) Elsevier Ltd. All rights reserved.

Adley, C. (2014). Past, Present and Future of Sensors in Food Production. *Foods*, 3(3), 491–510. <https://doi.org/10.3390/foods3030491>

Poghossian, A., Geissler, H., & Schöning, M. J. (2019). Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection. In *Biosensors and Bioelectronics* (Vol. 140, p. 111272). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.04.040>

Yu, H., Wang, J., & Xu, Y. (2007). Identification of Adulterated Milk Using Electronic Nose. In *Sensors and Materials* (Vol. 19, Issue 5).

Baldwin, E. A., Bai, J., Plotto, A., & Dea, S. (2011). Electronic Noses and Tongues: Applications for the Food and Pharmaceutical Industries. *Sensors*, 11(5), 4744–4766. <https://doi.org/10.3390/s110504744>

Kalit, M. T., Marković, K., Kalit, S., Vahčić, N., & Havranek, J. (2014). Primjena elektronskog nosa i elektronskog jezika u mljekarskoj industriji. *Mljekarstvo*, 64(4), 228–244. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2014.0402>

Vagin, M. Y., Eriksson, M., & Winqvist, F. (2016). Drinking Water Analysis Using Electronic Tongues. *Electronic Noses and Tongues in Food Science*, 255–264. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800243-8.00025-1>

- Titova, T., & Nachev, V. (2020). "Electronic tongue" in the Food Industry. *Food Science and Applied Biotechnology*, 3(1), 71. <https://doi.org/10.30721/fsab2020.v3.i1.74>
- Yu, H., Wang, J., & Xu, Y. (2007). Identification of Adulterated Milk Using Electronic Nose. In *Sensors and Materials* (Vol. 19, Issue 5).
- Wei, Z., Zhang, W., Wang, Y., & Wang, J. (2017). Monitoring the fermentation, post-ripeness and storage processes of set yogurt using voltammetric electronic tongue. *Journal of Food Engineering*, 203, 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.01.022>
- Wei, Z., Wang, J., & Zhang, X. (2013). Monitoring of quality and storage time of unsealed pasteurized milk by voltammetric electronic tongue. *Electrochimica Acta*, 88, 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.10.042>
- Dias, L. A., Peres, A. M., Veloso, A. C. A., Reis, F. S., Vilas-Boas, M., & Machado, A. A. S. C. (2009). An electronic tongue taste evaluation: Identification of goat milk adulteration with bovine milk. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 136(1), 209–217. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.09.025>
- Tazi, I., Triyana, K., Siswanta, D., Veloso, A. C. A., Peres, A. M., & Dias, L. G. (2018). Dairy products discrimination according to the milk type using an electrochemical multisensor device coupled with chemometric tools. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2385–2393. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9855-8>
- Ciosek, P. (2016). Milk and Dairy Products Analysis by Means of an Electronic Tongue. In *Electronic Noses and Tongues in Food Science* (pp. 209–223). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800243-8.00021-4>
- Bueno, L., de Araujo, W., Salles, M., Kussuda, M., & Paixão, T. (2014). Voltammetric Electronic Tongue for Discrimination of Milk Adulterated with Urea, Formaldehyde and Melamine. *Chemosensors*, 2(4), 251–266. <https://doi.org/10.3390/chemosensors2040251>
- Ghasemi-Varnamkhasti, M., Apetrei, C., Lozano, J., & Anyogu, A. (2018). Potential use of electronic noses, electronic tongues and biosensors as multisensor systems for spoilage examination in foods. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 80, pp. 71–92). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.018>
- Gómez, P., Durán, C. (2015), Data acquisition from an array of gas sensors (e-nose), through xbee communications modules, *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, Volumen 2(26), 68-73.
- Rios Y, Durán A, C Matha, (2014), Meads discrimination through an electronic tongue, *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, 1(23), 1-8.
- Hata H et al., 2016 Phylogenetics of family Enterobacteriaceae and proposal to reclassify *Escherichia hermannii* and *Salmonella subterranea* as *Atlantibacter hermannii* and *Atlantibacter subterranea* gen. nov., comb. nov. *Microbiol Immunol.* 2016 May;60(5):303-11. doi: 10.1111/1348-0421.12374. PMID: 26970508.
- Paradis S, Boissinot M, Paquette N, Bélanger SD, Martel EA, Boudreau DK, Picard FJ, Ouellette M, Roy PH, Bergeron MG. Phylogeny of the Enterobacteriaceae based on genes encoding elongation factor Tu and F-ATPase beta-subunit. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2005 Sep;55(Pt 5):2013-2025. doi: 10.1099/ijs.0.63539-0. PMID: 16166704.
- Baumler, D. J., Ma, B., Reed, J. L., & Perna, N. T. (2013). Inferring ancient metabolism using ancestral core metabolic models of enterobacteria. *BMC systems biology*, 7, 46. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-46>.