

# 电子鼻检测植物乳杆菌发酵草鱼中的风味物质

韩姣姣, 裘迪红\*, 宋绍华

(宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

**摘 要:** 利用电子鼻系统对添加植物乳杆菌发酵的草鱼进行分析检测。通过电子鼻系统动态采集草鱼发酵过程中的挥发性成分, 利用主成份分析和线性判断分析进行数据分析。结果表明: 草鱼发酵前 12h 风味变化不大, 发酵 16h 后草鱼风味变化明显, 发酵结束时风味改变较小, 这与感官鉴定相关性较高; 线性判断分析方法呈现出良好的单向趋势, 能更好地识别发酵不同阶段的风味。同时采用 Loadings 分析方法可以得知, 传感器 W1S、W1C、W3C、W2S 作用相近。

**关键词:** 电子鼻; 主成分分析; 线性判断分析; 草鱼; 发酵

Electronic Nose Detection of Aroma Compounds during Fermentation of Grass Carp by *Lactobacillus plantarum*

HAN Jiao-jiao, QIU Di-hong\*, SONG Shao-hua

(College of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** An electronic nose (PEN3) was used to analyze *Lactobacillus plantarum* fermented grass carp. The volatile composition of fermented grass carp was dynamically sampled using a PEN3 system and then data analysis was conducted by using principal component analysis (PCA) and linear discrimination analysis (LDA). The results showed that the flavor of fermented changed slightly during the first 12 h of fermentation, but changed distinctly during the following 4 h, and changed little during the final 4 h. A high correlation between electronic nose output signal and sensory evaluation score was found. The flavor of fermented grass carp changed in a unidirectional manner during *Lactobacillus plantarum* fermentation as demonstrated by LDA, which allowed better identification of the flavor of fermented grass carp at different stages of fermentation. Meanwhile, it was found through loadings analysis that sensors W1S, W1C, W3C and W2S had similar effectiveness for identifying the flavor of fermented grass carp.

**Key words:** electronic nose; principal component analysis (PCA); linear discrimination analysis (LDA); grass carp; fermentation

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)10-0208-04

草鱼是淡水鱼中比较典型的草食性鱼类, 肉嫩而不腻、韧性好、骨刺少、营养价值高。鱼肉中有丰富的蛋白质, 含水量也高, 自身也带有较多的微生物和酶, 容易腐败变质, 而且鱼肉的腥味较重<sup>[1]</sup>。乳酸菌广泛应用于肉制品的发酵, 乳酸菌发酵鱼生产过程中所产生的乳酸能使产品的 pH 值下降, 抑制病原菌及腐败菌的生长, 延长产品的货架期<sup>[2]</sup>。而且乳酸菌生长代谢所产生的酶类能促进蛋白质等大分子的分解, 提高人体所必需的氨基酸、维生素等的含量, 并产生香味成分, 促进产品特殊风味的形成<sup>[3]</sup>。

草鱼发酵过程中所产生的挥发性风味成分决定着其

感官品质, 研究和分析草鱼的挥发性风味物质对评价其感官品质及进一步改善草鱼的发酵工艺具有十分重要的意义。近年来, 对发酵鱼风味的分析主要有感官鉴别法和气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)联用测定法。但是感官评价易受鉴评人员健康状况、年龄、情绪、环境等多种因素的影响, 其主观性强、重现性, 难以形成标准。而采用 GC-MS 进行分析, 虽然客观、重复性好, 但对仪器要求较高, 检测周期长, 很难将获得数据和样本的气味直接联系起来。

电子鼻是 20 世纪 90 年代发展起来的一种分析、识

收稿日期: 2011-05-19

基金项目: 宁波大学人才工程项目(2010442)

作者简介: 韩姣姣(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: 504059575@qq.com

\* 通信作者: 裘迪红(1966—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: qiudihong@nbu.edu.cn

别和检测复杂气味和大多数挥发性成分的仪器,它根据仿生学原理,由传感器阵列和自动化模式识别系统组成<sup>[4]</sup>。它得到的不是被测样品中某种或某几种成分的定性与定量结果,而是获得样品中挥发性成分的整体信息即“指纹”数据<sup>[5]</sup>。它能像人类的鼻子闻到待测样品的总体气味,检测到不同的信号,然后将这些信号和经学习建立起的数据库中的信号比较,对不同的气味进行识别和判断<sup>[6]</sup>。电子鼻检测方便、快捷,具有客观性好、重复性好、不易疲劳及不损伤样品的特点,得到越来越广泛的应用。在国内外,研究人员已经用电子鼻进行果蔬类<sup>[7-9]</sup>、酒类<sup>[10-11]</sup>、乳制品<sup>[12-13]</sup>的品质评价和鲑鱼肉、鲢鱼、对虾<sup>[14-16]</sup>等水产品的研究。本实验利用电子鼻分析技术对不同发酵阶段草鱼的风味进行检测,并结合感官评定,进一步探索乳酸菌发酵鱼的风味变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

草鱼(鲜活、尾量 1kg 左右) 宁波市购;植物乳杆菌 自制;液体 MRS 培养基、种子培养基、发酵培养基(参照文献<sup>[17]</sup>配制)。

立式高压灭菌锅 上海申安医疗器械厂;恒温恒湿培养箱 宁波江南仪器厂;QHZ-12A 组合式恒温振荡培养箱 江苏省太仓市华美生化仪器厂;PEN3 便携式电子鼻(包含 10 个金属氧化物传感器阵列,各个传感器的名称及性能描述见表 1) 德国 Airsense 公司。

表 1 PEN3 的标准传感器阵列  
Table 1 Details of 10 sensors for PEN3 portable electric nose

阵列序号	金属氧化物传感器名称	性能描述
1	W1C	芳香成分
2	W5S	灵敏度大,对氮氧化合物很灵敏
3	W3C	氨水,对芳香成分灵敏
4	W6S	主要对氢气有选择性
5	W5C	烷烃芳香成分
6	W1S	对甲烷灵敏
7	W1W	对硫化物灵敏
8	W2S	对乙醇灵敏
9	W2W	芳香成分,对有机硫化物灵敏
10	W3S	对烷烃灵敏

### 1.2 方法

#### 1.2.1 发酵剂的制备

将筛选出的植物乳杆菌接种至液体 MRS 中,37℃ 摇床培养 16h,活化后以合适接种量接种至种子培养基,然后在发酵培养基中培养至菌体浓度为  $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$  CFU/mL。

#### 1.2.2 样品的制备

将草鱼洗涤、去鳞、除内脏、剔骨后,切成小块放入经灭菌的玻璃瓶中添加 5%(m/m)的食盐、3% 白砂糖腌制 4h 后,无菌条件下取发酵培养基中的植物乳杆菌培养液,按鱼肉质量的 6% 进行接种,密封后在 35℃ 的恒温培养箱中发酵 20h。发酵过程中每隔 4h 用电子鼻测样品鱼挥发性物质的变化,称取 2g 样品鱼,放入顶空瓶中密封备用。每个样品重复测量 5 次。

#### 1.2.3 电子鼻测定条件

由预实验确定电子鼻的参数为:样品气体进样速率 300mL/min,载气速率 300mL/min,测量时间 100s,因样品气味不同,清洗时间为 400~1000s 不等。

#### 1.2.4 数据处理

对电子鼻的数据主要采用主成分分析(principal component analysis, PCA),线性判别函数分析(linear discriminant analysis, LDA)和 loadings 分析。

PCA 是将所提取的 10 根传感器的信息进行数据转换和降维,并对降维后的特征向量进行线性分类,最后在 PCA 分析的散点图上显示主要的两维散点图<sup>[4]</sup>。PC1 和 PC2 上包含了在 PCA 转换中得到的第 1 主成分和第 2 主成分的贡献率,贡献率越大,说明主要成分可以较好地反映原来样品的整体信息。一般情况下,总贡献率超过 70%~85%,此方法即可使用。

LDA 是判别样品所属类型的一种分析方法,通过计算未知样品与各类已知样品的马氏距离,并考虑到样品归属的先验概率,针对每一组样品计算出一个以原有变量为基础的线性判别函数,再将要进行分类的样本的相应指标代入判别函数,然后对未知样品类型的样品进行判别分类<sup>[18]</sup>。LDA 分析时,利用了所有传感器的信号以提高分类的准确性。LDA 具有分类效果好,易实现等优点,所以成为电子鼻应用十分广泛的一种方法,并都取得了良好的效果。

Loadings 分析通常用来检查在 PCA 空间中传感器对模型数据分布的影响,可以识别传感器响应在识别模式中的重要性。Loadings 分析与 PCA 分析相似,都基于同样的运算,传感器在 loadings 分析中的方向与 PCA 散点分布的方向相一致。图中在坐标(0,0)附近的传感器对检测样品的气味反应不敏感,相反距离坐标(0,0)越远的传感器对检测样品的气味反应越敏感<sup>[19]</sup>,一些作用不大的传感器可能对模型有负面的影响,所以分析时可以关闭。

#### 1.2.5 感官评定发酵鱼

发酵过程中每隔 4h 取一次样,根据发酵鱼风味感官鉴定标准(表 2),由感官鉴定小组(5 男 5 女)按总分 10 分进行打分,以 10 人评分平均值作为样品的最终得分。

表 2 发酵草鱼风味感官鉴定标准  
Table 2 Sensory evaluation standards for fermented grass carp

得分	感官特征
7~10	鱼块紧实，有弹性，基本无腥味，酸味柔和，有香甜味
4~7	鱼块较疏松，稍有腥味，较酸，香甜味不明显
1~3	鱼块较硬，腥味较重，酸味不明显，无香甜味

2 结果与分析

2.1 用 PCA 方法分析发酵不同时间的鱼

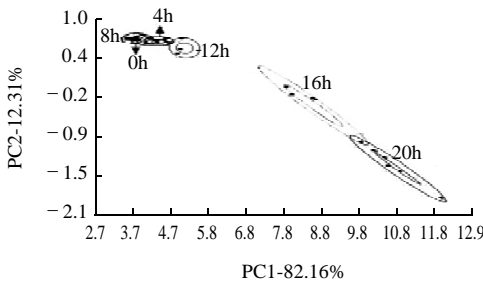


图 1 草鱼发酵过程中不同发酵时间的 PCA 分析  
Fig.1 PCA analysis during the fermentation of grass carp

从图1可以看出，第1主成分(PC1)和第2主成分(PC2)的贡献率分别是82.10%和12.33%，总贡献率为94.43%，说明可以反应草鱼不同发酵时间的信息。发酵前12h，草鱼的风味差别不是很大。发酵16h后，草鱼的风味发生了变化，发酵20h与16h的电子鼻分析情形相似，能够明显与其他发酵阶段区分开。原因可能是草鱼发酵过程中，植物乳杆菌及其他微生物生长代谢蛋白质、糖类、脂肪等物质，产生了挥发性有机酸类、含氮化合物、氨基酸、肽类及脂肪酸等成分，而蛋白质降解所产生的多肽和游离氨基酸是主要呈味物质和挥发性成分的前体；脂质的水解为脂质的氧化提供底物，可产生对发酵鱼风味具有决定作用的醛、酮和醇类化合物<sup>[20-22]</sup>。

2.2 用 LDA 方法分析发酵不同时间的鱼

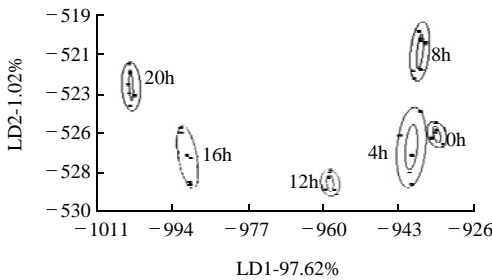


图 2 草鱼发酵过程中不同发酵时间的 LDA 分析  
Fig.2 LDA analysis during the fermentation of grass carp

从图2可以看出，两判别式的总贡献率为98.63%，判别式LD1和判别式LD2的贡献率分别为97.64%和0.9900%。图2显示，草鱼发酵过程中的挥发性风味物质呈现出良好的单向性，区分更明确。且发酵16h和20h的样品和发酵0h的样品中心距离较远，说明草鱼发酵前后发生了很大的变化，原因可能是乳酸菌在发酵草鱼的过程中产生了醇、醛、酮、挥发性有机酸等物质，形成独特的呈味物质，改善制品风味，去除了一定的鱼腥味，因此与发酵前腥味较重的草鱼相比风味变化很大。

2.3 Loadings 分析

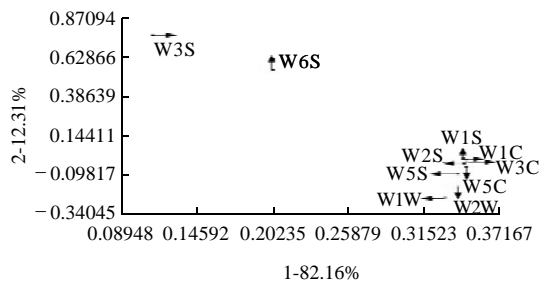


图 3 草鱼发酵过程中的 Loadings 分析  
Fig.3 Loadings analysis during the fermentation of grass carp

从图3可知，这10个传感器都离坐标(0,0)较远，说明它们对样品的挥发性物质反应敏感。在比例一定的条件下，测量各传感器到原点的距离，结果见表3。相比而言，W1W离原点最近，W3S远离坐标(0,0)，对样品的贡献率最大。而W1S、W1C、W3C、W2S到原点的距离值差别不大，说明他们有相似的负载因子，对样品的响应值相似。

表 3 传感器到原点的距离  
Table 3 Distance between ten sensors and the origin

传感器	W3S	W6S	W1S	W1C	W2S	W3C	W5C	W5S	W2W	W1W
距离/cm	14.88	13.45	14.63	14.71	14.58	14.69	14.54	14.08	13.90	13.20

2.4 发酵过程中的感官得分变化

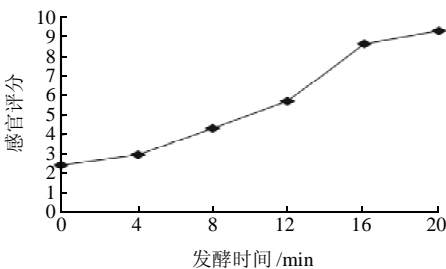


图 4 草鱼发酵过程中的感官评分变化  
Fig.4 Sensory score during the fermentation of grass carp

由图4可以看出,植物乳杆菌发酵草鱼的过程中,从发酵开始到发酵12h鱼的风味感官变化较小,发酵16h后鱼的风味感官变化明显,之后到发酵结束鱼的风味感官变化不大。这表明电子鼻检测草鱼发酵过程的风味变化结果与感官评价结果较为一致。

### 3 结 论

本实验利用电子鼻检测了草鱼发酵过程中挥发性风味物质的变化,同时结合感官评定表明,电子鼻与感官鉴评的结果有良好的相关性,因此用电子鼻检测草鱼发酵过程中的气味变化是可行的。

采用PCA发现草鱼发酵前12h风味变化不大,发酵16h后草鱼风味变化明显,发酵结束时较20h的风味改变较小。采用LDA能很好地区分发酵前后草鱼风味的变化。通过比较PCA和LDA的分析图可以发现电子鼻能够较好区分发酵过程中风味的变化,而LDA方法比PCA方法更能准确判别发酵不同时间的草鱼,区分效果更好。利用Loadings分析可知,这10个传感器在检测发酵过程中的风味变化作用都较大,而传感器W1S、W1C、W3C、W2S的响应值相近,因此可以选择利用其中的传感器,这为更好地利用电子鼻的识别传感器判断发酵过程中鱼风味的变化提供了重要依据。在今后的研究中,可以对电子鼻的传感器进行优化与选择,根据不同的条件选择合适的传感器阵列组合,从而达到更好的测定结果。

### 参考文献:

- [1] 王磊,刘学军.草鱼肉发酵香肠的发酵工艺研究[J].食品工业科技,2011,32(2):172-173.
- [2] ARROYO-LOPEZ F N, DURAN-QUINTANA M C, RUIZ-BARBA J L, et al. Use of molecular methods for the identification of yeast associated with table olives[J]. Food Microbiol, 2006, 23(8): 791-796.
- [3] CAPLICE E, FITZGERALD G F. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation[J]. International Journal of Food Microbiology, 1999, 50(1/2): 131-149.
- [4] 潘磊庆,唐琳,詹歌,等.电子鼻对芝麻油掺假的检测[J].食品科学,2010,31(20):318-319.
- [5] PENZA M, CASSANO G, TORTORELLA F, et al. Classification of food, beverages and perfumes by WO3 thin-film sensors array and pattern recognition techniques[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2001, 73(1): 76-87.
- [6] GHASEMI-VARNAMKHASTI M, MOHTASEBI S S, SIADAT M, et al. Meat quality assessment by electronic nose (machine olfaction technology)[J]. Sensors, 2009, 9(8): 6058-6083.
- [7] STIJN S, JEROEN L, AMALIA Z B, et al. An electronic nose and a mass spectrometry-based electronic nose for assessing apple quality during shelf life[J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 31(1): 19-20.
- [8] 胡桂仙,王俊,海铮,等.不同储藏时间柑橘电子鼻检测研究[J].浙江农业学报,2006,18(6):458-461.
- [9] AMALIA Z B, JEROEN L, STIJN S. Electronic nose systems to study shelf life and cultivar effect on tomato aroma profile[J]. Sensors and Actuators B, 2004, 97(2/3): 324-333.
- [10] ZHANG Qinqi, ZHANG Shunping, XIE Changsheng, et al. Characterization of Chinese vinegars by electronic nose[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2006, 119(2): 538-546.
- [11] 史志存,李建平.电子鼻及其在白酒识别中的应用[J].仪表技术与传感器,2000(1):34-37.
- [12] PETERSON D G, REINECCIUS G A. Determination of the aroma impact compounds in heated sweet cream butter[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2003, 18(4): 320-324.
- [13] 葛武鹏,李元瑞,陈瑛,等.牛羊奶酸奶挥发性风味物质固相微萃取GC/MS分析[J].农业机械学报,2008,39(11):64-69.
- [14] MANUELA O C, GABRIELA V, GUSTAVO P. A practical approach for fish freshness determinations using a portable electronic nose[J]. Sensors and Actuators, 2001, 80(2): 149-154.
- [15] 付湘晋,许时婴,王璋,等.电子鼻检测白鲢鱼腥味[J].浙江大学学报,2010,36(3):316-321.
- [16] 韩丽,赵勇,朱丽敏,等.不同保藏方式南美白对虾的电子鼻分析[J].食品工业科技,2008,29(11):240-242.
- [17] 于修鑑.乳酸菌高密度培养及浓缩型发酵剂研究[D].南京:南京工业大学,2004.
- [18] 黄燕,吴平.SAS统计分析及应用[M].北京:机械工业出版社,2006:315.
- [19] 周亦斌.基于电子鼻的西红柿与黄酒的检测与评价研究[D].杭州:浙江大学,2005.
- [20] 曾令彬.腊鱼加工中微生物菌群、理化特性及挥发性成分的研究[D].武汉:华中农业大学,2008.
- [21] 李应华,苏巧艳.发酵香肠中乳酸菌的应用研究[J].肉类加工,2009(5):21-22.
- [22] 谭汝成,欧阳加敏,卢晓莉,等.接种植物乳杆菌和戊糖片球菌发酵对鱼鲑品质的影响[J].食品科学,2007,28(12):269-271.