

基于电子舌技术的酱油分析识别研究

摘要: 为了实现电子舌技术在酱油中的应用, 本文利用电子舌结合不同模式识别方法对 8 个品牌的酱油进行评价分析。通过研究确定了电子舌测定酱油滋味的最优条件为: 30 倍稀释倍数, 选择酸、苦、鲜、咸、甜、饱满感 6 个滋味指标。测定了不同酱油样本呈味组分的含量, 结合电子舌数据进行相关性分析, 发现各传感器与相应滋味组分均具有显著的相关性。结合不同模式识别方法, 发现电子舌能对不同品牌的酱油进行区分, PCA、DFA 的前两个主成分贡献率分别达 83.8%、98.1%, 判别函数正判率达到 99.3%, 神经网络分析的预判能力最强, 判别率达 100%。

关键词: 电子舌; 酱油; 模式识别

Analysis and discrimination of soy sauce by using electronic tongue

Abstract: This paper aimed to study the application of the electronic tongue on qualifying soy sauce for 8 different brands by means of the pattern recognition method. First, a measurement based on the electronic tongue was developed for the soy sauce, the dilution multiple was 30 times, and sourness, bitterness, umami, saltiness, sweetness and richness were chosen as the taste index for evaluation. The content of nitrogen amino acid, salt, total acid, total sugar and free amino acids were studied, and the correlation of these taste substances and taste sensors was significant. With the help of different pattern recognition methods, the electronic tongue had the ability to classify soy sauce in different brands, the contribution rate of the first two principal components of PCA, DFA is 83.8% and 98.1%, and the correct discrimination rate of the Fishers' function was 99.3%, BPNN had the ability to predict unknown samples accurately and the correct discrimination rate reaches 100%.

Key words: Electronic tongue; Soy sauce; pattern recognition method

酱油是中国传统的液态调味品, 至今已有两千多年的历史, 目前在亚洲甚至是欧美国家都得到了广泛应用^[1-2]。酱油以植物蛋白、碳水化合物为主要原料, 经微生物酶作用发酵水解成多种氨基酸及糖类物质, 再进一步发生复杂的生物化学变化, 因此具有特殊色泽、香气和滋味^[3-5]。由于我国幅员辽阔, 各地区人民饮食习惯也存在差异。不同酱油厂家在原料来源、发酵方式、生产工艺等方面的差异, 使其风味、香气、口感乃至营养价值和整体质量上都大不相同^[6]。酱油产品区域性强、集中度低的特点, 导致了我国酱油市场规模效益低、产品质量水平不稳定, 因而粮农组织/世界卫生组织食品法典委员会(FAO/WHO Codex Commission)会员国对其质量标准及安全也有所重视^[7-8]。

酱油的滋味在一定程度上体现了其质量水平、影响市场接受度, 然而对于酱油滋味的国家标准或评价体系较少。其中, 理化分析主要针对氨态氮含量检测, 即通过氨基酸态氮含量高低对酱油进行分级, 氨态氮含量愈高, 酱油则愈鲜, 等级愈高^[9]。而酱油的滋味是多种呈味组分间交互作用的结果, 单纯地检验氨氮含量存在局限性。滋味评价主要基于感官分析, GB/T 18186-2000《酿造酱油》中规定酱油的滋味品质应味鲜美醇厚、咸甜适口^[10]。但感官分析依赖于评价员, 具有主观性强、稳定性差、易疲劳、效率低等不足^[11-12]。因此, 有必要探究新型的分析手段以便进一步完善酱油的滋味评价体系。

电子舌基于人体味觉器官结构及机理, 通过味觉传感器采集电响应信号, 对样品进行识别、分析, 它具有客观性强、检测阈低、工作效率高等优点, 便于实时检测、快速分析^[13-14]。电子舌技术作为新型分析手段, 在饮料、肉制品的区分识别、质量控制等方面均取得较大进展^[15-18], 但在酱油中应用的相关报道甚少, 目前主要涉及滋味品质评价、初步识别研究等^[19-21]。本文以不同品牌的酱油样品为研究对象, 优化了电子舌测定的基本方法, 并探究了电子舌测定结果与感官评价的相关性。同时, 结合多种模式识别方法, 讨论了电子舌对不同品牌酱油的区分能力。

1 材料与方法

1.1 原料

采用市售生抽酱油作为实验原料，均属于高盐稀态酱油，同型号酱油取样两个批次，不同批次间生产日期差异控制在 3 个月内。具体品牌见表 1。

表 1 酱油样品基本信息及编号

Table1 Basic information and number of soy sauce samples					
编号	品牌	等级	编号	品牌	等级
A1	A	二级	E14	E	特级
A2	A	特级	F15	F	一级
A3	A	特级	F16	F	三级
B4	B	特级	F17	F	二级
B5	B	特级	F18	F	特级
B6	B	特级	F19	F	特级
C7	C	二级	G20	G	特级
C8	C	二级	G21	G	一级
C9	C	特级	G22	G	二级
D10	D	特级	H23	H	特级
D11	D	特级	H24	H	一级
E12	E	特级	H25	H	一级
E13	E	二级			

1.2 仪器

TS-5000Z 电子舌，日本 Insent 公司；KND-2C 型定氮仪，上海纤检仪器有限公司；916Ti-Touch 氨氮仪，瑞士万通中国有限公司；紫外可见分光光度计，尤尼科(上海)仪器有限责任公司；A300 自动氨基酸分析仪，曼默博尔(德国)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 电子舌测定条件优化

(1)味感的筛选

酱油样本用蒸馏水稀释 30 倍进行味感测定，包括鲜、咸、苦、酸、甜 5 个基本味感以及涩感和鲜味回味、苦味回味、涩味回味。通过对输出值的分析，简化味感及相关传感器的选择，以便显著表征酱油味感特点。

(2)稀释倍数的确定

酱油固形物浓度较高，采用电子舌直接测试不仅会对味觉传感器材料造成不良影响，还会影响测试结果的准确性。因此，测试前酱油分别用蒸馏水稀释 10、20、30、40、50 倍，再进样测试，确定最佳稀释倍数。

1.3.2 电子舌数据采集

本研究的味觉分析仪器采用日本 insent 公司的 TS-5000Z 电子舌，配有 6 个味觉传感器，其中，AAE、CA0、CT0、C00、AE1、GL1 分别对鲜、酸、咸、苦、涩、甜敏感。数据采集前，电子舌系统已进行自检，以保证测试结果的可靠性及稳定性，测试温度控制在 20℃左右。具体测试步骤如下：

(1)传感器于浸泡液中稳定 90s 进行初步清洗以除去膜表面杂质，其中，鲜、咸、酸传感器使用 Negative 液（阴离子浸泡液），甜、苦、涩传感器使用 Positive 液（阳离子浸泡液）；

(2)各传感器于参比液I、参比液II中分别清洗 2min；

(3)各传感器于参比液III中稳定 30s，测得电势值 Vr；

(4)各传感器于酱油样本溶液中稳定 30s，测得电势值 Vs；

(5)鲜味、苦味、涩味传感器于参比液IV、参比液V中分别清洗 3s；

(6)鲜味、苦味、涩味传感器于参比液VI中稳定 30s，测得电势值 V_r' ；

电势差 $V_1=V_s-V_r$ ，即为基本味感的输出值；电势差 $V_2=V_r'-V_r$ ，即为鲜味、苦味、涩味回味的输出值。每个样本进行 5 次平行测定，选择后 3 次数据进行分析。

1.3.3 基本成分测定方法

采用甲醛电位滴定法测定氨态氮含量^[22]；采用沉淀滴定法测定食盐含量^[22]；采用甲醛值法测定总酸含量^[22]；总糖含量的测定参考苯酚-硫酸法^[23]并作适当调整；游离氨基酸的测定参考郑淋^[24]等人。

1.3.4 数据分析方法

电子舌电信号输出值通过系统自带的运算程序，基于韦伯-费希纳定律得到各个味感强度的分值，分值低于 0 表示该味感低于人的阈值。相关性检验采用 Pearson 相关性分析。采用主成分分析(principle component analysis,PCA)、判别因子分析(discriminant factor analysis, DFA)和神经网络(artificial neural networks)对不同酱油样本进行模式识别。分析均由 SPSS 19.0 软件完成，绘图由 Origin8.0 软件完成。

2 结果与讨论

2.1 测试条件的优化

2.1.1 味感的筛选

电子舌输出的各味感分值如表 1 所示。由表可知，不同样本的鲜味和咸味较强，分别达到 11.75 和 6.33，苦味、甜味、饱满感（即鲜味回味）在 1~2 左右，而酸味、涩味、苦味回味、涩味回味均较弱，分值接近于 0。

表 1 不同酱油样本的各滋味指标均值

	酸味	苦味	鲜味	饱满感	咸味	甜味	涩味	苦味回味	涩味回味
平均值	0.01	2.17	11.75	1.19	6.33	2.36	-0.10	0.11	-0.03

不同品牌酱油味感相对强度的箱形图如图 1。

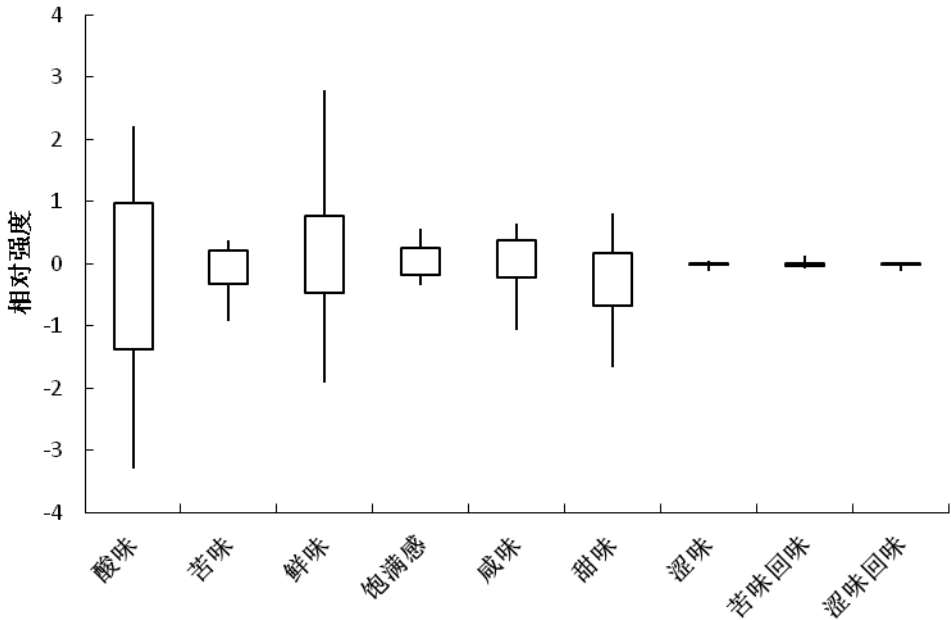


图 1 不同酱油样本各滋味指标相对强度箱形图(n=25)

Fig.1 The box plot of relative intensity of each taste index in different soy sauce samples

由图 1 可见，不同酱油的样本在酸味、鲜味上差异性较大，极差值分别达到了 5.47 和 4.66，为差异性最明显的滋味指标；苦味、饱满感、咸味、甜味的极差值在 1.12~2.45 之间；而涩味、苦味回味、涩味回味的极差值都在 0.1 左右，可见在这 3 个滋味指标上，不同样品间的差异性很小。结合平均值可知，对于不同的酱油而言，涩味、苦味回味、涩味回味不仅数值上接近于 0，且不同样本之间差异极小。由此可见，在酱油中，这些味感不具有代表性。为了简化测试流程，以及优化数据结构、提高分析准确率，可剔除一些不必要的冗余数据。因此，进行酱油的滋味分析时，采用酸味、苦味、鲜味、鲜味后味（饱满感）、咸味、甜味即可。

2.1.2 稀释倍数的确定

对同一酱油分别稀释 10、20、30、40、50 倍进行味感测定，结果如图 2 所示。

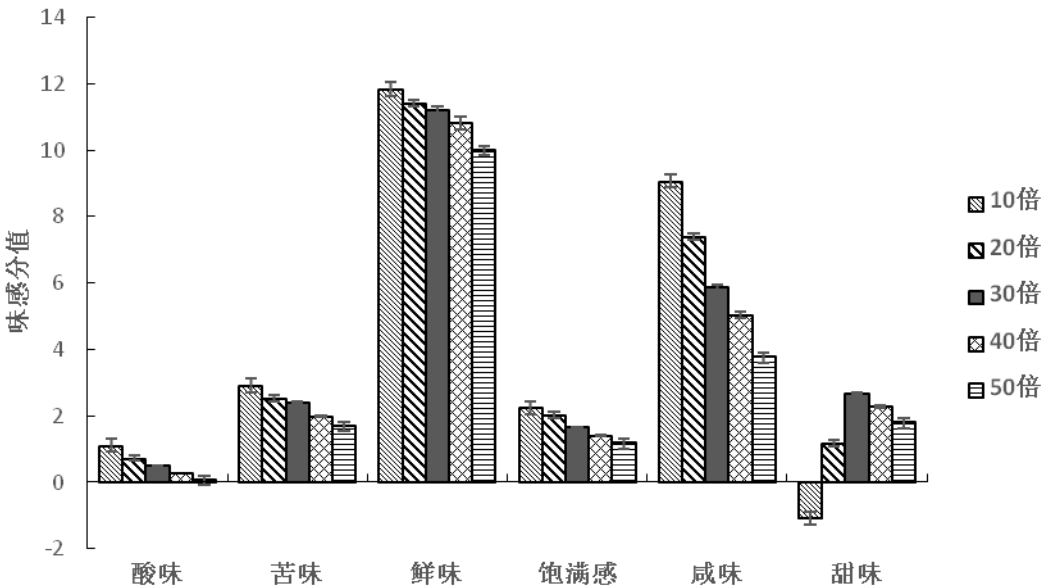


图 2 不同稀释倍数对味感测定值的影响

Fig.2 The taste scores of soy sauce with different dilution multiples

由图 2 可见，随着稀释倍数的增加，酸味、苦味、鲜味、咸味以及饱满感均不同程度的下降，但甜味变化呈现出不同趋势。在 10~30 倍的稀释范围内，稀释倍数愈大，甜味反而愈强；在 30~50 倍的稀释范围内，甜味随着稀释倍数的增大而减小，这可能与甜味传感器的特殊性有关。糖等一般甜味物质为电中性物质，在电子舌类脂膜表面的吸附较难引起电位变化，而本研究中的电子舌传感器采用了双层膜结构，外层用于表面吸附，内层则由特殊通路传导特征电位值的变化^[25]，因此吸附程度会影响甜味的测试。酱油作为复杂的食品体系，具有丰富的呈味物质，尤其是鲜味及咸味相应的滋味组分。虽然电子舌的相对感官而言具有更大的阈值范围，但在某些滋味组分浓度过高的情况下，会影响甜味物质在甜味传感器膜上的吸附程度，从而使得甜味测定值偏低，与实际情况不符。稀释倍数为 30 倍时，甜味强度最大，继续增大稀释倍数，甜味强度减小，此时甜味强度的变化遵循稀释规律。由此可见，对于酱油样品而言，在稀释达到 30 倍时，甜味物质在膜上的吸附能力较为理想，同时，该稀释浓度下对其他味感的表达没有不良影响，不同味感之间的横向比较在稀释前后仍呈现一致规律。因此在电子舌测定前将酱油稀释 30 倍，更能综合地反应酱油样品的味感特性。

2.2 酱油呈味组分与电子舌传感器相关性

酱油滋味是由多种呈味物质共同作用的结果，呈味物质种类、含量的差异会直接影响酱油的滋味品质。酱油中呈味物质主要有鲜味氨基酸、总酸、苦味氨基酸、盐分、总糖等，在不同程度上影响酱油的鲜味、酸味、苦味、咸味、甜味^[26]。为了探究各传感器与对应呈味物质的相应关系，利用化学分析方法测定不同酱油呈味物质含量，将呈味组分与相应传感器测定结果进行 Pearson 相关性分析，结果如表 2。

表 2 呈味物质含量与各传感器响应值相关性

Table2 Correlation between content of taste substances and electronic tongue sensor response signals					
	CA0	C00	AAE	CT0	GL1
总酸	0.636**				
苦味氨基酸		0.622**			
氨态氮			0.654**		
鲜味氨基酸			0.714**		
盐分				0.905**	
总糖					0.693**

注：“**”表示相关性极显著(P<0.01)。

由表可见，各传感器对相应滋味组分均具有良好的响应性，为定性预测以及定量分析提供了良好的基础。其中，盐含量与咸味传感器 CT0 的相关系数最高，达 0.905，而其他理化指标与传感器的相关系数均在 0.6~0.7 间，原因可能是：(1)酱油中的咸味均来自于 NaCl，而其他味感与滋味组分的对应关系更复杂一些。如对酸味而言，总酸按照乙酸计量，并未考虑不同有机酸对酸味贡献程度的差异性^[27]，对于甜味而言，不同糖组分甜度不同，总糖含量体现了糖度的高低，并不能完全完全解释甜度的大小^[28]；(2)单纯地检测理化指标并未考虑到滋味间相互作用，酱油体系以鲜、咸味为主，所以其他滋味则更易受到交互作用的影响。此外，比较氨态氮、鲜味氨基酸与鲜味传感器 AAE 的相关系数发现，后者更高(0.714)，可能是由于氨态氮仅反映了氨基酸含量的高低，而鲜味氨基酸更利于反映鲜味的强弱。

因此

2.4 基于电子舌响应值的模式识别分析

2.4.1 主成分分析

对不同品牌酱油的主成分分析见图 1。图 1a 为 PCA 散点图，图 1b 为因子载荷图。

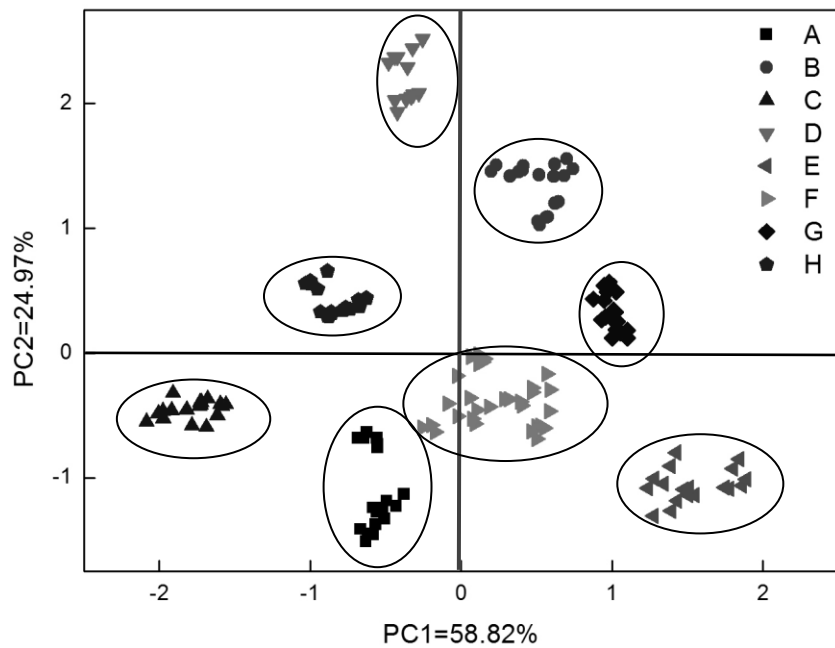


图 3a 不同品牌酱油的主成分分析图

Fig.3a PCA results of taste sensors of different soy sauce samples

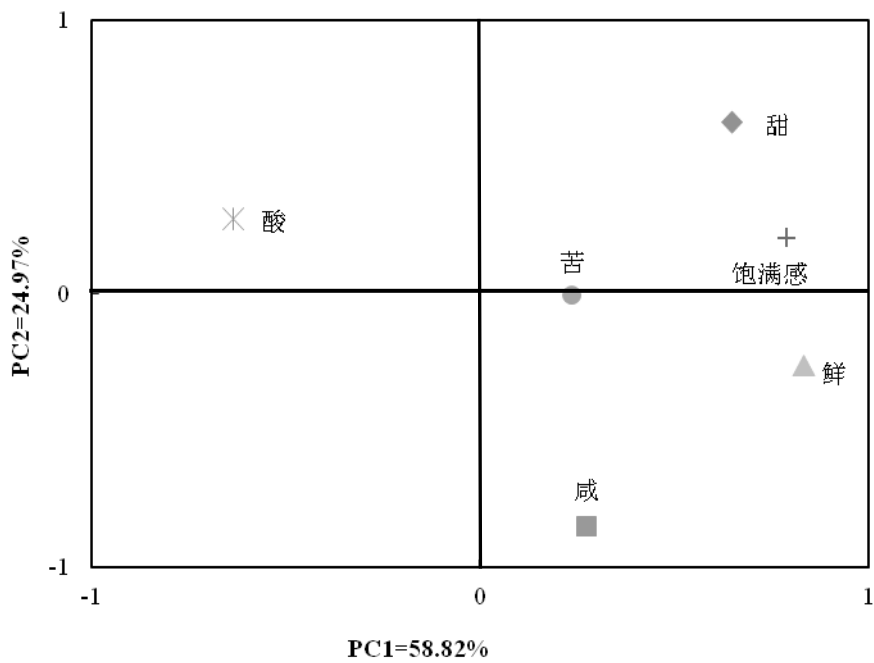


图 3b 不同品牌酱油的因子载荷图

Fig.3b PCA results of taste sensors of different soy sauce samples: Factor loading

在 PCA 分析中(图 3a), 前两个主成分贡献达到 83.79%。由图 3a 可见, 相同品牌的酱油样本能够聚成一类, 虽然由于不同品牌的样本数量、等级没有保持一致, 使得聚集情况有所差异, 但 8 个不同品牌酱油都得到了较好区分。酱油分类的主导因素是品牌而非等级, 原因可能是不同厂家的酱油由于

生产工艺、产地及原料等的差异，形成了不同滋味特点，而酱油等级是基于氨基酸态氮含量划分的，不同品牌酱油即使等级相同，其他味感也有所差别。同一品牌不同等级的酱油虽然氨态氮含量不同，但在其他味感上体现了较大的相似性，因此在综合分析时能够聚集成类。其中，A、E、F、G 号等 4 个品牌的酱油在 PCA 分布上较为接近，说明其滋味特征有一定的相似之处。原因可能是它们都属于广东地区的酱油，因此在原料来源、地域性饮食习惯上存在着一些共同点。结合因子载荷图(图 3b)可定性地认为，广东品牌的酱油具有更强的鲜味、咸味及苦味。

2.4.2 判别分析

不同品牌酱油的判别分析散点图如图 4。

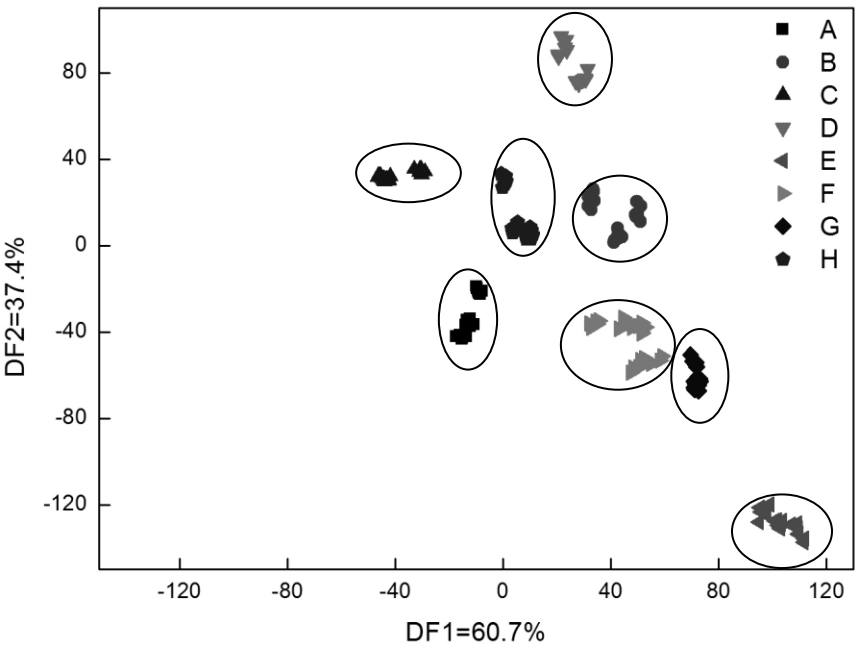


图 4 不同品牌酱油的 DFA 散点图

Fig.4 DFA results of taste sensors of different soy sauce samples

判别分析结果显示，前两个判别因子贡献率分别为 60.7%与 37.4%，总解释率达 98.1%。结果与 PCA 一致，电子舌能够对不同品牌的酱油进行区分。同时，相比 PCA 而言，DFA 具有更理想的区分效果，每个品牌的样品能构成一个独立的族群、互相无重叠，不同品牌样本间有明显的组间差异。

建立 Fisher 线性判别函数进行回代判别及交叉验证，结果如表 3 所示。其中，在原始回代中，不同品牌的正判率均达到了 100%；在交叉验证中，仅有品牌 G 中的一个样本倍被误判为 F 品牌，正判率为 94.44%，其余品牌正判率均达到 100%。判别函数对不同品牌酱油的正判率在 99.33%，能达到理想的分类效果。

表 3 酱油不同品牌判别结果

Table3 Different brands' classification results in soy sauce

品牌编号	原始回代			交叉验证		
	样本数	误判数	回判正确率	样本数	误判数	回判正确率
A	18	0	100%	18	0	100%
B	18	0	100%	18	0	100%
C	18	0	100%	18	0	100%

D	12	0	100%	12	0	100%
E	18	0	100%	18	0	100%
F	30	0	100%	30	0	100%
G	18	0	100%	18	1	94.44%
H	18	0	100%	18	0	100%

2.4.3 神经网络分析

将 150 个样本随机分为训练集、预测集、保持集，运用神经网络分析，以考察电子舌对不同酱油品牌的预测能力。输入层神经元为 6 个，即 6 个味感；输出层神经元为 8 个，即酱油的品牌数；通过多次训练确定隐含层神经元个数为 5。训练集中止规则为错误未减少，因此网络结构设计为：6-5-8。结果如表 4 所示，神经网络能够完全区分不同品牌酱油，样品训练集、测试集和保持集的正确率均能达到 100.0%。

表 4 BP 神经网络对不同品牌酱油的判别结果

Table4 The training and testing result of BPNN for different brands of soy sauce						
类别	训练集		预测集		保持集	
	样本数	正确率（%）	样本数	正确率（%）	样本数	正确率（%）
A	14	100	1	100	3	100
B	12	100	4	100	2	100
C	13	100	4	100	1	100
D	9	100	1	100	2	100
E	14	100	2	100	2	100
F	22	100	5	100	3	100
G	14	100	2	100	2	100
H	13	100	4	100	1	100
合计	111		23		16	

3 结论

本文研究了电子舌在酱油中的区分识别。首先优化了电子舌测试酱油的方法，研究表明，在稀释倍数为 30 倍时，电子舌对酱油整体滋味的检测能达到较全面的效果，能够更完善地体现其呈味特征；选择苦味、酸味、鲜味、咸味、甜味、饱满感作为电子舌测试的 6 个指标，能够综合地反应不同酱油的滋味特点，利于表征及识别。通过对不同酱油样本的呈味组分与电子舌测定结果的相关性分析，发现电子舌采集数据与相应的呈味组分之间具有显著的相关性，证实了各传感器与特定滋味组分的响应关系。电子舌能对不同品牌的酱油进行区分，采用 PCA、DFA 均取得了良好的分类效果，前两个主成分累计贡献率分别达 83.8%、98.1%，而 BPNN 对样品的预测能力更高，不同品牌酱油的训练集、测试集和保持集的正确率均能达到 100.0%。

由于本次研究样本有限，且选择带有随机性，不能全面反应所有的市售酱油特点，只在基础层面上探究了电子舌对酱油的区分识别。在今后的研究中，还可尝试结合其他算法，加强回归问题的处理能力，以期达到定量分析的目的，使分析结果具有更广泛的应用。

参考文献

- [1] 杨兰. 高盐稀态酱油发酵过程工艺优化及作用机理的研究[D].华南理工大学,2010.
- [2] 赵国忠,姚云平,曹小红,陈卫. 2种米曲霉发酵酱油风味物质比较[J]. 食品科学,2014,35(24):249-253.
- [3] Liu, KeShu. Soybeansm: Chemistry, Technology, and Utilization.[M]. New York: Springer, 1997, 237-239.
- [4] LERTSIRI S, MAUNGMA R, ASSAVANIG A, et al. Roles of the Maillard reaction in browning during moromi process of Thai soy sauce[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2001, 25(2): 149-162.
- [5] LIOE H N, APRIYANTONO A, TAKARA K, et al. Low molecular weight compounds responsible for savory taste of Indonesian soy sauce[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(19):5950-5956.
- [6] 包启安. 酱油科学与酿造技术[M].北京:中国轻工业出版社,2011.
- [7] 李莹. 传统发酵酱油生理活性成分的分离鉴定及作用机制研究[D].华南理工大学,2011.
- [8] Maneepun, S. and M. Yunchalad. Status of traditional fermented soy food products: a future trend in 7th World Soybean Research Conference/6th International Soybean Processing and Utilization Conference/3rd Brazilian Soybean Congress[C]. 2004. Foz do Iguacu, Brazil: Embrapa Semi-Ardo.
- [9] 宗雯雯,冷云伟,葛冬梅等. 几种酱油中氨基酸组分分析与比较[J].食品与机械,2008,24(4):107-107.
- [10] GB/T 18186-2000, 酿造酱油[S].
- [11] 丛艳君,易红,郑福平. 基于电子舌技术不同超声处理时间的奶酪滋味区分[J]. 食品科学,2015,36(06):114-118.
- [12] KILCAWLEY K N, WILKINSON M G, FOX P F. Enzyme-modified cheese[J]. International Dairy Journal, 1998, 8(1): 1-10.
- [13] 王莉,惠延波,王瞧,牛群峰. 电子舌系统结构及其检测技术的应用研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2012,33(03):85-90.
- [14] DEISINGH A K, STONE D C, THOMPSON M. Application of electronic noses and tongues in food analysis[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2004, 39(6): 587-604.
- [15] 贾洪锋, 梁爱华, 何江红, 等. 电子舌对啤酒的区识别研究[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 252-255.
- [16] 王梦馨,薄晓培,韩善捷,王金和,韩宝瑜. 不同防冻措施茶园茶汤滋味差异的电子舌检测[J]. 农业工程学报,2016,32(16):300-306.
- [17] 李二虎,冯佳洁,许灿,潘思轶. 基于电子舌技术检测商业果汁中脂环酸芽孢杆菌[J]. 食品科学,2014,35(22):141-145.
- [18] GIL L, BARAT J M, BAIGTS D, et al. Monitoring of physical chemical and microbiological changes in fresh pork meat under cold storage by means of a potentiometric electronic tongue[J]. Food Chemistry, 2011, 126(3): 1261-1268.
- [19] 曹仲文. 电子舌对酱油的区识别研究[J]. 中国调味品,2017,42(03):110-113.
- [20] 王丹丹,凌霞,王念,张润杰,杜天雨,郭壮. 基于电子舌技术对市售生抽酱油滋味品质的评价[J]. 食品与发酵工业,2017,43(06):244-249.
- [21] Ouyang Q, Zhao J W, Chen Q S, et al. Study on classification of soy sauce by electronic tongue technique combined with artificial neural network.[J]. Journal of Food Science, 2011, 76(9):S523-S527.
- [22] GB/T 5009. 39-2003, 酱油卫生标准的分析方法[S].
- [23] GB/T 15672-2009, 食用菌中总糖含量的测定[S].
- [24] Lin Z, Su G, Ren J, et al. Isolation and Characterization of an Oxygen Radical Absorbance Activity Peptide from Defatted Peanut Meal Hydrolysate and Its Antioxidant Properties[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(21): 5431-5437
- [25] HABARA M, IKEZAKI H, TOKO K. Study of sweet taste evaluation using taste sensor with lipid/polymer membranes[J]. Biosens Bioelectron, 2004, 19: 1559-1563.
- [26] 张怡洁. 酱油的风味及其生理活性的研究[D].浙江工商大学,2012.
- [27] 张璟琳,黄明泉,孙宝国,吴继红,涂嘉祺. 电子舌技术在食醋口感评价中的应用[J]. 食品与发酵工业,2013,39(11):220-226.
- [28] 王璐,黄明泉,孙宝国,田红玉,陈海涛. 电子舌技术在甜面酱口感评价中的应用[J]. 食品科学,2012,33(20):347-351.