



引用格式:姜元欣,刘伯科,刘小玲. 口腔恶臭的电子鼻测定评价方法研究[J]. 轻工学报, 2016,31(6):8-15.

中图分类号:R331 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2016.6.002

文章编号:2096-1553(2016)06-0008-08

口腔恶臭的电子鼻测定评价方法研究

Research on evaluation methods of oral odor by electronic nose

姜元欣^{1,2}, 刘伯科², 刘小玲²
JIANG Yuan-xin^{1,2}, LIU Bo-ke², LIU Xiao-ling²

- 1. 广西农业职业技术学院 食品工程系, 广西南宁 530007;
- 2. 广西大学 轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004

- 1. Department of Food Engineering, Guangxi Agricultural Vocational College, Nanning 530007, China;
- 2. College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China

摘要:采用电子鼻对不同孵化时间的口腔唾液恶臭味进行了测定,对测定数据进行SPSS,PCA,LDA,Loadings及雷达图特征性分析,获得了电子鼻应用于口腔恶臭味评价的最佳检测时间、特征参数和表征传感器.结果表明:各传感器在最大响应值点附近5s区分度较好,可作为特征提取参数;唾液孵化12h时,各传感器均显示有显著性差异,可作为唾液孵化检测时间;电子鼻传感器R₆(W1S),R₇(W1W)和R₉(W2W)对口臭气体的响应与其他传感器有显著性差异(P<0.05),其响应值与感官评价值呈显著正相关,其相关系数均大于0.9,在臭味表达上起主要作用,口腔中恶臭味气体为挥发性硫化物、甲基类化合物.

关键词:
口臭;电子鼻;孵化

Key words:
oral odor;electronic nose;incubation

收稿日期:2016-07-08

基金项目:广西农业职业技术学院基金项目(YKJ1610)

作者简介:姜元欣(1980—),男,山东省济南市人,广西农业职业技术学院讲师,广西大学博士研究生,主要研究方向为广西特色农产品的开发利用.

Abstract: Saliva stench in different incubation times was measured by electronic nose. The optimal detection time, characteristic parameter area and main sensors were obtained through the measurement data analyzed by SPSS, PCA, LDA and Loadings analysis combined with radar map characteristic analysis. The results showed that each sensor was sufficiently distinguished in vicinity 5 s of maximum, and thus used as feature extraction parameters. When the incubation time was 12 h, each sensor had a significant difference, so 12 h was used as detection time. There was a significant difference ($P < 0.05$) between electronic nose sensors R_6 (W1S), R_7 (W1W) and R_9 (W2W) response to oral odor gas and other sensor in incubating 12 h and correlation coefficients were greater than 0.9. The three sensors played a major role in the expression of halitosis. And it manifested that the saliva stench gases were volatile sulphur and methyl compounds.

0 引言

口臭是指呼吸时从口腔或者其他空腔散发出让人产生不愉快气体的症状。口臭严重影响人们的社会交往,导致社交和心理障碍。流行病学研究调查数据显示,我国的口臭发病率较高。据报道,中国的口臭患病率为 27.5%^[1],日本口臭患病率为 25%^[2],欧美国家 50% 人群患有口臭^[3]。口臭多由口腔内、外因素和精神性因素引起。据统计,80% ~ 90% 的口臭主要是由口腔中微生物对滞留于口腔局部的含硫氨基酸的代谢产物分解腐化而产生的挥发性硫化物(VSCs)引起的^[4],其中 VSCs 主要是硫化氢(H_2S)和甲基硫醇类(CH_3SH)物质。临床实验表明,口臭与口腔微生态系统中的微生物及口气中散发的 VSCs 存在密切关系^[5]。

目前,对口臭的严重程度或治疗效果的评价方法主要有感官评价法和仪器测定法^[6]。感官评价法是感官评价人员通过用鼻子闻受试者的唾液孵育气体或哈出的口气来评估其口腔恶臭的强度。仪器测定法是通过气相色谱、硫化物检测仪、氢化物检测仪等,来测试口腔异臭成分如 H_2S , 甲硫醇, 二甲基硫醚, 短链脂肪酸等的含量。胡赟^[7]使用这两种方法对口臭致臭菌进行了确定。王琳^[8]运用这两种方法研究了黄芩和茶多酚的除臭能力。王丹等^[9]也运用这两种方法对口源性口臭做了临床治疗效果的初步分

析。这两种方法的评价结论在一定程度上能够反映口臭的严重程度,但又各有局限:感官法虽然最接近模拟正常状态下人们察觉口臭的情形,但一般难以找到足够数量的感官评价人员,且其结果主观性强、重复性差,难以进行定量分析和比较;仪器测定法尽管能定量检测硫化物,但是元件较简单,仅对特定气体敏感,不能同时检测其他挥发性化合物,不能客观而全面地评估口腔恶臭。

目前,电子鼻迅速发展并广泛应用于臭味检测,M. Tanaka^[10]与 A. Nonaka 等^[11]的研究表明,电子鼻分析结果与感官评估和气相色谱分析具有很好的线性相关性,且不受人的主观因素影响,因此可以采用电子鼻来临床评估口腔恶臭强度。本文旨在建立一套以电子鼻测定口腔恶臭味的测定和评价方法,确定电子鼻最佳检测参数及分析模型,以期为后续口腔清洁产品开发和口臭临床治疗提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

唾液:采自健康人群的口腔。

1.2 设备

PEN3 型便携式电子鼻,德国 Airsense 公司产; SC-20A 数控超级恒温槽,宁波新芝生物科技股份有限公司产;HZQ/THZ 型振荡器,上海一恒科学仪器有限公司产。

1.3 实验设计与方法

1.3.1 唾液的收集处理 从8位自愿者口腔收集唾液样本并集中处置. 要求8位自愿者在取样前48 h内禁止食用含强烈气味的食物, 24 h内禁止使用香水、化妆品之类的产品, 12 h内禁止吸烟并建议不要摄取食物和饮料, 起床后不做口腔清洁, 在早上8:30起床同一时间收集全唾液并集中到无菌离心管中, 振荡均匀后各人精密量取1 mL于10 mL顶空瓶中, 置于37 ℃密封恒温孵化. 多余部分全唾液于-40 ℃低温保存备用. 全唾液样本分别孵化1 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h(分别表示为 $M_1, M_3, M_6, M_9, M_{12}$), 同时以纯净水为空白对照样品 M_0 . 每组实验重复3次.

1.3.2 感官法评价唾液恶臭 请5名嗅觉灵敏且具备一定感官评价经验的食品学科研究人员担任感官评价人员. 取装有孵化不同时间的唾液样本的顶空瓶, 用玻璃棒插入孵化全唾液中同方向搅动3圈, 取出分别由感官评价人员用鼻子闻玻璃棒, 并对其中的臭味程度用1—6分进行量化评分, 作为臭味指数. 其中分数越高, 表明臭味越显著: 1分表示无气味; 2分表示很难闻出气味; 3分表示稍有不愉快气味; 4分表示中度不愉快气味, 尚可接受; 5分表示重度不愉快气味, 尚可忍受; 6分表示恶臭, 无法忍受.

1.3.3 电子鼻口臭检测模型建立 取孵化不同时间的唾液样本用PEN3型电子鼻进行检测. 检测时间60 s, 参数获取时间间隔为1 s, 清洗时间100 s, 传感器流速100 mL/min. 每组均进行3次平行试验.

PEN3型电子鼻共有10个不同的传感器, 其标准传感器阵列和每个传感器对不同物质具有的最大响应值见表1.

1.3.4 数据处理与分析 用SPSS软件进行数据统计, 通过One-Way ANOVA分析处理, 并采用Origin作图. 通过Duncan氏多重比较分析显

著性差异, $P < 0.05$ 表示差异显著. 采用电子鼻自带分析软件WinMuster进行主成分分析(PCA)、线性判别分析(LDA)和传感器贡献率(Loadings)分析.

表1 PEN3型电子鼻的标准传感器阵列及其响应化合物类型

Table 1 Response feature of the PEN3 sensor array and its response compound type

阵列序号	传感器名称	检测成分	响应化合物类型与最大响应值/(mL · m ⁻³)
R ₁	W1C	苯环芳香成分	甲苯, 10
R ₂	W5S	氮氧化合物类	NO ₂ , 1
R ₃	W3C	芳香成分类, 氨类	苯, 10
R ₄	W6S	氢化物	H ₂ , 1
R ₅	W5C	烷类, 芳香成分	丙烷, 1
R ₆	W1S	对甲基类灵敏	CH ₄ , 100
R ₇	W1W	对无机硫化物灵敏	H ₂ S, 1
R ₈	W2S	对乙醇类灵敏	CO, 100
R ₉	W2W	芳香成分, 对有机硫化物灵敏	H ₂ S, 1
R ₁₀	W3S	对烷烃灵敏	CH ₄ , 10

2 结果与讨论

2.1 唾液样本的感官评价

唾液样本经不同时间孵化后, 分别由5名感官评价人员对样品进行鼻腔嗅觉感受, 并将感受以分值记录, 其感官评分结果见表2. 由表2可见, M_0 和 M_{12} 感官评价值标准差一致, 其余各孵化时间段结果存在标准偏差, 但较小. 各孵

表2 唾液恶臭味感官评价(感官评定值)

Table 2 Sensory evaluation of saliva malodor (Sensory evaluation value)

唾液样本	感官评定值(均值 ± 标准差)	感官评定值/分
M_0	1.000 ± 0.000 ^a	1.0
M_1	2.267 ± 0.115 ^b	2.2 ~ 2.4
M_3	4.067 ± 0.115 ^c	4.0 ~ 4.2
M_6	4.700 ± 0.200 ^d	4.5 ~ 4.9
M_9	5.133 ± 0.115 ^e	5.0 ~ 5.2
M_{12}	6.000 ± 0.000 ^f	6.0

注: 不同小写字母表示同列数据间存在显著差异($P < 0.05$).

化时间段数值均呈现显著性差异,均与空白对照组差异显著.这是因为随着孵化时间的延长,全唾液中的致臭菌不断分解蛋白底物,因而气味发生显著性改变,臭味气体的浓度逐渐增大.

2.2 唾液样本的电子鼻评价

2.2.1 电子鼻特征值提取时间的确定

用PEN3电子鼻检测全唾液37℃恒温孵育12h后的样本.图1为电子鼻10个传感器感应信号随时间变化的响应曲线.图1中横坐标为数据采集时间,纵坐标为 G/G_0 ,表示传感器接触到检测样品挥发成分后的电导率 $G/m\Omega$ 与传感器经过标准活性炭过滤气体的电导率 $G_0/m\Omega$ 的比值,图1中每条曲线代表一个传感器.从图1可以看出:传感器随着时间变化响应信号快速增强到最大值,在最大值时各传感器响应值达到最大分离度,各挥发性气味物质得以明显区分;传感器采样至40s后响应信号值较小并趋于稳定,且各传感器响应信号数值比较接近,不能明显区分气味物质.因此,为保证实验数据

的可靠性,选取电子鼻传感器最大响应值附近5s作为特征值提取时间.

2.2.2 唾液样本的电子鼻雷达图

全唾液在37℃恒温孵化不同时间的电子鼻雷达扫描图如图2所示,图2中数轴1—10分别代表表1中的10种传感器.从图2可见,不同孵化时间的唾液样本其雷达图面积、形状有一定的差异,传感器 $R_1—R_5, R_8, R_{10}$ 的雷达面积较小,信号较

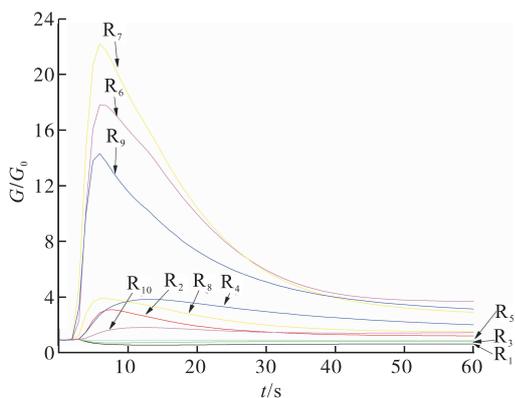


图1 全唾液孵化12h PEN3传感器响应曲线图
Fig. 1 The response curve of the PEN3 sensor in saliva incubation at 12 h

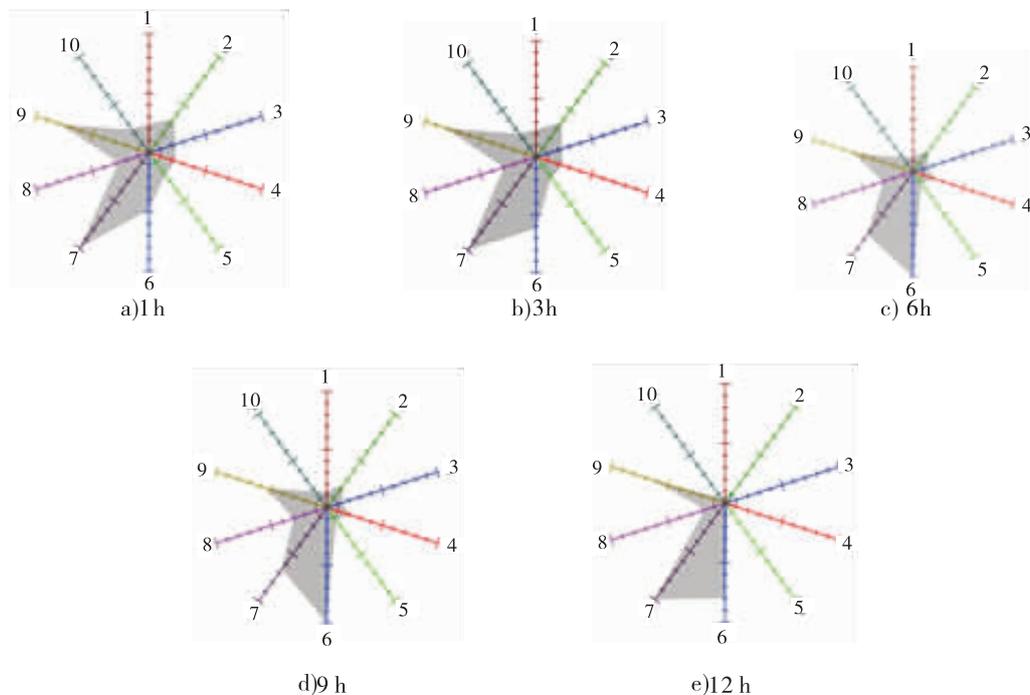


图2 全唾液不同孵化时间的雷达扫描图

Fig. 2 Radar scan map of saliva in different incubation time

弱甚至没有. 传感器 R_6, R_7 和 R_9 的检测信号较为突出, 且数值变化明显, 这 3 个传感器响应信号均随唾液孵化时间的增加而增强, 但增强速率有所不同, 在前 9 h 内, R_6 传感器响应信号增强速率最快, R_7 和 R_9 传感器响应信号的增强速率较缓慢, 这说明在前 9 h 孵育期间内, 口腔微生物通过腐败蛋白底物主要生成了甲基类的臭味成分物质. 在 9 ~ 12 h 孵育区间内, R_6 传感器响应信号增强速率最慢, 而 R_7 传感器响应信号值迅速增强, 这说明在此孵化区间, 口腔微生物通过化学腐败使口腔中充满了无机硫化物类臭味成分物质, 可能是 H_2S 等物质. 由此可见, 唾液中的气味以无机硫化物、甲基类化合物、芳香成分和有机硫化物为主, 分析雷达特征图可明显判别出 R_6, R_7 和 R_9 传感器在唾液气味判断上起决定性作用, 可用于唾液臭味气味的监测、识别和判定.

2.2.3 唾液样本的电子鼻传感器信号响应

对不同孵化时间唾液进行电子鼻检测, 提取不同传感器的响应比 G/G_0 , 结果如表 3 所示. 前 9 h 内, 电子鼻 R_1, R_3 和 R_5 传感器对全唾液的不同孵化时间气味的响应值没有显著性差异, 其余传感器响应值呈上升趋势; 当孵化时间达到 12 h 时, R_1, R_3 与 R_5 这 3 个传感器均显示有

显著性差异, 显著值为 1.0. 对每个孵化时间段中电子鼻各传感器进行显著性分析后发现: 在 1 ~ 3 h, 6 ~ 9 h 时, $R_2, R_4, R_6, R_7, R_8, R_9$ 和 R_{10} 传感器均无显著性差异或差异性不明显; 当孵化时间达到 12 h 时, 各传感器均有显著性差异. 在 1 ~ 12 h 区间, 传感器 R_7, R_6 和 R_9 响应信号值始终居于前三位, 明显高于其余传感器的响应值, 且与其他传感器有显著性差异. 因此可以把传感器 R_7, R_6 和 R_9 响应值作为口臭分析的判断依据.

2.2.4 口腔臭味评价法的相关性分析

2.2.4.1 PCA 采用电子鼻系统自带数据分析软件 WinMuster 中 PCA 分析实验中所采集的电子鼻图谱, 得到口臭电子鼻信号的主成分分析图(见图 3). 由图 3 可见, 第 1 主成分贡献率为 95.61%, 第 2 主成分贡献率为 4.00%, 两个主成分累计贡献率 99.61% > 95%. 因此这两个主成分已表达了样品的基本信息特征, 可用来代表不同孵化时间(即不同臭味指数)全唾液的整体现息. 1 h 与 3 h, 6 h 与 9 h 结果稍微有部分重叠, 其区分效果不是特别理想, 但唾液孵化 1 ~ 3 h, 6 ~ 9 h 和 12 h 的臭味成分能够基本分开, 因此 PCA 可以用以区分不同臭味指数的全唾液.

2.2.4.2 LDA LDA 是一种常规的模式识别

表 3 不同孵化时间 PEN3 传感器响应值对比表

Table 3 Comparison tables of PEN3 sensor in different incubation time

传感器代码	1 h	3 h	6 h	9 h	12 h
R_7 (W1W)	4.259 ± 0.193 ^{Ca}	4.423 ± 0.095 ^{Ca}	5.579 ± 0.514 ^{BCb}	5.104 ± 0.435 ^{Bb}	20.673 ± 0.769 ^{Aa}
R_6 (W1S)	2.166 ± 0.127 ^{Dc}	2.863 ± 0.149 ^{Dc}	6.483 ± 0.410 ^{Ca}	8.027 ± 0.247 ^{Ba}	19.250 ± 1.710 ^{Ab}
R_9 (W2W)	3.559 ± 0.112 ^{Cb}	3.721 ± 0.070 ^{Cb}	4.589 ± 0.367 ^{Bc}	4.178 ± 0.297 ^{Bc}	13.193 ± 0.267 ^{Ac}
R_8 (W2S)	1.192 ± 0.026 ^{Ce}	1.320 ± 0.032 ^{Ce}	2.253 ± 0.147 ^{Bd}	2.445 ± 0.126 ^{Bd}	4.355 ± 0.314 ^{Ad}
R_4 (W6S)	1.054 ± 0.002 ^{Cef}	1.091 ± 0.012 ^{Cf}	1.704 ± 0.160 ^{Be}	1.642 ± 0.177 ^{Be}	2.824 ± 0.204 ^{Ae}
R_2 (W5S)	1.580 ± 0.063 ^{Cd}	1.690 ± 0.017 ^{BCd}	1.743 ± 0.081 ^{Be}	1.742 ± 0.105 ^{Be}	2.546 ± 0.072 ^{Aef}
R_{10} (W3S)	1.125 ± 0.010 ^{Ce}	1.166 ± 0.005 ^{Cf}	1.247 ± 0.005 ^{Bf}	1.279 ± 0.029 ^{Bf}	1.649 ± 0.062 ^{Afg}
R_5 (W5C)	0.983 ± 0.007 ^{Bf}	0.979 ± 0.004 ^{Bg}	0.977 ± 0.001 ^{Bf}	0.975 ± 0.001 ^{Bfg}	0.957 ± 0.008 ^{Ag}
R_3 (W3C)	0.958 ± 0.014 ^{Bf}	0.942 ± 0.007 ^{Bg}	0.938 ± 0.013 ^{Bf}	0.949 ± 0.009 ^{Bfg}	0.815 ± 0.005 ^{Ag}
R_1 (W1C)	0.927 ± 0.025 ^{Bf}	0.902 ± 0.007 ^{Bg}	0.898 ± 0.026 ^{Bf}	0.922 ± 0.016 ^{Bg}	0.733 ± 0.007 ^{Ag}

注: 不同大写字母表示同行数据间存在显著差异, 不同小写字母表示同列数据间存在显著差异 ($P < 0.05$).

和样品分类方法,比值越小表明其类别间与类别内越接近、差异越小,区分效果不好.图4为在不同孵化时间下的全唾液 LDA 图,第1判别函数(LDA₁)的贡献率为73.27%,第2判别函数(LDA₂)的贡献率为18.51%,累计贡献率为91.78%.前3h的全唾液气味变化主要体现在LDA₂上,贡献率较小,变化速率也较小,且1h和3h未能分开,这可能是由于孵化刚开始时,顶空瓶中含有部分氧气,厌氧型腐败菌不能很好地分解腐化物质而生成挥发性硫化物所致;随着孵化时间增加,LDA₁所占比重增加,这可能与挥发性硫化物及甲基类化合物含量相关;当孵化时间达到12h时,气味的变化速率最快,且在LDA₁和LDA₂上变化明显,跟之前的气味区分度大,有显著差异.通过LDA分析可以完全区分出12h与其他孵化时间段的臭味组成.

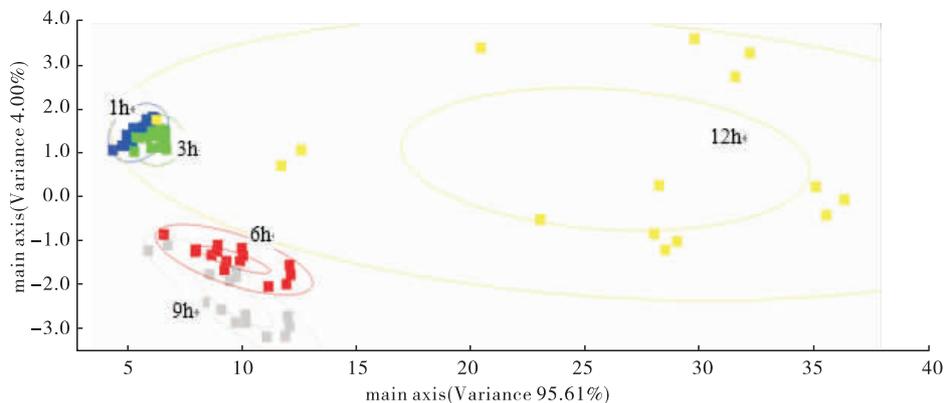


图3 不同孵化时间下的全唾液 PCA 图

Fig. 3 The PCA chart of saliva in different incubation time

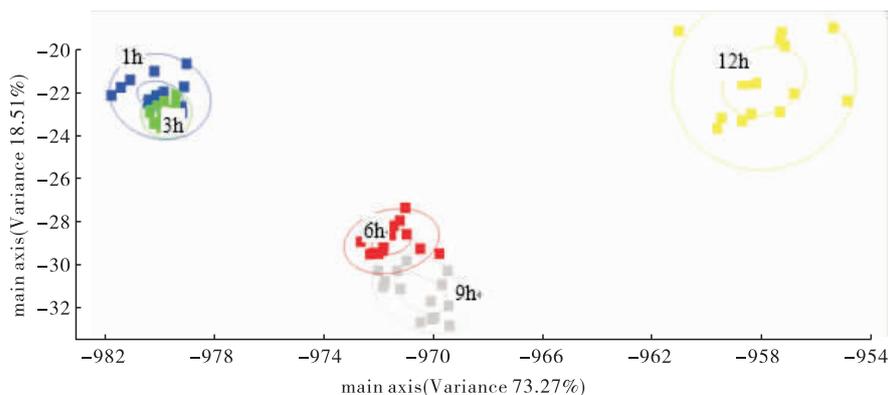


图4 不同孵化时间下的全唾液 LDA 图

Fig. 4 The LDA chart of saliva in different incubation time

2.2.4.3 Loadings 分析 Loadings 分析与PCA都是基于相同的算法,前者用来计算传感器本身,识别出电子鼻检测过程中传感器的贡献率,某传感器负载参数越远离原点(0,0)而接近1,表示其贡献率越大;如处于原点附近,则表示该传感器的作用可以忽略.图5为不同孵化时间下全唾液 Loadings 分析图.从图5可以看出,传感器R₆(W1S),R₇(W1W)和R₉(W2W)对第1主成分的贡献率较大,R₆对第2主成分的贡献率最小;传感器R₇和R₉对第2主成分的贡献率较大;R₃(W3C),R₅(W5C),R₁(W1C)和R₁₀(W3S)与原点接近,表明其对分析结果贡献率最低.前两个主成分分析累计贡献率99.61% > 95%,因此传感器R₆,R₇和R₉的响应值可以作为活性检测的指标.通过Loadings分析得到全唾液中臭味物质主要为无机硫

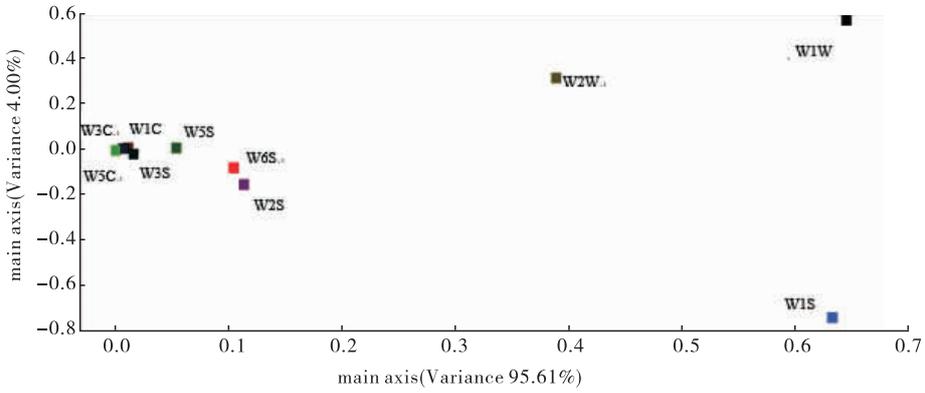


图5 不同孵化时间下全唾液 Loadings 分析图

Fig. 5 The Loadings analysis chart of saliva in different incubation time

化物(W1W)、甲基类化合物(W1S)和有机硫化物(W2W),这也证实了口臭的主要物质为挥发性硫化物和甲基类化合物.

2.2.5 电子鼻评价方法与感官评价法的相关性分析 对 2.2.4.3 中有显著差异的传感器 R_6, R_7 和 R_9 与 2.1 中感官评定值进行相关性分析,结果如图 6—图 8 所示. 由图可见,两个因素之间不是呈线性关系,而是呈指数函数拟合关系. 回归方程的相关系数越接近 1,说明拟合度越好、相关性越好;越接近 0,则表示相关性越差. 图中相关系数均在 0.9 以上,说明回归方程都具有良好的拟合度. 因此,采用电子鼻的 R_6, R_7 和 R_9 传感器可准确取代感官评价,该方法简单便捷,不受人的主观因素影响.

3 结论

本文建立了一种应用电子鼻测定口腔恶臭

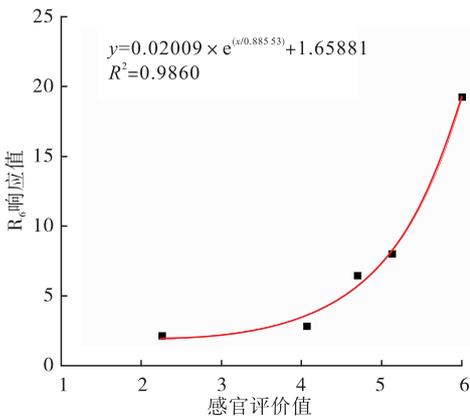


图6 R_6 与感官评价值的相关性分析
Fig. 6 Correlation analysis of R_6 and sensory evaluation values

sensor evaluation values

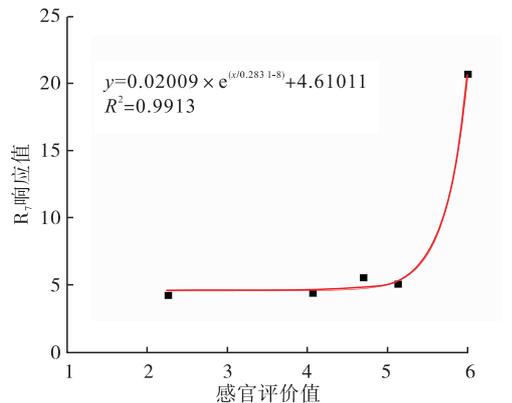


图7 R_7 与感官评价值的相关性分析
Fig. 7 Correlation analysis of R_7 and sensory evaluation values

sensor evaluation values

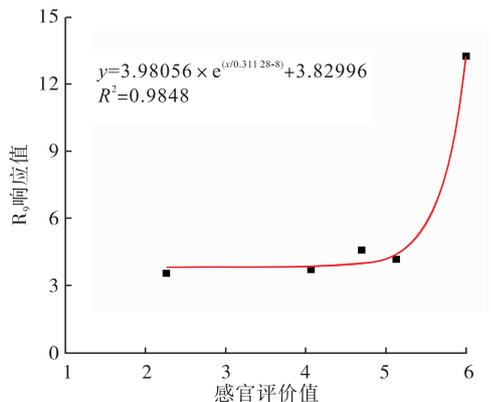


图8 R_9 与感官评价值的相关性分析
Fig. 8 Correlation analysis of R_9 and sensory evaluation values

sensor evaluation values

味的测定和评价方法. 在电子鼻对口腔唾液恶臭味气体测定中,传感器响应最大值附近 5 s,各传感器体现最大分离度,挥发性气体能得到明显区分. 当唾液孵化时间达到 12 h 时,各传感器显示有显著性差异,可作为唾液孵化检测时间. 电子鼻传感器 R_6 (W1S), R_7 (W1W) 和 R_9 (W2W) 对口臭气体的响应与其他传感器有显著性差异,因而这 3 个传感器在臭味表达上起主要作用. 电子鼻检测中,传感器 R_6 , R_7 和 R_9 与感官评分值呈较显著正相关,相关系数均大于 0.9,表明电子鼻评价法与感官评价法表现出较好的一致性. 口腔中恶臭味气体为挥发性硫化物、甲基类化合物.

参考文献:

- [1] LIU X N, K SHINADA, CHEN X C, et al. Oral malodor-related parameters in the Chinese general population[J]. *J Clin Periodontol*, 2006, 33(1):31.
- [2] MIYAZAKI H, SAKAO S, KATOH Y, et al. Correlation between volatile sulphur compounds and certain oral health measurements in the general population[J]. *Journal of Periodontology*, 1995, 66(8):679.
- [3] DELANGHE G, GHYSELEN J, BOLLEN C, et al. An inventory of patients' response to treatment at a multidisciplinary breath odor clinic[J]. *Quintessence Int*, 1999, 30(5):307.
- [4] DELANGHE G, GHYSELEN J, FEENSTRA L, et al. Experiences of a Belgian multidisciplinary breath odour clinic [J]. *Acta Otorhinolaryngol Belg*, 1997, 51(1):43.
- [5] NAKANO Y, YOSHIMURA M, KOGA T. Correlation between oral malodor and periodontal bacteria[J]. *Microbes Infect*, 2002, 4(6):679.
- [6] Den BROEK M W T Van A, FEENSTRA L, De BAAT C. A review of the current literature on aetiology and measurement methods of halitosis [J]. *J Dent*, 2007, 35(8):627.
- [7] 胡赞. 口臭研究模型对致臭菌确定的探讨[D]. 成都:四川大学, 2004.
- [8] 王琳. 黄芩与茶多酚对口臭致臭菌及致臭底物作用的实验研究[D]. 成都:四川大学, 2005.
- [9] 王丹, 靳华. 口源性口臭临床治疗效果的初步分析[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2010(6):348.
- [10] TANAKA M, ANGURI H, NONAKA A, et al. Clinical assessment of oral malodor by the electronic nose system [J]. *J Dent Res*, 2004, 83(4):317.
- [11] NONAKA A, TANAKA M, ANGURI H, et al. Clinical assessment of oral malodor intensity expressed as absolute value using an electronic nose[J]. *Oral Dis*, 2005, 11(S1):35.