

• 制剂与炮制 •

基于口尝评价和电子舌评价的药物苦味叠加规律研究

李学林^{1 2 3 4}, 张耀¹, 陈鹏举¹, 施钧瀚^{2 3 4}, 姚静^{2 3 4}, 王青晓⁵, 桂新景^{2 3},
张璐^{2 3}, 王柯涵¹, 马静¹, 王艳丽¹, 刘瑞新^{1 2 3 4*}

(1.河南中医药大学, 河南 郑州 450008; 2.河南中医药大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450000;

3.国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 河南 郑州 450000; 4.呼吸疾病诊疗与新药研发

河南省协同创新中心, 河南 郑州 450000; 5.河南省食品药品检验所, 河南 郑州 450000)

[摘要] 中药汤剂含有复杂的苦味。该文以中药单体苦味物质简单混合为切入点研究苦味叠加的呈苦规律。以盐酸小檗碱(生物碱类)、栀子苷(萜类)、熊果苷(糖苷类)为母液物质,以槐定碱(生物碱类)、龙胆苦苷(萜类)、葛根素(糖苷类)为添加物质,将不同的添加物质按照浓度梯度分别与不同母液两两混合进行苦味叠加得到混合液,通过口尝评价(THTPM)和电子舌评价添加物溶液和混合液的苦度,以威布尔、对数曲线建立添加物溶液及混合液的苦度-浓度拟合模型。对比分析添加物溶液与混合液的苦度-浓度模型、苦度差值($\Delta I_0/\Delta I_e$),探讨母液对混合液苦度的影响规律。结果显示,添加物溶液苦度模型和混合液叠加苦度模型都符合威布尔模型和对数模型(口尝评价: $R^2 \geq 0.887 0$ $P < 0.01$; 电子舌评价: $R^2 \geq 0.753 2$ $P < 0.05$)。威布尔模型的拟合度普遍高于对数模型;口尝苦度差值(ΔI_0)呈单调递减趋势;口尝叠加苦度和电子舌叠加苦度拟合方程: $R^2 \geq 0.874 2$ $P < 0.01$ 。该文通过对不同种类的中药苦味物质相互叠加,进行口尝和电子舌联合评价,发现叠加后的苦度依然与添加物质浓度呈威布尔或对数关系;口尝评价显示苦味母液对混合液苦度的影响随添加物浓度的升高而降低;电子舌叠加苦度和口尝叠加苦度明显相关。但后期需通过筛选浓度梯度、增大样本量进行更深入的验证。

[关键词] 叠加苦度; 呈苦规律; 电子舌; 口尝评价

Study on superposition law of drug bitterness based on tongue taste evaluation and electronic tongue evaluation

LI Xue-lin^{1 2 3 4}, ZHANG Yao¹, CHEN Peng-ju¹, SHI Jun-han^{2 3 4}, YAO Jing^{2 3 4}, WANG Qing-xiao⁵, GUI Xin-jing^{2 3},
ZHANG Lu^{2 3}, WANG Ke-han¹, MA Jing¹, WANG Yan-li¹, LIU Rui-xin^{1 2 3 4*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; 3. Level Three Laboratory of Chinese Traditional Medical Preparation of National Administration of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; 4. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450000, China; 5. Henan Province Food and Drug Inspection Institute, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] Traditional Chinese medicine (TCM) decoction contains complex bitterness. In this paper, the simple mixing of TCM monomer bitter substances is used as the entry point to study the law of bitterness superposition. With berberine hydrochloride (alkaloids), geniposide (terpenoids), and arbutin (glycosides) as mother liquor, sophoridine (alkaloids), gentiopicroside (terpenoids),

[收稿日期] 2019-07-15

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81774452);国家自然科学基金青年基金项目(81001646);河南省中医管理局中医药科学研究专项(2017ZY2039);河南省科技攻关计划项目(172102310135);河南省中医管理局首届河南省中医药传承与创新人才工程(仲景工程)项目(2019ZYBJ07)

[通信作者] * 刘瑞新, 博士, 副主任药师, 主要从事中药饮片临床应用现代化研究, Tel: (0371) 66233562 E-mail: liuruxin7@163.com

[作者简介] 李学林, 教授, 博士生导师, 主任药师, 主要从事中药应用形式研究, Tel: (0371) 66245142 E-mail: xuelinli450000@163.com

and puerarin (glycosides) as additive substances, these different additive substances were mixed with different mother liquor according to concentration gradients to form different liquid mixtures. The bitterness of the additive solution and the mixtures was evaluated by traditional human taste panel method (THTPM) and electronic tongue; the bitterness-concentration fitting model of the additive solution and the liquid mixtures was established by Weibull and logarithmic curves. By comparing and analyzing the bitterness-concentration model and the bitterness difference ($\Delta I_0/\Delta I_e$) of the additive solution and the mixture, the influence of mother liquor on the bitterness of the mixture was investigated. The results showed that both the additive solution bitterness model and the liquid mixture bitterness model were consistent with the Weibull model and the logarithmic model (THTPM: $R^2 \geq 0.887 0$, $P < 0.01$; electronic tongue test: $R^2 \geq 0.753 2$, $P < 0.05$). The fitting degree of the Weibull model was generally higher than that of the logarithmic model; the bitterness difference (ΔI_0) was monotonously decreasing; the fitting equation of tongue bitterness and electronic tongue bitterness: $R^2 \geq 0.874 2$, $P < 0.01$. In this article, through the superposition of different kinds of TCM bitter substances, THTPM and electronic tongue test was combined. It was found that the bitterness after superposition was still in Weibull or logarithmic relationship with the concentration of additive substances; THTPM showed that the effect of bitter mother liquor on the bitterness of the mixture decreased with the increase of the concentration of the additive; the bitterness of the electronic tongue was obviously related to the bitterness of THTPM. However, further verification is needed later by optimizing the concentration gradient and expanding the sample size.

[Key words] superimposed bitterness; Bitter law; electronic tongue; tongue taste

doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20190916.310

中药汤剂给人的苦味感受很多时候不单是由其所含的一种苦味化合物呈现,而是多种苦味化合物联合呈现的一种混合苦味。根据韦伯费希纳定律^[1](Weber-Fechner law):单独的苦味化合物呈现的味觉强度在中等程度下与其浓度呈对数关系。文献报道有研究单独苦味化合物呈苦规律^[2-3]、苦味中药的化学成分^[4]及呈苦规律^[5]、苦味溶液掩味规律^[6-7],但是未找到苦味叠加后的苦味变化相关文献研究,比如不同种类苦味化合物混合后,相互之间对整体苦味的呈现是相互促进、相互抑制、还是互不影响?经典人群口感评价法^[8-9](THTPM,以下简称口尝法)是评价味觉信息的基本方法,电子舌(E-tongue)也广泛用于食品药品感官评价^[10-11]和质量控制^[12]等领域,因此本实验以不同种类的苦味物质两两混合为切入点,以盐酸小檗碱(生物碱类)、栀子苷(萜类)、熊果苷(糖苷类)为母液物质(2个浓度梯度),以槐定碱(生物碱类)、龙胆苦苷(萜类)、葛根素(糖苷类)为添加物质(6个浓度梯度),将不同添加物分别与不同母液两两混合进行苦味叠加得到混合液。以口尝及电子舌法所得苦度为苦味量化指标,通过对比研究添加物溶液、混合液的苦度,初步探索苦味化合物的苦味叠加规律,为中药复方的整体呈味以及掩味技术的进一步发展提供参考。

1 材料

盐酸小檗碱(批号140406,纯度98.62%),四川省玉鑫药业有限公司;槐定碱(批号HDJ20170515,

纯度98.20%)、龙胆苦苷(批号LDKG20171113,纯度98.10%),西安昊轩生物科技有限公司;熊果苷(批号JT20170821,纯度99.59%)、栀子苷(批号JTZ20171231,纯度98.12%)、葛根素(批号JT20170921,纯度98.54%),西安嘉天生物科技有限公司;水为纯化水。

电子天平(福州华志科学仪器有限公司,LCD-A200型);1/10万电子天平(德国Sartorius,CP225D型);科导台式超声清洗器(上海科导超声仪器有限公司,HK250型);红外测温仪(深圳市泰克曼电子有限公司,TD360型);HHS电热恒温水浴锅;磁力搅拌器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,AM-5250B型);电子舌(日本Insent公司,TS-5000Z型)。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 参比样品制备

2.1.1.1 口尝苦味参比溶液制备 参照文献方法[13-14],将苦味分为5级,每个级别再赋予一定的苦度值范围。配制不同浓度的盐酸小檗碱溶液作为苦味参比溶液。以参比溶液为参照测试样品溶液的

2.1.1.2 电子舌参比液制备 准确称量2.24 g氯化钾和0.045 g酒石酸用500 mL水溶解,转移到1 000 mL的量瓶,定容,作为电子舌参比液。

2.1.2 待测样品制备

2.1.2.1 苦味母液制备 精密称取12.80 mg盐酸小

槲碱以纯化水定容至 1 000 mL, 配制成质量浓度为 $0.012\ 8\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 作为苦味母液, 记为 S1。同上操作, 下列 5 种溶液均作为苦味母液: 配制盐酸小檲碱浓度为 $0.025\ 6\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 记为 S2; 配制栀子苷质量浓度为 $1.2\ 2.4\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 记为 S3, S4; 配制熊果苷质量浓度为 $6.2\ 12.4\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 记为 S5, S6。

2.1.2.2 添加物溶液及混合液制备 以水溶液配制质量浓度为 $0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的槐定碱溶液; $0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56, 5.12\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的龙胆苦苷溶液; $0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00, 16.00\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的葛根素溶液; 分别用 S1, S3, S5 为苦味母液配制含槐定碱 $0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液; 分别用 S2, S4, S6 为苦味母液配制含槐定碱 $0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液; 分别用 S1, S3, S5 为苦味母液配制含龙胆苦苷 $0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液; 分别用 S2, S4, S6 为苦味母液配制含龙胆苦苷 $0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56, 5.12\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液; 分别用 S1, S3, S5 为苦味母液配制含葛根素 $0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液; 分别用 S2, S4, S6 为苦味母液配制含葛根素 $0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00, 16.00\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合液。

2.2 口尝测试

2.2.1 志愿者筛选及苦度标准化培训

参考文献[8]方法最终筛选 21 名健康志愿者(男 5 名、女 16 名)作为受试者。使用口尝苦味参比液对志愿者进行苦度标准化培训, 目的是使志愿者具有统一的苦度等级味觉感受, 以便于口尝样品时进行标准的味觉评价。

2.2.2 苦度评价

21 名志愿者根据自己的口尝感受, 结合苦味参比液, 对 2.1.2 项添加物溶液及混合液进行苦味评价, 苦度记录于预先设计好的“苦度评价表”中, 口尝测试具体步骤参照文献[15]。

2.3 电子舌测试

通过预实验选取 TS-5000Z 型电子舌的苦味传感器测试添加物溶液及混合液, 提取对苦味敏感的苦味(bitterness)和酸性苦味回味(aftertaste-B)数据进行分析, 电子舌具体操作方法参考文献[16]。

2.4 离群值的处理

口尝测试离群值处理: 由于口尝实验不同志愿

者之间可能存在个体差异, 测试数据中会有个别异常值, 因此参照文献[17-18]采用 Grubbs 检验法对数据进行异常值的循环检验和剔除。本次实验选择检出水平为 0.1、剔除水平为 0.05。电子舌测试离群值处理: 电子舌测试中环境改变等可能产生异常数据, 同样使用 Grubbs 检验法进行异常值剔除。

2.5 统计学方法

根据参考文献及课题组前期研究^[2, 15, 19], 本实验根据添加物浓度与叠加后苦度关系折线图形状, 对添加物浓度-叠加后苦度进行威布尔关系模型(f_1)和对数关系模型(f_2)的拟合, 二者关系式如下。

$$I_0 = f_1(C) = \beta(1 - e^{-\frac{(C-a)^m}{k}})$$

$$I_0 = f_2(C) = a \ln C + b$$

其中 C 表示浓度, $a, b, \alpha, \beta, m, k$ 为待定参数。

采用“规划求解”建立威布尔模型和最小二乘法建立对数模型 2 种方法建立浓度对苦度和叠加苦度的拟合模型。采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 离群值的处理

对口尝试验结果共 21 组(2 709 个)数据进行处理, 并查 Grubbs 临界值 $G_p(n)$ 表, 对每组实验结果中达到剔除水平的数据进行循环剔除, 共剔除 97 个口尝数据, 电子舌未剔除异常数据。剔除后不再进行插值或补充测试, 以每组剩余未剔除数据的平均值为最终样品的味觉值。因实验结果数据量较大, 为节省篇幅不在本文中一一列出, 以槐定碱为例展示剔除离群值后最终平均值, 见表 1。

3.2 口尝苦度测试结果与添加物浓度关系

选择 2.1.2 项下所配样品进行口尝测试, 槐定碱、龙胆苦苷、葛根素简称 HDJ, LDKG, GGS。3 种添加物质及母液(S1~S6)所配的添加物溶液、混合液的口尝苦度威布尔-对数方程拟合度见表 2。

由上述拟合方程的 R^2 可知, 口尝苦度的威布尔模型均优于对数模型, 因此采用威布尔模型, 建立添加物溶液的苦度-浓度拟合模型、混合液的苦度-浓度拟合模型, 见图 1, 并简单展示 2 个模型的纵轴苦度的差值(ΔI_0)。

口尝测试的添加物溶液苦度模型和混合液叠加苦度模型都符合威布尔模型和对数模型: $R^2 \geq 0.887\ 0$, $P < 0.01$, 威布尔模型的拟合度普遍高于对数模型; 口尝苦度差值(ΔI_0)呈单调递减趋势。

表 1 槐定碱口尝苦度测试

Table 1 Test results of sophoridine tongue bitterness

sample	0.01 g•L ⁻¹	0.02 g•L ⁻¹	0.04 g•L ⁻¹	0.08 g•L ⁻¹	0.16 g•L ⁻¹	0.32 g•L ⁻¹	0.64 g•L ⁻¹
sophoridine	1.06	1.48	1.68	2.02	2.86	3.35	3.67
S1+ sophoridine	2.08	2.39	2.45	2.64	3.08	3.37	
S2+ sophoridine		2.68	2.85	3.11	3.13	3.41	3.89
S3+ sophoridine	2.31	2.64	2.71	2.73	3.16	3.65	
S4+ sophoridine		2.94	3.08	3.09	3.51	3.84	4.10
S5+ sophoridine	2.72	2.81	2.84	3.22	3.78	3.98	
S6+ sophoridine		3.57	3.81	3.90	4.31	4.33	4.71

表 2 3 种添加物浓度对叠加口尝苦度拟合模型

Table 2 Fitting model of three additive concentrations on superimposed tongue bitterness

bitter substance	n	Weibull model	Logarithmic model
sophoridine	7	$R^2=0.991\ 1\ P<0.01$	$R^2=0.973\ 2\ P<0.01$
gentiopicroside	7	$R^2=0.999\ 2\ P<0.01$	$R^2=0.917\ 5\ P<0.01$
puerarin	7	$R^2=0.992\ 7\ P<0.01$	$R^2=0.988\ 7\ P<0.01$
S1+ sophoridine	6	$R^2=0.976\ 7\ P<0.01$	$R^2=0.955\ 8\ P<0.01$
S2+ sophoridine	6	$R^2=0.964\ 3\ P<0.01$	$R^2=0.929\ 3\ P<0.01$
S3+ sophoridine	6	$R^2=0.952\ 4\ P<0.01$	$R^2=0.887\ 0\ P<0.01$
S4+ sophoridine	6	$R^2=0.987\ 2\ P<0.01$	$R^2=0.937\ 0\ P<0.01$
S5+ sophoridine	6	$R^2=0.987\ 4\ P<0.01$	$R^2=0.903\ 9\ P<0.01$
S6+ sophoridine	6	$R^2=0.963\ 9\ P<0.01$	$R^2=0.961\ 6\ P<0.01$
S1+ gentiopicroside	6	$R^2=0.993\ 7\ P<0.01$	$R^2=0.909\ 6\ P<0.01$
S2+ gentiopicroside	6	$R^2=0.971\ 8\ P<0.01$	$R^2=0.896\ 2\ P<0.01$
S3+ gentiopicroside	6	$R^2=0.989\ 7\ P<0.01$	$R^2=0.928\ 0\ P<0.01$
S4+ gentiopicroside	6	$R^2=0.982\ 5\ P<0.01$	$R^2=0.959\ 4\ P<0.01$
S5+ gentiopicroside	6	$R^2=0.972\ 9\ P<0.01$	$R^2=0.962\ 1\ P<0.01$
S6+ gentiopicroside	6	$R^2=0.944\ 9\ P<0.01$	$R^2=0.911\ 5\ P<0.01$
S1+ puerarin	6	$R^2=0.971\ 5\ P<0.01$	$R^2=0.941\ 7\ P<0.01$
S2+ puerarin	6	$R^2=0.975\ 9\ P<0.01$	$R^2=0.971\ 9\ P<0.01$
S3+ puerarin	6	$R^2=0.990\ 3\ P<0.01$	$R^2=0.947\ 2\ P<0.01$
S4+ puerarin	6	$R^2=0.976\ 3\ P<0.01$	$R^2=0.919\ 8\ P<0.01$
S5+ puerarin	6	$R^2=0.928\ 1\ P<0.01$	$R^2=0.922\ 2\ P<0.01$
S6+ puerarin	6	$R^2=0.955\ 3\ P<0.01$	$R^2=0.889\ 6\ P<0.01$

3.3 电子舌苦度测试结果与添加物浓度的关系

同样选择 2.1.2 项下所配样品作为电子舌测试样品,拟合关于浓度和电子舌苦度的方程。添加物溶液(槐定碱、龙胆苦苷、葛根素)及混合液(S1~S6+槐定碱/龙胆苦苷/葛根素)的威布尔-对数方程拟合度见表 3。

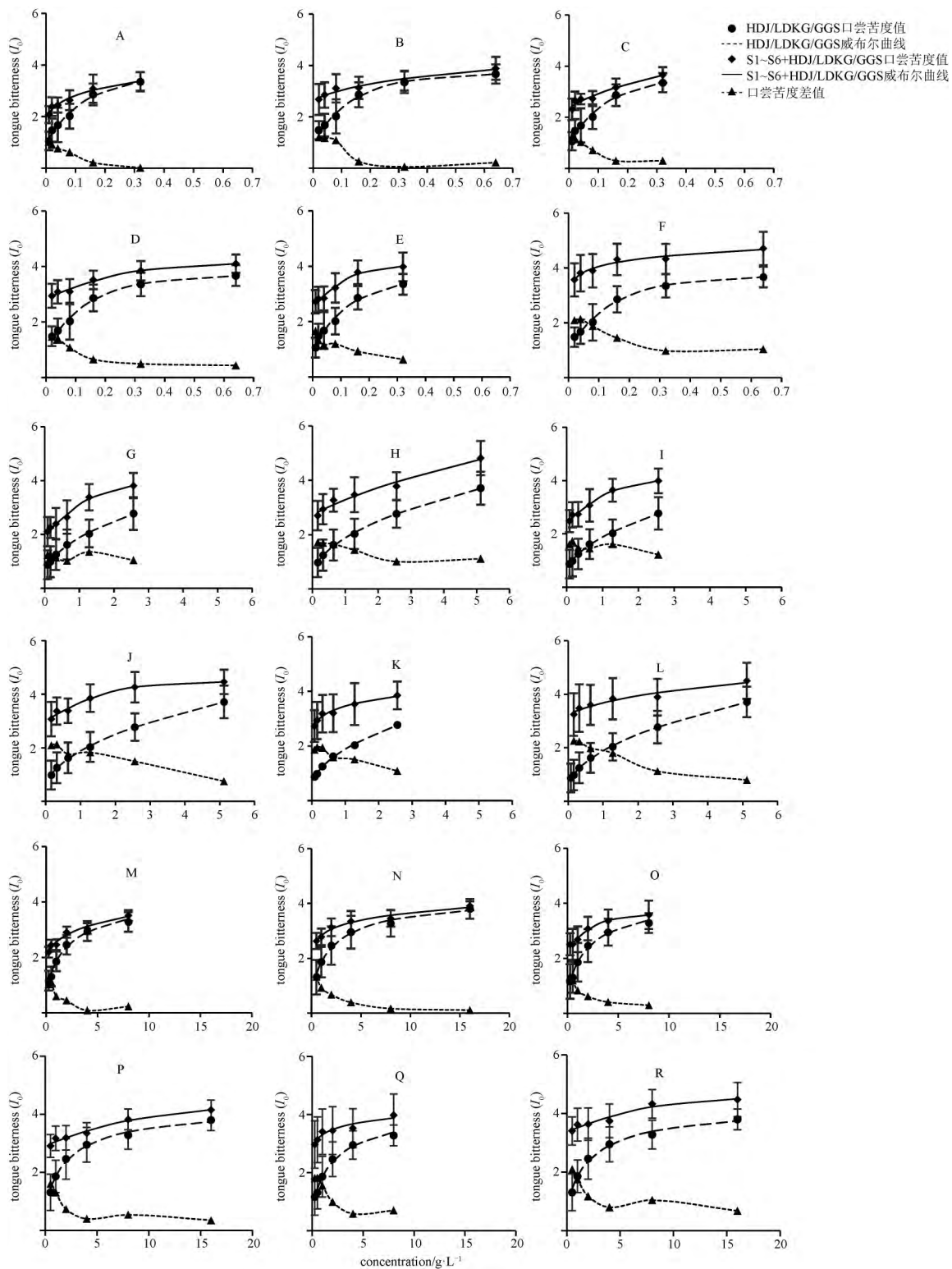
由上述拟合方程的 R^2 可知 3 种添加物浓度对电子舌苦度的威布尔模型普遍优于对数模型,因此,采用威布尔模型,建立添加物溶液的 I_e-c 模型、混合液的 I_e-c 模型,见图 2。

电子舌的添加物溶液苦度模型和混合液叠加苦度模型都符合威布尔模型和对数模型: $R^2 \geq$

0.753 2 $P<0.05$,威布尔模型的拟合度普遍高于对数模型;电子舌苦度差值(ΔI_e)整体没有规律性变化趋势。

3.4 口尝叠加苦度和电子舌叠加苦度关联模型构建

由样品测试结果并结合回归分析,能够得到添加物溶液(槐定碱、龙胆苦苷和葛根素)及混合液(S1~S6+槐定碱/龙胆苦苷/葛根素)的口尝叠加苦度和电子舌叠加苦度之间的最佳拟合模型为线性模型或对数模型。以电子舌苦度值(I_e)为横坐标,相应的口尝苦度值(I_0)为纵坐标,所构建的拟合模型见图 3。



A~F. S1+槐定碱 S2+槐定碱 S3+槐定碱 S4+槐定碱 S5+槐定碱 S6+槐定碱; G~L. S1+龙胆苦苷 S2+龙胆苦苷 S3+龙胆苦苷 S4+龙胆苦苷 S5+龙胆苦苷 S6+龙胆苦苷; M~R. S1+葛根素 S2+葛根素 S3+葛根素 S4+葛根素 S5+葛根素 S6+葛根素; ΔI_0 = 混合液 (S1+HDJ) 苦度值 - 添加物溶液 (HDJ) 苦度值。

图 1 3 种添加物及混合液口尝苦度 (I_0) 与浓度 (c) 关系的威布尔模型

Fig.1 Weibull model of relationship between tongue bitterness (I_0) and concentration (c) of three kinds of additives and mixtures

表 3 3 种添加物浓度对叠加电子舌苦度拟合模型

Table 3 Fitting model of three kinds of additive concentration on superimposed electronic tongue bitterness

bitter substance	sensor	<i>n</i>	Weibull model	Logarithmic model
sophoridine	bitterness	7	$R^2 = 0.998\ 0\ P < 0.01$	$R^2 = 0.852\ 1\ P < 0.01$
gentiopicoside	aftertaste-B	7	$R^2 = 0.952\ 2\ P < 0.01$	$R^2 = 0.823\ 3\ P < 0.05$
gentiopicoside	bitterness	7	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.831\ 6\ P < 0.05$
puerarin	bitterness	7	$R^2 = 0.999\ 0\ P < 0.01$	$R^2 = 0.997\ 7\ P < 0.01$
s1+sophoridine	bitterness	6	$R^2 = 0.973\ 6\ P < 0.01$	$R^2 = 0.806\ 1\ P < 0.05$
s2+sophoridine	bitterness	6	$R^2 = 0.915\ 6\ P < 0.01$	$R^2 = 0.960\ 9\ P < 0.01$
s3+sophoridine	bitterness	6	$R^2 = 0.998\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.995\ 4\ P < 0.01$
s4+sophoridine	bitterness	6	$R^2 = 0.994\ 7\ P < 0.01$	$R^2 = 0.952\ 4\ P < 0.01$
s5+sophoridine	bitterness	6	$R^2 = 0.998\ 9\ P < 0.01$	$R^2 = 0.880\ 5\ P < 0.01$
s6+sophoridine	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 9\ P < 0.01$	$R^2 = 0.941\ 2\ P < 0.01$
s1+ gentiopicoside	aftertaste-B	6	$R^2 = 0.984\ 6\ P < 0.01$	$R^2 = 0.896\ 9\ P < 0.01$
s2+ gentiopicoside	aftertaste-B	6	$R^2 = 0.999\ 6\ P < 0.01$	$R^2 = 0.865\ 1\ P < 0.01$
s3+ gentiopicoside	aftertaste-B	6	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.888\ 0\ P < 0.01$
s4+ gentiopicoside	aftertaste-B	6	$R^2 = 0.999\ 4\ P < 0.01$	$R^2 = 0.873\ 7\ P < 0.01$
s5+ gentiopicoside	aftertaste-B	6	$R^2 = 0.999\ 9\ P < 0.01$	$R^2 = 0.829\ 2\ P < 0.05$
s6+ gentiopicoside	aftertaste-B	6	$R^2 = 0.998\ 7\ P < 0.01$	$R^2 = 0.827\ 6\ P < 0.05$
s1+ gentiopicoside	bitterness	6	$R^2 = 0.753\ 2\ P < 0.05$	$R^2 = 0.851\ 8\ P < 0.01$
s2+ gentiopicoside	bitterness	6	$R^2 = 0.841\ 4\ P < 0.01$	$R^2 = 0.931\ 3\ P < 0.01$
s3+ gentiopicoside	bitterness	6	$R^2 = 0.998\ 7\ P < 0.01$	$R^2 = 0.894\ 0\ P < 0.01$
s4+ gentiopicoside	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 6\ P < 0.01$	$R^2 = 0.917\ 2\ P < 0.01$
s5+ gentiopicoside	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 9\ P < 0.01$	$R^2 = 0.839\ 1\ P < 0.05$
s6+ gentiopicoside	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.849\ 6\ P < 0.01$
s1+ puerarin	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.995\ 1\ P < 0.01$
s2+ puerarin	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 9\ P < 0.01$	$R^2 = 0.995\ 6\ P < 0.01$
s3+ puerarin	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 5\ P < 0.01$	$R^2 = 0.999\ 4\ P < 0.01$
s4+ puerarin	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.998\ 5\ P < 0.01$
s5+ puerarin	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$	$R^2 = 0.999\ 5\ P < 0.01$
s6+ puerarin	bitterness	6	$R^2 = 0.999\ 9\ P < 0.01$	$R^2 = 0.999\ 8\ P < 0.01$

对口尝叠加苦度和电子舌叠加苦度进行拟合得到 28 个拟合方程 ($P < 0.01$), 其中 27 个为线性方程, 全部拟合方程 $R^2 \geq 0.874\ 2\ P < 0.01$ 。

4 讨论

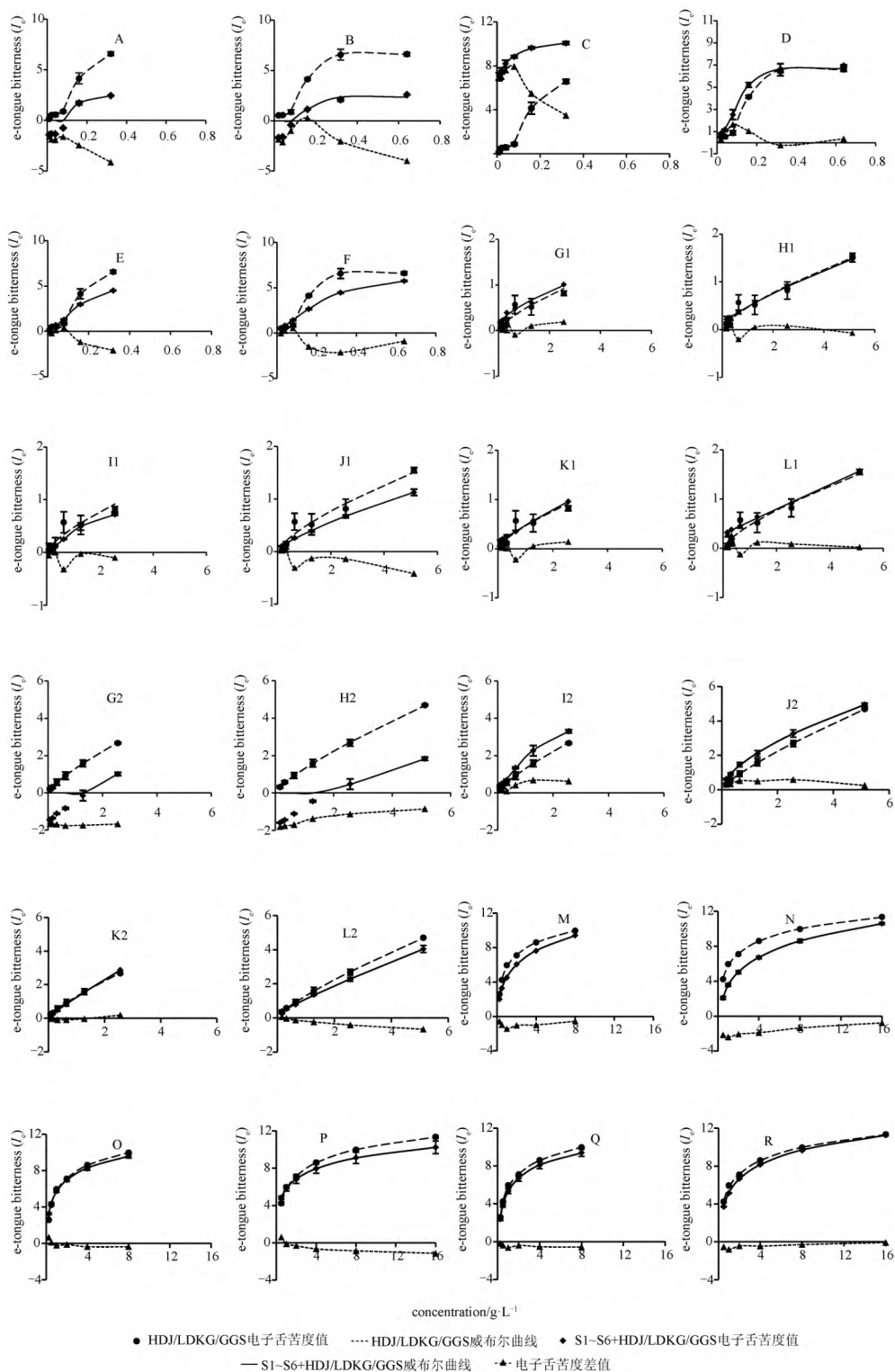
4.1 苦味物质浓度的选择

本文的苦味叠加实验, 首先确定了槐定碱、龙胆苦苷、葛根素 3 种添加物质室温下最小苦度时的浓度及最大溶解度, 根据韦伯费希纳定律, 将苦味质浓度以 2 倍比例递增, 共 7 个浓度梯度, 尽可能使添加物浓度覆盖从小到大区间, 最大限度考察苦味母液中加入苦味质后浓度与叠加苦度的关系。但是三类苦味母液的浓度只设计了 2 个浓度, 浓度选择参考添加物浓度梯度的苦度中间值, 能够得到的规律有限。后期研究中可将苦味母液浓度也设计为多个浓度, 依托电子舌(比较快速)进行全面试验考察 2 种苦味质全面叠加苦度, 增加的数据可填充模型的空缺并相互比较验证以提

高准确性, 但需要排除叠加后苦度超过电子舌响应量程情况。

4.2 电子舌评价叠加苦度的效果

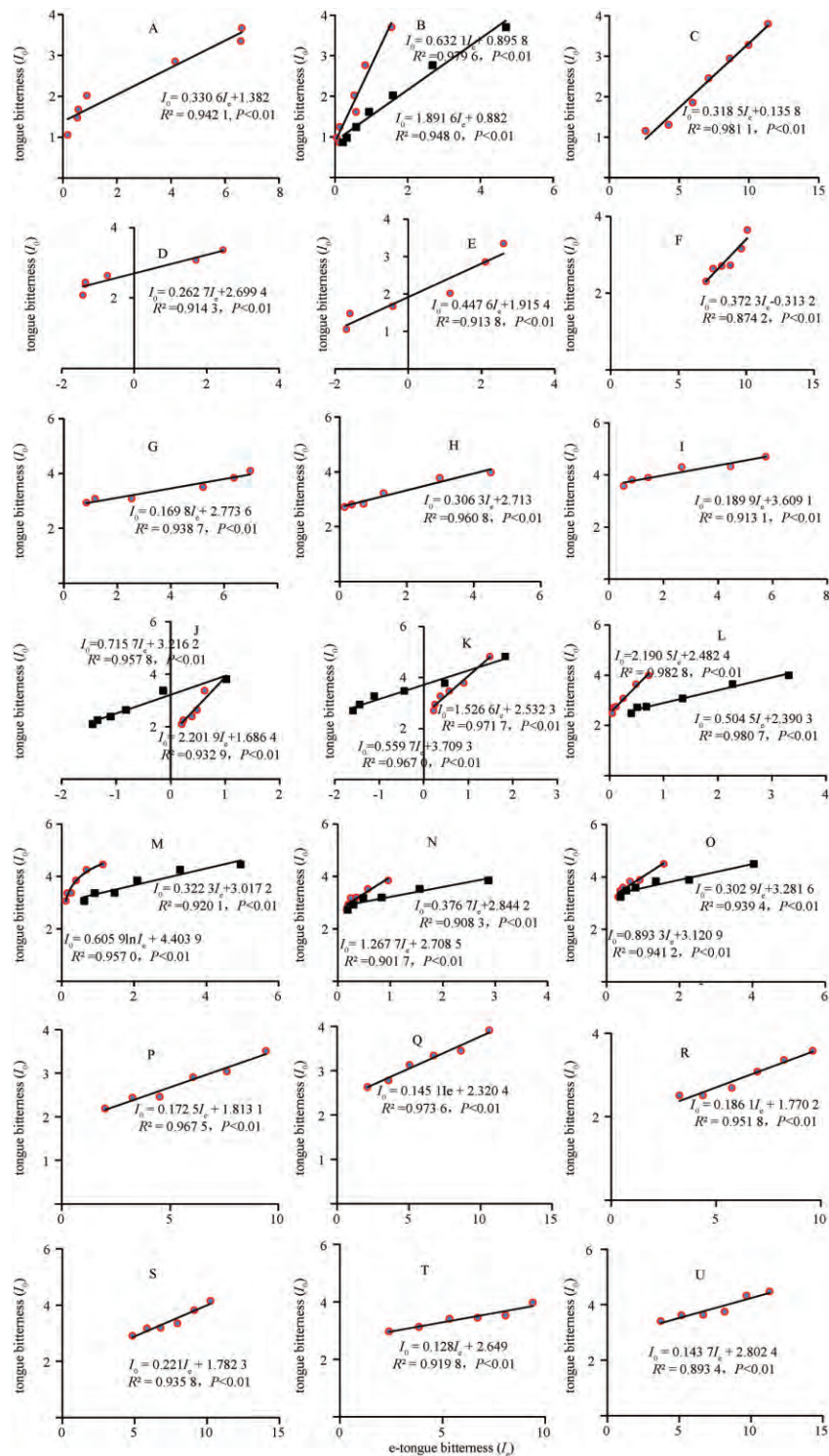
电子舌最早在食品感官测试领域得到应用并广泛发展。中药的富饶资源、配伍的各种变化, 都使汤剂在服用时含有复杂滋味, 因此课题组借鉴食品领域以电子舌与口尝评价相互验证进行中药汤剂掩味的准确评价, 并取得一定成果^[2, 6, 16]。本实验选择 TS-5000Z 型电子舌, 有苦、涩、甜、酸、咸五类传感器, 本文选择苦味传感器测试, 其能分析苦味(bitterness)和酸性苦味回味(aftertaste-B)共 2 种信息。对表 1 中所有样本进行测试后显示: 龙胆苦苷的浓度与 bitterness、aftertaste-B 信息正相关, 而槐定碱、葛根素的浓度只与 bitterness 信息正相关。随着两者浓度升高, 它们的 aftertaste-B 信息无变化, 因此在文中并未展出槐定碱、葛根素的浓度与 aftertaste-B 信息的 I_e - c 拟合模型。



A~F(bitterness) . S1+槐定碱 S2+槐定碱 S3+槐定碱 S4+槐定碱 S5+槐定碱 S6+槐定碱; G1~L1(aftertaste-B) ,G2~L2(bitterness) . S1+龙胆苦苷 S2+龙胆苦苷 S3+龙胆苦苷 S4+龙胆苦苷 S5+龙胆苦苷 S6+龙胆苦苷; M~R(bitterness) . S1+葛根素 S2+葛根素 S3+葛根素 S4+葛根素 S5+葛根素 S6+葛根素。

图2 3种添加物及混合液的电子舌苦度(I_e)与浓度(c)关系威布尔模型

Fig.2 Weibull model of e-tongue bitterness (I_e) and concentration (c) of three additives and mixtures



A. 槐定碱; B. 龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); C. 葛根素; D. S1+槐定碱; E. S2+槐定碱; F. S3+槐定碱; G. S4+槐定碱; H. S5+槐定碱; I. S6+槐定碱; J. S1+龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); K. S2+龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); L. S3+龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); M. S4+龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); N. S5+龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); O. S6+龙胆苦苷 (aftertaste-B/bitterness); P. S1+葛根素; Q. S2+葛根素; R. S3+葛根素; S. S4+葛根素; T. S5+葛根素; U. S6+葛根素。

图3 添加物溶液及混合液的 I_0-I_e 拟合模型

Fig.3 I_0-I_e fitting model of additive solution and mixture

电子舌测试过程中出现 2 种情况: ①有些样品会出现为负值的苦度数据(图 2 中 A,B,G2,H2),但是负值的电子舌数据与口尝结果也显示良好相关,出现负值可能与数据处理有关。②出现叠加苦度小于单独的添加物苦度的情况(ΔI_e 为非正数占 61.11%),这可能与苦味母液单独测试时电子舌苦度值过低有关,S1~S6 的电子舌苦度 aftertaste-B: 0.17 0.17 1.4 0.03 0.07 0.13, bitterness: -1.56, -1.81 4.5 0.42 -0.1 0.22,而单独的添加物溶液电子舌苦度较单独的 S1~S6 电子舌苦度大得多,推测 2 种不同苦度的苦味物质通过传感器脂质膜时相互影响。通过优化传感器阵列^[20]或数据处理方法可能对这种情况有所改善。

口尝法是最经典的味觉评价方法,也有通过动物实验进行味觉表征的研究^[21],但电子舌相较前两者的客观、便捷、安全性高等特性是其优势所在。同时电子舌在不断发展,有研究运用电子舌特征区分中药的酸、甜、苦、咸滋味^[22],也有日本学者建立了能预测甜味剂掩盖苦味效果的定量评价方法^[23],相信将来电子舌在复杂成分测试中将越来越精确。

4.3 苦味母液对叠加苦度的影响

对苦味母液进行单独口尝,苦度值为 S1~S6: 2.05 2.63 2.16 2.64 2.49 2.98,混合液中因有苦味母液的存在,当添加物苦度低于母液时,苦味母液对混合液苦度影响较大,使混合液苦度增加速率较单独的添加物溶液低,当添加物苦度随浓度不断增大,苦味母液对混合液苦度的影响不断减小;电子舌对不同苦味物质响应不同,以至于不同苦味物质混合后的综合响应值出现无规律变化,但电子舌苦度与口尝苦度良好相关,后期需通过扩大样本量和优化浓度梯度进一步实验。

[参考文献]

- [1] Leeds J P. Applying cognitive acuity theory to the development and scoring of situational judgment tests[J]. Behav Res Methods 2018 50(6): 2215.
- [2] 李学林,桂新景,刘瑞新,等. 基于电子舌法对中药苦味化合物苦度的预测[J]. 中国新药杂志 2016 25(11): 1307.
- [3] 张宇昕,王星,刘青,等. 内源表达 T2R38 受体活化方法的构建及其在中药苦味药性研究应用中的探讨[J]. 中华中医药杂志 2016 (10): 3981.
- [4] 卢方晋,丁丽琴,曹世杰,等. 调节糖脂代谢的苦味中药的化学及生物学研究[J]. 中国中药杂志 2018 43(19): 3834.
- [5] 张静雅,曹煌,许浚,等. 中药苦味药性表达及在临证配伍中的应用[J]. 中草药 2016 47(2): 187.
- [6] 李学林,康欢,田亮玉,等. 不同类型掩味剂对龙胆、苦参、穿心莲、莲心 4 种中药水煎液的抑苦效能及抑苦规律评价[J]. 中草药 2018 49(22): 5280.
- [7] Liu R X, Zhang X D, Zhang L, et al. Bitterness intensity prediction of berberine hydrochloride using an electronic tongue and a GA-BP neural network[J]. Exp Ther Med, 2014 7(6): 1696.
- [8] 刘瑞新,张杏芬,李学林,等. 3 种口尝评价方法用于药物苦度评价的比较[J]. 中国实验方剂学杂志 2013 19(20): 118.
- [9] 张璐,高晓洁,桂新景,等. 基于经典人群口感评价方法的苦度评价中评价员分级探索[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017 23(2): 12.
- [10] Liu R X, Gao X J, Wang J M, et al. Traditional human taste panel and taste sensors methods for bitter taste masking research on combined bitterness suppressants of berberine hydrochloride[J]. Sensor Mater 2017 29(1): 105.
- [11] Schlossareck Courtney, Ross Carolyn F. Electronic tongue and consumer sensory evaluation of spicy paneer cheese[J]. J Food Sci 2019 84(6): 1563.
- [12] Wang H X, Sun H M. Potential use of electronic tongue coupled with chemometrics analysis for early detection of the spoilage of *Zygosaccharomyces rouxii* in apple juice[J]. Food Chem 2019 290: 152.
- [13] 李学林,王盼盼,刘瑞新,等. 3 种掩味剂单独或联合应用对黄柏的掩味作用探究及掩味前后化学成分的比较[J]. 中国实验方剂学杂志 2017 23(2): 7.
- [14] 王俊杰,徐德生,冯怡. 中药及其制剂苦味评价方法的建立[J]. 中国中药杂志 2007 32(15): 1511.
- [15] 李学林,张杏芬,刘瑞新,等. 药物苦度的定量及其与浓度的关系研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化 2013 15(4): 667.
- [16] 刘瑞新,王艳丽,田亮玉,等. 基于口尝法和电子舌法的多类苦味抑制剂对盐酸小檗碱的抑苦效能及抑苦规律研究[J]. 中国药学杂志 2019 54(3): 208.
- [17] 王小凯,朱小文. 计量检定中 3 种判别和剔除异常值的统计方法[J]. 中国测试 2018 44(S1): 41.
- [18] 刘瑞新,王艳丽,张耀,等. 基于 Grubbs 规则和 MATLAB 语言快速剔除异常值方法的建立及其在药物苦度评价中的应用[J]. 中国药房 2019 30(2): 176.
- [19] Li X L, Gao X J, Liu R X, et al. Optimization and validation of the protocol used to analyze the taste of traditional Chinese medicines using an electronic tongue[J]. Exp Ther Med 2016 12(5): 2949.
- [20] 王艳芬. 基于电子舌鉴别的传感器阵列优化方法研究[J]. 食品与机械 2016(7): 93.
- [21] 韩雪,姜红,林俊芝,等. 基于动物偏好指数与电子舌评价关联的中药涩味整体量化表征方法研究[J]. 中国中药杂志, 2017 42(3): 486.
- [22] 杜瑞超,王俊杰,吴飞,等. 电子舌对中药滋味的区分辨识[J]. 中国中药杂志 2013 38(2): 154.
- [23] Wu Xiao, Hideya Onitake, Tamami Haraguchi, et al. Quantitative prediction of bitterness masking effect of high-potency sweeteners using taste sensor[J]. Sensor Actuat B Chem 2016 235: 11.

[责任编辑 孔晶晶]