·基础研究·

基于电子舌技术对不同来源龙胆的苦味与品质相关性研究△

赵童瑶，尹海波*，李旭，陶玲，杨婷婷，刘洪娇
（辽宁中医药大学，辽宁　大连　116600）

［摘要］　**目的：**应用电子舌技术对不同来源龙胆的苦味与产地及品质进行相关性分析，建立药材苦味评价药材质量的方法。**方法：**通过电子舌对不同来源的龙胆提取物进行测定，对样品的口感进行客观化检测，用主成分分析（PCA）和判别因子分析（DFA）来判断测试龙胆药材的品质与产地，并用高效液相色谱法及显微鉴定法进行验证。**结果：**电子舌对 10 批龙胆药材的测定结果与高效液相色谱测定结果基本一致。**结论：**电子舌技术能够用于鉴定不同产地龙胆的品质及品种。

［关键词］　龙胆；电子舌；主成分分析；判别因子分析；龙胆苦苷；獐牙菜苦苷；獐牙菜苷

The Study on the Relationship between the Bitter Taste and Quality of the Different Sources of Gentianae Radix

ZHAO Tong-yao，YIN Hai-bo*，LI Xu，TAO Ling，YANG Ting-ting，LIU Hong-jiao
（*Liaoning Unitversity of Traditional Chinese Medicine*，*Dalian* 116600，*China*）

［**Abstract**］　**Objective**：The electronic-tongue technology was used to analyze the bitterness of different sources of Gentianae Radix and its origin and quality. **Methods**：Through the determination of Gentianae Radix extract from different sources by electronic tongue，the taste of the sample was tested objectively. The quality and origin of Gentianae Radix medicinal materials were determined by the main component analysis（PCA）and discriminant factor analysis（DFA），and the results were verified by HPLC and microscopy. **Results**：The results of the determination of 10 batches of Gentianae Radix herbs were consistent with the results of high performance liquid chromatography. **Conclusion**：The technology of electronic-tongue can be used to identify the quality and variety of Gentianae Radix.

［Keywords］　Gentianae Radix；electronic-tongue；principal component analysis；discriminant factor analysis；gentiopicroside；swertiamarin；sweroside

doi：10.13313/j.issn.1673-4890.20180321001

龙胆作为常用的传统中药，始载于《神农本草经》[1-2]，为龙胆科 Gentianaceae 植物条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag.、龙胆 *Gentiana scabra* Bge.、三花龙胆 *Gentiana triflora* pall. 或坚龙胆 *Gentiana rigescens* Franch. 的干燥根及根茎[3]。在我国广泛分布，主要分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古，浙江、湖南、江西、福建、江苏、广东、新疆也有分布[4]。并且很多种类都具有重要的药用价值，药用资源开发潜力巨大[5]。其味甚苦，具有清热燥湿、泻肝胆火的功效，是中医治疗肝胆疾病的常用药之一。龙胆临床使用时有“味越苦，质越优”的说法，龙胆中所含的龙胆苦苷，具有强烈苦味活性，是龙胆中药显苦寒的主要因素[6-7]。因此苦味可作为评价龙胆中药品质的主要指标。并且由于“入口则知味，入腹则知性”[8]，一直以来中药味道主要经由口尝获得，但是由于个人评价的感觉差异和描述的主观性，历代医学典籍对中药味道的描述并不一致[9]。现今，人们仍然靠感官来评价味道，即用人的感觉器官来辨别，获取药物的真实味道。但人为感官描述主观性强，且量化标准、准确度和重复性方面的把握仍有欠缺，而且中草药的成分分析极其困难。对中草药成分进行定性定量分析，如果仅用传统的光谱、色谱技术，将定量化的指标对应到苦度计算，将会是一个耗时而又费力的

△［基金项目］　2016 年校级大学生创业训练计划项目（201610162093）；辽宁省自然科学基金项目（201402004）
*［通信作者］　尹海波，教授，研究方向：中药资源与鉴定；E-mail：yhb0528@sina.com

处理过程。

近年来发展起来的电子舌(electronic tongue，E-tongue)是一种运用味觉指纹分析技术[10](Gustation Fingerprint Analytical Technique，GFAT)模拟人体味觉器官的仿生学仪器[11]，是一种分析、识别液体“味道”的新型检测手段。它是基于味觉传感器和化学信息学处理方法的味觉识别检测技术。它得到的是样品的整体信息，而不是被测样品中某种或某几种成分的定性与定量结果，又被称作“指纹”数据[12-13]。电子舌技术最早广泛用于食品领域检测，但药食同源，中药材也是来源于自然界的动植物和部分矿物[14]。并且与人体感觉器官舌头相比，电子舌具有超强的客观性、良好的重复性、工作不疲劳、快捷的检测速度和数据电子化等特殊优势[15]。故将电子舌应用于对中药味道的评价有良好的可行性[16]。基于此我们收集了不同产地的龙胆药材 10 份，并利用电子舌技术对龙胆进行苦味与品种及品质有无相关性的分析。

1　材料

1.1 仪器

Aglient 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)，F100 型粉碎机(上海高致精密仪器有限公司)，电子天平 BP211D(0.01 mg)(上海精密科学仪器有限公司)，超纯水制备仪 Milli-Q(密理博(中国)有限公司)，电子舌 α-Astree Ⅱ(7 枚电极：ZZ，JE，BB，CA，GA，HA，JB)(法国 Alpha MOS 公司)

1.2 药材与试剂

龙胆苦苷对照品；獐牙菜苦苷对照品；獐牙菜苷对照品。龙胆药材饮片 10 批，产地分别为来源于云南(购买地为石家庄)、四川、黑龙江、吉林、安徽、云南(购买地为安国)、新宾旺清门、吉林通化、本溪桓仁、清原。

2　实验方法

α-ASTREE Ⅱ电子舌系统(法国 Alpha MOS 公司，见图 1)：由第一套传感器阵列(食品饮料专用，7 个味觉传感器 ZZ，JE，BB，CA，GA，HA，JB 和 1 个氯化银参比电极)、16 位自动进样器、数据采集系统及 Alphasoft V12 工作站软件组成。电子舌经活化、校正、诊断通过，确保采集得到的数据可靠、稳定。室温条件下进行测定，每份样品体积为 80 mL。电子舌传感器在每个样品中的采集时间为 120 s，每秒采集 1 个数据，提取第 120 s 时响应值作为测定数值；每测一个样品，都在水中清洗 10 s，每份样品重复测定 7 次，选取响应趋于稳定的最后 3 次的测定数据用于计算。

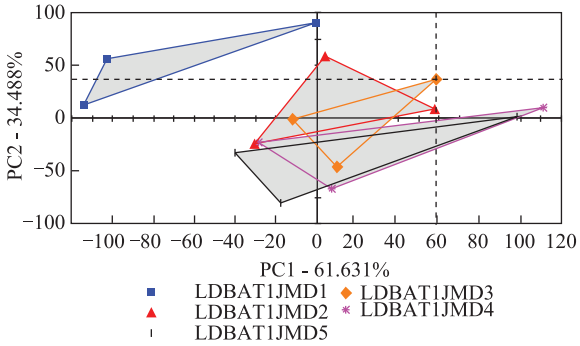

图 1　龙胆提取物的电子舌测定精密度试验 PCA 结果($n=3$)

2.1 液相分析分析

2.1.1 供试品溶液的制备　药材用粉碎机粉碎，取粉碎的药材粉末 0.3 g，过 40 目筛然后加入甲醇 10 mL超声 30 min。用普通漏斗过滤，取滤液之后再用微孔滤膜过滤。取液装入 EP 管中标号。

2.1.2 对照品溶液的制备　精密称取龙胆苦苷对照品、獐牙菜苦苷对照品、獐牙菜苷对照品适量，加甲醇超声溶解定容，摇匀，作为对照品贮备溶液。

2.2 电子舌分析

2.2.1 电子舌粉末制备　取 50 g 药材加入 10 倍量的水，浸泡半小时，煎煮 30 min(煮沸 10 min)，将煎出液倒出，再加入 8 倍量的水，煎煮 30 min(煮沸 10 min)，将煎出液倒出，再重复一次，共煎煮 3 次，合并 3 次煎煮液。每次煎煮都要加入 0.2 g 的碳酸钙以防止酶和有机酸影响药材中的活性成分。用小火熬制合并液使其能放入蒸发皿中，之后用 40 ℃水浴加热成干粉状称取 1.0 g 装入 EP 管中标明产地。

2.2.2　样品浓度的确定　电子舌的测定原理为分别测定并记录 7 枚电极对样品溶液的响应值，原始数据为电势差。鉴于此原理，电子舌的响应值与样品浓度(基质溶液的离子浓度和强度)正相关，且灵敏度极高。根据电子舌对中药提取物的响应规律，常用的样品测试浓度为 0.625 ~ 1.000 mg·mL^{-1}，本研究选择最常用的 0.125 mg·mL^{-1}作为供试品测试浓度，测定结果表明此样品浓度溶解良好，且滤液放

置后无沉淀现象。

2.2.3 精密度试验　取龙胆提取物样品(1 号)约 50 mg，精密称定(52.68 mg)，以水 400 mL 溶解，过滤，分取 5 份(每份 80 mL)进行电子舌测试，记录测定结果并计算样品测试的精密度。

2.2.4 样品口感的电子舌测定对 10 批龙胆提取物供试品溶液，进行电子舌测定，记录测试结果并进行数据分析。

2.2.5 数据处理方法　主成分分析(PCA)是从多个数值变量之间的相互关系入手，利用降维的思想，将多数变量转变为少数几个互不相关的综合变量的分析统计方法。通过尽可能的保留原有信息量来减少信息维数，用繁杂的多维数据建立有优良可视性的 2D/3D 图表，原始数据中最大量的信息将被投影在 PC1 轴，其次是 PC2，PC3 轴。每一个试样将在 PCA 图上形成一个集合，各试样集合之间的距离常常用来表示它们之间的化学物质或者味觉上的相似度。它具有不需要先验知识，并找到一组新的数轴来最大限度的描述数据间的差异性，以此找寻最有用的信息，给出具有不同风味区域和簇的描述性图表的优点。

2.3 高效液相特征图谱的分析

2.3.1 色谱条件　流动相：乙腈-甲醇-0.05% 磷酸溶液洗脱，流速：0.7 mL·min^{-1}；柱温：30 ℃；检测波长：285 nm；进样量：10 μL。

2.3.2 样品的高效液相特征图谱分析　取“2.1.1”项下制备的样品溶液转移至样品瓶内，进样分析，记录分析结果。

3　实验结果

3.1　电子舌分析结果

3.1.1 精密度试验结果　精密度实验结果表明，7 枚电极对样品的响应值测定精密度良好，5 份样品的精密度实验结果也符合要求(RSD < 2.0%)，测定结果见表 1 和图 2。

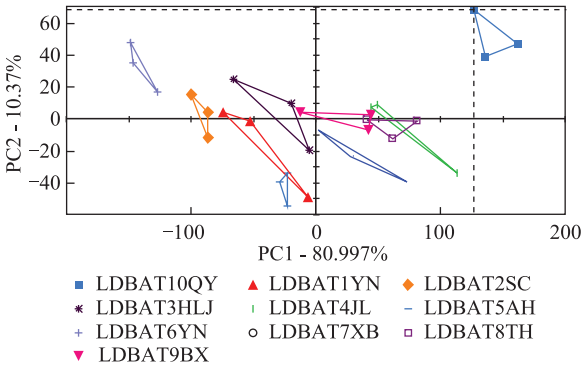

图 2　龙胆提取物 10 批样品的电子舌测定 PCA 分布图($n = 3$)

3.1.2 供试品测定结果　电子舌 7 枚电极对 10 批不同样品的响应值见表 2。

3.1.3 样品的 PCA 测定结果　对 7 枚电极的测定结果进行 PCA 分析，10 批龙胆提取物样品的口感可以通过 2 个主成分 PC1 和 PC2 来进行表征，分别能代表 80.997% 和 10.37% 的电极测定信息。

样品在结果的 PCA 图上的分布情况见图 3。结果显示，第 6 批样品和第 10 批样品与其余样品距离较远；第 6 批样品和第 10 批样品之间距离最远，第 4 批样品和第 8 批样品之间距离最近。

PCA 图上样品之间的相互距离见表 3，样品之间的相对距离远近可以暗示其成分组成(口感)的差异大小。

3.1.4 电子舌数据聚类分析结果　9 个不同产地 10 个龙胆药材以主要成分分析获得 4 个公共因子子使用 SPSS 20.0 统计软件处理，采用组间联接聚类方法，距离的计算方法为 Euclidean distance，进行层次聚类分析，见图 3。

表 1　龙胆提取物的电子舌测定精密度试验结果($\bar{x} \pm s$，$n = 3$)

	样品名称	ZZ	JE	BB	CA	GA	HA	JB
				电子舌响应值				
1	LDBAT1JMD1	2 742.44	2 188.79	1 470.89	1 206.67	1 465.70	882.76	2 200.69
2	LDBAT1JMD2	2 650.20	2 169.26	1 479.23	1 211.96	1 465.60	886.72	2 202.82
3	LDBAT1JMD3	2 638.10	2 167.74	1 489.40	1 219.69	1 472.51	885.10	2 209.23
4	LDBAT1JMD4	2 623.05	2 164.48	1 502.72	1 231.28	1 480.14	880.72	2 218.59
5	LDBAT1JMD5	2 634.23	2 169.16	1 510.04	1 240.33	1 485.84	889.67	2 222.65
	Mean	2 657.60	2 171.89	1 490.46	1 221.99	1 473.96	884.99	2 210.80
	RSD(%)	1.8	0.4	1.1	1.1	0.6	0.4	0.4

表 2　龙胆提取物 10 批的电子舌测定结果($\bar{x} \pm s$，$n = 3$)

	样品名称	ZZ	JE	BB	CA	GA	HA	JB
				电子舌响应值				
1	LDBAT1YN	2 800. 41	2 113. 73	1 615. 40	1 498. 45	1 510. 86	925. 67	2 378. 76
2	LDBAT2SC	2 762. 48	2 073. 56	1 610. 83	1 498. 96	1 503. 23	951. 61	2 374. 49
3	LDBAT3HLJ	2 821. 36	2 092. 17	1 607. 67	1 500. 18	1 495. 09	948. 86	2 370. 42
4	LDBAT4JL	2 911. 87	2 136. 41	1 611. 74	1 499. 97	1 499. 46	944. 89	2 369. 51
5	LDBAT5AH	2 809. 56	2 143. 84	1 619. 98	1 500. 69	1 504. 04	946. 52	2 368. 90
6	LDBAT6YN	2 724. 95	2 033. 39	1 612. 25	1 504. 24	1 495. 19	933. 81	2 368. 08
7	LDBAT7XB	2 872. 82	2 142. 92	1 612. 56	1 504. 75	1 498. 85	950. 49	2 367. 17
8	LDBAT8TH	2 903. 54	2 134. 48	1 621. 91	1 507. 30	1 505. 67	946. 62	2 370. 73
9	LDBAT9BX	2 869. 06	2 123. 80	1 627. 30	1 510. 14	1 511. 97	926. 89	2 373. 07
10	LDBAT10QY	2 997. 30	2 105. 09	1 627. 40	1 513. 09	1 510. 55	942. 86	2 376. 02

表 3　10 批个不同龙胆提取物样品电子舌测定 PCA 图上相互距离分布表

样品名称	距离									
	LDBAT1YN	LDBAT2SC	LDBAT3HLJ	LDBAT4JL	LDBAT5AH	LDBAT6YN	LDBAT7XB	LDBAT8TH	LDBAT9BX	LDBAT10QY
LDBAT1YN	—									
LDBAT2SC	39. 80	—								
LDBAT3HLJ	18. 45	46. 66	—							
LDBAT4JL	60. 11	82. 97	57. 05	—						
LDBAT5AH	22. 70	79. 75	42. 49	67. 73	—					
LDBAT6YN	69. 33	63. 41	75. 28	89. 77	92. 25	—				
LDBAT7XB	49. 98	83. 15	48. 00	19. 63	56. 96	91. 28	—			
LDBAT8TH	63. 83	88. 62	62. 56	4. 18	76. 79	93. 69	21. 48	—		
LDBAT9BX	42. 87	82. 14	45. 07	30. 48	61. 05	90. 63	23. 54	30. 14	—	
LDBAT10QY	86. 38	95. 54	86. 66	60. 23	94. 16	97. 03	81. 72	73. 60	82. 18	—

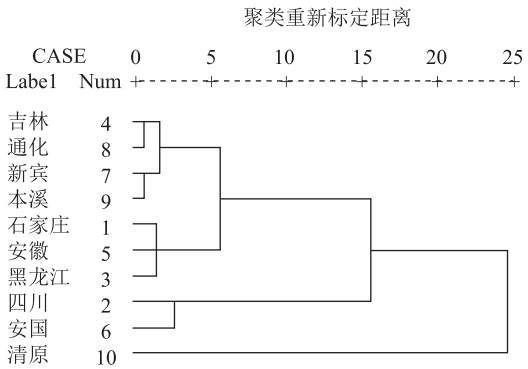

图 3　电子舌数据聚类分析

根据图 3 结果显示 10 个样本共分为 3 类，其中 4 号(吉林)，8 号(通化)，7 号(新宾)，9 号(本溪)4 个样品聚为第一类；1 号(云南，产于石家庄)，5 号(安徽)，3 号(黑龙江)3 个样品聚为第二类；2 号(四川)，6 号(云南，产于安国)2 个样品聚为第三类；10 号(清原)单独聚为第四类。

从图 3 和表 2 可知，苦度较大的样品聚在了第一类和第四类，由此可以判断以上这两类龙胆药材味道较苦。

3. 2 高效液相特征图谱的分析结果

3. 2. 1 龙胆的高效液相色谱的结果

标准曲线(见图 4)

龙胆苦苷：$Y = 818.75X + 111.72$　$r = 0.999\ 7$

獐牙菜苦苷：$Y = 2\ 026.1X + 2.913\ 2$　$r = 0.999\ 5$

獐牙菜苷：$Y = 2\ 277.2X - 0.599\ 7$　$r = 0.999\ 7$

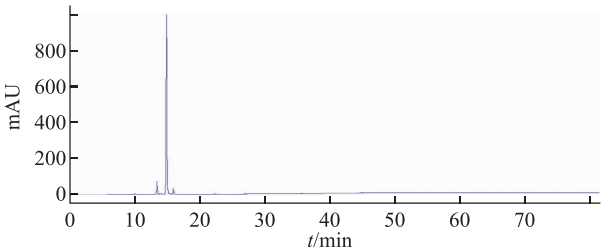

图 4　獐牙菜苷，龙胆苦苷，獐牙菜苦混合标准品 HPLC 色谱

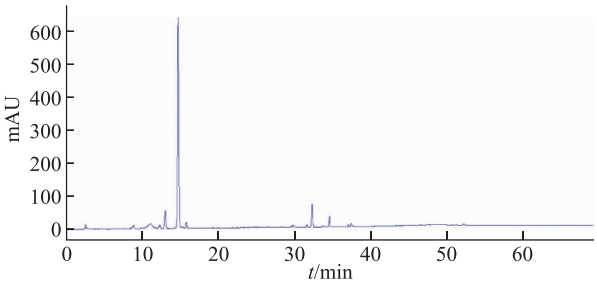

图 5　龙胆样品的 HPLC 色谱图

3.2.2 不同产地龙胆三种有效成分的含量测定　高效液相色谱法测定出十种样品中有效成分的含量见图 5。

3.2.3　高效液相数据聚类分析结果　9 个不同产地 10 个龙胆药材以主成分分析获得的 4 个公共因子使用 SPSS20.0 统计软件处理，应用组间联接聚类的方法，Euclidean distance 距离的计算方法进行层次聚类结果的分析见图 6。

表 4　不同产地的龙胆有效成分含量

产地	龙胆苦苷		獐牙菜苦苷		獐牙菜苷	
	含量	百分含量	含量	百分含量	含量	百分含量
石家庄	20.641	2.064	0.235	0.024	0.215	0.022
四川	9.150	0.915	0.005	0.001	0.004	0.000
黑龙江	23.815	2.381	0.795	0.080	0.005	0.001
吉林	38.209	3.821	0.875	0.088	0.190	0.019
安徽	42.018	4.202	1.360	0.136	0.190	0.019
安国	7.608	0.761	0.220	0.022	0.015	0.002
新宾	56.450	5.650	1.645	0.164	0.208	0.021
通化	59.999	6.000	1.525	0.153	0.315	0.032
桓仁	47.400	4.740	1.514	0.151	0.211	0.021
清原	42.700	4.270	1.349	0.135	0.150	0.015

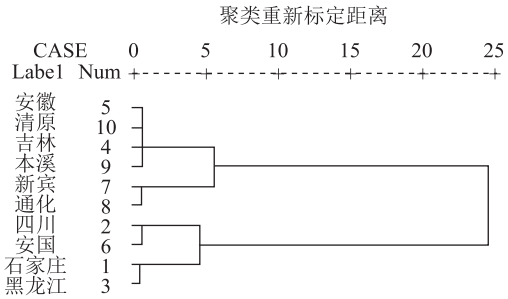

图 6　液相数据聚类分析图

结果显示 10 个样本共分为 4 类。其中 5 号(安徽)、10 号(清原)、4 号(吉林)、9 号(本溪桓仁) 4 个样品聚为第一类；7 号(新宾)、8 号(通化)2 个样品聚为第二类；2 号(四川)、6 号(云南，产于安国)2 个样品聚为第三类；1 号(云南，产于石家庄)、3 号(黑龙江)2 个样品聚为第四类。

从图 6 和表 4 可知，质量较好的样品聚成了第二类，新宾和通化样品均聚在这一类，由此可以得出以上两产地的龙胆药材质量较优且稳定。

3.3 显微鉴定药材品种的结果

通过电子舌、高效液相和显微鉴定的结果分析见表 5 总结可以看出新宾、通化和清原的龙胆都属于龙胆(粗糙)，他们的味道最苦、质量最好。

表 5　各产地龙胆商品药材显微鉴定品种表

序号	收集地点	品种
1	石家庄	坚龙胆
2	四川	坚龙胆
3	黑龙江	条叶龙胆
4	吉林	粗糙龙胆
5	安徽	条叶龙胆
6	安国	坚龙胆
7	新宾	粗糙龙胆
8	通化	粗糙龙胆
9	本溪桓仁	粗糙龙胆
10	清原	粗糙龙胆

4　讨论

以前电子舌广泛的应用于食品领域的研究，但随着医药领域的发展，基于电子舌对医药的研究也逐年增加。例如在药品质量监控，在不同来源的药物差异性对比，预估未知中药提取物浓度和比较中

草药主成分的质量优劣等方面都有关联[17]。并且电子舌能够对味道进行客观评价并把相关成分相互作用的内在信息转化成不同味道和质量之间的关系，这使其在客观表述和控制中草药外观气味信息等方面有着广泛的应用空间[18]，也使得中药鉴定更加方便。

本研究采用电子舌技术，对不同产地来源的 10 批龙胆药材，采用 TS-5000Z 电子舌系统自带的 DBMS 数据库系统，采用来自传感器的原始数据进行味觉特征分析。对感官评价数据使用 SPSS19. 0 系统进行主成分分析和聚类分析。采用 HPLC 法对龙胆药材中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷等活性成分进行含量测定研究。基于灰色关联度分析法对龙胆药材苦味与品质的相关性进行分析。最后得到了新宾、通化和清源的龙胆都属于粗糙龙胆，他们的味道最苦、质量最优的结果。

目前在传统中草药质量评估中，人为感觉描述具有较强的主观性，在量化标准、准确度和重复性方面的把握有欠缺，而且中草药的成分极其繁杂，如果用传统的光谱、色谱技术对成分进行定性定量，进而将定量化的指标对应到苦度计算，将会带来非常繁杂和庞大的处理过程[19]。但利用电子舌分析系统对中药成分进行区分，刚好能从混沌分析、整体预测的角度入手，可对样品中成分定性和定量化分析的过程忽略，赋予样品味道和电信号的整体信息。引入电子舌为中草药的快速、便携、准确、稳定的筛选和产品化提供了良好的平台[20]。本实验的结果不但能降低人的感官对中药味道判断的模糊性和不准确性，提高中药鉴别效率和准确度；而且可以初步建立以龙胆药材的苦味来评价药材质量的方法，为中药质量评价提供了新的思路和方法。

参考文献

[1] 吴普. 神农本草经[M]. 孙星衍,冯翼辑,鲁兆麟,等. 点校. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1997:8.

[2] 宋·唐慎微. 重修政和经史证类备用本草:卷六[M]. 北京:人民卫生出版社,1957:163.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:96.

[4] 魏岚,陈晓辉,王晓辉,毕开顺. 不同产地龙胆中龙胆苦苷的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报,2004,21(02):114-117.

[5] 沈涛,金航,王元忠,等. 中药龙胆化学成分研究进展[J]. 安徽农业学,2010,38(30):16868-16870.

[6] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用:第二卷[M]. 北京:学苑出版社,1997:1398-1408.

[7] 徐国钧,徐珞珊. 中国药材学:上册[M]. 北京:中国医药科技出版社,1996,365.

[8] 何仁远,聂瑞麟. 青叶胆植物中苦味苷的研究[J]. 云南植物研究,1980,2(4):480.

[9] 杜瑞超,王优杰,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.

[10] 刘瑞新,吴子丹,李学林. 电子舌在药学领域的应用[J]. 中药与临床,2011,2(5):61-64.

[11] 吴飞,杜瑞超,洪燕龙,等. 电子舌在鉴别中药枳实药材产地来源中的应用[J]. 中国药学杂志,2012,47(10):812.

[12] Gupta H A, Sharma S, Kumar, et al. E-tongue: a tool for taste evaluation[J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*,2010,4(1):82.

[13] 姜莎,陈芹芹,胡雪芳,等. 电子舌在红茶饮料区分辨识中的应用[J]. 农业工程学报,2009,25(1 1):345.

[14] 付智慧,李淑军,胡慧华,等. 基于电子舌技术的豨莶草炮制前后滋味比较[J]. 中草药,2017,48(4):673-680.

[15] 陈全胜,江水泉,王新宇. 基于电子舌技术和模式识别方法的茶叶质量等级评判[J]. 食品与机械,2008(01):124-126.

[16] Bernabei M, Pennazza G, Santonico M, et al. A preliminary study on the possibility to diagnose urinary tract cancers by an electronic nose[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2008,131(1):1-4.

[17] Development of Multichannel Artificial Lipid-Polymer Membrane Sensor for Phytomedicine Application [J]. sensors, 2006,10(6):1333-1344.

[18] 李文敏,吴纯洁,黄学思,等. 电子鼻和电子舌技术及其在中药加工炮制中的应用展望[C]//中华中医药学会中药炮制分会. 四大怀药与地道药材研究论坛会议论文集,2007:42-47.

[19] 哈达. 电子舌在环境监测和药物评价中的应用研究[D] 杭州:浙江大学,2014.

[20] 曾燕,郭兰萍,王继永,等. 基于电子舌技术的不同来源黄芩药材味觉信息分析及味觉信息与主要化学成分的相关性研究[J]. 中国现代中药,2015,17(11):1140-1147.

(收稿日期　2018-03-21)