

基于电子鼻和电子舌技术的辛味中药气-味的表征研究

曹 煌¹, 张铁军^{2*}, 张静雅³, 龚苏晓², 许 浚², 刘昌孝^{4*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津药物研究院 中药现代研究部, 天津 300193

3. 天津中医药大学, 天津 300193

4. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 利用电子鼻和电子舌技术对辛味中药、物质组群、单体的嗅觉、味觉(即气、味)进行表征, 建立辛味中药的药味物质基础分析的方法。方法 选用代表性的 5 种辛味中药, 以药材、物质组群及单体成分作为待测样品, 对样品的嗅觉及味觉进行电子鼻及电子舌检测, 采用主成分分析法对数据进行分析。结果 电子鼻主成分分析结果中, 各个样品能很好地被区分, 识别指数为 98, 具有明显辛味的成分归为一类; 电子舌主成分分析结果中, 不同滋味的样品在图中分布位置不同。结论 电子鼻及电子舌能够对中药样品进行区分, 结合主成分分析及药物功效, 可以对药物物质组群的嗅觉及味觉进行初步的表征。

关键词: 电子鼻; 电子舌; 物质组群; 辛味中药; 主成分分析

中图分类号: R282.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)11-1962-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.025

Characterization of smell and taste of pungent-taste herbs based on electronic nose and electronic tongue

CAO Huang¹, ZHANG Tie-jun^{2*}, ZHANG Jing-ya³, GONG Su-xiao², XU Jun², LIU Chang-xiao⁴

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Department of Modern Chinese Materia Medica, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

4. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To characterize the smell and taste of pungent-taste herbs, material group, and simplex components by using the electronic nose and electronic tongue, and establish the method of material basis of pungent-taste herbs. **Methods** Five pungent-taste herbs, material group, and simplex components were chosen as samples, and measuring by electronic nose and electronic tongue. The data collected with the tongue was evaluated with principal component analysis (PCA). **Results** In the PCA consequence of electronic nose, different samples were obviously distinguished, and discrimination index was 98. The samples with visibly pungent-taste composition were clustered. In the PCA consequence of electronic tongue, the different taste sample had a different position. **Conclusion** Electronic nose and electronic tongue are capable of discriminating between samples, which could character the smell and taste of material group with PCA and function.

Key words: electronic nose; electronic tongue; material group; pungent-taste herbs; principal component analysis

《说文解字》中:“味, 滋味也。从口未声。无沸切。”药物的“味”, 首先是通过口尝, 即用人的感觉器官来辨别, 来反映药物的真实滋味。但是“味”并不仅仅局限于滋味, 与功效有一定联系, 《素问·

藏气法时论》指出:“辛散、酸收、甘缓、苦坚、咸软”。而《本经》中记载:“药有酸、咸、甘、苦、辛五味”。首次把药味的概念引入本草著作, 产生了药物五味^[1]。总而言之, 药物的“味”即包含了药

收稿日期: 2015-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81430096)

作者简介: 曹 煌(1992—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药新药研发。E-mail: caohuang01@126.com

*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiezheng4@sina.com

刘昌孝, 男, 中国工程院院士, 主要从事药理学研究。E-mail: liuchangxiao@163.com

物的滋味,也阐述了药物的功效作用。

“五味”作为中药药性之一,在药物的配伍及临床应用发挥着重要的作用。中药性味具有多元性特征,且同一味中药可同时兼有 2 种以上的性味,这是由中药的复杂化学物质群所决定的^[2]。基于药物可拆分性的前提,能实现五味及其物质基础的研究和表征。采用系统化学分离方法对中药进行拆分,得到不同的物质组群,然后运用新型的仿生手段对“味”的物质基础进行初步界定。

电子鼻(electronic nose, EN)也称人工嗅觉系统,是能够感知和识别气味的电子系统,包括样品处理器、气体传感器阵列及信号处理系统^[3-4]。它将仿生学、传感技术、信号处理、模式识别和计算机科学等多种学科融于一体,既能检测特定的气体,又能评价混合气体或挥发性化学成分。电子舌(electronic tongue, ET)是模拟人体味觉感受机制来设计的人工味觉系统,广泛应用于食品、药品等领域。它使用类似于生物系统的材料作为传感器的敏感膜,当味觉物质在薄膜上吸收,数据便通过敏感膜上电位的变化而获得,然后由计算机对数据进行模式识别,得到反映样品味觉特征的结果^[5-6]。

本实验选用辛味中药作为研究对象,通过化学分离技术将药材拆分为不同的物质组群,以药材、物质组群及单体成分作为待测样品,运用电子鼻、电子舌仿生模拟技术分别对辛味中药的嗅觉、味觉进行表征,能辨别药材的不同气、味,有利于实现性状气味的客观化表达。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FOX4000 电子鼻系统(法国 Alpha MOS 公司),包括 18 根传感器; α -ASTREE 电子舌系统(法国 Alpha MOS 公司),采用第 5 套传感器系统,包括 SRS、GPS、STS、UMS、SPS、SWS、BRS 共 7 根传感器,选择 Ag/AgCl 作为参比电极。十万分之一 AB204-N 电子天平(德国 METELER 公司);万分之一 BT25S 电子天平(德国 Sartorius 公司);粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司);台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 材料

药材川芎、白芷、延胡索、当归、陈皮均购自天津市中药饮片厂有限公司,经天津药物研究院张铁军研究员鉴定,均符合《中国药典》2015 年版的相关标准,川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,白芷为伞形科植物白芷 *Angelica*

dahurica (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 的干燥根,延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎,当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,陈皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮。

对照品丁苯酞(质量分数 $\geq 98\%$,批号 101035-200901)、阿魏酸(质量分数 $\geq 99\%$,批号 110773-200611)购自中国食品药品检定研究院,欧前胡素(质量分数 $\geq 98\%$,批号 MUST-13062105)、小檗碱(质量分数 $\geq 98\%$,批号 MUST-13121601)、原托品碱(质量分数 $\geq 99.46\%$,批号 MUST-14080101)、橙皮苷(质量分数 $\geq 99.70\%$,批号 MUST-14081916)、辛弗林(质量分数 $\geq 98\%$,批号 MUST-14082611)、奎宁(质量分数 $\geq 98\%$,批号 MUST-14081203)购自成都曼思特生物科技有限公司,延胡索乙素(质量分数 $\geq 98\%$,批号 J140303)购自上海将来试剂有限公司,柠檬烯(质量分数 $\geq 97\%$),购自广州日化化工有限公司,辣椒素(质量分数 $\geq 97\%$,批号 V107237)购自阿拉丁试剂有限公司,醋酸(批号 140811)购自天津市康科德科技有限公司,蔗糖(批号 150327)购自天津市科锐思精细化工有限公司,氯化钠(批号 140921)购自天津市凯信化学有限公司。

2 方法

选取 5 种代表性的辛味中药,包括《中国药典》记载的单一辛味以及兼有苦的辛味中药,包括川芎、白芷、延胡索、当归、陈皮。实验以单味药材、通过化学手段分离得到的物质组群、药材中所含的单体成分为待测样品,以辣椒素、奎宁、蔗糖、醋酸及氯化钠分别作为辛、苦、甘、酸、咸的标准对照物质。电子鼻、电子舌的样品见表 1 和 2。

2.1 物质组群的制备^[7-8]

川芎、白芷、延胡索、当归、陈皮的物质组群由本实验室自制,其中川芎中的挥发油、白芷中香豆素类、延胡索中总生物碱类、当归中的多糖、陈皮中总黄酮类成分量达 75% 以上。

2.2 电子鼻待测样品的制备

2.2.1 电子鼻药材样品的制备 取适量的川芎、白芷、延胡索、当归、陈皮,分别粉碎,过 5 号筛。

2.2.2 电子鼻物质组群样品的制备 取适量的物质组群样品作为待测样品。

2.2.3 电子鼻单体成分及对照品样品的制备 取“1.2”项各对照品适量,加 70%乙醇制备对照品溶液,单体成分见表 1。

表 1 电子鼻样品信息表

Table 1 Sample information of electronic nose

辛味中药	样品		
	药材	物质组群	单体成分
川芎 (辛)	川芎粉末	挥发油 其他类 (酚酸及生物碱类)	丁苯酞 阿魏酸
白芷 (辛)	白芷粉末	挥发油 香豆素类 其他类 (甾体及三萜类)	欧前胡素
延胡索 (辛、苦)	延胡索粉末	总生物碱 (季胺碱、叔胺碱)	小檗碱 原托品碱 延胡索乙素
当归 (甘、辛)	当归粉末	其他类 (酚酸及三萜类) 挥发油 多糖类	丁苯酞
陈皮 (苦、辛)	陈皮粉末	其他类 (酚酸及黄酮类) 挥发油 总黄酮 其他类 (生物碱及三萜类)	阿魏酸 柠檬烯 橙皮苷 辛弗林

表 2 电子舌样品信息表

Table 2 Sample information of electronic tongue

辛味中药	样品		
	药材	物质组群	单体成分
川芎 (辛)	川芎	酚酸类	阿魏酸
白芷 (辛)	白芷	香豆素类 其他类	欧前胡素
延胡索 (辛、苦)	延胡索	总生物碱 (季胺碱 叔胺碱)	小檗碱 原托品碱 延胡索乙素
当归 (甘、辛)	当归	其他类 多糖类 其他类	阿魏酸
陈皮 (苦、辛)	陈皮	总黄酮 其他类	柠檬烯 橙皮苷 辛弗林

2.3 电子舌待测样品的制备

电子舌样品同时测定, 为减少溶剂对样品结果的干扰, 选择用统一溶剂溶解。

2.3.1 电子舌药材样品的制备 取药材粉末用 70%乙醇的回流提取, 稀释离心后取上清液作为待测样品。

2.3.2 电子舌物质组群样品的制备 取适量的物质组群用 70%乙醇溶解, 离心取上清液作为待测样品。

2.3.3 电子舌单体成分及对照品样品的制备 取适量的单体成分用的 70%乙醇溶解, 将其作为待测样品。代表苦味的对照品为奎宁, 酸味对照品为醋酸, 甘味对照品为蔗糖, 咸味对照品为氯化钠。

2.4 电子鼻分析

电子鼻是利用气体传感器阵列的响应图案来识

别气味的电子系统, 它可以在数小时、数天甚至数月的时间内连续地、实时地监测特定位置的气味状况。电子鼻的工作原理是当传感器和气味相互作用时会使活性材料的导电性发生变化, 信号以电路中电阻的变化来测量。

2.4.1 电子鼻设备中传感器的选用 FOX4000 电子鼻系统含有 3 个高效传感器室, 共 18 根传感器。传感器室 1 有 LY2/LG、LY2/G、LY2/AA、LY2/GH、LY2/gCTI、LY2/gCT; 传感器室 2 有 T30/1、P10/1、P10/2、P40/1、T70/2、PA/2; 传感器室 3 有 P30/1、P40/2、P30/2、T40/2、T40/1、TA/2。18 根传感器的响应值为 $\Delta R_{max}/R_0$, 其中 R 为响应强度, 分析时间为 120 s, 取最高点的数值进行分析, 每个样品重复 6 次。

2.4.2 顶空样品制备 实验采用顶空进样法。顶部空间孵化温度为 70 °C, 孵化时间 300 s, 样品震荡速度 500 r/min。

2.4.3 样品分析条件 载气由空气发生器供给合成干燥空气, 体积流量 150 mL/min, 注射体积为 5.0 mL, 注射针温度 80 °C, 数据采集时间 120 s。

2.5 电子舌分析

电子舌是专门针对味觉分析技术而设计的, 其分析原理和人类味觉完全类似。传感器阵列分析综合的整体信息。基于传感器阵列技术和模式识别技术, 电子舌可以敏感的识别味道指纹及其变化。其由自动进样系统, 传感器阵列及数据处理系统 3 部分组成。本实验采用第 5 套传感器系

统, 包括 SRS、GPS、STS、UMS、SPS、SWS、BRS 共 7 根传感器, 选择 Ag/AgCl 作为参比电极。其中 SRS、STS、UMS 分别为对酸味、咸味和鲜味敏感地专一性传感器。

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 25 mL, 电子舌传感器在每个样品中的采集时间为 120 s, 清洗时间为 10 s, 采用软件记录和分析数据。每份样品重复测定 6 次。

2.6 数据处理方法

本实验采用 Alpha soft 软件进行数据分析。利用主成分分析 (PCA) 对不同样品的气、味进行区分聚类, 对未知样品进行判别分析。

PCA 是在对样品特性一无所知的前提下, 通过对原始数据矢量进行线性变换, 从一定的视角来寻找样品间差异的一种算法^[7]。能在尽量保留原有信息量的条件下减少信息维数, 建立有不同气味区域和簇的可视性 2D/3D 图表, 原始数据中大量的信息将被投影在 PC1 轴, 其次是 PC2 和 PC3 轴^[6]。每个样品将在 PCA 图上形成一个集合, 各样品集合之间的距离通常用来表示其相互间的化学物质或者气味上的相似度。该算法不丢失任何样品信息, 仅仅通过改变坐标轴来达到区分样品的目的。距离越大, 说明样品间的差别越明显; 距离越小, 说明样品间的气、味越相近。

3 结果分析

3.1 电子鼻样品的 PCA 结果

实验选用 5 种药材粉末样品, 13 种物质组群样品, 9 种单体成分样品和 1 个阳性对照品, 共 28 种样品进行 PCA 分析。从 PCA 分析图 (图 1) 上可以看出, 电子鼻能够将 28 个样品完全分开, 第 1 主成分 (PC1) 与第 2 主成分 (PC2) 上识别指数达到 98, 说明电子鼻对 28 种样品可以取得很好的区分效果。

电子鼻是由有选择性的电化学传感器阵列和一定识别装置组成能模拟生物鼻的工作原理进行的工作仪器, 可以识别简单和复杂的气味。

文献报道^[9]与辛味相关的有 transient receptor potential vanilloid receptor (TRPs) 离子通道家族, 包括 TRPV1、TRPV2、TRPV3、TRPV4、TRPM8 等受体。能够调节 TRP 离子通道的天然成分很多都来自辛味中药, 其中辣椒素能够启动 TRPV1 离子通道, 因此本实验以辣椒素为阳性对照。在全部样

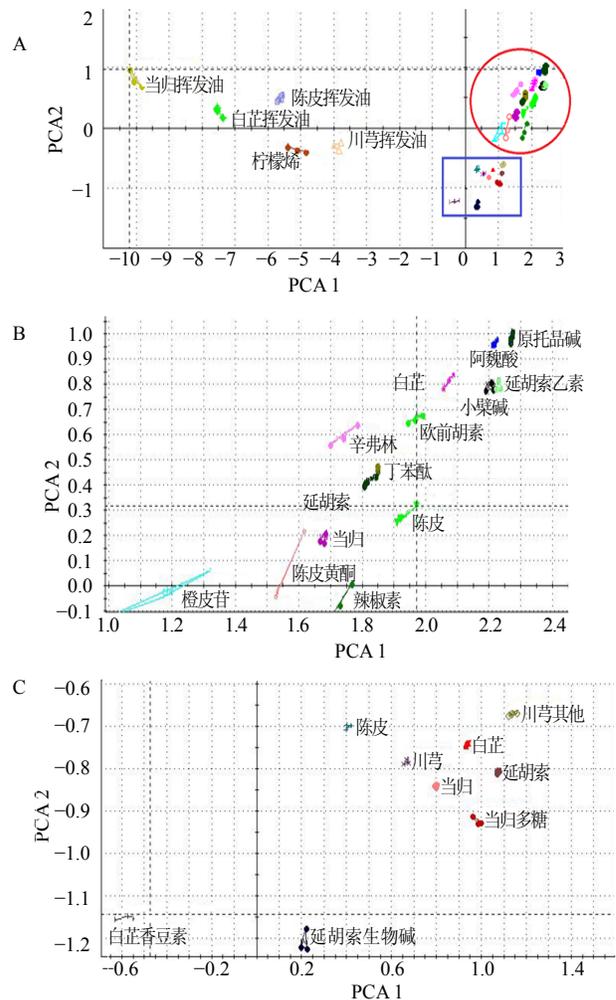


图 1 全部电子鼻样品 (A)、放大圈内部分 (B) 和放大矩形部分 (C) 的 PCA 图

Fig. 1 PCA of electronic nose samples (A), enlarged circle part (B), and enlarged rectangular part (C)

品的 PCA 分析中, 白芷挥发油、川芎挥发油、当归挥发油、陈皮挥发油、柠檬烯与其他成分明显区分。辣椒素与挥发油类成分不能归为一类, 原因可能为挥发油具有挥发性, 能随水蒸气蒸馏, 是与水不相混溶的液体, 具有浓烈的特异性臭味。辣椒素为白色或类白色固体粉末, 对人的口、鼻有强烈的刺激性, 在口腔能产生灼烧感。挥发油与辣椒素虽都有特异性的臭味, 但二者的化学性质不同, 因此在电子鼻的传感器上的回应值不同, 表现的臭味也不同, 所以在实验中不适合将辣椒素作为挥发油成分的阳性对照。

辛味中药的药材粉末样品相对距离较近, 说明 5 种辛味药材的气味相近, 与其他样品相比也可聚为一类; 川芎、白芷、当归为伞形科植物, 药味更加接近, 而陈皮、延胡索均为辛、苦味, 但分属于

(2) 在部分药材的“苦”味测定中,待测样品的浓度不定,使其苦度有差异。后期实验中可通过加内标成分使不同样品、不同浓度有一个明确的苦度值,使结果更加明显。

4 讨论

本研究应用电子鼻、电子舌,选用5种辛味中药,以药材、物质组群、单体为待测样品,运用主成分分析法对所得的数据进行了分析。结果中样品的重复性良好,说明电子鼻、电子舌的测定结果稳定可靠。结合本实验室后期的分子对接-虚拟筛选实验的结果,辣椒素、辛弗林、原托品碱、柠檬烯能与辛味受体结合,奎宁、橙皮苷、延胡索乙素、小檗碱能与苦味受体结合,而欧前胡素、原托品碱、辛弗林、阿魏酸与柠檬烯不能与苦味受体结合,不仅进一步印证了电子鼻、电子舌的结果,而且部分样品的归属更加明确,使得单体成分的“味”的结果更具有说服力。橙皮苷在电子舌与分子对接中结果不同,可能原因为甘、苦味的某些化学成分与传感器上相同的膜受体结合,得到响应值变化较为相似^[6]。电子鼻对辛味药材的分析能把同种科属的药材归为一类,由此可知,同种科属的药材在气味方面具有一定的相似性,并且能用电子鼻进行区分,因此运用电子鼻技术对药材的科属鉴别有指导价值。

但是,电子鼻、电子舌在检测中也存在一定的缺陷。用电子鼻检测待测样品的气味,以辣椒素作为阳性对照。但是样品中具有浓郁气味的成分多为挥发油,为油状液滴,与对照物质辣椒素的性状不同,在PCA结果中,两者之间无任何规律,可见,辣椒素虽然能启动与辛味相关的离子通道,但是并不能作为电子鼻中判别辛味物质的对照物质。电子舌分析中,本实验选用辣椒素、奎宁、蔗糖、醋酸、氯化钠分别作为辛、苦、甘、酸、咸的对照物质,但是电子舌中没有对辛味专一敏感的传感器,部分结构有待斟酌。其PCA结果中,只有单体成分样品能与对照物质聚类,而药材及物质组群不能,原因可能是药材中成分复杂,对照物质较为单一,而电子舌的测量结果是涵盖了样品的整体信息,因此,运用单一对照物质不能辨别出药材及物质组群的滋味。

本研究首次应用电子鼻及电子舌对药材、物质组群及单体成分进行检测,对药味物质基础进行初步探索性研究。通过对结果分析,下一步应扩大样品量,选取多种同科、同属的中药或者同种性味的中药,运用电子鼻、电子舌建立具有相似性的样品的气、味指纹图谱,以指纹图谱作为标准,来判别待测样品的气、味,这样避免了采用单一成分造成的缺陷。并分析不同质量、不同浓度、不同溶剂对样品的影响,为样品的分析建立了方法。

通过运用电子鼻、电子舌并结合药性功效对中药中物质组群的味进行归属及界定,使中药中味的物质基础初步明确,再进一步采用液质联用等技术方法,确定五味的物质基础构成^[2,11],为中药的配伍及临床应用奠定了基础,也为中药药性的研究开拓了新的思路。

参考文献

- [1] 张卫,张瑞贤. 东汉至五代中药“五味”理论在本草学中的发展 [J]. 国际中医中药杂志, 2012, 34(3): 244-248.
- [2] 张铁军,刘昌孝. 中药五味药性理论辨识及其化学生物学实质表征路径 [J]. 中草药, 2015, 46(1):1-6.
- [3] 韩玉. 电子鼻在苍术质量评价中的应用研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [4] 刘红秀,姬生国,庄家俊,等. 基于仿生嗅觉的中药材鉴别的实现 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(4):356-359.
- [5] 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.
- [6] 刘瑞新,李慧玲,李学林,等. 基于电子舌的穿心莲水煎液的掩味效果评价研究 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2240-2245.
- [7] 张少君. 延胡索中生物碱类化合物的分离纯化及指纹图谱研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2009.
- [8] 彭华胜,程铭恩,张玲,等. 基于电子鼻技术的野生白术与栽培白术气味比较 [J]. 中药材, 2010, 33(4):503-506.
- [9] 孙玉平,张铁军,曹焯,等. 中药辛味药性表达及在临证配伍中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 785-790.
- [10] 许广桂. 基于仿生嗅觉的中药材气味指纹图谱研究 [D]. 广州: 广东工业大学, 2008.
- [11] 刘昌孝,张铁军,何新,等. 活血化瘀中药五味药性功效的化学及生物学基础研究的思考 [J]. 中草药, 2015, 46(5): 615-624.