

• 药剂与工艺 •

基于经典人群口尝法和电子舌法的中药饮片水煎液苦度叠加规律研究

张 璞¹, 张 耀¹, 桂新景^{2,3,4,5}, 施钧瀚^{2,3,4,5}, 张慧杰¹, 冯文豪¹, 李媛媛¹, 王艳丽^{2,3,4,5},
张 璐^{2,3,4,5}, 姚 静^{2,3,4,5}, 刘瑞新^{2,3,4,5*}, 李学林^{2,3,4,5*}

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. 河南省中药饮片临床应用现代化工程研究中心, 河南 郑州 450000

5. 河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 探索苦味中药饮片水煎液 (decoction of Chinese materia medica, DCMM) 的苦度叠加规律。方法 以生物碱类 (黄连 *Coptidis Rhizoma*、黄柏 *Phellodendron Chinensis Cortex*、苦参 *Sophora Flavescens Radix*)、萜类 (穿心莲 *Andrographis Herba*、野菊花 *Chrysanthemi Indici Flos*、苦楝皮 *Melia Cortex*)、糖苷类 (龙胆 *Gentianae Radix et Rhizoma*、黄芩 *Scutellariae Radix*、连翘 *Forsythiae Fructus*) 9 种苦味 DCMM 为研究载体, 在单味载体呈味规律研究基础上, 采用均匀设计法进行二元 (6 组)、三元 (10 组) 叠加实验, 通过经典人群口尝法 (traditional human taste panel method, THTPM) 及电子舌法 (electronic tongue, E-tongue) 分别评价其苦度, 建立二元、三元叠加时叠加苦度-质量浓度对数 ($I_z\text{-ln}C$)、叠加苦度-叠加前分苦度 ($I_z\text{-}I$)、口尝叠加苦度-电子舌叠加苦度 ($I_{zo}\text{-}I_{ze}$) 拟合模型, 探索其苦度叠加规律。结果 THTPM 法中, 二元叠加 $I_z\text{-ln}C$ 、 $I_z\text{-}I$ 共 12 组, 均拟合出有意义模型 ($R_c^2 \geq 0.868$, $P < 0.05$, $n=6$), 模型类型为二次多项式或近似结构的模型 (下同); 三元叠加 $I_z\text{-ln}C$ 、 $I_z\text{-}I$ 共 20 组, 拟合出 18 组有意义模型 ($R_c^2 \geq 0.659$, $P < 0.05$, $n=6$)。E-tongue 法中, 针对 3 类味觉信息进行分析, 二元叠加 $I_z\text{-ln}C$ 、 $I_z\text{-}I$ 共 36 组, 均拟合出有意义模型 ($R_c^2 \geq 0.689$, $P < 0.05$, $n=6$); 三元叠加 $I_z\text{-ln}C$ 、 $I_z\text{-}I$ 共 60 组, 拟合出 52 组有意义模型 ($R_c^2 \geq 0.662$, $P < 0.05$, $n=6$)。 $I_{zo}\text{-}I_{ze}$ 中, 二元叠加共 18 组, 拟合出 8 组有意义线性模型 ($R_c^2 \geq 0.727$, $P < 0.05$, $n=6$); 三元叠加共 30 组, 拟合出 13 组有意义的线性或对数模型 ($R_c^2 \geq 0.670$, $P < 0.05$, $n=6$)。结论 叠加后苦度随浓度增加呈上升趋势; 叠加实验良好模型获取率为 (二元 100%, $R_c^2=0.936$; 三元 87.5%, $R_c^2=0.906$), 而 $I_{zo}\text{-}I_{ze}$ 中有意义的模型获取率较低, 即以 I_{ze} 预测 I_{zo} 的方法目前尚不成熟; 二元、三元叠加中原始苦度越高的饮片对 I_z 贡献度越大; 黄连在同类型和不同类型叠加中苦度贡献度均最大; 除黄连+黄柏+黄芩组存在因成分间可能发生沉淀反应等导致叠加后的苦度降低外, 未发现更多因各成分交互作用而产生异常的苦度促进或拮抗现象; $I_{zo}\text{-}I_{ze}$ 相关性随组分增加而降低。

关键词: 中药饮片水煎液; 苦度叠加; 电子舌; 经典人群口尝评价; 生物碱类; 黄连; 黄柏; 苦参; 萜类; 穿心莲; 野菊花; 苦楝皮; 糖苷类; 龙胆; 黄芩; 连翘

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)03-0653-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.03.007

Study on superposition rule of bitterness of decoction of Chinese materia medica based on traditional human taste panel method and electronic tongue method

ZHANG Pu¹, ZHANG Yao¹, GUI Xin-jing^{2,3,4,5}, SHI Jun-han^{2,3,4,5}, ZHANG Hui-jie¹, FENG Wen-hao¹, LI Yuan-yuan¹, WANG Yan-li^{2,3,4,5}, ZHANG Lu^{2,3,4,5}, YAO Jing^{2,3,4,5}, LIU Rui-xin^{2,3,4,5}, LI Xue-lin^{2,3,4,5}

收稿日期: 2020-08-25

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); 国家重点研发计划中医药现代化重点专项 (2017YFC1703400); 河南省首批自然科学基金面上项目 (162300410187); 河南省高等学校重点科研项目 (16A360021); 河南省中医药科学研究专项课题 (2016ZY2055); 河南省中医管理局国家中医临床研究基地科研专项 (2018JDZX039); 河南省中医药拔尖人才培养项目资助 (2019ZYBJ07); 河南省高层次人才特殊支持“中原千人计划”-“中原青年拔尖人才”项目 (ZYQR201912158)

作者简介: 张 璞, 硕士研究生, 从事中药饮片临床应用现代化关键技术研究。Tel: 13603867709 E-mail: 1622904209@qq.com

***通信作者:** 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
刘瑞新, 博士, 主任药师, 从事中药饮片临床应用现代化关键技术研究。Tel: (0371)66233562 E-mail: liuruixin7@163.com

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 3 Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparations, National Administration of Traditional Medicine, Zhengzhou 450000, China
4. Research Center for Modern Engineering for Clinical Application of Chinese Medicine Decoction Pieces, Zhengzhou 450000, China
5. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicine Development for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To explore the bitterness superimposition law of the decoction of bitter decoction of Chinese materia medica (DCMM). **Methods** In this paper, nine bitter DCMM of alkaloids {Huanglian [*Coptidis Rhizoma* (CR)], Huangbo [*Phellodendri Chinensis Cortex* (PCC)], Kushen [*Sophorae Flavescentis Radix* (SFR)]}, terpenoids {Chuanxinlian [*Andrographis Herba* (AH)], Yejuhua [*Chrysanthemi Indici Flos* (CIF)], Kulianpi [*Meliae Cortex* (MC)], and glycosides {Longdan [*Gentianae Radix et Rhizoma* (GRR)], Huangqin [*Scutellariae Radix* (SR)], Lianqiao [*Forsythiae Fructus* (FF)]} were used as research carriers. Based on the study of taste regularity of single carrier, binary (six groups) and ternary (10 groups) superposition experiments were carried out by uniform design method. The bitterness of DCMM was evaluated by the traditional human taste panel method (THTPM) and electronic tongue test (E-tongue), and the fitting models of superimposed bitterness-concentration logarithm (I_Z -lnC), superimposed bitterness-pre-superimposed bitterness (I_Z -I), and oral taste superimposed bitterness-electronic tongue superimposed bitterness (I_{Z0} - I_{Ze}) were established to explore the superposition law of its bitterness. **Results** In the THTPM method, there were 12 groups of binary superposition of I_Z -lnC and I_Z -I, all of which fitted a meaningful model ($R_c^2 \geq 0.868$, $P < 0.05$, $n = 6$). The model type was quadratic polynomial or approximate structure model (the same below); A total of 20 groups of ternary superposition of I_Z -lnC and I_Z -I were fitted to 18 groups of meaningful models ($R_c^2 \geq 0.659$, $P < 0.05$, $n = 6$); In E-tongue method, three kinds of taste information were analyzed, and 36 groups of I_Z -lnC and I_Z -I were superimposed binary, all of which fitted meaningful models ($R_c^2 \geq 0.689$, $P < 0.05$, $n = 6$). There were 60 groups of ternary superposition I_Z -lnC and I_Z -I, 52 groups of meaningful models were fitted ($R_c^2 \geq 0.662$, $P < 0.05$, $n = 6$); In I_{Z0} - I_{Ze} , there were 18 groups of binary superposition, and eight groups of meaningful linear models were fitted ($R_c^2 \geq 0.727$, $P < 0.05$, $n = 6$); A total of 30 groups of ternary superposition, fitting 13 sets of meaningful linear or logarithmic models ($R_c^2 \geq 0.670$, $P < 0.05$, $n = 6$). **Conclusion** The bitterness increases with the concentration after superposition; The acquisition rate of good models in the superposition experiment was as following: binary 100%, $R_c^2 = 0.936$; ternary 87.5%, $R_c^2 = 0.906$, while the meaningful model acquisition rate in I_{Z0} - I_{Ze} is low, that is, the current method of predicting I_{Z0} with I_{Ze} is immature; The higher the original bitterness in the binary and ternary stacks, the greater the contribution to I_Z ; The contribution of CR in the same type and different types of superposition is the greatest; Except for the reduction of bitterness caused by the possible acid-base complex or precipitation reaction between the components in the CR + PCC + SR group, no more abnormal bitterness degree promotion or bitterness antagonism caused by the interaction of the bitter components between the decoction pieces has been found. The I_{Z0} - I_{Ze} correlation decreased with the increase of components.

Key words: decoction of Chinese materia medica; superposition of bitterness; electronic tongue; traditional human taste panel method; alkaloids; *Coptidis Rhizoma*; *Phellodendri Chinensis Cortex*; *Sophorae Flavescentis Radix*; terpenoids; *Andrographis Herba*; *Chrysanthemi Indici Flos*; *Meliae Cortex*; glycosides; *Gentianae Radix et Rhizoma*; *Scutellariae Radix*; *Forsythiae Fructus*

苦味作为一种人体的主观感受,其产生机制主要是苦味质与味觉细胞中的苦味受体蛋白结合使其活化,引发细胞内信号变化,从而引发神经细胞兴奋,之后传入大脑中的味觉神经中枢,使人类感知苦味^[1]。目前,关于苦味的相关研究不在少数,如对于中药苦味的物质基础研究^[2-3]、苦味物质与苦味表达的化学结构研究^[4]等,本课题组前期也对中药的苦味进行苦度的量化以及部分苦味单体化合物的叠加苦度规律进行研究^[5],但对于苦味中药水煎液的

苦味叠加规律研究目前未见报道。

据不完全统计发现,中医门诊处方中应用汤剂约占 50%^[6],经组方配伍后一个方剂中往往含有多种苦味饮片^[7],经水煎煮后味道繁杂,苦味强烈,难以下咽,严重影响了患者的服药依从性,影响疗效。研究中药饮片的苦味叠加规律,可为复合汤剂呈味规律的发展以及针对性研究中药掩味剂提供参考。因此,本实验拟通过经典人群口尝评价法(traditional human taste panel method, THTPM)以

及电子舌法 (electronic tongue, E-tongue) 开展二元 (2 种组分)、三元 (3 种组分) 叠加中药饮片水煎液 (decoction of Chinese materia medica, DCMM) 的苦度叠加规律研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BSA224S-CW 型万分之一电子天平、CP225D 型十万分之一电子天平, 德国 Sartorius 公司; HK250 型科导台式超声清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; LCD-A200 型电子天平, 福州华志科学仪器有限公司; HHS 型电热恒温水浴锅, 常州普天仪器制造有限公司; AM-5250B 型磁力搅拌器, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司; TS-5000Z 型电子舌, 日本 Insent 公司, 本实验使用 C00 传感器、AN0 传感器、BT0 传感器、AE1 传感器。

1.2 材料

盐酸小檗碱, 批号 170406, 质量分数 98.62%, 四川省玉鑫药业有限公司; 水为纯化水, 自制; 本实验用中药饮片均经河南中医药大学第一附属医院陈天朝主任药师鉴定均合格, 符合《中国药典》2020 年版规定, 具体信息见表 1。

2 方法

2.1 苦味参比液的质量浓度选择及制备

参照文献报道^[8-9], 将苦味分为 5 个等级, 每个等级对应一定的苦度范围, 以不同质量浓度的盐酸小檗碱溶液作为苦味参比液对应不同苦度等级, 以 THTPM 为苦度评价方法, 以苦度值 (I) 作为量化指标, 评价单味饮片待测样品、二元叠加待测样品、三元叠加待测样品的苦度, 中药 I 值定性定量范围具体见表 2。

表 1 9 种中药饮片信息

Table 1 Information of nine kinds of Chinese medicines

类别	编号	名称	基原	苦味程度	生产企业	批号
生物碱类	S1	黄连	毛茛科植物黄连 <i>Coptis chinensis</i> Franch. 的干燥根茎	味极苦	安徽普仁中药饮片有限公司	1908261
	S2	苦参	豆科植物苦参 <i>Sophora flavescens</i> Ait. 的干燥根	味极苦	亳州市沪谯药业有限公司	1812140310
	S3	黄柏	芸香科植物黄皮树 <i>Phellodendron chinense</i> Schneid. 的干燥树皮	味极苦	安徽普仁中药饮片有限公司	1908213
萜类	T1	穿心莲	爵床科植物穿心莲 <i>Andrographis paniculate</i> (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分	味极苦	安徽普仁中药饮片有限公司	1805082
	T2	苦楝皮	楝科植物川楝 <i>Melia toosendan</i> Sieb. et Zucc. 的干燥树皮和根皮	味苦	安徽人民中药饮片有限公司	190218
	T3	野菊花	菊科植物野菊 <i>Chrysanthemum indicum</i> L. 的干燥头状花序	味苦	安徽普仁中药饮片有限公司	1908151
糖苷类	G1	龙胆	龙胆科植物龙胆 <i>Gentiana scabra</i> Bge. 的干燥根和根茎	味极苦	安徽普仁中药饮片有限公司	1908272
	G2	黄芩	唇形科植物黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi 的干燥根	味苦	安徽普仁中药饮片有限公司	1907021
	G3	连翘	木犀科植物连翘 <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl 的干燥果实	味苦	安徽人民中药饮片有限公司	190903

表 2 中药苦度值 (I) 的定性描述、等级及定量范围

Table 2 Qualitative description, grade and quantitative range of bitterness value (I) of Chinese medicines

编号	苦度的口感描述	赋予的等级	I 的取值范围	对应参比溶液质量浓度/(mg·mL ⁻¹)
1	几乎没有苦味	I	0.5~1.5	0
2	略有苦味	II	1.5~2.5	0.01
3	可接受的苦味	III	2.5~3.5	0.05
4	很苦, 但是仍然可以忍受	IV	3.5~4.5	0.10
5	不能忍受的苦味	V	4.5~5.5	0.50

2.2 单味饮片待测样品的制备及质量浓度选择

2.2.1 单味饮片待测样品制备 根据韦伯-费希纳定律及本课题组前期研究成果^[10], 并参考《中国药典》2015 年版^[11]规定用量, 称取不同量中药饮片制备单味待测样品, 将饮片置于适宜容器内; 加水 600 mL, 浸泡 30 min, 于电磁炉上加热, 功率 2100 W;

待沸腾后, 功率改为 800 W, 煎煮 30 min, 滤过; 二煎加水 400 mL, 煎煮 20 min, 余同一煎, 合并滤液, 混匀, 冷却至室温, 4000 r/min 离心 15 min, 取上清液至 1 L 量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 灌装, 压盖, 灭菌 (105 °C 流通蒸汽灭菌 45 min), 备用。

2.2.2 待测样品质量浓度选择 根据《中国药典》2015 年版中饮片的推荐用量范围进行预实验,并结合韦伯-费希纳定律,设定样品的质量浓度(以生药量计)梯度,具体如表 3 所示。

表 3 DCMM 待测样品所选质量浓度

Table 3 Selected concentrations of samples to be tested

饮片类别	编号	饮片名称	质量浓度(以生药量计)/(g·L ⁻¹)					
生物碱类	S1	黄连	0.500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000
	S2	苦参	0.750	1.500	3.000	6.000	12.000	24.000
	S3	黄柏	1.120	2.250	4.500	9.000	18.000	36.000
萜类	T1	穿心莲	0.875	1.750	3.500	7.000	14.000	28.000
	T2	苦楝皮	1.875	3.750	7.500	15.000	30.000	60.000
	T3	野菊花	2.500	5.000	10.000	20.000	40.000	80.000
糖苷类	G1	龙胆	0.620	1.250	2.500	5.000	10.000	20.000
	G2	黄芩	2.500	5.000	10.000	20.000	40.000	80.000
	G3	连翘	2.500	5.000	10.000	20.000	40.000	80.000

2.3 苦味叠加的均匀设计及样品制备

以均匀设计法作为二元、三元叠加的实验设计,以 2 种、3 种饮片的共煎液作为二元、三元叠加的待测样品。

2.3.1 二元叠加均匀设计及样品制备 以生物碱类、萜类、糖苷类中药作为因素,以 6 个质量浓度梯度为 6 水平,质量浓度梯度同“2.2”项下,使用 $U_6^*(6^4)$ 均匀设计表进行 2 因素 6 水平的实验设计。煎煮以黄连+苦参二元叠加的待测样品制备为例,取黄连 0.5 g、苦参 3 g 共同煎煮得 1 L 待测液,其余同“2.2”项下制备方法,具体实验设计见表 4。

表 4 二元叠加 $U_6^*(6^4)$ 2 因素 6 水平实验设计

Table 4 Binary superposition $U_6^*(6^4)$ 2-factor 6-level design

序号	类别	因素	质量浓度/(g·L ⁻¹)					
			1	2	3	4	5	6
1	生物碱+	S1	0.500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000
	生物碱	S2	3.000	24.000	1.500	12.000	0.750	6.000
2	生物碱类+	S1	0.500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000
	糖苷类	G1	2.500	20.000	1.250	10.000	0.625	5.000
3	生物碱类+	S3	1.125	2.250	4.500	9.000	18.000	36.000
	萜类	T1	3.500	28.000	1.750	14.000	0.875	7.000
4	萜类+萜类	T1	0.875	1.750	3.500	7.000	14.000	28.000
		T3	10.000	80.000	5.000	40.000	2.500	20.000
5	萜类+	T1	0.875	1.750	3.500	7.000	14.000	28.000
	糖苷类	G1	2.500	20.000	1.250	10.000	0.625	5.000
6	糖苷类+	G1	0.625	1.250	2.500	5.000	10.000	20.000
	糖苷类	G3	10.000	80.000	5.000	40.000	2.500	20.000

2.3.2 三元叠加均匀设计及样品制备 以生物碱类、萜类、糖苷类作为因素,以 6 个质量浓度梯度为 6 水平,使用 $U_6^*(6^4)$ 均匀设计表进行 3 因素 6 水平的实验设计。煎煮方法同“2.2”项,具体实验设计见表 5。

表 5 三元叠加 $U_6^*(6^4)$ 3 因素 6 水平实验设计

Table 5 Ternary superposition $U_6^*(6^4)$ 3-factor 6-level design

序号	类别	因素	质量浓度/(g·L ⁻¹)					
			1	2	3	4	5	6
1	生物碱+	S1	0.500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000
	生物碱+	S3	3.000	24.000	1.500	12.000	0.750	6.000
	生物碱	S2	2.250	9.000	36.000	1.125	4.500	18.000
2	生物碱+	S1	0.500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000
	生物碱+	S3	2.250	9.000	36.000	1.125	4.500	18.000
	糖苷类	G2	10.000	80.000	5.000	40.000	2.500	20.000
3	生物碱+	S2	0.750	1.500	3.000	6.000	12.000	24.000
	生物碱+	S3	2.250	9.000	36.000	1.125	4.500	18.000
	萜类	T2	7.500	60.000	3.750	30.000	1.875	15.000
4	萜类+	T1	0.875	1.750	3.500	7.000	14.000	28.000
	萜类+	T3	5.000	20.000	80.000	2.500	10.000	40.000
	萜类	T2	7.500	60.000	3.750	30.000	1.875	15.000
5	萜类+	T1	0.875	1.750	3.500	7.000	14.000	28.000
	萜类+	T3	5.000	20.000	80.000	2.500	10.000	40.000
	生物碱	S3	4.500	36.000	2.250	18.000	1.125	9.000
6	萜类+	T3	2.500	5.000	10.000	20.000	40.000	80.000
	萜类+	T2	3.750	15.000	60.000	1.875	7.500	30.000
	糖苷类	G3	10.000	80.000	5.000	40.000	2.500	20.000
7	糖苷类+	G1	0.625	1.250	2.500	5.000	10.000	20.000
	糖苷类+	G2	5.000	20.000	80.000	2.500	10.000	40.000
	糖苷类	G3	10.000	80.000	5.000	40.000	2.500	20.000
8	糖苷类+	G1	0.625	1.250	2.500	5.000	10.000	20.000
	糖苷类+	G2	5.000	20.000	80.000	2.500	10.000	40.000
	生物碱	S3	4.500	36.000	2.250	18.000	1.125	9.000
9	糖苷类+	G2	2.500	5.000	10.000	20.000	40.000	80.000
	糖苷类+	G3	5.000	20.000	80.000	2.500	10.000	40.000
	萜类	T3	10.000	80.000	5.000	40.000	2.500	20.000
10	生物碱+	S1	0.500	1.000	2.000	4.000	8.000	16.000
	萜类+	T1	1.750	7.000	28.000	0.875	3.500	14.000
	糖苷类	G1	2.500	20.000	1.250	10.000	0.625	5.000

2.4 THTPM 评价法

2.4.1 志愿者筛选 本研究经河南中医药大学第一附属医院医学伦理委员会审查批准后,对招募的

志愿者进行了包括苦味敏感度等在内的筛选（伦理号：2017HL-066-03）。纳入标准：（1）因苦味感受随着年龄的升高而降低，故选择 20 岁左右成年人^[12]；（2）无严重过敏史、遗传病史，无胆囊炎，无不良嗜好，且近期无疾病史。排除标准：（1）最近 2 d 曾饮酒或吸烟者；（2）心态过于紧张者；（3）口尝柠檬黄水溶液觉得有苦味的志愿者；（4）品尝溶液前 3 h 进食（尤其是刺激性食物）者。本研究最终选择健康志愿者 21 名（男性 5 名、女性 16 名）。上述志愿者均知情同意并签署了知情同意书。

2.4.2 志愿者口尝评价标准化培训 具体参照文献方法^[5]，分别取 20 mL，37 °C 下表 2 中各质量浓度的盐酸小檗碱参比溶液于口尝杯中，由志愿者含于口中，计时 15 s，在口腔进行漱口动作，目的是使舌根及舌侧苦味的感受区域能够感知样品的苦味，根据表 2 的描述对比记忆参比溶液的 I 分级和具体 I 值，吐出后用蒸馏水漱口至少 3 次，直至口腔中不再有苦味感受，15 min 后测定另一质量浓度的参比溶液，最终完成苦味的标准化感官记忆。

2.4.3 待测样品组的口尝评价 待测样品组具体的口尝操作要求同标准化培训，口尝后记录样品的 I 等级及 I 值。

2.5 E-tongue 评价法

2.5.1 电子舌参比液制备

（1）正极清洗液配制：准确称量 7.46 g 氯化钾，500 mL 蒸馏水搅拌溶解，然后准确加入 300 mL 无水乙醇，边搅拌边加入准确称量的 0.56 g 氢氧化钾，溶解完毕后，转移到 1000 mL 量瓶中，定容，即得。

（2）负极清洗液配制：准确量取 300 mL 无水乙醇，与 500 mL 蒸馏水震荡混合，然后加入 8.3 mL 浓盐酸搅拌混合，转移到 1000 mL 量瓶中，定容，即得。

（3）参比液配制：准确称量 2.24 g 氯化钾和 0.045 g 酒石酸，取适量蒸馏水溶解并转移至 1000 mL 量瓶中，定容，即得。

2.5.2 电子舌测试方法 首先将传感器在清洗液中清洗 90 s，接着用参比液清洗 120 s、继续用另一参比液清洗 120 s，传感器在平衡位置归零 30 s，达到平衡条件后，开始测试，样品测试时间 30 s，输出先味值；后在 2 组参比液中分别短暂清洗 3 s，传感器插入新的参比液中测试回味 30 s，循环测试 4 次，去掉第 1 次循环，取后 3 次平均数据作为测试结果。

2.5.3 电子舌传感器选择 TS-5000Z 型电子舌共有 C00、AN0、BT0、AE1、GL1、CA0、CT0 7 根传感器，其中 C00 和 AE1 传感器有前、后 2 种苦味信息，称为先味和回味，而 AN0 和 BT0 传感器只输出回味值。因此本实验选取跟苦味有关的 4 根传感器，分别为 C00、AN0、BT0、AE1 传感器，共输出 6 种味觉信息值，具体如表 6。

表 6 传感器味觉信息
Table 6 Sensor taste information

传感器	对应的味觉	味觉信息	
		先味	回味
C00	酸性苦味	苦味 (bitterness)	酸性苦味回味 (aftertaste-B)
AN0	碱性苦味	×	碱性苦味回味 (B-bitterness2)
BT0	碱基盐类苦味	×	碱基盐类苦味回味 (H-bitterness)
AE1	涩味	涩味 (astringency)	涩味回味 (aftertaste-A)

2.6 数据处理与分析

2.6.1 异常值处理 本实验由志愿者进行感官评价，由于人的主观性及个体差异，可能造成不同志愿者之间的苦味评价结果存在差异，实际测试中个别数据会偏离整体水平，但又不能作为异常值直接予以剔除，因此参照文献采用 Grubbs 检验法^[13]对数据进行异常值的循环检验和剔除。每组数据每轮仅剔除 1 个异常值，进行多轮的循环检验剔除。此外，测试数据值过大和过小均有可能成为异常值，因此采用双侧检验进行剔除^[14]，本实验选择检出水平为 0.1、剔除水平为 0.05。

2.6.2 模型构建 本实验在单味苦味 DCMM 的研究基础上，探索不同苦味 DCMM 二元、三元相互叠加规律，构建二元、三元叠加 DCMM 的叠加苦度-质量浓度对数 (I_Z - $\ln C$)、叠加苦度-叠加前分苦度 (I_Z - I)、口尝叠加苦度-电子舌叠加苦度 (I_{Z0} - I_{Ze}) 拟合模型。

单元构建模型： $I=f_1(C)=\beta[1-e^{-(C-a)^m/k}]$ ， $I=f_2(C)=a\ln C+b$ ，其中， C 表示质量浓度， a 、 b 、 α 、 β 、 m 、 k 为待定参数。

二元、三元构建模型： $I_Z=f_3(\ln C_1, \dots, \ln C_n)$ ， $I_Z=f_4(I_1, \dots, I_n)$ ， $I_{Z0}=f_5(I_{Ze})$ ，其中， C 表示叠加前各组分质量浓度， $\ln C$ 表示叠加前各组分质量浓度的对数，

I 表示叠加前各组分苦度, I_z 表示叠加苦度, I_{z0} 表示口尝叠加苦度, I_{ze} 表示电子舌叠加苦度, $n=2$ 或 3。

用 SPSS 22.0 软件对实验结果进行多元线性回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。拟合过程中如果曲线形式可表示为 X 的某种变换形式与 Y 的线性关系, 即“曲线直线化”^[15], 拟合度应以调整后的 R^2 为准, 故结果中 R^2 均为调整后 R^2 , 用 R_c^2 表示。

2.6.3 贡献率判断标准 本实验拟合方程为二次多项式或近似结构的模型, 各组分对叠加后 I 的贡献率判断方法如下: (1) 同次项以标准化回归系数分析组分对叠加后 I 的贡献率; (2) 一次项与二次项同时存在, 则根据变量取值范围并结合标准化回归系数综合分析。

3 结果

3.1 THTPM 结果

3.1.1 异常值剔除结果 对口尝实验的苦度测试结果进行异常值相关检验, 查 Grubbs 临界值 $G_p(n)$ 表, 对 25 组 (2483 个) 数据进行循环检验剔除, 剩余数据经过剔除后不再补充测试, 以剔除后剩余的每组的平均值作为最终测试的 I 值。25 组样品共剔除 43 个异常值。

3.1.2 单味 DCMM 口尝苦度 (I_0) 与质量浓度 (C) 的关系 根据韦伯-费希纳定律, 以单味饮片质量浓度 C 作为自变量, 口尝苦度 I_0 为因变量, 对 9 种单

味 DCMM 进行 I_0 - C 拟合, 其威布尔、对数方程的拟合结果如表 7 所示。其中, 威布尔方程整体上优于对数方程, 因此采用威布尔模型作为一元口尝苦度的拟合模型。整体而言, 3 种类型的单味 DCMM 的口尝苦度均随质量浓度的增加而增加。

表 7 单味 DCMM 质量浓度 (C) 与口尝苦度 (I_0) 的拟合模型结果 ($n=6$)

Table 7 Fitting model results of concentration (C) and bitterness (I_0) of single-flavor DCMM ($n=6$)

序号	饮片编号	威布尔方程	对数方程
1	S1	$R^2=0.999\ 8, P<0.01$	$R^2=0.995\ 6, P<0.01$
2	S2	$R^2=0.997\ 1, P<0.01$	$R^2=0.993\ 2, P<0.01$
3	S3	$R^2=0.997\ 8, P<0.01$	$R^2=0.995\ 6, P<0.01$
4	T1	$R^2=0.998\ 2, P<0.01$	$R^2=0.997\ 2, P<0.01$
5	T2	$R^2=0.998\ 7, P<0.01$	$R^2=0.987\ 8, P<0.01$
6	T3	$R^2=0.999\ 0, P<0.01$	$R^2=0.990\ 7, P<0.01$
7	G1	$R^2=0.998\ 6, P<0.01$	$R^2=0.992\ 6, P<0.01$
8	G2	$R^2=1.000\ 0, P<0.01$	$R^2=0.996\ 0, P<0.01$
9	G3	$R^2=1.000\ 0, P<0.01$	$R^2=0.980\ 6, P<0.01$

3.1.3 口尝叠加苦度的均匀设计回归分析

(1) 二元叠加实验: 对“2.3.1”项下 6 组二元叠加实验样品进行口尝测定, 其中 3 组为同类型叠加, 以每组中各饮片水煎液质量浓度 C 、叠加后口尝苦度 I_{z0} 进行绘图, 结果见图 1。

采用多元线性回归法拟合叠加苦度 I_{z0} 与 $\ln C$ 的最佳回归方程, 结果如表 8 所示。其中, 拟合度

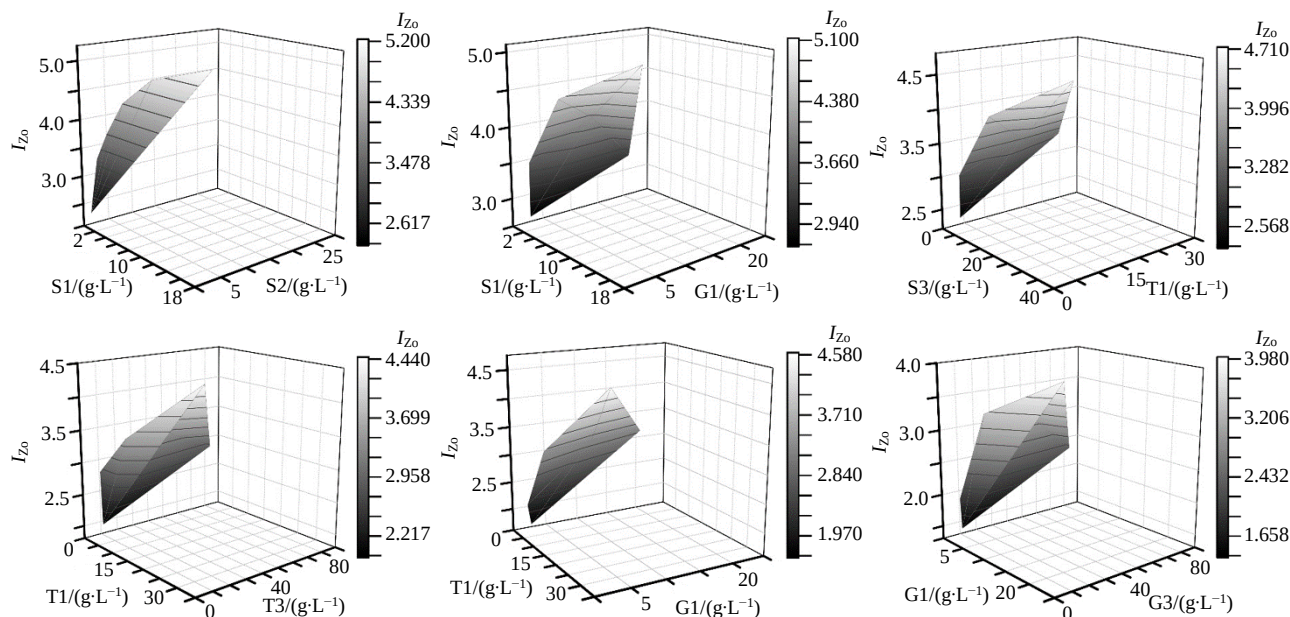


图 1 二元叠加口尝苦度 (I_{z0}) 与质量浓度 (C) 的三维图

Fig. 1 Three-dimensional graph of binary superposition of bitterness (I_{z0}) and concentration (C)

表 8 二元叠加 DCMM 口尝苦度 (I_{zo}) 与单味 DCMM 质量浓度的对数 ($\ln C$) 的最佳拟合方程 ($n = 6$)

Table 8 Best-fitting equation of binary superposition DCMM bitterness (I_{zo}) and concentration logarithm ($\ln C$) of single-flavor DCMM ($n = 6$)

组别	回归方程	标准回归方程	R_c^2	P 值	标准化系数排序
S1+S2	$y=3.167+1.028 x_1-0.109 x_1^2$	$y'=1.268 x'_1-0.312 x'_1{}^2$	0.991	$P<0.01$	$x'_1>x'_1{}^2$
S1+G1	$y=3.173+0.678 x_1$	$y'=0.997 x'_1$	0.993	$P<0.01$	x'_1
S3+T1	$y=2.392+0.604 x_1$	$y'=0.949 x'_1$	0.875	$P<0.01$	x'_1
T1+T3	$y=1.929+0.644 x_1+0.028 x_2^2$	$y'=1.010 x'_1+0.233 x'_2{}^2$	0.971	$P<0.01$	$x'_1>x'_2{}^2$
T1+G1	$y=1.669+0.228 x_1^2+0.151 x_2^2$	$y'=0.978 x'_1{}^2+0.504 x'_2{}^2$	0.986	$P<0.01$	$x_1^2>x_2^2$
G1+G3	$y=1.466+0.751 x_1+0.037 x_2^2$	$y'=1.003 x'_1+0.263 x'_2{}^2$	0.953	$P<0.01$	$x'_1>x'_2{}^2$

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的 $\ln C$, x_2 表示组分 2 的 $\ln C$, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的 $\ln C$, x'_2 表示组分 2 标准化的 $\ln C$

In the above equation, y represents post-stack bitterness, x_1 represents $\ln C$ of component 1, x_2 represents $\ln C$ of component 2, y' represents standardized post-stack bitterness, x'_1 represents standardized $\ln C$ of component 1, and x'_2 represents standardized $\ln C$ of component 2

$R_c^2 \geq 0.875$, $P < 0.01$, 拟合方程类型为二次多项式或其近似结构。根据单味 DCMM 质量浓度可以很好地拟合出叠加 DCMM 口尝苦度的预测方程。

根据二元叠加 DCMM 口尝结果, 拟合二元叠加 DCMM 口尝苦度 I_{zo} 与单味 DCMM 口尝苦度 I_o 关系的最佳回归方程 (表 9)。其中, 5 组方程 $P < 0.01$, $R_c^2 \geq 0.868$, 结果表明, 根据单味 DCMM 的口尝苦度可以很好地拟合出叠加 DCMM 的口尝苦度预测方程。

(2)三元叠加实验: 根据 10 组三元叠加 DCMM 的口尝结果, 采用多元线性回归法拟合叠加 DCMM 苦度 I_{zo} 与 $\ln C$ 的最佳回归方程 (表 10), 共 9 组, 其中 6 组 $P < 0.01$, $R_c^2 \geq 0.871$, 但黄芩+连翘+野菊花未拟合出有意义的最佳方程。

根据三元叠加 DCMM 口尝结果, 拟合三元叠加 DCMM 口尝苦度 I_{zo} 与单味 DCMM 口尝苦度 I_o 关系最佳回归方程 (表 11)。共得到 9 组有效方程,

$R_c^2 \geq 0.659$, $P < 0.05$, 但黄芩+连翘+野菊花组未得到有显著性意义的拟合方程。

在二元、三元叠加中, I_z - $\ln C$ 、 I_z - I 共得到 30 组有意义的拟合方程, $P < 0.05$, 其中 23 组拟合方程 $P < 0.01$, $R_c^2 \geq 0.855$, 即单味 DCMM 的质量浓度与口尝苦度可以很好地拟合出叠加 DCMM 口尝苦度的预测方程。

综合标准化回归方程的系数以及在一定范围内各组分饮片质量浓度或苦度对叠加后苦度影响程度分析发现, 三元叠加中苦参+黄柏+苦楝皮组由于各组分取值范围部分重叠, 且 I_z - $\ln C$ 、 I_z - I 拟合方程中一次项与二次项同时存在, 在变量取值范围内分析各组分变化率发现, I_z - $\ln C$ 中当黄柏质量浓度 $C_{\text{黄柏}} > 15.34 \text{ g/L}$ 时黄柏贡献率较大, 反之则苦参贡献度大, I_z - I 中当黄柏苦度 $I_{\text{黄柏}} < 2.6$ 时苦参影响较大、 $I_{\text{黄柏}} > 2.6$ 时黄柏影响较大; 各组别中组分 1 对 I_z 的贡献度最大, 其中 14 组最佳拟合方程只与一个

表 9 二元叠加 DCMM 口尝苦度 (I_{zo}) 与单味 DCMM 苦度 (I_o) 的最佳拟合方程 ($n = 6$)

Table 9 Best-fitting equation of binary superposition DCMM bitterness (I_{zo}) and single-flavor DCMM bitterness (I_o) ($n = 6$)

组别	回归方程	标准化回归方程	R_c^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+S2	$y=1.688 x_1-0.103 x_1^2-0.747$	$y'=1.774 x'_1-0.787 x'_1{}^2$	0.997	$P<0.01$	$x'_1>x'_1{}^2$
S1+G1	$y=2.298+0.109 x_1^2$	$y'=0.996 x'_1{}^2$	0.991	$P<0.01$	$x'_1{}^2$
S3+T1	$y=2.037+0.131 x_1^2+0.029 x_2^2$	$y'=0.993 x'_1{}^2+0.217 x'_2{}^2$	0.899	$P<0.05$	$x'_1{}^2>x'_2{}^2$
T1+T3	$y=1.182+0.707 x_1+0.032 x_2^2$	$y'=1.019 x'_1+0.215 x'_2{}^2$	0.979	$P<0.01$	$x'_1>x'_2{}^2$
T1+G1	$y=1.114+0.163 x_1^2+0.077 x_2^2$	$y'=0.978 x'_1{}^2+0.484 x'_2{}^2$	0.961	$P<0.01$	$x'_1{}^2>x'_2{}^2$
G1+G3	$y=0.367+0.839 x_1$	$y'=0.946 x'_1$	0.868	$P<0.01$	x'_1

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的苦度, x_2 表示组分 2 的苦度, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的苦度, x'_2 表示组分 2 标准化的苦度

In the above equation, y represents the bitterness after superposition, x_1 represents the bitterness of component 1, x_2 represents the bitterness of component 2, y' represents the standardized bitterness after superposition, x'_1 represents the standardized bitterness of component 1, and x'_2 represents the standardized bitterness of component 2

表 10 三元叠加口尝苦度 (I_{zo}) 与质量浓度的对数 ($\ln C$) 的最佳拟合方程 ($n = 6$)Table 10 Best fitting equation of ternary superposition bitterness (I_{zo}) and concentration logarithm ($\ln C$) ($n = 6$)

组别	回归方程	标准化回归方程	R_c^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+S3+S2	$y=3.495+0.577 x_1$	$y'=0.880 x'_1$	0.718	$P<0.05$	x'_1
S1+S3+G2	$y=1.804+0.892 x_1-0.183 x_1x_3$	$y'=1.687 x'_1-0.967 x'_1x'_3$	0.890	$P<0.05$	$x'_1>x'_1x'_3$
S2+S3+T2	$y=1.833+0.639 x_1+0.117 x_2^2-0.053 x_3^2$	$y'=0.674 x'_1+0.472 x'_2^2-0.269 x'_3^2$	0.996	$P<0.01$	—
T1+T3+T2	$y=1.944+0.509 x_1+0.113 x_2$	$y'=0.935 x'_1+0.207 x'_2$	0.992	$P<0.01$	$x'_1>x'_2$
T1+T3+S3	$y=2.605+0.322 x_1+0.229 x_3$	$y'=0.879 x'_1+0.626 x'_3$	0.908	$P<0.05$	$x'_1>x'_3$
T3+T2+G3	$y=1.000+0.616 x_2$	$y'=0.947 x'_2$	0.871	$P<0.01$	x'_2
G1+G2+G3	$y=1.223+0.403 x_1+0.141 x_2+0.017 x_3^2$	$y'=0.914 x'_1+0.320 x'_2+0.211 x'_3^2$	0.991	$P<0.01$	$x'_1>x'_2>x'_3^2$
G1+G2+S3	$y=1.520+0.620 x_1$	$y'=0.992 x'_1$	0.981	$P<0.01$	x'_1
S1+G1+T1	$y=3.202+0.818 x_1$	$y'=0.984 x'_1$	0.960	$P<0.01$	x'_1

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的 $\ln C$, x_2 表示组分 2 的 $\ln C$, x_3 表示组分 3 的 $\ln C$, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的 $\ln C$, x'_2 表示组分 2 标准化的 $\ln C$, x'_3 表示组分 3 标准化的 $\ln C$

In the above equation, y represents the post-stack bitterness, x_1 represents the $\ln C$ of component 1, x_2 represents the $\ln C$ of component 2, x_3 represents the $\ln C$ of component 3, y' represents the standardized post-stack bitterness, x'_1 represents the standardized $\ln C$ of component 1, x'_2 represents the standardized $\ln C$ of component 2 and x'_3 represents the standardized $\ln C$ of component 3

表 11 三元叠加 DCMM 口尝苦度 (I_{zo}) 与单味 DCMM 苦度 (I_o) 的最佳拟合方程 ($n = 6$)Table 11 Best fitting equation of ternary superposition DCMM tongue bitterness (I_{zo}) and single-flavor DCMM bitterness (I_o) ($n = 6$)

组别	回归方程	标准化回归方程	R_c^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+S3+S2	$y=1.039+0.651 x_1+0.228 x_2$	$y'=0.844 x'_1+0.289 x'_2$	0.845	$P<0.05$	$x'_1>x'_2$
S1+S3+G2	$y=0.035+0.530 x_1$	$y'=0.853 x'_1$	0.659	$P<0.05$	x'_1
S2+S3+T2	$y=0.365+0.677 x_1+0.107 x_2^2-0.130 x_3^2$	$y'=0.660 x'_1+0.545 x'_2^2-2.490 x'_3^2$	0.999	$P<0.01$	—
T1+T3+T2	$y=1.589+0.581 x_1$	$y'=0.981 x'_1$	0.953	$P<0.01$	x'_1
T1+T3+S3	$y=1.888+0.350 x_1+0.262 x_3$	$y'=0.881 x'_1+0.598 x'_3$	0.897	$P<0.05$	$x'_1>x'_3$
T3+T2+G3	$y=0.215+0.800 x_1+0.079 x_3^2$	$y'=1.015 x'_1+0.277 x'_3^2$	0.941	$P<0.01$	$x'_1>x'_3^2$
G1+G2+G3	$y=0.871+0.491 x_1$	$y'=0.940 x'_1$	0.855	$P<0.01$	x'_1
G1+G2+S3	$y=1.511 x_1-0.135 x_1^2-0.741$	$y'=2.040 x'_1-1.071 x'_1^2$	0.989	$P<0.01$	$x'_1>x'_1^2$
S1+G1+T1	$y=0.967 x_1+0.504$	$y'=0.989 x'_1$	0.974	$P<0.01$	x'_1

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的苦度, x_2 表示组分 2 的苦度, x_3 表示组分 3 的苦度, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的苦度, x'_2 表示组分 2 标准化的苦度, x'_3 表示组分 3 标准化的苦度

In the above equation, y represents the bitterness after superposition, x_1 represents the bitterness of component 1, x_2 represents the bitterness of component 2, x_3 represents the bitterness of component 3, y' represents the standardized bitterness after superposition, x'_1 represents the standardized bitterness of component 1, x'_2 represents the standardized bitterness of component 2, and x'_3 represents the standardized bitterness of component 3

组分相关, 且组别中出现黄连时黄连对叠加后苦度的贡献率往往大于其余组分; 多类型叠加中黄连、穿心莲、龙胆的苦味贡献度均高于同组其他饮片。

3.2 电子舌法结果

以质量浓度对数为自变量, 以 6 根传感器的响应值为因变量, 收集 25 组电子舌苦度, 根据实验结果, 全部样品的 B-bitterness2 味觉信息响应值都很高并且能区分出不同质量浓度, 其次是涩味味觉

信息值和苦味味觉信息值。龙胆的味觉信息响应值在所有饮片中最低。黄连和黄柏的 H-bitterness 味觉信息响应值较大, 但是对其余 6 味药的响应及质量浓度区分都较小, 因此着重分析 25 组样品的 B-bitterness2、涩味和苦味味觉信息值。因篇幅原因, 此处以黄连、穿心莲和龙胆为例, 结果见图 2。

3.2.1 单味 DCMM 电子舌苦度 I_e 与质量浓度 C 关系 采用规划求解建立威布尔和对数的单味 DCMM

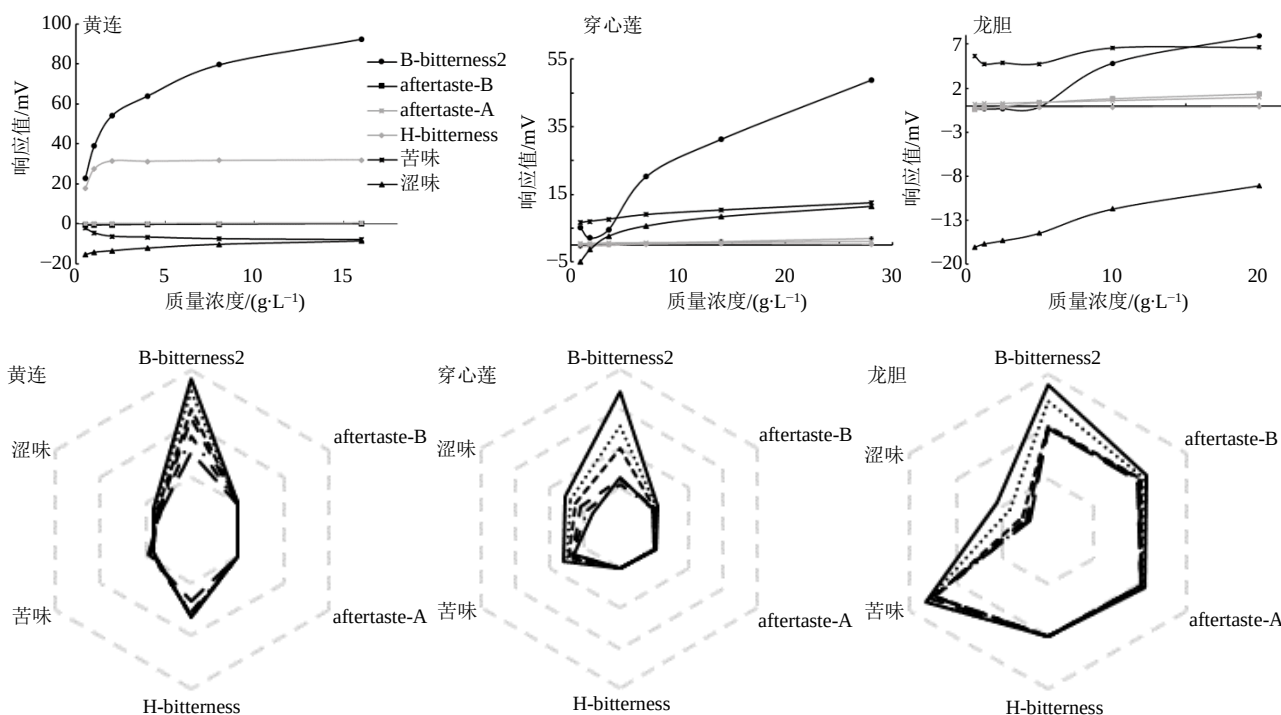


图 2 黄连、穿心莲、龙胆的电子舌传感器灵敏度以及苦度结果

Fig. 2 Sensitivity and bitterness results of electronic tongue sensors of CR, AH and GRR

质量浓度和电子舌苦度的拟合模型。根据对电子舌传感器响应值的分析,本实验只针对 3 种传感器结果进行拟合,共计 27 组数据,最终拟合出 24 组有显著性意义的方程,其中,威布尔方程拟合度明显优于对数方程,因此采用威布尔模型作为一元电子舌苦度的拟合模型。具体见表 12。其中,生物碱类饮片黄连、黄柏的苦味味觉信息响应值随质量浓度增加而降低,其余各单味 DCMM 的电子舌传感器

味觉信息响应值均随质量浓度的增加而增加。

3.2.2 电子舌叠加苦度均匀设计回归分析结果

(1) 二元叠加电子舌苦度结果:根据二元叠加 DCMM 电子舌结果,拟合叠加样品电子舌苦度 I_{Z0} 与 $\ln C$ 最佳回归方程,如表 13 所示。共拟合出 18 组方程, $R^2 \geq 0.756$, $P < 0.05$,其中 15 组方程 $P < 0.01$, $R^2 \geq 0.837$ 。

根据二元叠加 DCMM 电子舌测定结果,拟合

表 12 单味 DCMM 电子舌苦度 (I_{Z0}) 与质量浓度 (C) 的拟合模型结果 ($n = 6$)

Table 12 Fitting model results of single-flavor DCMM electronic tongue bitterness (I_{Z0}) and concentration (C) ($n = 6$)

组别	味觉信息值	威布尔方程	对数方程	组别	味觉信息值	威布尔方程	对数方程
S1	B-bitterness2	$R^2=0.998\ 3, P<0.01$	$R^2=0.998\ 2, P<0.01$	T2	涩味	$R^2=0.998\ 5, P<0.01$	$R^2=0.987\ 1, P<0.01$
	苦味	$R^2=0.993\ 5, P<0.01$	$R^2=0.896\ 5, P<0.01$	T3	B-bitterness2	$R^2=0.994\ 2, P<0.01$	$R^2=0.968\ 2, P<0.01$
	涩味	$R^2=0.987\ 8, P<0.01$	$R^2=0.997\ 3, P<0.01$		苦味	$R^2=0.999\ 4, P<0.01$	$R^2=0.994\ 1, P<0.01$
S2	B-bitterness2	$R^2=0.986\ 2, P<0.01$	$R^2=0.865\ 6, P<0.01$		涩味	$R^2=1.000\ 0, P<0.01$	$R^2=0.990\ 6, P<0.01$
	涩味	$R^2=0.981\ 6, P<0.01$	$R^2=0.985\ 7, P<0.01$	G1	B-bitterness2	$R^2=0.994\ 0, P<0.01$	$R^2=0.778\ 5, P<0.01$
S3	B-bitterness2	$R^2=0.998\ 4, P<0.01$	$R^2=0.985\ 6, P<0.01$		涩味	$R^2=0.995\ 8, P<0.01$	$R^2=0.851\ 4, P<0.01$
	苦味	$R^2=0.998\ 5, P<0.01$	$R^2=0.835\ 8, P<0.01$	G2	B-bitterness2	$R^2=0.997\ 1, P<0.01$	$R^2=0.991\ 1, P<0.01$
	涩味	$R^2=0.999\ 3, P<0.01$	$R^2=0.987\ 7, P<0.01$		苦味	$R^2=0.987\ 9, P<0.01$	$R^2=0.928\ 3, P<0.01$
T1	B-bitterness2	$R^2=0.976\ 9, P<0.01$	$R^2=0.920\ 6, P<0.01$		涩味	$R^2=0.998\ 7, P<0.01$	$R^2=0.989\ 2, P<0.01$
	苦味	$R^2=0.998\ 3, P<0.01$	$R^2=0.932\ 8, P<0.01$	G3	B-bitterness2	$R^2=0.999\ 0, P<0.01$	$R^2=0.882\ 9, P<0.01$
	涩味	$R^2=0.997\ 1, P<0.01$	$R^2=0.995\ 2, P<0.01$		苦味	$R^2=0.985\ 6, P<0.01$	$R^2=0.919\ 1, P<0.01$
T2	B-bitterness2	$R^2=0.997\ 2, P<0.01$	$R^2=0.957\ 6, P<0.01$		涩味	$R^2=0.999\ 1, P<0.01$	$R^2=0.979\ 1, P<0.01$

表 13 二元叠加 DCMM 电子舌苦度 (I_{ze}) 与质量浓度的对数 ($\ln C$) 的拟合方程 ($n=6$)Table 13 Fitting equation of binary superposition DCMM electronic tongue bitterness (I_{ze}) and concentration logarithm ($\ln C$) ($n=6$)

组别	味觉信息值	回归方程	标准化回归方程	R_c^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+	B-bitterness2	$y=28.462+19.896 x_1$	$y'=0.986 x'_1$	0.953	$P<0.01$	x'_1
S2	苦味	$y=-2.780-1.984 x_1$	$y'=-0.949 x'_1$	0.875	$P<0.01$	x'_1
	涩味	$y=1.498 x_1+0.513 x_2^2-11.458$	$y'=0.743 x'_1+0.780 x'_2^2$	0.904	$P<0.05$	—
S1+	B-bitterness2	$y=35.233+21.307 x_1$	$y'=0.983 x'_1$	0.959	$P<0.01$	x'_1
G1	苦味	$y=1.401 x_2-1.947 x_1-4.333$	$y'=0.524 x'_2-0.729 x'_1$	0.932	$P<0.01$	$x'_1>x'_2$
	涩味	$y=0.872 x_1^2+0.608 x_2^2-13.890$	$y'=0.883 x'_1^2+0.723 x'_2^2$	0.975	$P<0.01$	$x'_1^2>x'_2^2$
S3+	B-bitterness2	$y=15.473+20.881 x_1$	$y'=0.932 x'_1$	0.837	$P<0.01$	x'_1
T1	苦味	$y=1.267-2.261 x_1+2.467 x_2$	$y'=-0.597 x'_1+0.652 x'_2$	0.895	$P<0.01$	$x'_1>x'_2$
	涩味	$y=1.060 x_2^2-1.197$	$y'=0.897 x'_2^2$	0.756	$P<0.05$	x'_2^2
T1+	B-bitterness2	$y=31.707-15.341 x_2+3.018 x_1^2+5.432 x_2^2$	$y'=-0.981 x'_2+0.647 x'_1^2+1.873 x'_2^2$	0.999	$P<0.01$	—
T3	苦味	$y=8.279+0.295 x_1^2+0.149 x_2^2$	$y'=0.866 x'_1^2+0.702 x'_2^2$	0.968	$P<0.01$	$x'_1^2>x'_2^2$
	涩味	$y=3.566+2.724 x_1-3.904 x_2+1.197 x_2^2$	$y'=0.779 x'_1-1.117 x'_2+1.847 x'_2^2$	0.990	$P<0.01$	—
T1+	B-bitterness2	$y=5.959+7.284 x_1+2.344 x_2$	$y'=1.031 x'_1+0.326 x'_2$	1.000	$P<0.01$	$x'_1>x'_2$
G1	苦味	$y=5.327+0.629 x_1^2$	$y'=0.983 x'_1^2$	0.958	$P<0.01$	x'_1^2
	涩味	$y=4.682 x_1-0.251 x_2+0.164 x_2^2-4.961$	$y'=1.006 x'_1-0.054 x'_2+0.096 x'_2^2$	0.999	$P<0.01$	$x'_1>x'_2^2>x'_2$
G1+	B-bitterness2	$y=0.893 x_2^2-2.515$	$y'=0.917 x'_2^2$	0.800	$P<0.05$	x'_2^2
G3	苦味	$y=3.280+0.515 x_1+0.325 x_2^2$	$y'=0.295 x'_1+1.007 x'_2^2$	0.973	$P<0.01$	$x'_2^2>x'_1$
	涩味	$y=3.620 x_2-15.819$	$y'=0.940 x'_2$	0.855	$P<0.01$	x'_2

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的 $\ln C$, x_2 表示组分 2 的 $\ln C$, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的 $\ln C$, x'_2 表示组分 2 标准化的 $\ln C$

In the above equation, y represents post-stack bitterness, x_1 represents $\ln C$ of component 1, x_2 represents $\ln C$ of component 2, y' represents standardized post-stack bitterness, x'_1 represents standardized $\ln C$ of component 1, and x'_2 represents standardized $\ln C$ of component 2

二元叠加 DCMM 电子舌苦度 I_{ze} 与单味 DCMM 电子舌苦度 I_e 关系最佳回归方程, 结果如表 14 所示。共得到 18 组最佳拟合方程, 其中 13 组方程拟合度 $R_c^2 \geq 0.864$, $P < 0.01$, 表明单味 DCMM 的电子舌苦度可以拟合出二元叠加 DCMM 电子舌苦度的预测方程。

(2) 三元叠加 DCMM 电子舌结果: 根据三元叠加混合样品电子舌苦度测定结果, 采用多元线性回归法拟合叠加 DCMM 苦度 I_{ze} 与 $\ln C$ 的最佳回归方程。如表 15 所示, 共计 27 组有显著性差异方程 ($P < 0.05$)。其中, 14 组方程 $P < 0.01$, $R_c^2 \geq 0.853$ 。

根据三元叠加 DCMM 电子舌结果, 拟合三元叠加 DCMM 电子舌苦度 I_{ze} 与单味 DCMM 电子舌苦度 I_e 关系最佳回归方程。共得到 25 组有显著性差异方程, 其中 14 组拟合方程 $P < 0.01$, $R_c^2 \geq 0.925$, 黄芩+连翘+野菊花组均未得到有显著性意义的拟合方程。结果如表 16 所示。

在二元、三元叠加中, $I_{ze}-\ln C$ 、 $I_{ze}-I$ 共 96 组实验结果, 通过多元线性回归进行分析, 共 88 组得到了有效的最佳拟合方程, $P < 0.05$, 其中 56 组拟合方程 $P < 0.01$, $R_c^2 \geq 0.853$, 表明单味 DCMM 的质量浓度与电子舌苦度可以很好地拟合出叠加 DCMM 的电子舌苦度预测模型。36 组最佳拟合模型中仅与组别中某一组分相关, 28 组模型与组别中所有组分均相关。

综合标准化回归方程的系数以及在一定范围内各组分饮片质量浓度或苦度对叠加后苦度影响程度分析发现, 二元叠加中黄连+苦参组 $I_{ze}-\ln C$ 的涩味信息拟合方程中当 $C_{苦参} > 4.3$ 时苦参贡献度高于黄连; 穿心莲+野菊花组的 B-bitterness2 信息拟合方程中在穿心莲质量浓度范围内穿心莲贡献度较大, 当野菊花质量浓度取值高于穿心莲范围时野菊花贡献度较大; 在涩味信息拟合方程中当 $C_{野菊花} > 15.93$ 时野菊花贡献度高于穿心莲, 反之则穿心莲影响较

表 14 二元叠加 DCMM 电子舌苦度 (I_{ze}) 与单味 DCMM 苦度 (I_e) 的最佳拟合方程 ($n=6$)

Table 14 Best fitting equation of binary superposition DCMM electronic tongue bitterness (I_{ze}) and single-flavor DCMM bitterness (I_e) ($n=6$)

组别	味觉信息值	回归方程	标准化回归方程	R_c^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+S2	B-bitterness2	$y=9.558+0.009 x_1^2+0.007 x_2^2$	$y'=1.039 x_1'^2+0.195 x_2'^2$	0.990	$P<0.01$	$x_1'^2>x_2'^2$
	苦味	$y=-0.122 x_1^2-0.339$	$y'=-0.981 x_1'^2$	0.953	$P<0.01$	$x_1'^2$
	涩味	$y=16.494+0.749 x_1+2.329 x_2+0.019 x_2^2$	$y'=0.743 x_1'+3.129 x_2'+2.402 x_2'^2$	0.982	$P<0.01$	$x_2'>x_2'^2>x_1'$
S1+G1	B-bitterness2	$y=20.868+0.009 x_1^2$	$y'=0.982 x_1'^2$	0.956	$P<0.01$	$x_1'^2$
	苦味	$y=0.494-0.137 x_1^2$	$y'=-0.867 x_1'^2$	0.689	$P<0.05$	$x_1'^2$
	涩味	$y=12.159+1.020 x_1+0.695 x_2$	$y'=0.892 x_1'+0.648 x_2'$	0.977	$P<0.05$	$x_1'>x_2'$
S3+T1	B-bitterness2	$y=-2.275+0.920 x_1+0.596 x_2$	$y'=0.972 x_1'+0.382 x_2'$	0.970	$P<0.01$	$x_1'>x_2'$
	苦味	$y=-0.570-0.147 x_1^2+0.072 x_2^2$	$y'=-0.621 x_1'^2+0.627 x_2'^2$	0.992	$P<0.01$	$x_2'>x_1'^2$
	涩味	$y=0.272+0.741 x_2$	$y'=0.879 x_2'$	0.716	$P<0.05$	x_2'
T1+T3	B-bitterness2	$y=14.232+0.523 x_1+0.636 x_2$	$y'=0.479 x_1'+0.861 x_2'$	0.881	$P<0.01$	$x_2'>x_1'$
	苦味	$y=2.216+0.553 x_1+0.407 x_2$	$y'=0.803 x_1'+0.617 x_2'$	0.864	$P<0.01$	$x_1'>x_2'$
	涩味	$y=5.024+0.547 x_1+0.347 x_2$	$y'=0.736 x_1'+0.708 x_2'$	0.813	$P<0.05$	$x_1'>x_2'$
T1+G1	B-bitterness2	$y=12.226+0.445 x_1$	$y'=0.887 x_1'$	0.734	$P<0.05$	x_1'
	苦味	$y=1.269 x_1+0.034 x_2^2-4.510$	$y'=1.016 x_1'+0.124 x_2'^2$	0.992	$P<0.01$	$x_1'>x_2'^2$
	涩味	$y=0.986 x_1-0.928$	$y'=0.996 x_1'$	0.991	$P<0.01$	x_1'
G1+G3	B-bitterness2	$y=0.193+0.009 x_2^2$	$y'=0.988 x_2'^2$	0.969	$P<0.01$	$x_2'^2$
	苦味	$y=1.034 x_2+0.042 x_1^2-1.345$	$y'=1.068 x_2'+0.190 x_1'^2$	0.984	$P<0.01$	$x_2'>x_1'^2$
	涩味	$y=4.099+1.188 x_2-0.018 x_1^2+0.024 x_2^2$	$y'=1.382 x_2'-0.248 x_1'^2+0.381 x_2'^2$	0.999	$P<0.01$	$x_2'>x_2'^2>x_1'^2$

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的苦度, x_2 表示组分 2 的苦度, y' 表示标准化的叠加后苦度, x_1' 表示组分 1 标准化的苦度, x_2' 表示组分 2 标准化的苦度

In the above equation, y represents the bitterness after superposition, x_1 represents the bitterness of component 1, x_2 represents the bitterness of component 2, y' represents the standardized bitterness after superposition, x_1' represents the standardized bitterness of component 1, and x_2' represents the standardized bitterness of component 2

大;三元叠加中黄芩+连翘+野菊花组 B-bitterness2 信息拟合方程中当 $C_{野菊花}>38.28$ 时野菊花贡献度较高,反之则黄芩影响较大;涩味信息拟合方程中当 $C_{野菊花}>24.92$ 时野菊花贡献度较高,反之则黄芩影响较大;而 $I_{ze}-I_e$ 中 $I_{野菊花}>7.33$ 时野菊花贡献度较高,反之则黄芩影响较大;含有 S1 的组别中, S1 对叠加后苦度影响更大;同类型叠加中苦味贡献最大的分别是黄连、穿心莲、黄芩;不同类叠加中生物碱类的苦味贡献度较高。

3.3 口尝法与电子舌苦度对比模型建立

根据样品测试结果,结合回归分析,能够得到单味饮片、二元叠加、三元叠加的口尝苦度和电子舌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 I_e 为自变量,以口尝苦度 I_o 为因变量,拟合电子舌苦度 I_e 与口尝苦度 I_o 关系回归方程,并构建拟合模型。

从 $I_{zo}-I_{ze}$ 的结果(表 17~19)来看,27 组单味 DCMM 苦度数据得到 24 个有意义的线性方程 ($P<0.05$),91.67%的拟合度 $R_c^2\geq 0.800$;18 组二元叠加 DCMM 苦度数据,共 8 个有意义的线性方程 ($P<0.05$),75%的拟合度 $R_c^2\geq 0.800$;30 组三元叠加 DCMM 苦度数据,共 13 个有意义方程,方程类型为线性或对数方程 ($P<0.05$),69.23%的拟合度 $R_c^2\geq 0.800$ 。

25 组样品共 75 组数据,其中, S1、T3、G3、S1+S2、T1+G1、T3+T2+G3 6 组样品整体拟合效果最优,而 G1+G3、S1+S3+G2、G1+G2+G3、G1+G2+S3 4 组样品 3 个传感器无任何有意义方程,其余样品每组至少有一个有意义的方程。单味 DCMM 的口尝苦度与电子舌苦度有良好相关性,叠加 DCMM 的口尝苦度与电子舌苦度相关性随着叠加元素的增多而减少。

表 15 三元叠加 DCMM 电子舌苦度 (I_{ze}) 与质量浓度的对数 ($\ln C$) 的最佳拟合方程 ($n = 6$)Table 15 Best fitting equation of ternary superposition DCMM electronic tongue bitterness (I_{ze}) and concentration logarithm ($\ln C$) ($n = 6$)

组别	味觉信息值	回归方程	标准化回归方程	R_c^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+S3+	B-bitterness	$y = 38.373 + 13.939 x_1 + 13.165 x_2$	$y' = 0.638 x'_1 + 0.603 x'_2$	0.875	$P < 0.05$	$x'_1 > x'_2$
S2	苦味	$y = -2.008 x_1 + 0.433 x_1^2 - 6.513$	$y' = -1.627 x'_1 + 0.811 x'_1{}^2$	0.887	$P < 0.05$	$x'_1 > x'_1{}^2$
	涩味	$y = 0.358 x_1^2 + 0.545 x_2^2 - 6.842$	$y' = 0.475 x'_1{}^2 + 0.723 x'_2{}^2$	0.810	$P < 0.05$	$x'_2{}^2 > x'_1{}^2$
S1+S3+	苦味	$y = 7.291 x_3 - 8.838$	$y' = 0.905 x'_3$	0.773	$P < 0.05$	x'_3
G2	涩味	$y = 0.691 x_3^2 - 3.230$	$y' = 0.961 x'_3{}^2$	0.903	$P < 0.01$	$x'_3{}^2$
S2+S3+	B-bitterness	$y = 7.584 + 5.253 x_1 + 5.776 x_2^2$	$y' = 0.221 x'_1 + 0.929 x'_2{}^2$	0.984	$P < 0.01$	$x'_2{}^2 > x'_1$
T2	苦味	$y = 0.349 - 1.801 x_2 - 0.227 x_1^2 + 0.529 x_3^2$	$y' = -0.493 x'_2 - 0.190 x'_1{}^2 + 0.699 x'_3{}^2$	0.992	$P < 0.01$	$x'_3{}^2 > x'_2 > x'_1{}^2$
	涩味	$y = 0.370 x_2^2 + 0.244 x_3^2 - 7.255$	$y' = 0.833 x'_2{}^2 + 0.691 x'_3{}^2$	0.872	$P < 0.05$	$x'_2{}^2 > x'_3{}^2$
T1+T3+	苦味	$y = 7.912 + 0.845 x_1 + 0.721 x_2 - 0.020 x_3^2$	$y' = 0.680 x'_1 + 0.580 x'_2 - 0.076 x'_3{}^2$	0.999	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2 > x'_3{}^2$
T2	涩味	$y = 2.469 x_1 + 1.348 x_2 - 0.890$	$y' = 0.806 x'_1 + 0.440 x'_2$	0.975	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2$
T1+T3+	苦味	$y = 1.574 + 2.153 x_2 - 2.235 x_3 + 0.482 x_1^2$	$y' = 0.521 x'_2 - 0.541 x'_3 + 0.391 x'_1{}^2$	0.971	$P < 0.05$	—
S3	涩味	$y = 2.815 x_1 + 1.582 x_2 - 2.093$	$y' = 0.786 x'_1 + 0.442 x'_2$	0.918	$P < 0.05$	$x'_1 > x'_2$
T3+T2+	B-bitterness	$y = 6.806 + 0.668 x_1 + 0.284 x_2$	$y' = 0.921 x'_1 + 0.294 x'_2$	0.980	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2$
G3	苦味	$y = 5.457 + 1.222 x_1 + 0.208 x_3^2$	$y' = 0.941 x'_1 + 0.432 x'_3{}^2$	0.848	$P < 0.05$	—
	涩味	$y = 0.137 x_1 - 0.550$	$y' = 0.884 x'_1$	0.728	$P < 0.05$	x'_1
G1+G2+	B-bitterness	$y = 24.987 + 2.933 x_2^2$	$y' = 0.965 x'_2{}^2$	0.914	$P < 0.01$	$x'_2{}^2$
G3	苦味	$y = 12.431 + 0.552 x_2^2$	$y' = 0.996 x'_2{}^2$	0.989	$P < 0.01$	$x'_2{}^2$
	涩味	$y = 0.635 x_2^2 - 1.427$	$y' = 0.967 x'_2{}^2$	0.919	$P < 0.01$	$x'_2{}^2$
G1+G2+	B-bitterness	$y = 16.297 + 2.920 x_2^2 + 2.428 x_3^2$	$y' = 0.906 x'_2{}^2 + 0.536 x'_3{}^2$	0.834	$P < 0.05$	$x'_2{}^2 > x'_3{}^2$
S3	苦味	$y = 4.863 x_2 - 2.097$	$y' = 0.940 x'_2$	0.853	$P < 0.01$	x'_2
	涩味	$y = 0.494 x_2^2 - 3.508$	$y' = 0.991 x'_2{}^2$	0.976	$P < 0.01$	$x'_2{}^2$
G2+G3+	B-bitterness	$y = 26.515 + 9.732 x_1 + 1.335 x_3^2$	$y' = 0.850 x'_1 + 0.629 x'_3{}^2$	0.847	$P < 0.05$	—
T3	苦味	$y = 7.073 + 3.411 x_1$	$y' = 0.953 x'_1$	0.885	$P < 0.01$	x'_1
	涩味	$y = 2.193 x_1 + 0.341 x_2^2 - 1.085$	$y' = 0.795 x'_1 + 0.666 x'_3{}^2$	0.778	$P < 0.05$	—
S1+G1+	B-bitterness	$y = 38.912 + 17.659 x_1$	$y' = 0.957 x'_1$	0.896	$P < 0.01$	x'_1
T1	苦味	$y = -2.840 x_1 + 2.771 x_2$	$y' = -0.761 x'_1 + 0.742 x'_2$	0.839	$P < 0.05$	$x'_1 > x'_2$
	涩味	$y = 3.982 x_2 - 1.957$	$y' = 0.995 x'_2$	0.987	$P < 0.01$	x'_2

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的 $\ln C$, x_2 表示组分 2 的 $\ln C$, x_3 表示组分 3 的 $\ln C$, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的 $\ln C$, x'_2 表示组分 2 标准化的 $\ln C$, x'_3 表示组分 3 标准化的 $\ln C$

In the above equation, y represents the post-stack bitterness, x_1 represents the $\ln C$ of component 1, x_2 represents the $\ln C$ of component 2, x_3 represents the $\ln C$ of component 3, y' represents the standardized post-stack bitterness, x'_1 represents the standardized $\ln C$ of component 1, x'_2 represents the standardized $\ln C$ of component 2 and x'_3 represents the standardized $\ln C$ of component 3

4 讨论

4.1 载体的选择

根据《中国药典》2015 年版^[11]中对饮片的性味描述,选择“极苦”“苦”且没有其他兼味描述的饮片,同时查阅相关文献报道,根据中药饮片中含有的特征苦味物质进行分类,生物碱类:黄连(小檗碱、表小檗碱等)^[16-17]、黄柏(小檗碱、黄柏碱)^[18]、

苦参(苦参碱、氧化苦参碱)^[19];萜类:穿心莲(穿心莲内酯、新穿心莲内酯)^[20]、野菊花(单萜类、倍半萜类化合物)^[21]、苦楝皮(三萜类化合物川楝素和异川楝素)^[22-23];糖苷类:龙胆(龙胆苦苷)^[24]、黄芩(黄芩苷、汉黄芩苷)^[25]、连翘(连翘酯苷类)^[26]。

根据《中国药典》2015 年版中饮片的推荐用量范围进行预实验,设定样品的浓度梯度,如药典中

表 16 三元叠加 DCMM 电子舌苦度 (I_{ze}) 与单味 DCMM 苦度 (I_e) 的拟合方程 ($n = 6$)

Table 16 Fitting equation of ternary superposition DCMM electronic tongue bitterness (I_{ze}) and single-flavor DCMM bitterness (I_e) ($n = 6$)

组别	味觉信息值	回归方程	标准化回归方程	R^2	P 值	标准化回归系数排序
S1+S3+S2	B-bitterness	$y = 11.608 + 0.666 x_1 + 0.539 x_2$	$y' = 0.605 x'_1 + 0.584 x'_2$	0.895	$P < 0.05$	$x'_1 > x'_2$
	苦味	$y = 0.706 x_1 - 3.471$	$y' = 0.971 x'_1$	0.928	$P < 0.01$	x'_1
	涩味	$y = 0.340 x_2 - 1.585$	$y' = 0.855 x'_2$	0.665	$P < 0.05$	x'_2
S1+S3+G2	涩味	$y = 0.842 x_3 - 0.375 x_1 - 6.125$	$y' = 0.937 x'_3 - 0.184 x'_1$	0.987	$P < 0.01$	$x'_3 > x'_1$
S2+S3+T2	B-bitterness	$y = 12.654 + 0.010 x_2^2$	$y' = 0.985 x'_2{}^2$	0.962	$P < 0.01$	$x'_2{}^2$
	苦味	$y = 23.747 - 6.234 x_1$	$y' = -0.854 x'_1$	0.662	$P < 0.05$	x'_1
T1+T3+T2	B-bitterness	$y = 29.500 + 0.644 x_2$	$y' = 0.897 x'_2$	0.757	$P < 0.05$	x'_2
	苦味	$y = 2.853 + 0.466 x_1 + 0.439 x_2$	$y' = 0.645 x'_1 + 0.612 x'_2$	0.925	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2$
	涩味	$y = 4.390 + 0.518 x_1 + 0.186 x_2$	$y' = 0.796 x'_1 + 0.432 x'_2$	0.990	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2$
T1+T3+S3	涩味	$y = 4.021 + 0.595 x_1 + 0.219 x_2$	$y' = 0.781 x'_1 + 0.435 x'_3{}^2$	0.951	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2$
T3+T2+G3	B-bitterness	$y = 0.665 x_1 + 0.516 x_2 - 10.455$	$y' = 0.851 x'_1 + 0.464 x'_2$	0.986	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_2$
	苦味	$y = 2.571 + 0.689 x_1 + 0.027 x_3^2$	$y' = 0.918 x'_1 + 0.532 x'_3{}^2$	0.938	$P < 0.05$	$x'_1 > x'_3{}^2$
	涩味	$y = 2.209 + 0.463 x_1$	$y' = 0.934 x'_1$	0.840	$P < 0.05$	x'_1
G1+G2+G3	B-bitterness	$y = 19.868 + 0.285 x_3 + 0.010 x_2^2$	$y' = 0.199 x'_3 + 1.014 x'_2{}^2$	0.984	$P < 0.01$	$x'_2{}^2 > x'_3$
	苦味	$y = 56.910 - 5.960 x_2 + 0.199 x_2^2$	$y' = -4.039 x'_2 + 4.991 x'_2{}^2$	0.988	$P < 0.01$	$x'_2{}^2 > x'_2$
	涩味	$y = 0.018 + 0.761 x_2$	$y' = 0.927 x'_2$	0.824	$P < 0.05$	x'_2
G1+G2+S3	B-bitterness	$y = 15.984 + 0.010 x_2^2 + 0.004 x_3^2$	$y' = 0.944 x'_2{}^2 + 0.545 x'_3{}^2$	0.892	$P < 0.05$	$x'_2{}^2 > x'_3{}^2$
	苦味	$y = -10.520 + 0.063 x_2^2 - 0.072 x_3^2$	$y' = 0.908 x'_2{}^2 - 0.222 x'_3{}^2$	0.982	$P < 0.01$	$x'_2{}^2 > x'_3{}^2$
	涩味	$y = -1.990 + 0.050 x_2^2$	$y' = 0.982 x'_2{}^2$	0.955	$P < 0.01$	$x'_2{}^2$
G2+G3+T3	B-bitterness	$y = 40.724 + 0.005 x_1^2 + 0.004 x_3^2$	$y' = 0.781 x'_1{}^2 + 0.705 x'_3{}^2$	0.789	$P < 0.05$	$x'_1{}^2 > x'_3{}^2$
	苦味	$y = 1.576 x_1 - 0.752 x_3$	$y' = 0.892 x'_1 - 0.364 x'_3$	0.927	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_3$
	涩味	$y = 2.494 + 0.499 x_1 + 0.034 x_3^2$	$y' = 0.781 x'_1 + 0.678 x'_3{}^2$	0.885	$P < 0.05$	—
S1+G1+T1	B-bitterness	$y = 15.683 + 0.841 x_1 - 0.215 x_2 - 1.927 x_3$	$y' = 0.904 x'_1 - 0.168 x'_2 - 0.290 x'_3$	0.997	$P < 0.01$	$x'_1 > x'_3 > x'_2$
	苦味	$y = 1.678 x_1 + 2.425 x_2 + 2.587 x_3 - 27.011$	$y' = 0.762 x'_1 + 1.117 x'_2 + 0.477 x'_3$	0.957	$P < 0.05$	$x'_2 > x'_1 > x'_3$
	涩味	$y = 0.868 + 0.705 x_2 + 0.021 x_2^2$	$y' = 0.829 x'_2 + 0.201 x'_2{}^2$	0.992	$P < 0.01$	$x'_2 > x'_2{}^2$

上述方程中 y 表示叠加后苦度, x_1 表示组分 1 的苦度, x_2 表示组分 2 的苦度, x_3 表示组分 3 的苦度, y' 表示标准化的叠加后苦度, x'_1 表示组分 1 标准化的苦度, x'_2 表示组分 2 标准化的苦度, x'_3 表示组分 3 标准化的苦度。

In the above equation, y represents the bitterness after superposition, x_1 represents the bitterness of component 1, x_2 represents the bitterness of component 2, x_3 represents the bitterness of component 3, y' represents the standardized bitterness after superposition, x'_1 represents the standardized bitterness of component 1, x'_2 represents the standardized bitterness of component 2, and x'_3 represents the standardized bitterness of component 3

苦楝皮的【用法与用量】3~6 g, 外用适量。用量系指每日常用剂量, 按照一付药常规煎得 400 mL 药液, 苦楝皮最高推荐质量浓度为 15 g/L。苦楝皮味苦寒, 有毒, 但性状味为味苦, 经水煎煮后苦味较极苦类饮片弱, 故根据韦伯-费希纳定律及预实验确定苦楝皮的浓度梯度为 1.88、3.75、7.50、15、30、60 g/L, 最高质量浓度超过了药典推荐, 但是作为研究探索, 且经过口尝感知到样品的苦度后, 会将药液吐出并漱口, 药液不进入体内, 保证了人

体的安全。叠加实验煎药方法基于传统中药的实际煎药方法, 即多种饮片共煎, 本实验也采用共煎法制备水煎液, 最终制得水煎液 1 L, 与单味中药饮片水煎液保持一致, 既与实际对应也方便后续进行二元、三元叠加拟合模型的构建。

4.2 THTPM 测试结果分析讨论

THTPM 是最常用的味觉评价方法之一, 本实验通过 THTPM 进行二元、三元叠加实验 (32 组) 测试, 其中 30 组均得到最佳拟合方程 ($P < 0.05$)。

表 17 单味 DCMM 苦度 I_0 - I_e 预测模型Table 17 Single-flavor DCMM bitterness I_0 - I_e prediction model

样品	味觉信息值	预测模型	R^2
S1	B-bitterness2	$I_0=0.042\ 8\ I_e+1.154\ 9$	0.996\ 9
	苦味	$I_0=0.419\ 4\ I_e+8.826\ 6$	0.970\ 0
	涩味	$I_0=-0.481\ 1\ I_e+0.909\ 3$	0.918\ 7
S2	B-bitterness2	$I_0=0.073\ 6\ I_e+1.627\ 8$	0.854\ 9
	涩味	$I_0=0.339\ 3\ I_e+6.772\ 0$	0.988\ 0
S3	B-bitterness2	$I_0=0.034\ 7\ I_e+1.229\ 5$	0.967\ 0
	苦味	$I_0=-0.370\ 3\ I_e+1.130\ 0$	0.878\ 3
	涩味	$I_0=0.217\ 3\ I_e+4.528\ 3$	0.978\ 6
T1	B-bitterness2	$I_0=0.058\ 7\ I_e+1.426\ 9$	0.839\ 0
	苦味	$I_0=0.514\ 5\ I_e-2.037\ 9$	0.926\ 6
	涩味	$I_0=0.195\ 0\ I_e+1.809\ 5$	0.995\ 8
T2	B-bitterness2	$I_0=0.035\ 2\ I_e+0.614$	0.974\ 8
	涩味	$I_0=0.144\ 1\ I_e+2.854\ 9$	0.989\ 2
T3	B-bitterness2	$I_0=0.038\ 2\ I_e+0.982\ 5$	0.965\ 3
	苦味	$I_0=0.470\ 9\ I_e-1.871\ 7$	0.975\ 5
	涩味	$I_0=0.115\ 2\ I_e+2.263\ 9$	0.989\ 0
G1	B-bitterness2	$I_0=0.267\ 3\ I_e+2.286\ 6$	0.772\ 7
	涩味	$I_0=0.373\ 8\ I_e+7.934\ 9$	0.892\ 4
G2	B-bitterness2	$I_0=0.033\ 1\ I_e+0.194\ 2$	0.995\ 2
	苦味	$I_0=0.276\ 6\ I_e-3.624\ 8$	0.899\ 4
	涩味	$I_0=0.135\ 8\ I_e+0.981\ 8$	0.986\ 7
G3	B-bitterness2	$I_0=0.053\ 3\ I_e+0.714\ 9$	0.949\ 3
	苦味	$I_0=0.342\ 0\ I_e-0.534\ 9$	0.969\ 4
	涩味	$I_0=0.139\ 4\ I_e+2.713\ 7$	0.996\ 6

表 18 二元叠加 DCMM 苦度 I_{Z0} - I_{Ze} 预测模型Table 18 Binary superposition DCMM bitterness I_{Z0} - I_{Ze} prediction model

样品	味觉信息值	预测模型	R^2
S1+S2	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.038\ 9\ I_{Ze}+2.053\ 8$	0.945\ 7
	苦味	$I_{Z0}=-0.369\ I_{Ze}+2.176\ 7$	0.907\ 5
S1+G1	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.030\ 6\ I_{Ze}+2.119\ 7$	0.953\ 3
S3+T1	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.028\ 1\ I_{Ze}+1.988\ 1$	0.979\ 2
T1+T3	苦味	$I_{Z0}=0.475\ 9\ I_{Ze}-1.899\ 4$	0.727\ 2
T1+G1	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.103\ 4\ I_{Ze}+0.897\ 8$	0.901\ 4
	苦味	$I_{Z0}=0.335\ 6\ I_{Ze}+0.401\ 6$	0.845\ 4
	涩味	$I_{Z0}=0.145\ 9\ I_{Ze}+2.631\ 1$	0.751\ 2

二元叠加均得到有意义的拟合方程,三元叠加中,黄芩+连翘+野菊花(I_Z - $\ln C$ 、 I_Z - I)未拟合出有意义的最佳方程。14 组叠加后苦度仅与组别中某一组

表 19 三元叠加 DCMM 苦度 I_{Z0} - I_{Ze} 预测模型Table 19 Three-dimensional superposition DCMM bitterness I_{Z0} - I_{Ze} prediction model

样品	味觉信息值	预测模型	R^2
S1+S3+S2	B-bitterness2	$I_{Z0}=1.714\ 8\ \ln I_{Ze}+2.053\ 8$	0.888\ 2
	苦味	$I_{Z0}=-0.4867\ I_{Ze}+0.431\ 8$	0.837\ 6
	涩味	$I_{Z0}=0.3597\ I_{Ze}+5.562\ 7$	0.682\ 7
S2+S3+T2	苦味	$I_{Z0}=-0.212\ 5\ I_{Ze}+2.932\ 1$	0.670\ 1
T1+T3+T2	苦味	$I_{Z0}=0.396\ 3\ I_{Ze}-1.317\ 1$	0.820\ 5
	涩味	$I_{Z0}=0.169\ 6\ I_{Ze}+1.931\ 9$	0.912\ 5
T1+T3+S3	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.947\ 2\ \ln I_{Ze}-0.257\ 4$	0.689\ 6
T3+T2+G3	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.916\ 5\ \ln I_{Ze}-0.425\ 6$	0.855\ 0
	苦味	$I_{Z0}=0.481\ 4\ I_{Ze}-2.445\ 3$	0.923\ 3
	涩味	$I_{Z0}=0.183\ 9\ I_{Ze}+1.897\ 2$	0.996\ 0
G2+G3+T3	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.019\ 6\ I_{Ze}+1.100\ 8$	0.708\ 5
	苦味	$I_{Z0}=0.383\ 4\ \ln I_{Ze}+1.636\ 1$	0.724\ 6
S1+G1+T1	B-bitterness2	$I_{Z0}=0.040\ 9\ I_{Ze}+1.707\ 9$	0.824\ 3

分相关,10 组叠加后苦度与组别中所有组分均相关。从表 8~11 中标准化回归系数分析发现,同类型叠加中黄连、穿心莲、龙胆等极苦类中药对叠加后苦度的贡献度更大;不同类型同为味极苦药物的叠加中,黄连与同类别饮片、不同类别的饮片比较中,均表现出“力压众苦、唯我最苦”的呈苦特点,这与古代对黄连作为代表性苦味中药以及众多民谚中如“哑巴吃黄连,有苦说不出”“吃过黄连苦,方知蜜糖甜”“不吃黄连、不知药苦”等选择黄连作为代表的事实相吻合。萜类与糖苷类的叠加中萜类占据主导位置。

在口尝三元叠加中,黄连+黄柏+黄芩组拟合方程中出现黄连黄芩交互作用并与叠加后苦度呈负相关,可以推测是由于黄连、黄柏中生物碱类成分与黄芩中黄酮苷类成分相互作用,生成沉淀析出。其余组别未发现饮片之间因成分酸碱复合或沉淀反应出现的拮抗作用或协同作用影响叠加后苦度的情况。仅黄芩+连翘+野菊花一组未拟合出有意义的最佳方程,考虑 3 种饮片均为味苦饮片,苦味强度差异不明显,叠加后组间变异较小,难以拟合出有意义的回归方程,且本次实验浓度水平数较少,后期将增加实验浓度水平数,进一步分析规律。

4.3 电子舌传感器对中药饮片的响应规律

电子舌是采用同人舌头味觉细胞工作原理相类似的人工脂膜传感器技术,对待测样品进行识别、分析、检测,在食品的风味检测中应用居多,

课题组前期基于电子舌技术在中药苦味定量化检测方面进行了深入的研究。本实验是在课题组研究基础上利用日本 Insent 公司 TS-5000Z 型电子舌对苦味中药水煎液的叠加苦度规律进行研究。根据实验数据分析发现 B-bitterness2 (苦味回味)、涩味和苦味 3 组味觉信息对待测样品的响应值较高, 因此后续实验主要针对以上 3 组传感器的电子舌苦度值进行分析。

电子舌测定结果显示, 龙胆响应值明显低于其他饮片, 与药典中龙胆“极苦”以及口尝结果均不相符, 但整体上苦度随浓度增加而增加。经查阅文献发现^[27], 多采用龙胆粉末冷浸液进行电子舌测试, 而本实验是采用龙胆水煎液作为研究对象, 出现响应值低可能是龙胆经水煎煮后成分发生变化或者传感器对龙胆水煎液中的苦味物质响应不完全。大多数样品的各传感器味觉信息响应值都随浓度升高而升高, 而黄连与黄柏的苦味味觉信息响应值均随浓度的升高而降低, 苦参与龙胆的苦味响应值未拟合出有意义的方程, 这表明随着浓度的升高, 苦味响应值无显著的变化规律。而苦味 DCMM 的苦味味觉信息响应值测试结果较差有两种可能性, 一种是浓度梯度设置不合适, 不能使苦味响应值有较大变化, 一种是使苦味特征响应的物质经水加热煎煮后成分发生变化。

4.4 影响苦味叠加预测的因素

中药汤剂的苦味是多种成分的集中表达, 本实验对不同类型苦味中药 DCMM 采用二元、三元叠加进行相关苦度测定, 由简到繁, 初步探索苦味 DCMM 的苦度叠加规律。通过结果进行分析发现, 影响口尝苦度与电子舌苦度叠加预测的原因可能有, 一是质量浓度: 单个待测样品浓度合适, 但经叠加后溶液中苦味物质质量浓度是否已超出电子舌测定范围; 二是响应程度: 中药水煎液是十分复杂的体系, 引发电子舌的传感器响应的物质在测定过程中易受到干扰, 与人体味蕾细胞感受到的物质有差异性; 三是样品组成个数: 本实验中随着样品中含有的饮片越多, 口尝苦度和电子舌苦度相关性越差。后期需通过增加实验设计水平数 (样本测试数)、优化浓度梯度以降低实验偏差, 提高模型精确度。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 毕继才, 崔震昆, 张令文, 等. 苦味传递机制与苦味肽

研究进展 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 333-338.

[2] 崔素华, 梁枫, 张瑞, 等. 基于中药血清药理学与血清药物化学的中药药效物质基础的研究进展 [J]. 卫生职业教育, 2020, 38(1): 157-159.

[3] 梁晓光, 吴飞, 王俊杰, 等. 基于现代电子舌技术的传统苦味中药黄连的苦味物质基础研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3326-3329.

[4] Ayaz Z, Zainab B, Khan S, et al. In silico authentication of amygdalin as a potent anticancer compound in the bitter kernels of family Rosaceae [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27(9): 2444-2451.

[5] 李学林, 张耀, 陈鹏举, 等. 基于口尝评价和电子舌评价的药物苦味叠加规律研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5134-5142.

[6] 葛强. 中医临床传统合煎汤剂浓缩液的制备方法: 中国, CN110251460A [P]. 2019-09-20.

[7] 潘志强. 基于 2015 年版《中国药典》解析常用中药药性特征 [J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(11): 1846-1852.

[8] 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): 7-11.

[9] 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): 1511-1514.

[10] 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.

[11] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 96, 170, 202, 203, 268, 301, 303, 305, 314.

[12] Barragán R, Coltell O, Portolés O, et al. Bitter, sweet, salty, sour and umami taste perception decreases with age: Sex-specific analysis, modulation by genetic variants and taste-preference associations in 18 to 80 year-old subjects [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): E1539.

[13] Aslam M. Introducing Grubbs's test for detecting outliers under neutrosophic statistics - An application to medical data [J]. *J King Saud Univ - Sci*, 2020, 32(6): 2696-2700.

[14] Yoshida M, Kojima H, Uda A, et al. Bitterness-masking effects of different beverages on zopiclone and eszopiclone tablets [J]. *Chem Pharm Bull*, 2019, 67(5): 404-409.

[15] 刘瑞新, 李学林, 王青晓. 威布尔溶出曲线的 4 种非线性拟合方法比较 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(15): 1315-1316.

[16] 李潘, 仇敏, 田寅, 等. mPEG-PLLA 掩蔽黄连生物碱苦味的构-效关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(13): 3128-3135.

[17] 盖晓红, 刘素香, 任涛, 等. 黄连的化学成分及药理作

- 用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4919-4927.
- [18] 张冬梅, 李红娟, 周芹. 黄柏碱对细菌性阴道病小鼠模型的保护作用 [J]. 中草药, 2018, 49(24): 5849-5853.
- [19] Ren Z, Liu Z. Receptor, signal transduction and evolution of sweet, umami and bitter taste [J]. *Mar Life Sci Technol*, 2020, 2(2): 6-15.
- [20] Zhang X, Wu H W, Yu X K, *et al.* Determination of bitterness of *Andrographis Herba* based on electronic tongue technology and discovery of the key compounds of bitter substances [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): E3362.
- [21] 李国栋, 陈园园, 王盼, 等. 野菊花中萜类和黄酮类化合物保肝作用研究 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3510-3514.
- [22] 李岳洋. 苦楝皮化学成分的研究 [D]: 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.
- [23] 张方, 郜红利. 苦楝皮化学成分及药理作用研究进展 [J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(7): 142-143.
- [24] 李生浩, 李俊义, 武昆利, 等. 龙胆苦苷的药理作用及分子机制研究进展 [J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(1): 158-162.
- [25] 黄雪雪, 陈莉, 余丽双. 黄芩成分分析及药理作用研究进展 [J]. 贵州中医药大学学报, 2020, 42(2): 79-82.
- [26] 王婷婷, 张蕪, 杨志敏, 等. 连翘及连翘叶抑菌抗炎活性及其主要化学成分研究 [J]. 中国药物与临床, 2019, 19(14): 2380-2381.
- [27] 赵童瑶, 尹海波, 李旭, 等. 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 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(9): 1068-1073.

[责任编辑 郑礼胜]