

基于熵权法结合层次分析法和反向传播神经网络优选酒萸肉蒸制工艺

钱怡洁, 皮文霞*, 朱广飞, 彭梅梅, 徐金玲, 毛春芹, 陆兔林

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 优选酒萸肉蒸制最佳工艺。方法 基于 $L_9(3^4)$ 正交试验, 以没食子酸、5-羟甲基糠醛、莫诺苷、马钱苷、齐墩果酸、熊果酸、多糖、水溶性浸出物含量为指标, 采用熵权法结合层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP) 计算复合评分, 考察黄酒量、闷润时间、蒸制时间对酒萸肉质量的影响, 采用反向传播 (back propagation, BP) 神经网络寻求最佳工艺参数, 并进行工艺验证。结果 正交试验筛选的酒萸肉最佳蒸制工艺为黄酒量 20%, 即每 100 kg 山萸肉, 用黄酒 20 kg, 闷润 1 h, 蒸制 8 h, 正交试验最高复合评分工艺为黄酒量 20%, 闷润 4 h, 蒸制 8 h; BP 神经网络模型优化的最佳炮制工艺为黄酒量 20%, 闷润 4 h, 蒸制 7.5 h。BP 神经网络优化工艺实际复合评分最高, 为 97.007 8, 与预测值 96.358 6 较接近, 正交试验筛选的最佳工艺实际复合评分排其次, BP 神经网络优化工艺优于正交筛选工艺, 且预测结果稳定可靠。酒萸肉最佳蒸制工艺为每 100 kg 山萸肉, 用黄酒 20 kg, 闷润 4 h, 蒸制 7.5 h。结论 建立的酒萸肉炮制工艺稳定可行, 得到的炮制品质量较佳, 为酒萸肉工艺研究提供了依据。

关键词: 酒萸肉; 正交试验; 熵权法; 层次分析; BP 神经网络; 没食子酸; 5-羟甲基糠醛; 莫诺苷; 马钱苷; 齐墩果酸; 熊果酸; 多糖; 水溶性浸出物

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)22-6816-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.22.006

Optimization of processing technology of wine-steamed *Corni Fructus* based on entropy method combined with analytic hierarchy process and BP neural network

QIAN Yi-jie, PI Wen-xia, ZHU Guang-fei, PENG Mei-mei, XU Jin-ling, MAO Chun-qin, LU Tu-lin

College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** To optimize the best wine-steaming way of *Corni Fructus*. **Methods** Based on the $L_9(3^4)$ orthogonal experiment, the contents of gallic acid, 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde, morroniside, loganin, oleanolic acid, ursolic acid, polysaccharides, and water-soluble extracts were used as indicators. Entropy method combined with analytic hierarchy process (AHP) was employed to calculate the comprehensive score and investigate the influence of the amount of rice wine, moistening time, and steaming time on the quality of *Corni Fructus*, the best wine-steaming process of *Corni Fructus* was optimized by BP neural network and finally, the processing verification was carried out. **Results** The best processing method of wine-steamed *Corni Fructus* selected by orthogonal experiment was adding 20% rice wine (using 20 kg of rice wine for every 100 kg of *Corni Fructus*), moistening for 1 h until the wine was exhausted, steaming for 8 h, taking it out and drying it. The highest composite score of orthogonal experiment was adding 20% rice wine, moistening for 4 h, and steaming for 8 h. The best processing technology optimized by BP neural network model was adding 20% rice wine, moistening for 4 h, and steaming for 7.5 h. The actual composite score (97.007 8) of the BP neural network was the highest, which was close to the predicted value of 96.358 6. The actual composite score of the best process screened by the orthogonal experiment ranked second. The BP neural network optimization process was better than the orthogonal screening process and the forecast result was stable and reliable. The best processing method of wine-steamed *Corni Fructus* was using 20 kg of rice wine for every 100 kg of *Corni Fructus*, moisturizing for 4 h, and steaming for 7.5 h. **Conclusion** The established processing method

收稿日期: 2021-05-27

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1707000)

作者简介: 钱怡洁 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制及中药质量评价研究。

Tel: 18851692236 E-mail: qianyijie2019@163.com

*通信作者: 皮文霞, 硕士生导师, 副教授, 主要从事中药化学与中药质量标准研究。E-mail: 300017@njucm.edu.cn

of wine-steamed *Corni Fructus* is stable and feasible, and the quality of processed products is good, which provides a basis for the processing research of wine-steamed *Corni Fructus*.

Key words: wine-steamed *Corni Fructus*; orthogonal experiment; entropy method; analytic hierarchy process; BP neural network; gallic acid; 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde; morroniside; loganin; oleanolic acid; ursolic acid; polysaccharide; water-soluble extracts

山茱萸为山茱萸属植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉。山茱萸始载于《神农本草经》，别名“蜀枣、魅实、肉枣、枣皮”，主要化学成分包含环烯醚萜苷、三萜酸、多糖、有机酸、黄酮、鞣质、呋喃类等^[1]，属收涩补益类药。《中国药典》2020 年版收载该品种饮片包含山茱萸肉和酒茱萸肉^[2]，山茱萸肉，涩精固脱，具有较好的降糖作用；酒蒸后，滋补和保肝作用增强。临床上，多以酒制品入药，单用或与其他味药配伍使用，用于眩晕耳鸣、腰膝酸痛、阳痿遗精、遗尿尿频、崩漏带下、大汗虚脱、内热消渴。纵观酒茱萸肉饮片的炮制历史沿革、历版《中国药典》及全国各省市中药炮制规范、现代炮制研究，酒茱萸肉的工艺参数如黄酒量，闷润时间及蒸制时间并未明确，仅表明蒸至酒吸尽，炮制程度控制多依赖经验，造成市场流通的酒茱萸肉饮片质量参差不齐。目前关于酒茱萸肉炮制工艺的研究已有许多，仅以马钱苷含量、莫诺苷含量或多糖得率等单一指标评判^[3-5]具有局限性，基于中药多成分多靶点的作用特点，近年来酒茱萸肉的工艺研究是以莫诺苷、马钱苷、獐芽菜苷、山茱萸新苷 I、没食子酸、5-羟甲基糠醛（5-hydroxymethyl furfural, 5-HMF）、齐墩果酸、熊果酸、水溶性浸出物含量等多指标的不同程度结合^[6-7]，且以专家打分法的主观评判方法居多^[6,8]。实验设计以正交试验为主，也有研究采用星点设计-效应面法优选酒茱萸肉炮制工艺^[9]。本实验以水溶性浸出物含量、药理活性成分没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、齐墩果酸、熊果酸、多糖含量为指标，借助主、客观评价方法层次分析法（analytic hierarchy process, AHP）和熵权法对酒茱萸肉质量进行综合打分，能更全面评判炮制品质量。反向传播（back propagation, BP）神经网络能模拟人脑神经元对复杂的、非线性的数据进行处理，在数据预测和分类方面已取得广泛运用。据此，本实验在正交试验基础上，运用 BP 神经网络对范围内参数进行寻优，以期筛选酒茱萸肉最佳蒸制工艺。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪，Waters 2489 检

测器；蒸锅；DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱，上海精宏实验设备有限公司；KQ-500B 型超声波清洗机，昆山市超声仪器有限公司；H1650-W 型台式高速离心机，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；HANGPING FA1104N 型分析天平，上海天平仪器厂；DKZ-2 型电热恒温振荡水槽，上海精宏实验设备有限公司；HWS-24 型电热恒温水浴锅，上海一恒科学仪器有限公司；SHZ-D（III）循环水式真空泵，巩义市英峪予华仪器厂；RE-1602BV-OS2100 型旋转蒸发仪，南京科尔仪器设备有限公司；DZF-6090 型真空干燥箱，上海鳌珍仪器制造有限公司；T6 新世纪型紫外分光光度计，北京谱析通用仪器有限责任公司。

1.2 材料

对照品没食子酸（批号 C17D10C105977）、5-HMF（批号 H12M9Z61023）、齐墩果酸（批号 HA0820KA14）、熊果酸（批号 L03A6Y1），购自上海源叶生物科技有限公司；对照品莫诺苷（批号 111998-201703）、马钱苷（批号 111640-201808）购自中国食品药品检定研究院；对照品葡萄糖（批号 170515）购自南京森贝伽生物科技有限公司；各对照品质量分数均 $\geq 97.4\%$ ；乙腈和甲醇为色谱纯，分别购自德国 Merck 和永华化学股份有限公司；其余均为分析纯。山茱萸药材（批号 2005042，产地河南），来自扬子江药业集团，经南京中医药大学药学院陆兔林教授鉴定为山茱萸科山茱萸属植物山茱萸 *C. officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果实。黄酒为绍兴花雕酒，酒精度 $\geq 15.0\%$ （体积分数），浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 莫诺苷、马钱苷、没食子酸和 5-HMF 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Merck Purospher Star LP C₁₈ 柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μ m），流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液，梯度洗脱程序：0~15 min，2%~5%乙腈；15~50 min，5%~12%乙腈；50~60 min，12%~20%乙腈；体积流量 1 mL/min；柱温 30 $^{\circ}$ C；检测波长 0~12 min，220 nm；13~16 min，280 nm；30~60 min，240 nm；进样量 10 μ L；混合对照品和样品在 240 nm 波长下色谱图见图 1。

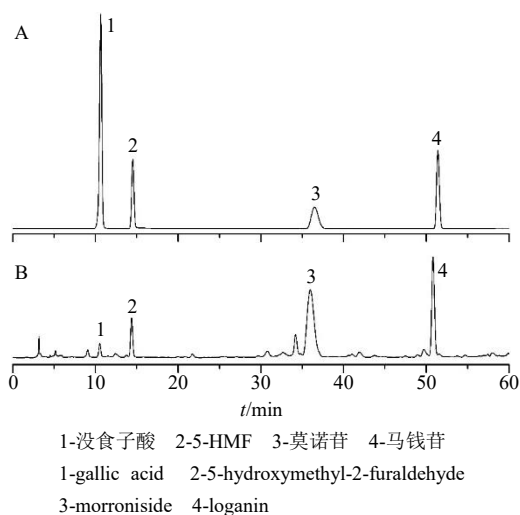


图 1 混合对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of mixed reference substances (A) and *Corni Fructus* sample (B)

2.1.2 供试品溶液制备 取粉末 0.2 g (过 50 目筛), 精密称定, 于 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加 80% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声提取 45 min, 取出放凉, 再次称定质量, 以 80% 甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 离心, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取适量对照品, 分别配制成含没食子酸 1.153 mg/mL、5-HMF 1.000 mg/mL、莫诺苷 1.068 mg/mL、马钱苷 1.180 mg/mL 的对照品储备液; 取各对照品储备液适量混匀并定容于 5 mL 量瓶, 即得分别含没食子酸 23.06 $\mu\text{g/mL}$ 、5-HMF 50.00 $\mu\text{g/mL}$ 、莫诺苷 106.80 $\mu\text{g/mL}$ 、马钱苷 118.00 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品母液。

2.1.4 线性关系考察 取“2.1.3”项混合对照品母液为最高质量浓度点, 逐级稀释, 将所得 5 个质量浓度对照品溶液, 按“2.1.1”项下方法测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 4 个成分的回归方程分别为没食子酸 $Y = 1.08 \times 10^5 X - 4.75 \times 10^4$, $r = 0.9998$; 5-HMF $Y = 1.25 \times 10^5 X - 2.29 \times 10^5$, $r = 0.9997$; 莫诺苷 $Y = 1.94 \times 10^7 X - 4.73 \times 10^4$, $r = 0.9996$; 马钱苷 $Y = 1.97 \times 10^7 X - 4.90 \times 10^4$, $r = 0.9999$; 线性范围分别为 1.44~23.06、3.13~50.00、6.68~106.80、7.38~118.00 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.1.5 精密度试验 取供试品溶液 (正交试验 5 号) 连续进样 6 次, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 记录各成分色谱峰峰面积, 没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷峰面积的 RSD 分别为 1.80%、1.41%、1.46%、1.49%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取正交试验 5 号样品, 同时制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷质量分数的 RSD 分别为 1.11%、1.13%、1.63%、0.60%, 表明方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 供试品溶液 (正交试验 5 号) 在制备后 0、2、4、8、12、18、24 h 分别测定各成分色谱峰峰面积, 没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷峰面积的 RSD 分别为 1.11%、0.79%、0.84%、0.91%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 取 6 份已测定各成分质量分数的样品 (正交试验 5 号) 粉末 0.1 g, 分别加入与样品中相同量的各对照品储备液, 按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件检测, 没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷的平均加样回收率分别为 102.1%、103.2%、97.4%、97.6%, RSD 分别为 2.2%、2.4%、2.5%、2.5%, 符合要求, 表明所建方法具有良好的准确性。

2.1.9 含量测定 按“2.1.2”项下方法制备各样品溶液, 运用上述所建立色谱条件测定各成分峰面积, 按干燥品计算 4 个成分的含量。

2.2 齐墩果酸和熊果酸含量测定

2.2.1 色谱条件^[10] 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇- [水-冰乙酸-三乙胺 (30:0.1:0.05)] (88:12), 等度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 210 nm; 进样量 20 μL ; 洗脱时间 25 min; 混合对照品和样品的色谱图见图 2。

2.2.2 供试品溶液制备 取粉末 1 g (过 50 目筛),

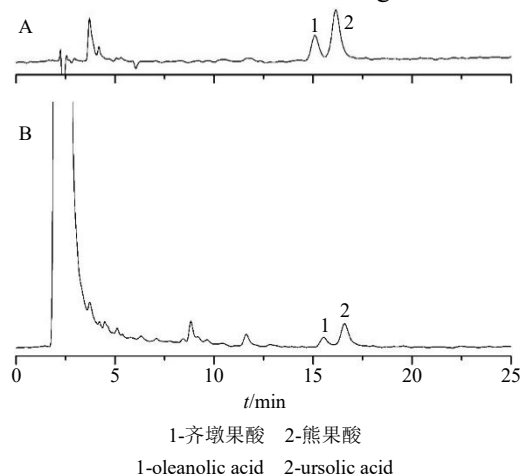


图 2 混合对照品 (A) 和样品 (B) HPLC 图

Fig. 2 HPLC spectrum of mixed reference substances (A) and *Corni Fructus* sample (B)

按“2.1.2”项下供试品溶液制备方法操作, 即得。

2.2.3 对照品溶液制备 分别精密称取熊果酸和齐墩果酸对照品适量于 10 mL 量瓶, 配置成含熊果酸 0.974 mg/mL 和齐墩果酸 0.980 mg/mL 的对照品储备液, 取适量对照品储备液配置成含齐墩果酸 58.8 μg/mL、熊果酸 155.84 μg/mL 的混合对照品母液。

2.2.4 线性关系考察 取“2.2.3”项混合对照品母液为最高质量浓度点, 逐级稀释, 将所得 5 个质量浓度对照品溶液, 按照“2.2.1”项下方法测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 回归方程分别为齐墩果酸 $Y=7\ 353.99X-1\ 739.54$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为 3.68~58.80 μg/mL; 熊果酸 $Y=2\ 774.74X-1\ 739.54$, $r=0.999\ 8$, 线性范围为 9.74~155.84 μg/mL。

2.2.5 精密度试验 取供试品溶液 (5 号) 连续进样 6 次, 得齐墩果酸和熊果酸峰面积的 RSD 值为 1.93% 和 2.14%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取 5 号样品, 同时制备 6 份供试品溶液, 按照“2.2.1”项下测定, 齐墩果酸和熊果酸质量分数的 RSD 分别为 1.64% 和 1.91%, 表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 供试品溶液 (5 号) 在制备后 0、2、4、8、12、18、24 h 分别测定各成分色谱峰峰面积, 2 成分峰面积的 RSD 分别为 1.84%、2.03%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 取 6 份已知含量的供试品 (5 号) 粉末 0.5 g, 分别加入与样品中相同量的各对照品储备液, 按“2.2.2”项下方法制备供试品, 按“2.2.1”项下色谱条件进样检测, 齐墩果酸和熊果酸的加样回收率分别为 98.8%、101.2%, RSD 均为 2.4%, 表明方法准确性良好。

2.2.9 含量测定 按“2.2.2”项下制备的各供试品, 运用“2.2.1”项下方法测定峰面积, 按干燥品计算齐墩果酸和熊果酸含量。

2.3 多糖含量测定

2.3.1 多糖提取 样品粉末 10 g, 结合文献报道的最佳工艺^[11-12], 加 10 倍量 95% 乙醇 90 °C 水浴回流 2 h, 重复 2 次, 取药渣, 挥干残留乙醇, 加 10 倍量水 80 °C 回流 2 h, 抽滤, 重复 2 次, 合并 2 次滤液, 浓缩至 20 mL, 加 95% 乙醇至乙醇体积分数 80%, 保鲜膜密闭, 冰箱中放置过夜, 抽滤, 沉淀用无水乙醇、丙酮、乙醚依次洗涤, 减压真空干燥, 除去水分, 即得。

2.3.2 葡萄糖对照品溶液制备 取干燥至恒定质量的无水葡萄糖对照品 50 mg, 溶解并定容至 50 mL 量瓶中。分别取 3.0、2.5、2.0、1.5、1.0、0.5 mL 于各量瓶中, 加水混匀, 定容至 25 mL, 得待测葡萄糖对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液制备 取 5 mg 多糖, 加水溶解并定容于 50 mL 量瓶, 即得供试品溶液。

2.3.4 线性关系考察 参照文献方法^[13], 对待测葡萄糖对照品溶液进行吸光度测定, 质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程 $Y=0.010\ 1X-0.013\ 9$, $r=0.999\ 2$, 结果表明葡萄糖在 19.92~119.52 μg/mL 有良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验 取 9 号供试品溶液, 按上述方法连续测定 6 次, 结果显示吸光度的 RSD 为 0.10%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取 9 号样品, 平行制备 6 份供试品溶液, 测定吸光度, 结果显示吸光度的 RSD 为 1.81%, 表明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取 9 号供试品溶液, 按上述方法在制备后 0、10、20、40、60、90、120 min 测定, 结果显示吸光度的 RSD 为 0.62%, 表明供试品溶液在 120 min 内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取 9 号供试品溶液 1 mL, 加入相同量的葡萄糖对照品溶液, 按上述方法测定吸光度, 结果加样回收率在 98.26%~99.42%, RSD 为 0.44%, 可见所建方法准确可靠。

2.3.9 多糖含量测定 精密量取各样品溶液, 按“2.3.3”项下方法测定多糖含量。

2.4 水溶性浸出物含量测定

按《中国药典》2020 年版^[2]通则 2201 浸出物测定法项下冷浸法测定, 按干燥品计算水溶性浸出物含量。

2.5 熵权法-AHP 计算复合评分

2.5.1 熵权法确定权重 熵权法根据各指标离散程度来衡量综合指标的影响程度, 属于客观赋权法。信息量越大, 熵越小^[14], 表明对评价的贡献越大, 权重就越大。各项指标数据经标准化、归一化 (Y_{ij}^*)、信息熵 (S_j) 计算, 最终计算得到指标权重 (W_j)^[15-16]。没食子酸、5-HMF、莫诺苷、马钱苷、齐墩果酸、熊果酸、水溶性浸出物、多糖的权重分别为 0.174、0.143、0.193、0.108、0.144、0.099、0.083、0.056。

指标标准化值=(实测值-最小值)/(最大值-最小值)

$$Y_{ij}^* = Y_{ij} / \sum_{i=1}^n Y_{ij}$$

$$S_j = -\ln(1/n) \sum_{i=1}^n Y_{ij}^* \ln Y_{ij}^* \quad (Y_{ij}^* = 0 \text{ 时}, \lim_{Y_{ij}^* \rightarrow 0} Y_{ij}^* \ln Y_{ij}^* = 0)$$

$$W_j = (1 - S_j) / (k - \sum S_j) \quad (k \text{ 为指标个数})$$

2.5.2 AHP 确定权重 层次分析法根据指标间的重要程度按一定标度构建条理分明的层次关系,并据此求得指标赋权值^[14],属于主观赋权法。根据文献研究,将各指标进行重要性排序,建立的层次顺序为莫诺昔=马钱苷>齐墩果酸=熊果酸=多糖=浸出物>没食子酸>5-HMF,采用和积法^[17-18]计算得到没食子酸、5-HMF、莫诺昔、马钱苷、齐墩果酸、熊果酸、水溶性浸出物、多糖的权重分别是 0.078 9、0.026 3、0.184 2、0.184 2、0.131 6、0.131 6、0.131 6、0.131 6。一致性比值(CR)为 0 (<0.1),表明矩阵合理有效,权重系数可靠^[17],CR 越大,表明矩阵一致性越差,CR 为 0 表明矩阵具有完全一致性。

$$r_j = 1/n \sum_{p=1}^n (a_{jp} / \sum_{k=1}^n a_{kp})$$

a_{jp} 为判断矩阵中因素 j 与因素 p 的重要性之比, $a_{jp} / \sum_{k=1}^n a_{kp}$

为矩阵各列的归一化值

2.5.3 熵权法-AHP 计算复合评分

(1) 熵权法-AHP 权重系数确定: 熵值表现了指标的离散程度,离散程度大的指标具有较大的权重,因而仅凭借熵权法赋权可能使重要指标因离散程度小而权重较小; AHP 法能够体现专家对不同指标重要性的经验,熵值法可以反映指标的信息特征,两者结合不仅可以减少 AHP 法赋权的主观性,也可减少数据变化导致的权重波动。按下式计算熵权法-AHP 复合权重^[16], w_j 和 r_j 分别为熵权法及 AHP 法所得权重系数。没食子酸、5-HMF、莫诺昔、马钱苷、齐墩果酸、熊果酸、水溶性浸出物、多糖的复合权重分别为 0.11、0.03、0.29、0.16、0.15、0.11、0.09、0.06。

$$F_j^* = r_j w_j / \sum_{j=1}^n r_j w_j$$

(2) 复合评分计算: 按下式计算熵权法-AHP 复合评分(Z)^[16]。

$$Z = 0.11 \times 100 \times (\text{没食子酸含量} / \text{没食子酸含量最大值}) + 0.03 \times 100 \times (\text{5-HMF 含量} / \text{5-HMF 含量最大值}) + 0.29 \times 100 \times (\text{莫诺昔含量} / \text{莫诺昔含量最大值}) + 0.16 \times 100 \times (\text{马钱苷含量} /$$

$$\text{马钱苷最大值}) + 0.15 \times 100 \times (\text{齐墩果酸} / \text{齐墩果酸含量最大值}) + 0.11 \times 100 \times (\text{熊果酸} / \text{熊果酸含量最大值}) + 0.09 \times 100 \times (\text{浸出物含量} / \text{浸出物含量最大值}) + 0.06 \times 100 \times (\text{多糖含量} / \text{多糖含量最大值})$$

2.5.4 熵权法-AHP 的可行性验证 将熵权法、AHP 2 种评分方法的指标赋权值导入 SPSS 24.0 软件进行 Pearson 相关性分析,熵权法和 AHP 权重的相关性系数为-0.1,表明采取熵权法和 AHP 计算综合评分的方法不具有相似性;将 2 种方法所得权重系数计算各自的综合评分,并将其按从大到小顺序排序,再进行 Speraman 等级相关性分析,结果显示熵权法和 AHP 呈极显著正相关,相关系数为 0.850, P 值 0.004,表明 2 种方法可以相互借鉴,所得结果大体一致。

综上所述,熵权法-AHP 运用于酒茺肉综合质量评价具有良好的可行性。

2.6 正交试验设计及复合评分结果分析

取同一批次山茺肉饮片 9 份,每份 60 g,按表 1 试验设计,加入黄酒拌匀,保鲜膜密闭闷润,置容器内,于蒸锅内蒸制,取出稍晾,于 60 °C 干燥,干燥时注意多翻动,取出,放凉,即得。依据《中国药典》2020 年版蒸法的辅料用量要求,将黄酒量定为 20%、25%、30%。基于文献和预实验,闷润 2 h 可基本至透,故设置 1、2、4 h,蒸制时间的最佳范围为 4~8 h,蒸制时间定为 4、6、8 h。酒茺肉的项指标含量见表 2,综合评分结果见表 3,方差分析结果见表 4。

方差结果显示,仅熵权法的综合评分存在显著差异,AHP 所得各因素对综合评分无显著性差异。各因素对熵权法-AHP 复合评分的影响顺序为蒸制时间>黄酒量>闷润时间,最佳工艺 A₁B₁C₃,即每 100 kg 山茺肉,用黄酒 20 kg,闷润 1 h,蒸制 8 h。

2.7 BP 神经网络建模及工艺优化^[19]

借助 Matlab 2021a 软件建立反向传播(BP)神经网络模型。输入层为黄酒用量、闷润时间及蒸制

表 1 正交试验设计因素水平
Table 1 Orthogonal factor level

水平	因素		
	黄酒量 (A)/%	闷润时间 (B)/h	蒸制时间 (C)/h
1	20	1	4
2	25	2	6
3	30	4	8

表 2 酒萸肉饮片指标结果

Table 2 Results of indexes of decoction pieces of wine-steamed *Corni Fructus*

试验号	质量分数/%								外观性状
	没食子酸	5-HMF	莫诺苷	马钱苷	齐墩果酸	熊果酸	多糖	浸出物	
1	0.142	0.293	1.081	0.623	0.053	0.160	47.760	67.006	黑色, 有光泽, 微有酒香气
2	0.159	0.314	1.114	0.688	0.047	0.143	55.291	66.017	黑色, 有光泽, 微有酒香气
3	0.194	0.642	1.123	0.640	0.054	0.179	50.892	63.671	黑色, 有光泽, 微有酒香气
4	0.163	0.450	1.102	0.634	0.050	0.145	53.482	66.865	黑色, 有光泽, 微有酒香气
5	0.175	0.498	1.087	0.574	0.051	0.168	47.074	66.859	黑色, 有光泽, 微有酒香气
6	0.137	0.265	1.155	0.687	0.043	0.129	48.658	67.564	黑色, 有光泽, 微有酒香气
7	0.205	0.553	1.127	0.668	0.045	0.142	47.152	65.547	黑色, 有光泽, 微有酒香气
8	0.128	0.165	1.160	0.611	0.053	0.162	47.818	66.935	黑色, 有光泽, 微有酒香气
9	0.157	0.377	1.097	0.656	0.041	0.102	49.668	66.508	黑色, 有光泽, 微有酒香气

表 3 熵权-AHP 复合评分的正交结果

Table 3 Orthogonal result of entropy method-AHP composite score

分析方法	试验号	A	B	C	D	熵权法综合评分	AHP 综合评分	熵权-AHP 复合评分
熵权法综合评分	1	1	1	1	1	82.62	89.82	89.37
	2	1	2	2	2	83.99	91.47	90.45
	3	1	3	3	3	96.77	95.91	96.37
	4	2	1	2	3	87.19	91.25	90.75
	5	2	2	3	1	89.03	90.51	90.79
	6	2	3	1	2	79.56	87.95	87.76
	7	3	1	3	2	91.82	91.51	92.59
	8	3	2	1	3	79.86	89.85	89.82
	9	3	3	2	1	80.27	85.01	85.03
熵权法综合评分	K ₁	263.38	261.63	242.04	251.92			
	K ₂	255.78	252.88	251.45	255.37			
	K ₃	251.95	256.60	277.62	263.82			
	R	11.43	8.75	35.58	11.90			
AHP 综合评分	K ₁	277.20	272.58	267.62	265.34			
	K ₂	269.71	271.83	267.73	270.93			
	K ₃	266.37	268.87	277.93	277.01			
	R	10.83	3.71	10.31	11.67			
熵权-AHP 复合评分	K ₁	276.19	272.71	266.95	265.19			
	K ₂	269.30	271.06	266.23	270.80			
	K ₃	267.44	269.16	279.75	276.94			
	R	8.75	3.55	13.52	11.75			

时间, 输出层为熵权-AHP 复合评分, 隐藏层节点为 4, 训练函数、学习函数、激活函数均为默认创建网络。将 9 组正交试验数据以留一交叉法进行训练, 再将 9 组数据作为训练集和验证集, 通过误差值对模型进行评估, 9 组数据预测的绝对误差均 ≤ 0.6286 , 表明模型具有较好的精度。由图 3-A 可知, 样本迭

代到第 1 步, 达到最好的网络验证性能, 均方误差值为 0.054 085。将 9 组数据实测值与预测值进行比较 (图 3-B), 表明所建立的模型稳定可靠。

再以 9 组数据作为训练集, 在上述建模条件对复合评分进行预测。在正交试验参数基础上, 设置黄酒用量为 20%~30% (步长 2.5%), 闷润时间 1~

表 4 方差分析
Table 4 Variance analysis

分析方法	方差来源	离差平方和	自由度	F 值
熵权法综合评分	A	22.563 8	2	1.120 5
	B	12.855 8	2	0.638 4
	C	226.954 8	2	11.252 8
	D	24.990 6	2	1.241 0
	A+B+D (误差)	60.410 1	6	
AHP 综合评分	A	20.505 0	2	1.343 7
	B	2.565 4	2	0.168 1
	C	23.372 0	2	1.531 5
	D	22.711 5	2	1.488 2
	A+B+D (误差)	45.781 8	6	
熵权-AHP 复合评分	A	14.166 0	2	1.081 5
	B	2.103 9	2	0.160 6
	C	38.572 1	2	2.944 7
	D	23.026 0	2	1.757 9
	A+B+D (误差)	39.295 9	6	

4 h (步长 0.5 h), 蒸制时间 4~8 h (步长 0.5 h), 通过所建立的模型计算复合评分, 预测评分结果见表 5。随黄酒用量增加, 复合评分总体下降, 20%黄酒评分最高; 当黄酒用量适宜 (20%~25%), 复合评分随闷润时间延长而升高, 用量 27.5%~30%, 随着闷润时间延长, 复合评分有下降趋势; 提示黄酒用量不宜过多、闷润时间不宜太久。随着蒸制时间延长, 少于 25%的黄酒量有利于复合评分的提高, 27.5%~30%黄酒量对复合评分为不利因素。酒茺肉的最佳工艺为 20%, 闷润 4 h, 蒸制 7.5 h。

表 5 BP 神经网络预测评分

Table 5 Prediction score of BP neural network

试验号	黄酒用量/%	闷润时间/h	蒸制时间/h	预测评分	试验号	黄酒用量/%	闷润时间/h	蒸制时间/h	预测评分	试验号	黄酒用量/%	闷润时间/h	蒸制时间/h	预测评分
1	20	1	4.0	89.595 6	55	20	4	4.0	90.335 5	307	30	4	4.0	86.851 0
2	20	1	4.5	89.576 5	56	20	4	4.5	90.129 6	308	30	4	4.5	86.259 5
3	20	1	5.0	89.595 9	57	20	4	5.0	90.041 2	309	30	4	5.0	85.558 9
4	20	1	5.5	89.640 6	58	20	4	5.5	90.311 9	310	30	4	5.5	85.085 5
5	20	1	6.0	89.708 0	59	20	4	6.0	90.969 6	311	30	4	6.0	85.034 0
6	20	1	6.5	89.799 9	60	20	4	6.5	91.978 4	312	30	4	6.5	85.408 0
7	20	1	7.0	89.919 5	61	20	4	7.0	93.299 8	313	30	4	7.0	86.181 6
8	20	1	7.5	90.069 2	62	20	4	7.5	96.358 6	314	30	4	7.5	87.325 5
9	20	1	8.0	90.249 0	63	20	4	8.0	94.828 2	315	30	4	8.0	88.732 7
...					...									

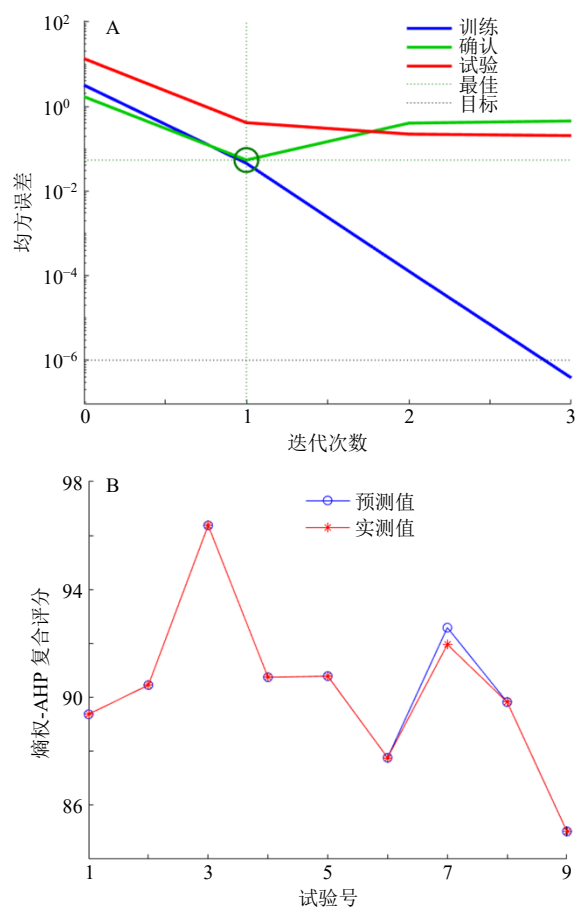


图 3 BP 神经网络可靠性验证

Fig. 3 Reliability verification of BP neural network

2.8 工艺验证

分别以 BP 神经网络筛选的最佳工艺、正交试验筛选的最佳工艺 ($A_1B_1C_3$) 及最高复合评分工艺 ($A_1B_3C_3$), 炮制 3 批次饮片, 各项指标结果见表 6。BP 神经网络优化工艺复合评分最高, 正交试验所得

表 6 工艺验证结果
Table 6 Verification results of processing

分组	质量分数/%								复合评分均值
	没食子酸	5-HMF	莫诺昔	马钱苷	齐墩果酸	熊果酸	多糖	浸出物	
正交最佳工艺	0.212	0.627	1.181	0.935	0.047	0.147	49.483	65.551	95.962 5
	0.204	0.624	1.173	0.930	0.045	0.139	50.661	65.925	
	0.202	0.616	1.170	0.929	0.046	0.139	48.356	65.728	
正交最高评分	0.200	0.593	1.218	0.882	0.042	0.142	47.304	65.744	93.421 1
	0.200	0.592	1.218	0.881	0.042	0.144	46.038	62.620	
	0.200	0.591	1.224	0.885	0.043	0.140	47.011	64.337	
BP 最佳工艺	0.207	0.533	1.205	0.945	0.046	0.149	55.365	67.018	97.007 8
	0.206	0.529	1.204	0.944	0.045	0.152	56.129	66.559	
	0.206	0.526	1.206	0.945	0.043	0.156	54.234	66.727	

最佳工艺排其次,实际值和预测值误差 $A_1B_1C_3 > BP$ 神经网络 $> A_1B_3C_3$,BP 神经网络实际及预测评分均为最高,表明 BP 神经网络预测结果良好。

3 讨论

3.1 色谱分析方法的确立

本研究采用乙腈-磷酸水体系对莫诺昔、马钱苷等 4 个成分进行分离,而五环三萜类化合物熊果酸、齐墩果酸为同分异构体,且极性较小,为分离带来困难,有研究^[20]通过在该体系加入环糊精增加其亲水性使其成功分离。为了达到更好的分离效果,考虑使用与莫诺昔、马钱苷等 4 个成分不同的流动相体系,同时在体系中加入铵盐,其较磷酸盐更能稳定流动相 pH,使保留时间缩短,拖尾得到改善,且较低的柱温有利于二者分离^[21]。

3.2 综合评分方法及指标的确立

用于工艺研究的综合评分方法有层次分析法、G1 法、熵权法、主成分分析法等,其中,前两者属于主观评价法,后两者属于客观评价法,有研究采用组合评价方法筛选最佳工艺^[16,22],该思路在酒萸肉炮制工艺研究鲜有报道。

环烯醚萜苷类成分为山茱萸最主要化学成分且已纳入药典标准,活性成分齐墩果酸和熊果酸、多糖、没食子酸具有多种药理活性^[23],5-HMF 对急性肝损伤有保护作用但具有毒副作用^[24-25],因而将 5-HMF 作为一项评价指标,但在层次分析中给予最低赋权。山茱萸中多种成分均可协同发挥药理活性,莫诺昔能够保护高糖诱导的糖尿病心肌病的心肌细胞^[26],其与马钱苷可协同抑制糖尿病肾脏的代谢紊乱、氧化应激、炎症和 AGE 形成^[27];莫诺昔与马钱苷、熊果酸均具有较好的降糖作用,马钱苷和熊果

酸具有协同降血糖作用^[28]。因此,基于多成分、多指标的质量评价对酒萸肉工艺优选具有重要意义。本研究同时引进外观性状的描述,作为饮片质量评价的重要依据,将成分与外观性状结合,为酒萸肉的质量评价提供较全面的参考依据。

3.3 山茱萸酒蒸炮制工艺参数确立

本实验基于《中国药典》2020 年版项下“酒蒸法”对酒萸肉工艺进行考察,黄酒用量范围定为 20%~30%。闷润时间基于文献和企业要求,在 2 h 上下设置水平,定为 1、2、4 h。预实验结果显示,黄酒用量 20%,闷润 2 h,单因素考察不同的蒸制时间对主要成分马钱苷和莫诺昔总含量影响时,蒸制 2、4、6、8、10 h 总含量呈现先升高后降低趋势,蒸制的最佳时间为 4 h。现代文献中蒸制时间的最佳范围为 4~8 h^[4,29-30],结合企业中试的蒸制时间,将蒸制时间定为 4、6、8 h。单因素考察干燥条件时,干燥温度 40 °C 时干燥效率较低,干燥时间 12 h,不符合生产实际,而 50 °C 干燥 6 h 或 60 °C 干燥 5 h 可以得到符合规定的酒萸肉饮片,且对主要成分环烯醚萜苷莫诺昔、马钱苷总量无显著影响,最终选择 60 °C 干燥 5 h。本实验考虑闷润次数及蒸制次数为一次,通过考察不同的闷润时间使黄酒易于吸尽。随着黄酒用量、闷润时间增加,药物吸收黄酒趋于饱和。

3.4 BP 神经网络的运用

反向传播神经网络模拟人脑对数据的处理,筛选和优化因素间非线性的复杂关系,通过已知数据的学习训练,建立 BP 神经网络模型以期预测最佳工艺,相比正交试验代表性取样,其可以模拟范围内所有因素条件,所得结果更加全面。在正交试验

基础上优化了最佳工艺,在时间和物力都充足的情况下,可得到质量较佳的酒茱肉,但生产周期延长,而正交试验筛选的最佳工艺可在较短的时间得到质量较好的炮制品,生产效率提高。运用正交设计结合 BP 神经网络筛选了 2 种最佳的炮制工艺。该方法为酒茱肉工艺优选提供了研究思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 相聪坤. 山茱萸资源及活性成分研究进展 [J]. 河北医药, 2016, 38(12): 1886-1889.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 29.
- [3] 余宗亮, 蔡宝昌, 丁霞. 正交试验优选山茱萸炮制工艺 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(2): 135-137.
- [4] 刘波, 江崇湖, 朱冬梅. 酒蒸山茱萸肉炮制工艺的研究 [J]. 山东中医杂志, 2007, 26(9): 634-635.
- [5] 张振凌, 王磊, 杨振祥. 正交设计优选酒炖山茱萸肉炮制工艺 [J]. 中国现代中药, 2007, 9(5): 13-15.
- [6] 李清正, 张振凌, 闫梦真, 等. 酒茱肉饮片加工炮制一体化工艺 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(6): 817-822.
- [7] 段金芳, 肖洋, 刘影, 等. 一测多评法与电子眼和电子舌技术相结合优化山茱萸蒸制时间 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1108-1116.
- [8] 鞠成国, 高陆, 姜文月, 等. 多指标综合加权评分法优选酒茱肉蒸制工艺 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2387-2390.
- [9] 鞠成国, 高陆, 姜文月, 等. 星点设计-效应面法优选酒茱肉蒸制工艺 [J]. 化学工程师, 2019, 33(2): 13-17.
- [10] 许甜甜, 聂松柳, 沈炳香, 等. 正交试验优选加压酒制山茱萸炮制工艺 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2339-2343.
- [11] 张茜, 杨彬, 何华康, 等. 山茱萸多糖提取工艺的研究 [J]. 长治医学院学报, 2018, 32(3): 169-171.
- [12] 赵惠茹, 张小娟. 山茱萸多糖提取工艺和含量测定方法的研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(10): 2396-2398.
- [13] 梁小娟, 杜伟锋, 蔡宝昌, 等. 山茱萸炮制前后多糖的含量变化研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(5): 460-462.
- [14] 冯利梅, 陈艳琰, 乐世俊, 等. 基于层次分析-熵权法的中药质量标志物量化辨识方法研究——以芍药甘草汤为例 [J]. 药学学报, 2021, 56(1): 296-305.
- [15] 张景珍, 崔曰新, 王思雨, 等. 基于熵权法对千金子-甘草不同配伍比例的化学成分变化及体外肝毒性研究 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(3): 433-440.
- [16] 于亚田, 王智群, 冯建安, 等. 基于 Box-Behnken 及 PCA-G1-熵权法优选青香乳康颗粒中挥发油的提取及包合工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3631-3636.
- [17] 刘杭. 层次分析中的两种近似计算方法 [J]. 南京邮电学院学报, 1987, 7(4): 135-139.
- [18] 邓雪, 李家铭, 曾浩健, 等. 层次分析法权重计算方法分析及其应用研究 [J]. 数学的实践与认识, 2012, 42(7): 93-100.
- [19] 易丽娟, 李雅, 邹苏兰, 等. 基于正交试验设计与 BP 神经网络优化益气活血方水提工艺研究 [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4305-4312.
- [20] 韩根利, 刘宏胜, 王树森, 等. RP-HPLC 法同时测定山茱萸萜类制剂中莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷、齐墩果酸及熊果酸 [J]. 中草药, 2017, 48(24): 5168-5173.
- [21] 周先明, 吕美红. 高效液相色谱法测定中草药中齐墩果酸 熊果酸含量的应用进展 [J]. 安徽医学, 2011, 32(11): 1950-1952.
- [22] 刘畅, 王潇, 刘芳, 等. 基于多指标质量差异关键属性优化厚朴产地加工“发汗”工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 677-684.
- [23] Huang J, Zhang Y W, Dong L, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 213: 280-301.
- [24] Wang M Y, Zhao F M, Peng H Y, et al. Investigation on the morphological protective effect of 5-hydroxymethylfurfural extracted from wine-processed *Fructus Corni* on human L02 hepatocytes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(2): 424-428.
- [25] Choudhary A, Kumar V, Kumar S, et al. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) formation, occurrence and potential health concerns: Recent developments [J]. *Toxin Rev*, 2020: 1-17.
- [26] Pi W X, Feng X P, Ye L H, et al. Combination of morroniside and diosgenin prevents high glucose-induced cardiomyocytes apoptosis [J]. *Molecules*, 2017, 22(1): 163-173.
- [27] Yokozawa T, Kang K S, Park C H, et al. Bioactive constituents of *Corni Fructus*: The therapeutic use of morroniside, loganin, and 7-O-galloyl-D-sedoheptulose as renoprotective agents in type 2 diabetes [J]. *Drug Discov Ther*, 2010, 4(4): 223-234.
- [28] He K, Song S, Zou Z, et al. The hypoglycemic and synergistic effect of loganin, morroniside, and ursolic acid isolated from the fruits of *Cornus officinalis* [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(2): 283-291.
- [29] 鞠成国, 高陆, 姜文月, 等. 多指标综合加权评分法优选酒茱肉蒸制工艺 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2387-2390.
- [30] 宋艺君, 王志彦, 李积秀, 等. 总评归一化法优选山茱萸酒蒸炮制工艺 [J]. 中药材, 2018, 41(2): 325-329.

[责任编辑 郑礼胜]