

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.10.09

基于 AHP - CRITIC 法的正交设计优选贞芪颗粒提取工艺及促生长作用初步研究

汪柱勇¹, 杨新², 周意², 闵真立^{1*}, 张子健¹, 陈亚军¹,
李亚威², 杨楚虹², 刘洁², 李硕^{2*}

(1. 武汉科技大学医学院, 湖北武汉 430070; 2. 武汉回盛生物科技股份有限公司, 湖北省兽药工程技术研究中心, 湖北武汉 430040)

[收稿日期] 2021-02-26 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 10-0054-10 [中图分类号] S859.79

[摘要] 开发一种具有促生长作用的新中兽药贞芪颗粒, 优化其提取工艺并对其促生猪生长作用进行初步研究, 为工业化生产提供参考。以总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷、干膏得率作为评价指标, 采用层次分析法(AHP)、基于指标相关性的权重确定方法(CRITIC)、AHP - CRITIC 混合加权法确定各评价指标的权重系数, 根据其正交试验结果优化贞芪颗粒提取工艺参数。将 100 头保育猪随机分为 5 组, 通过在日粮中添加不同剂量的颗粒, 连续喂养 30 d, 与空白组和阳性对照组对比, 计算平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)和料肉比(F:G)。AHP - CRITIC 混合加权法科学优选出最佳提取工艺参数为复方药材加 12 ~ 13 倍质量的水提取 3 次(第一次 13 倍), 每次 2.5 h。3 批验证试验综合评分均值为 98.91, RSD 为 0.79%。经过 30 d 饲喂, 高、中、低剂量组和阳性对照组的料重比无显著性差异($P > 0.05$), 但都显著低于空白对照组($P < 0.05$), 其中中剂量组的料重比最低。AHP - CRITIC 混合加权法确定的权重系数客观、真实, 优选出的贞芪颗粒提取工艺经验证, 合理、稳定, 重复性好, 此工艺条件下制备的颗粒对生猪具有促进生长的作用。

[关键词] 贞芪颗粒; AHP - CRITIC 混合加权法; 正交试验; 提取工艺; 促生长

Studies on Optimization of Extraction Process and Preliminary Growth - promoting Activities of Zhenqi Granules by Orthogonal Design Based on AHP - CRITIC Analysis

WANG Zhu - yong¹, YANG Xin², ZHOU Yi², MIN Zhen - li^{1*}, ZHANG Zi - jian¹,
CHEN Ya - jun¹, LI Ya - wei², YANG Chu - hong², LIU Jie², LI Shuo^{2*}

(1. Medical College, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430070, China;

2. Wuhan HVSEN Biotech Co., Ltd, Hubei Province Veterinary Drug Engineering Technology Research Center, Wuhan 430040, China)

Corresponding author: MIN Zhen - li, E - mail: minzhenli@wust.edu.cn; LI Shuo, E - mail: reallishuo@163.com

基金项目: 国家重点研发计划, 政府间国际科技创新合作重点专项(2018YFE0101600)

作者简介: 汪柱勇, 硕士研究生, 主要从事药物研发方向研究。

通讯作者: 闵真立, E - mail: minzhenli@wust.edu.cn; 李硕, E - mail: reallishuo@163.com

Abstract: To develop a new Chinese veterinary drug Zhenqi granules with growth - promoting effect, the optimizing of extraction process and preliminary evaluation of the growth - promoting activities of Zhenqi granules were conducted, providing reference for its industrial production. The extraction parameters of Zhenqi granules were optimized according to the orthogonal tests where the total amounts of polysaccharides, astragaloside IV, calycosin - 7 - O - β - D - glucoside, specnuezhenide, salidroside and the yield of dry paste were used as comprehensive evaluation indicators and their respective weighting coefficients were determined by analytic hierarchy process (AHP), criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC) method and mixed weighted AHP - CRITIC. Then, 100 nursery pigs were randomly divided into 5 groups, which were fed continuously for 30 days by adding different doses of granules to the dietary supplementation. Finally, the average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI) and feed to gain ratio (F:G) compared with blank group and positive control group were calculated. The best extraction parameters were optimized by mixed weighted AHP - CRITIC method as following: the compound medicinal materials were extracted qualitatively with 12 - 13 times of water for thrice (13 times at first), and each turn for 2.5 h. The mean comprehensive score of the three batches of validation tests was 98.91, and the RSD was 0.79%. After feeding for 30 days, no significant difference in the F:G between the high, middle and low dose groups and the positive control group ($P > 0.05$), but they were all significantly lower than the blank control group ($P < 0.05$), and the F:G of the middle dose group was the lowest. The weight coefficient determined by AHP - CRITIC is objective and true, and the optimized extraction parameters of Zhenqi granules have been verified to be reasonable, stable and reproducible. The granules produced under the optimized conditions can promote the growth of pigs, which can be used in industrial production.

Key words: Zhenqi granules; mixed weighted AHP - CRITIC; orthogonal test; extraction process; promote growth

实践证明,许多具有免疫增强作用的单味中药或复方制剂在增强免疫的同时还具有促生长的作用^[1-3],这类药物在畜牧养殖中具有广阔的前景。促生长饲料添加剂兼具营养和药用功能,在增强营养物质的吸收利用、增强机体免疫力、抗菌和改善肠道微生态等方面有明显作用。研究发现,在饲料中添加黄芪或女贞子或其提取物能够通过降低料重比、增加日增重、提高饲料转化率以及增强免疫功能等来改善禽畜的生长性能,从而直接或间接地对禽畜的生长起到促进作用^[4-8]。因此,拟以贞芪扶正颗粒为依托,开发一种具有促生长作用的新中兽药复方制剂——贞芪颗粒。

贞芪扶正颗粒目前收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第二十册^[9]。该复方制剂由黄芪、女

贞子两味中药组成,本研究将总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷、干膏得率作为评价指标,采用层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)、基于指标相关性的权重确定方法(criteria importance through intercriteria correlation, CRITIC)及 AHP - CRITIC 混合加权法对正交实验结果进行综合评定,并根据评定结果筛选最佳权重系数,进而采用 SPSS 26.0 软件对最佳权重系数所评估分数进行分析,确定贞芪颗粒的最佳提取工艺参数,并对该参数条件下的提取物进行初步的促生猪生长作用评价,旨在为贞芪颗粒的后续研究开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器设备 安捷伦 Agilent - 1260 高效液相

色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;ELSD 6000 蒸发光散射检测器,美国格雷斯奥泰公司;UV - 3200 型紫外可见光分光计,上海美谱达仪器有限公司;SPQ 型电子分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司;ME204 型电子分析天平,梅特勒托利多仪器有限公司;DHG - 9140A 型恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;KQ5200B 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;DFY - X300 型高效多功能粉碎机,温州顶立医疗器械有限公司。

1.2 试剂 对照品 *D* - 无水葡萄糖(批号 110833 - 201907,质量分数 99.90%)、黄芪甲苷(批号 110781 - 201717,质量分数 96.90%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920 - 201907,质量分数 96.80%)、特女贞苷(批号 111926 - 201906,质量分数 95.00%)、红景天苷(批号 110818 - 202009,质量分数 98.80%)均购于中国食品药品检定研究院;黄芪、女贞子购于九州通医药集团有限公司,经鉴定均符合 2015 年版《中华人民共和国药典》相关项下规定;五味健脾颗粒,生产单位:保定冀中药业有限公司;乙腈、甲醇为色谱纯;水为自制超纯水;其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物分组及处理 100 头生长健康的保育猪,公母各半,品种:杜长大三元杂交猪,日龄:80 d 左右,体重:42 kg 左右,随机分为高剂量组、中剂量组、低剂量组、空白组和阳性药品对照组(五味健脾颗粒),每组 20 头。猪舍为半开放式结构,双列式配置,按常规程序驱虫和免疫,专人管理,采用自动饲槽和自动饮水器,自由饮水与采食,采用双轴流风机保持猪舍温度在 22 ℃ ~ 28 ℃ 之间,湿度在 68% ~ 72% 之间。基础日粮为玉米 - 豆粕型日粮,日粮组成及营养水平见表 1。空白组饲喂基础日粮,剂量组为基础日粮混拌本品颗粒,高剂量组为 2 kg 本品拌料 1 吨、中剂量组为 1 kg 本品拌料 1 吨、低剂量组为 500 g 本品拌料 1 吨,阳性药品对照组按说明书添加,预饲养 7 d,正式期 30 d。试验地点:湖北省潜江市某猪场。

表 1 基础日粮组成及营养水平

Tab 1 Composition and nutrient levels of basic diet

日粮组成	含量/%	主要营养指标	总含量
玉米	63	消化能(MJ/kg)	12.57
豆粕	18	粗蛋白(%)	14.84
麦麸	5	粗纤维(%)	2.92
米糠	9	钙(%)	0.82
预混料	5	总磷(%)	0.77
		赖氨酸(%)	0.71
		蛋氨酸 + 胱氨酸(%)	0.54

1.4 药材吸液率考察 按照处方量称取黄芪、女贞子置于 3000 mL 烧杯中,加入 1000 mL 水,测定药材全部润透时的吸液率,结果测得药材的吸液率为 92.24%,因此,第一次提取多加 1 倍溶剂。

1.5 对照品溶液的制备 称取 *D* - 无水葡萄糖适量,加纯化水制成浓度为 0.3 mg/mL 的无水葡萄糖对照品溶液;分别称取黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、红景天苷对照品适量,加甲醇制成浓度分别为 0.5 mg/mL、0.5 mg/mL、0.2 mg/mL 的各对照品溶液;称取特女贞苷对照品适量,加 50% 甲醇溶液制成浓度为 0.25 mg/mL 的特女贞苷对照品溶液;用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

1.6 供试品溶液的制备 称取处方量药材 9 份,分别按正交表所列参数提取,滤过,合并滤液,加水定容至 3000 mL,备用。

1.7 阴性样品溶液的制备 分别称取缺黄芪、女贞子的阴性处方量药材 2 份,加 13 倍质量的水煎煮 1 次,滤过,滤渣再加 12 倍质量的水煎煮,每次 2 h,滤过,合并滤液,加水定容至 3000 mL 容量瓶中,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

1.8 色谱条件

1.8.1 黄芪甲苷色谱条件 Inerstil ODS - 3 C18 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相为乙腈 - 水(35:65);体积流量 1 mL/min;柱温 30 ℃;检测器:ELSD 检测器;漂移管温度:109 ℃;蒸发器气体

体积流量:2.9 L/min;进样量:20 μL (对照品进样量分别为 10、20 μL)。

1.8.2 毛蕊异黄酮葡萄糖苷色谱条件 Inerstil ODS-3 C18 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm);流动相为乙腈-0.2% 甲酸溶液;梯度洗脱:0~20 min,20%~40% 乙腈;20~30 min,40% 乙腈;体积流量 1 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;检测器:DAD 检测器;检测波长:260 nm;进样量:10 μL 。

1.8.3 特女贞苷色谱条件 Inerstil ODS-3 C18 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm);流动相为水-乙腈;梯度洗脱:0~50 min,5%~50% 乙腈;50~60 min,50%~75% 乙腈;60~63 min,75%~5% 乙腈;体积流量:1 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;检测器:DAD 检测器;检测波长:224 nm;进样量:20 μL 。

1.8.4 红景天苷色谱条件 Inerstil ODS-3 C18 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm);流动相为乙腈-水(6:94),体积流量:1 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;检测器:DAD 检测器;检测波长:275 nm;进样量:20 μL 。

1.9 测定方法

1.9.1 总多糖含量测定 精密量取“1.6”项下药液 75 mL,蒸干,加纯化水定容至 25 mL 量瓶中,精密量取 2 mL 置 25 mL 量瓶中,加纯化水稀释至刻度,摇匀,再精密量取 1 mL 置 50 mL 中,加纯化水至刻度,摇匀,即得供试品溶液。分别量取各供试品溶液 2 mL 于 25 mL 具塞刻度试管中,精密加入 5% 苯酚溶液(新蒸馏)1 mL,再迅速精密加入浓硫酸 5 mL,边加边振摇,放置 10 min,置 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 15 min,取出,在冰水浴中冷却 5 min。照紫外-可见分光光度法在 490 nm 波长下测定 A 值。通过系列对照品浓度曲线计算所测样品中总多糖含量。

1.9.2 黄芪甲苷含量测定 精密量取“1.6”项下药液 75 mL,蒸干,加纯化水定容至 25 mL 容量瓶中,转移至分液漏斗中,用水饱和正丁醇提取 4 次,每次 25 mL,合并正丁醇层,用氨试液洗涤 3 次,每次 30 mL,弃去氨试液层,合并正丁醇层,减压蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中,摇匀,

0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为备用液。将上述备用液、“1.5”项下对照品溶液在“1.8.1”项下色谱条件测定,记录色谱峰面积,用外标两点对数法计算含量。

1.9.3 毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定 精密量取“1.6”项下药液 75 mL,蒸干,加甲醇超声 30 min,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为备用液。将上述备用液、“1.5”项下对照品溶液在“1.8.2”项下色谱条件测定,记录色谱峰面积,并依次计算含量。

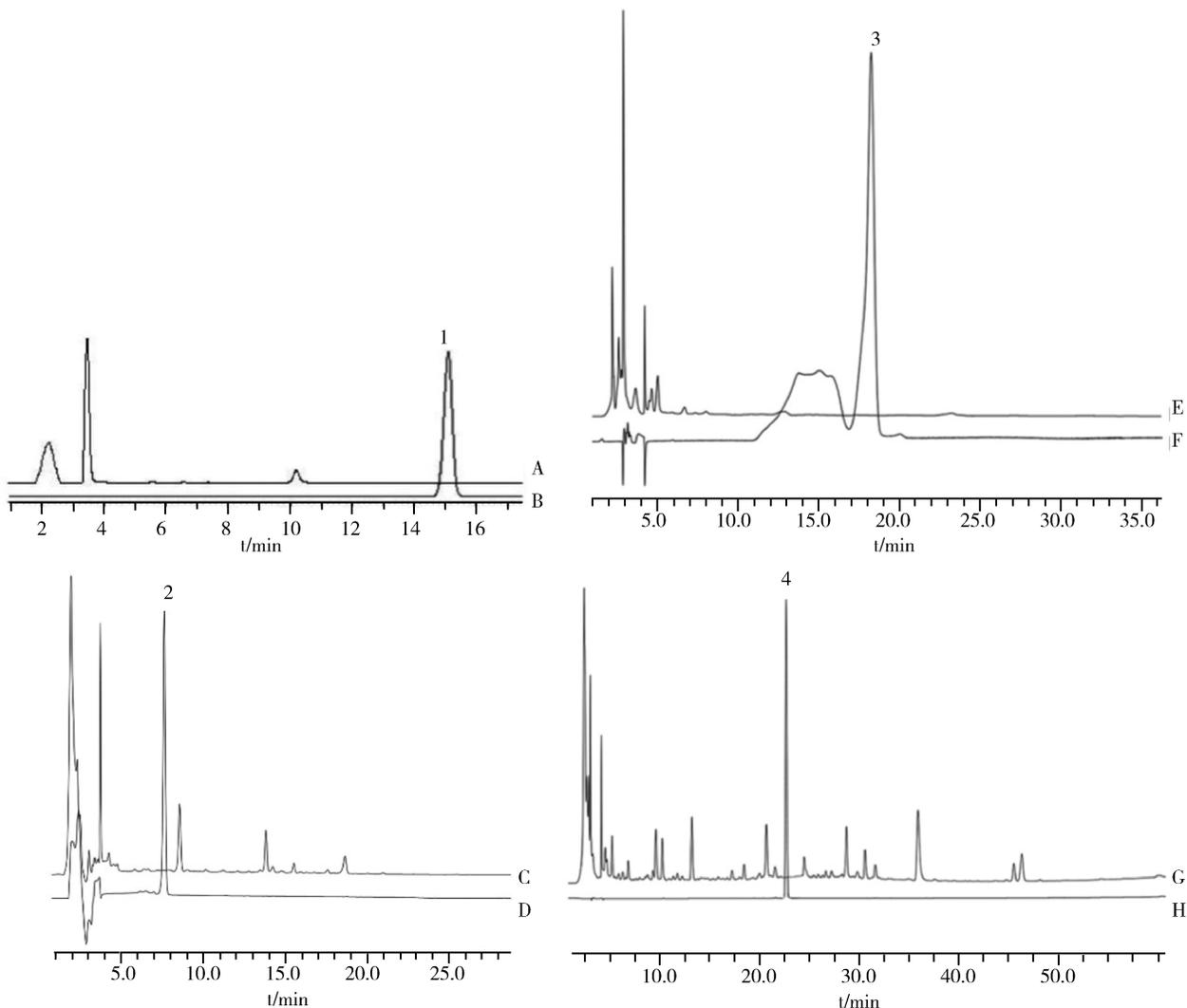
1.9.4 特女贞苷含量测定 精密量取“1.6”项下药液 75 mL,蒸干,加甲醇 50 mL,精密称定重量,超声 30 min,放冷,用甲醇补足重量,滤过,精密量取滤液 5 mL,置 10 mL 量瓶中,加纯化水稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为备用液。将上述备用液、“1.5”项下对照品溶液在“1.8.3”项下色谱条件测定,记录色谱峰面积,并依次计算含量。

1.9.5 红景天苷含量测定 精密量取“1.6”项下药液 75 mL,蒸干,加甲醇超声 30 min,转移至 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为备用液。将上述备用液、“1.5”项下对照品溶液在“1.8.4”项下色谱条件测定,记录色谱峰面积,并依次计算含量。

1.9.6 干膏得率的测定 精密量取“1.6”项下药液 25 mL,置于已干燥至恒重质量的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 $^{\circ}\text{C}$ 恒温鼓风干燥箱中干燥 3 h,取出,置干燥器中冷却 30 min,取出,迅速称定,计算干膏收率。

1.10 方法学考察

1.10.1 线性关系考察 分别精密量取“1.5”项下各对照品系列浓度溶液,按相应的色谱条件进样分析,以对照品浓度(mg/mL)为横坐标(X),峰面积(或吸光度)为纵坐标(Y),进行线性回归,线性关系考察结果见表 2。



A: 缺黄芪阴性样品; B: 黄芪甲苷对照品; C: 缺黄芪阴性样品; D: 毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品; E: 缺女贞子阴性样品; F: 特女贞苷对照品; G: 缺女贞子阴性样品; H: 红景天苷对照品; 1 黄芪甲苷; 2 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 3 特女贞苷; 4 红景天苷

图 1 各样品 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of each sample

表 2 回归方程及线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range

成分	回归方程	r	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
总多糖	$Y = 15.963X - 0.0181$	0.9995	0.0124 ~ 0.0622
黄芪甲苷	$Y = 1.696X + 5.5987$	0.9992	0.0502 ~ 0.6024
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y = 487.58X - 0.0233$	0.9999	0.0010 ~ 0.0194
特女贞苷	$Y = 24472X + 28.623$	0.9999	0.0460 ~ 0.3678
红景天苷	$Y = 42.596X - 0.0527$	0.9996	0.0040 ~ 0.0790

1.10.2 精密度考察 按“1.5”项下方法分别精密量取各对照品溶液 1 mL 并稀释至 10 mL,分

别照相应的分析方法连续进样 6 次,测定各成分含量。结果总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷 *RSD* 分别为 1.77%、1.86%、1.41%、1.58% 和 1.63%,表明仪器精密度良好。

1.10.3 稳定性考察 取供试品溶液,分别于制备后 0、2、4、8、12 和 24 h 进样分析,测定各成分含量,结果总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷 *RSD* 分别为 1.98%、1.74%、1.21%、1.93% 和 1.56%,表明供试品溶液在 24 h

内稳定。

1.10.4 重复性考察 称取处方量药材 30 份,按“1.6”项下方法制备供试品溶液,分别照相应分析方法测定各成分含量,计算求得总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷含量 RSD 分别为 1.86%、1.40%、1.66%、1.59% 和 1.31%,表明该方法重复性良好。

1.10.5 加样回收试验 精密量取已知浓度的供试品溶液(总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷质量浓度分别为 0.0285、0.0520、0.0036、0.0843 和 0.0114 mg/mL)5 mL,共 30 份,分为 5 组,置于 10 mL 量瓶中,依次加入相应对照品溶液(总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷质量浓度分别为 0.3315、0.5714、0.6014、0.2652 和 0.2846 mg/mL)5 mL,按照“1.9”项下各成分测定方法制备样品,按“1.8”项下色谱条件测定含量,计算各成分加样回收率。结果总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷加样回收率分别为 100.21%、99.87%、99.26%、100.19% 和 99.54%;RSD 分别为 1.93%、1.88%、1.64%、1.92% 和 1.79%,表明该方法回收率良好。

1.11 正交试验设计 根据前期单因素预实验结果,选取对提取结果影响较大的提取次数(A)、提取时间(B)、料液比(C)3 个因素进行优化,空白(D)为误差列,每个因素选取 3 个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。正交试验因素水平见表 3。

表 3 正交试验因素水平表

Tab 3 Orthogonal test factor level

因 素	水平		
	A 提取次数/次	B 提取时间/h	C 料液比/倍
1	1	1.5	6
2	2	2	9
3	3	2.5	12

1.12 权重指标的确立

1.12.1 AHP 法权重系数 根据贞芪颗粒药味君臣佐使配伍规律、各成分药理作用强弱及含量多少,将各个评价指标进行量化处理,即将 6 个指标分成 6 个层次,并确定各指标权重优先顺序为:总多糖 > 黄芪甲苷 > 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 > 特女贞苷 > 红景天苷 > 干膏得率,构建成对比较的优先判断矩阵,各指标相对权重见表 4。

表 4 指标成对比较的优先判断矩阵

Tab 4 Priority matrix for paired comparison of index

评价指标	总多糖	黄芪甲苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	特女贞苷	红景天苷	干膏得率
干膏得率	1	1/2	1/3	1/4	1/5	1/6
红景天苷	2	1	1/2	1/3	1/4	1/5
特女贞苷	3	2	1	1/2	1/3	1/4
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	4	3	2	1	1/2	1/3
黄芪甲苷	5	4	3	2	1	1/2
总多糖	6	5	4	3	2	1

1.12.2 CRITIC 法权重系数 CRITIC 法是一种客观权重赋权法,其通过对比强度反映同一指标不同方案的差值大小,通过相关性来体现各指标间的冲突性^[10],是一种比熵权法和标准离差法更好的客观赋权法。本研究采用 CRITIC 法确定各指标间权重,将表 4 中的数据经过线性插值处理[指标

成分值 = (实测值 - 最小值)/(最大值 - 最小值)],使用 SPSS 26.0 对线性插值处理后的数据进行皮尔逊相关系数分析及描述性统计分析,得到标准偏差即对比强度 (S_j),计算相应冲突性 (δ_j)、信息量 (C_j)、客观权重 (ω_j)。其相应的计算公式如下:

$$\delta_j = \sum_{i=1}^n (1 - r_{ij}), C_j =$$

$$S_j \sum_{i=1}^n (1 - r_{ij}), \omega_j = \frac{C_j}{\sum_{j=1}^n C_j}$$

1.12.3 AHP - CRITIC 混合加权法权重系数 根据贞芪颗粒功能主治及组方比例的特点, AHP 法量化了评价指标两两比较判断的优先信息, 以主观信息评价了各指标间的权重系数, 基本体现了复方君臣佐使配伍规律及评价指标优先顺序, 同时采用了 CRITIC 法对各指标进行客观分析。考虑到各指标间的冲突性和各样本数据的变异性对赋权的影响, 本研究将结合 2 种赋权方法, 兼顾主客观因素, 根据公式 $\omega_{\text{综合}ij} = \omega_{\text{AHP} - ij} \omega_{\text{CRITIC} - ij} / \sum \omega_{\text{AHP} - ij} \omega_{\text{CRITIC} - ij}$ 计算综合权重。

1.13 药效学初步研究 从试验开始后, 对试验猪群适口性进行观察, 每天观察猪群表现, 包括精神

状态、进食、饮水, 以及尿液和粪便性状, 并对其生长性能指标进行了测定。按照上述优选工艺 $A_3 B_3 C_2$, 进行工业放大实验, 将所得颗粒进行动物预实验研究, 验证其药效。取提取液继续浓缩至适量, 加糖粉经流化床制粒。记录试验开始前和试验第 30 天各组保育猪重量, 计算其平均日增重 (ADG); 记录每天加料量, 除去损耗量, 计算各组平日日采食量 (ADFI), 并计算料肉比 (F:G): F:G = ADFI / ADG。用 SPSS 26.0 对数据进行分析, 差异显著时采用 Duncan 多重比较法对各组间平均值进行多重比较, 所得数据均用“平均值 ± 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果 贞芪颗粒正交试验设计与结果见表 5。

表 5 正交试验设计与结果

Tab 5 Design and results of orthogonal test

实验编号	A	B	C	D	总多糖/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	黄芪甲苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	毛蕊异黄酮葡萄糖苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	特女贞苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	红景天苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	干膏得率/%
1	1	1	1	1	26.67	44.96	3.03	59.64	8.32	21.75
2	1	2	2	2	28.35	49.31	3.17	73.78	9.27	27.92
3	1	3	3	3	30.03	54.10	3.81	79.21	12.29	34.09
4	2	1	2	3	28.53	52.00	3.61	84.32	11.42	34.43
5	2	2	3	1	28.93	61.89	3.82	96.82	13.86	35.83
6	2	3	1	2	29.91	66.27	4.53	82.79	15.55	35.40
7	3	1	3	2	29.24	59.93	3.69	79.05	14.86	37.07
8	3	2	1	3	30.15	65.22	4.74	76.90	15.07	35.43
9	3	3	2	1	31.60	66.18	4.92	68.43	16.81	36.03

2.2 AHP 法权重系数结果 根据表 4 赋权结果, 算得总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷、干膏得率 6 项指标权重系数分别为: 0.3806、0.2516、0.1602、0.1009、0.0643、0.0425, 并进行了一致性检验, 一致性比率 (CR) =

0.0194 < 0.10。

2.3 CRITIC 法权重系数结果 根据表 6 可知, 总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷、干膏得率的权重系数分别为: 0.1366、0.1336、0.1720、0.3067、0.1213、0.1298。

表 6 CRITIC 法相关计算数据

Tab 6 Relevant calculation data of CRITIC method

评价指标	总多糖	黄芪甲苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	特女贞苷	红景天苷	干膏得率
S_j	0.2821	0.3720	0.3526	0.2800	0.3443	0.3271
δ_j	1.4516	1.0774	1.4631	3.2843	1.0564	1.1902
C_j	0.4095	0.4008	0.5159	0.9197	0.3637	0.3893
ω_j	0.1366	0.1336	0.1720	0.3067	0.1213	0.1298

2.4 AHP - CRITIC 混合加权法权重系数 计算得到总多糖、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、特女贞苷、红景天苷、干膏得率的综合权重系数分别为：0.3302、0.2136、0.1751、0.1966、0.0495、0.0350。

2.5 综合评价结果的比较 分别采用 AHP 法、CRITIC 法及 AHP - CRITIC 混合加权法分析得到的权重系数对实验结果进行综合评分，结果见表 7。通过相关系数分析，AHP 法与 CRITIC 法之间的相关系数为 0.9635，AHP 法与混合加权法之间的相关系数为 0.9936，CRITIC 法与混合加权法之间的相关系数为 0.9861，三者相关性显著 ($P < 0.01$)。

表 7 三种赋权法综合评分结果

Tab 7 Synthetical scores of three weighting methods

实验编号	AHP	CRITIC	AHP - CRITIC
1	70.96	63.71	69.77
2	77.62	73.12	77.15
3	85.98	83.11	85.31
4	82.96	82.44	83.16
5	90.25	91.53	90.88
6	94.54	91.95	93.44
7	88.16	86.37	86.94
8	94.33	90.37	92.78
9	96.89	90.63	94.11

2.6 提取工艺的确定 采用 AHP - CRITIC 混合加权法得到的权重系数对实验结果进行综合评分，利用 SPSS 26.0 对正交实验结果进行分析，直观分析结果见表 8，方差分析结果见表 9。

表 8 直观分析表

Tab 8 Results of intuitive analysis

考察指标	A	B	C	D(空白)
K ₁	232.2316	255.9950	255.9950	254.7596
K ₂	267.4785	260.8095	254.4196	257.5369
K ₃	271.2613	272.8598	263.1233	261.2414
R	13.0099	5.6216	2.9012	2.1606

表 9 方差分析表

Tab 9 Results of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P
A	334.7630	2	167.3815	47.4853	0.0206
B	185.7957	2	92.8978	26.3547	0.0366
C	14.3389	2	7.1694	2.0339	0.3296
D(误差)	7.0498	2	3.5249		

2.7 工艺验证 称取 3 份药材处方量药材，按优选的最佳工艺进行提取，即加 12 倍量水，提取 3 次，每次 2.5 h，测定各项指标，并进行综合评分，结果见表 10。

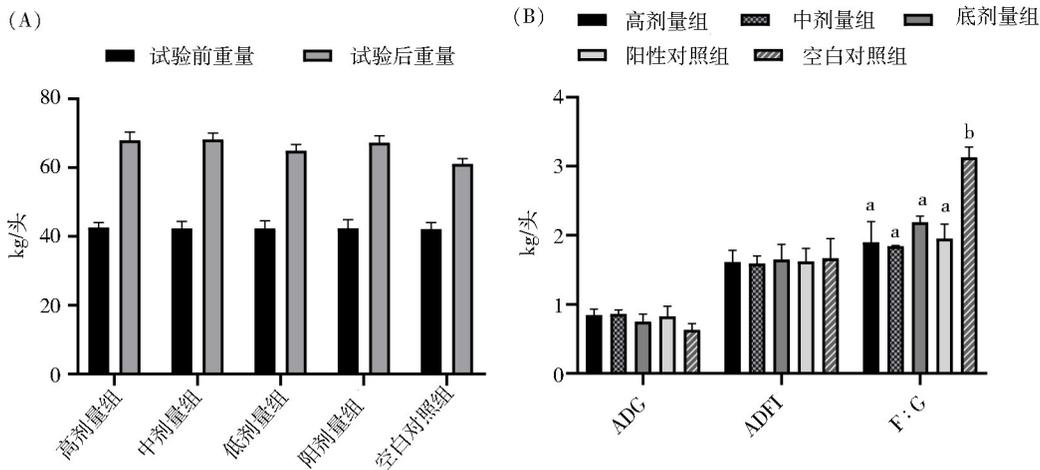
表 10 验证试验结果

Tab 10 Verification testing results

试验号	总多糖/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	黄芪甲苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	特女贞苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	红景天苷/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	干膏得率/%	综合评分
1	31.24	66.74	4.91	66.61	16.12	36.02	99.61
2	31.56	66.78	4.75	67.02	16.01	35.57	99.25
3	30.95	66.51	4.84	65.89	15.55	35.31	98.41
RSD/%	0.98	0.22	1.66	0.86	1.90	1.01	0.62

2.8 药效学研究结果 从开始饲喂至试验结束，与空白对照组相比，猪群精神状态良好，进食、饮水、尿液和粪便均未见异常，表现正常。生长性能指标的测定结果，试验期间各组猪 ADG、ADFI 和 F:G 变化见图 2。从图 2 可以看出，经过 30 d 的饲

喂，饲料添加剂的 4 组体重相比空白组有更加明显的增长；5 组 ADFI 无明显差异 ($P > 0.05$)；高、中、低剂量组和阳性对照组的 F:G 无显著性差异 ($P > 0.05$)，但都显著低于空白对照组 ($P < 0.05$)，其中中剂量组的 F:G 最低。



(A) 添加剂对保育猪试验前后的总体重影响; (B) 添加剂对保育猪试验期间 ADG、ADFI、F:G 的影响; 数据用“平均值 ± 标准差”表示 (n = 20)
注: 相同字母表示组间无显著性差异 (P > 0.05), 不同字母表示组间差异显著 (P < 0.05)

(A) Effect of additives on total body weight of nursery pigs before and after experiment. (B) Effects of additives on ADG, ADFI and F:G of nursery pigs during the experiment. Data are expressed as the “mean ± SD” (n = 20).

Note: the same letter indicates no significant difference between groups (P > 0.05), different letters indicate significant difference between groups (P < 0.05).

图 2 日粮中添加颗粒及阳性药物对保育猪生长性能的影响

Fig 2 Effect of dietary supplementation of nursery pigs with granules and positive drugs on pigs' growth performance

3 讨论与结论

3.1 评价指标及正交试验因素水平的选择 在中药复方的制备工艺中,提取是工艺研究中极其重要的环节,提取工艺的合理性直接决定了产品的质量,同时,中药复方具有复杂的成分,各成分之间具有协同作用。因此,对某一种药材的质量控制或单一活性成分的测定均不能完全反映该制剂的疗效和质量。为了更加科学的体现复方的整体性、复杂性和有效性,研究参照药典对黄芪药材中的评价成分黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷,女贞子药材中的特女贞苷,同时结合本产品的功能主治加入具有免疫增强作用的红景天苷^[11]以及对禽畜具有促生长作用的多糖^[4,12]和中药复方常用的干膏得率共同作为评价指标。

在进行正交试验之前,本实验对提取次数、提取时间和料液比 3 个单因素分别进行了 5 水平考察,分别是提取次数 1 次、2 次、3 次、4 次、5 次;提取时间 1 h、1.5 h、2 h、2.5 h、3 h;料液比 1:6、1:9、1:12、1:15、1:18。根据实验结果,剔除对实验结果

影响较小的 2 个水平,选取对各指标含量影响较大的 3 个水平区间进行正交试验设计。

3.2 评价方法及权重系数的选择 提取工艺的优劣是影响产品质量最直接的因素,选择一个科学、合理的评价方法对提取工艺进行筛选是至关重要的。AHP 法等主观权重系数法在一定程度上能够体现中药复方君臣佐使的配伍规律,但指标赋权值易受学者知识深度和广度的影响,忽略实际样本的数据信息,使得出的结果主观性较强。客观权重系数法能对实际的样本数据进行分析、整理,却易忽视指标间的轻重关系。采用 AHP - CRITIC 混合加权法,能够结合不同评价方法的权重系数,融合主客观不同类型赋权方法的优点,保证数据点均匀分散,使实验结果稳定可靠,筛选出合理、科学的提取工艺参数。

3.3 试验效果分析 CR 结果表明指标优先判断矩阵具有良好的一致性,AHP 法权重系数有效。3 种赋权方法结果的相关性分析结果表明,3 种权重法得到的评分结果具有一致性,但是从权重系数

分析, AHP 法与 CRITIC 法之间的相关系数为 -0.2028 , 两者呈负相关, 所反映的信息不具叠加性。相比之下, AHP - CRITIC 混合加权法从主观客观 2 个方面加以考虑, 所体现的信息量也就更为全面, 因此综合评分结果更为科学、合理、更接近实际情况。对直观分析表结果分析可知, 各因素对提取效率的影响为 $A > B > C$, 方差分析结果表明, A、B 两因素对实验结果都具有显著性影响 ($P < 0.05$), C 无显著性影响 ($P > 0.05$), 结合实际生产情况, 得最佳工艺参数为 $A_3B_3C_2$, 即 12 倍质量水加热回流提取 3 次, 每次 2.5 h。3 批验证试验结果表明, 3 批样品各指标性成分含量的 *RSD* 均小于 2.0%, 组间无显著性差异, 表明该工艺稳定可行, 重现性良好, 可用于贞芪颗粒的工业化提取。饲喂结果表明, 试验猪群对本品的适口性良好, 临床使用安全; 本品和阳性药物均能显著促进保育猪的生长, 三种剂量的促生长作用与阳性药物的效果相当, 且中剂量的效果最好。

3.4 结论 研究以贞芪扶正颗粒为依托, 根据其现代药理作用基础, 筛选出与目标相关联的成分作为评价指标, 通过科学、合理的评价方法优选提取工艺, 开发一种符合国家三类新兽药评判标准的新中兽药贞芪颗粒, 且优化工艺所制备的颗粒能促进生猪生长, 其具体的作用机制正在进一步研究。

参考文献:

[1] Fang L H, Wang Z, Wang L, *et al.* Effect of compound polysaccharide of traditional Chinese medicine on growth performance and immune function of broilers[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2018, 54(09): 56 - 59.

[2] Liu N, Li R, Fu H L, *et al.* Effects of Compound Chaiqi San on Weaned Rex Rabbits' Growth Performance, Serum Biochemical Indices and Immune Indexes[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2017, 35(01): 88 - 92, 123.

[3] Fu X Z, Lu Z F, Shen H Y. Effects of compound traditional Chinese Medicine on growth performance, immune Organ Index and Meat quality of broilers[J]. Jiangsu agricultural science, 2017, 45(5): 161 - 163, 169.

[4] Yang C M, Han Q J, Wang K L, *et al.* Astragalus and Ginseng Polysaccharides Improve Developmental, Intestinal Morphological, and Immune Functional Characters of Weaned Piglets[J]. Front Physiol, 2019, 10: 418.

[5] Wang K, Zhang H, Han Q, *et al.* Effects of astragalus and ginseng polysaccharides on growth performance, immune function and intestinal barrier in weaned piglets challenged with lipopolysaccharide[J]. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2020, 104(4): 1096 - 1105.

[6] Wang X, Li Y, Shen J, *et al.* Effect of Astragalus polysaccharide and its sulfated derivative on growth performance and immune condition of lipopolysaccharide - treated broilers[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 76: 188 - 194.

[7] Sheng D F, Ji X E, Wu A Q. Effects of ligustrum lucidum in diet on growth performance and intestinal development of Wanxi goose [J]. Feed Ind, 2016, 37(4): 41 - 43.

[8] Zhang Y W, Ma W F, Zhang Z D, *et al.* Effects of Ligustrum Lucidum on laying performance, egg quality and intestinal morphology of hens during the late laying period[J]. Acta Ecologicae Animalis Domastici, 2019, 40(7): 38 - 43, 74.

[9] National Pharmacopoeia Commission. Volume 20 of prescription preparations of traditional Chinese Medicine[M]. 1998: 117.

[10] Liu X M, Cheng Z Q, Shi C J, *et al.* Optimization of extraction technique for Shenxi Oral Liquid by orthogonal design based on AHP - CRITIC analysis [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(11): 2577 - 2583.

[11] Zhang M F, Shen Y Q. Anti - inflammation, anti - tumor and immunoregulation of salidroside and its aglycone tyrosol[J]. Drug Evaluation Research, 2013, 36(3): 228 - 234.

[12] Wu S. Effect of dietary Astragalus membranaceus polysaccharide on the growth performance and immunity of juvenile broilers[J]. Poultry Sci, 2018, 97(10): 3489 - 3493.