

基于 AHP-EWM 与响应面法优化米炒灵芝工艺 及炮制前后抗氧化活性对比

李志勇, 刘江亭, 张国英, 杨雪琦, 张梦夏, 赵盼*, 张秀云*

(山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355)

摘要: 优化灵芝的米炒炮制工艺, 确定最佳工艺参数, 并评价灵芝米炒后对抗氧化活性的影响。以炮制温度、炮制时间、药材跟辅料比例为考察因素, 灵芝多糖、三萜、浸出物的质量分数和炮制品外观性状评分作为考察指标, 运用层次分析法(AHP)-熵权法(EWM)结合 Box-Behnken 响应面法确定米炒灵芝最佳工艺条件参数; 采用 ABTS⁺、DPPH、羟自由基清除率的方法, 比较灵芝炮制前后对抗氧化活性的影响。优化得到的工艺条件为炮制温度 158.91 °C, 炒制时间 10.18 min, 药材跟辅料质量比 1:0.20, 工艺验证得到的综合评分平均值为 91.24, 相对标准偏差为 0.81%; 体外抗氧化结果显示, 米炒后灵芝清除自由基能力增强 ($P < 0.01$)。优选后的米炒灵芝炮制工艺可靠稳定、合理可行, 按照此工艺制备的米炒灵芝, 可提升其抗氧化活性, 为灵芝的炮制工艺研究和临床用药提供参考。

关键词: 米炒灵芝; Box-Behnken 响应面法; 层次分析法; 熵权法; 抗氧化活性

中图分类号: R283.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-4026(2026)03-0001-11

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



Optimization of rice-fired *Ganoderma lucidum* processing by AHP-EWM and response surface methodology and comparative study on antioxidant activity before and after processing

LI Zhiyong, LIU Jiangting, ZHANG Guoying, YANG Xueqi, ZHANG Mengxia,
ZHAO Pan*, ZHANG Xiuyun*

(College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

Abstract: This study aimed to optimize the rice-fried processing technology of *Ganoderma lucidum*, determine the optimal processing parameters, and evaluate the impact of fried *Ganoderma lucidum* rice on its antioxidant activity. The processing temperature, processing time, and ratio of medicinal material to auxiliary material were used as the influencing factors, and the contents of *Ganoderma lucidum* polysaccharides, triterpenoids, and extracts, as well as the appearance

收稿日期: 2025-01-08 修回日期: 2025-03-05

基金项目: 山东省重点研发计划(2022TZXD0033)

作者简介: 李志勇(1999—), 研究生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: zqlzyxf@126.com

* 通信作者, 赵盼, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药有效成分分析及质量控制研究。E-mail: zhao.pan.pan@163.com

张秀云, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为药物有效成分分析及药理作用研究。E-mail: zhangxiuyunsh@163.com

score of the processed product were used as evaluation indexes. The optimal rice-fried processing parameters were determined using the analytic hierarchy process (AHP)-entropy weight method combined with Box-Behnken design and response surface method. The antioxidant activity before and after processing was compared using ABTS⁺, DPPH, and hydroxyl radical scavenging assays. The optimized process conditions were as follows: processing temperature of 158.91 °C, frying time of 10.18 minutes, and a material-to-auxiliary ratio of 1:0.20. The average comprehensive score obtained from process validation was 91.24 with a relative standard deviation of 0.81%. In vitro antioxidant activity assay results showed that the radical scavenging ability of *Ganoderma lucidum* significantly increased after processing ($P < 0.01$). The optimized rice-fried process is reliable, stable, and feasible. The rice-fried *Ganoderma lucidum* prepared using this process exhibited enhanced antioxidant activity, providing a reference for the processing technology and clinical application of *Ganoderma lucidum*.

Key words : rice-fried *Ganoderma lucidum*; Box-Behnken response surface method; analytic hierarchy process; entropy weight method; antioxidant activity

灵芝,多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 或紫芝 *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang 的干燥子实体,其性味甘平,归心、肺、肝、肾经,具补气安神、止咳平喘之效^[1]。现代研究表明其主要含有三萜类、多糖类和甾醇类等活性成分,具有健脾、抗氧化、免疫调节、抗肿瘤等药理作用^[2]。历代本草典籍中,《本草纲目》载其“补中益气”,《中华本草》述其“健脾利湿”,基于中医“脾主运化,气血生化之源”的核心理论^[3],结合现代医学对气血物质基础的研究,发现气血中的蛋白质、酶等成分与机体抗氧化活性密切相关^[4],故脾胃健运则气血生化有源且运行畅达,机体的抗氧化能力随之增强。

米味甘、性平,具有补中益气、健脾和胃、除烦止渴之效^[5]。研究表明,米炒炮制工艺有提高中药有效成分溶出^[6]、增强健脾功效、缓和药物药性等作用^[7]。灵芝作为我国传统药食两用真菌,同时收录于2020年版《中国药典》及国家新资源食品目录,其深度开发已成为中药大健康产业的重要研究方向。本研究以单因素实验结果为基础,采用 Box-Behnken 响应面法探索和优化米炒灵芝的炮制工艺并进行工艺验证。在质量评价体系中构建了 AHP-熵权法组合模型,对灵芝总三萜、总多糖、浸出物含量及外观性状多指标进行综合评分,以期优化出米炒灵芝最佳炮制工艺,并从抗氧化角度探索米炒灵芝潜在优点,为规范灵芝饮片炮制工艺提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 实验仪器

U-3900 紫外可见分光光度计(日本日立);XS105 型十万分之一天平(梅特勒托利多科技(中国)有限公司);MK-30 炒药机(江阴市祝塘明科机械厂);调节式手动切片(温岭市林大机械有限公司);FA1204B 万分之一分析天平(上海佑科仪器仪表有限公司);SHZ-III 循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂);GFL-125 电热鼓风干燥箱(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司);KDM 型可调控温电热套(山东省鄞诚新华电热仪器厂)。

1.2 实验材料

蒽酮(批号 90-44-8)、香草醛(批号 121-33-5)、葡萄糖(批号 50-99-7)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;齐墩果酸(批号 508-02-2,纯度 98%)购自上海源叶生物科技有限公司;冰醋酸(批号 210712497E)、乙酸乙酯(批号 210907420K)购自南京化学试剂股份有限公司;高氯酸、浓硫酸(批号 20240130)购自烟台远东精细化工有限公司;分析纯甲醇(批号 20240323)、无水乙醇(批号 20230323)购自天津市富宇精细化工有限公司;过硫酸钾(批号 7727-21-1)、L-抗坏血酸(批号 50-81-7)、过氧化氢溶液(批号 7722-84-1)、水杨酸(批号 69-72-7)、DPPH、ABTS(批号 1898-66-4,纯度 96%)购自山东科源生化有限公司。

实验样品为山东聊城冠县所采集的灵芝,经山东中医药大学徐凌川教授鉴定为赤芝 *Ganoderma lucidum*。

2 实验方法

2.1 灵芝饮片的制备

将灵芝润湿放置于容器内,使水分缓缓渗入,闷润至软硬适宜程度。沿灵芝纹路,将灵芝切为 2~4 mm 的厚片,50 ℃ 下鼓风干燥箱干燥至外表坚硬,即得。

2.2 紫外分光光度法测定总多糖质量分数

参照《中国药典》中灵芝多糖质量分数测定方法^[8],采取水提醇沉法提取多糖,应用苯酚-浓硫酸法进行显色反应,测定各样品中总多糖质量分数。

2.3 紫外分光光度法测定总三萜质量分数

参照《中国药典》中灵芝三萜质量分数测定方法^[8],将样品粉末用无水乙醇溶解,超声提取后,采用香草醛-冰醋酸显色反应,测定各样品中总三萜质量分数。

2.4 水溶性浸出物得率测定

参照《中国药典》中灵芝浸出物提取方法^[8],采用热浸法(通则 2201),除另有规定外,以干燥品计算供试品中水溶性浸出物的质量分数。

2.5 外观形状评分

结合米炒灵芝饮片的外观颜色、色泽、气味变化,对所得饮片进行评分(表 1)。

表 1 米炒灵芝片外观评分标准

Table 1 Appearance evaluation criteria for rice-fried *Ganoderma lucidum* slices

性状	判断依据	分值
外观颜色	焦褐色	1
	黄棕色	2
	焦黄色	3
米色泽	白色	1
	焦黄色	2
	浅黄色	3
气味	无	1
	焦香气	2

2.6 米炒灵芝炮制工艺单因素实验

2.6.1 炒制温度考察

取 10 g 大米,炒药机转速 30 r/min,炒至米冒烟,投入 50 g 净制灵芝片^[9],炒制 6 min。设置炒制温度为 120、140、160、180、200 ℃,考察温度变化对各成分质量分数的影响,计算综合得分。

2.6.2 炒制时间考察

取 10 g 大米,炒药机转速 30 r/min,炒至米冒烟,投入 50 g 净制灵芝片^[9],160 ℃ 炒制。设置炒制时间为 4、6、8、10、12 min,考察炒制时间对各成分质量分数的影响,计算综合得分。

2.6.3 药材和辅料比例考察

取一定量大米,炒药机转速 30 r/min,炒至米冒烟,投入 50 g 净制灵芝片^[9],160 ℃ 炒制 10 min,药材和辅料质量比例 1:0.15、1:0.20、1:0.25、1:0.30、1:0.35,考察药材和辅料比例对各成分质量分数的影响,计算综合得分。

2.7 Box-Behnken 响应面法优化米炒灵芝炮制工艺

参照文献[10-11],根据前期单因素实验考察结果,选择炒制温度(A)、炒制时间(B)、药材和辅料比例(C)为考察因素,设计三因素三水平,见表 2。以总多糖质量分数 $w_{\text{总多糖}}$ (Y1)、总三萜质量分数 $w_{\text{总三萜}}$ (Y2)、浸出

物质质量分数 $w_{\text{浸出物}}$ (Y_3) 及外观形状评分 (Y_4) 的综合评分 (OD) 为响应值, 应用 Design-Expert 13.0 软件进行 Box-Behnken 响应面实验设计。

表2 Box-Behnken 因素水平表

Table 2 Box-Behnken factor level table

水平	因素		
	A 炒制温度/°C	B 炒制时间/min	C 药材和辅料质量比
1	140	8	1:0.15
2	160	10	1:0.20
3	180	12	1:0.25

2.8 层次分析法-熵权法确定综合权重系数

2.8.1 层次分析法

采用层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP) 主观评价各指标, 确定各指标权重系数。参照 1~9 标度法对 4 种指标两两相互比较并评判重要性, 构建成对比较的优先判断矩阵, 赋予各指标相应评分, 进行归一化并计算权重^[12], 见表 3。经主观分析后, 确定灵芝各指标的优先顺序为: $w_{\text{总三萜}}$ 、 $w_{\text{总多糖}}$ 、 $w_{\text{浸出物}}$ 、外观性状评分, 据此将各指标及外观性状评分予以量化^[13]。

表3 指标成分对比优先判断矩阵

Table 3 Prioritization matrix for comparison of indicator components

权重指标	$w_{\text{总三萜}}$	$w_{\text{总多糖}}$	$w_{\text{浸出物}}$	外观形状评分
$w_{\text{总三萜}}$	1	3	5	7
$w_{\text{总多糖}}$	1/3	1	3	5
$w_{\text{浸出物}}$	1/5	1/3	1	3
外观性状评分	1/7	1/5	1/3	1

2.8.2 熵权法

熵权法 (entropy weight method, EWM) 为一种客观评价方法, 在单因素考察的基础上, 将方案中各个指标测定的原始数据进行归一化法^[14]。设 m 个评价对象, n 个评价指标的原始数据矩阵为 $V = (Y_{i,j})_{m \times n}$, 在本实验中, 每个单因素考察方案有 5 个评价对象和 4 个评价指标, 将实验得到的 3 个指标的含量和 1 个外观性状的评分建立原始数据矩阵, 对其进行归一化, 指标均为正向指标, 利用公式 (1) 进行归一化, 利用公式 (2) 计算标准化数据 $S_{i,j}$, 按照公式 (3) 计算各指标的信息熵 F_j , 按照公式 (4) 计算各指标权重系数^[14], 记为 W_j 。

$$Y_{i,j}^* = \frac{Y_{i,j} - Y_{\min}}{Y_{\max} - Y_{\min}}, \quad (1)$$

$$S_{i,j} = \frac{Y_{i,j}^*}{\sum_{i=1}^m Y_{i,j}^*}, \quad (2)$$

$$F_j = -k \sum_{i=1}^m S_{i,j} \ln S_{i,j}, \quad k = \frac{1}{\ln m}, \quad (3)$$

$$W_j = \frac{1 - F_j}{\sum_{j=1}^n (1 - F_j)}, \quad (4)$$

其中, $Y_{i,j}$ 是第 i 个评价对象, 第 j 个评价指标的测量值; $S_{i,j}$ 代表第 i 个对象在第 j 个指标上的特征比重或概率; $Y_{i,j}^*$ 是归一化后的数据; F_j 是第 j 个指标的信息熵值; k 值是标准化常数; m 是评价对象的数量; W_j 第 j 个指标的最终权重系数。

2.8.3 层次分析法-熵权法计算复合评分

AHP 法偏向于人们的主观爱好,而 EWM 法侧重于数据本身所蕴含的客观事实,因此,采用 AHP 得主观权重系数(A_j),运用 EWM 法得客观权重系数(W_j),主客观结合进行综合考虑^[15],按照公式(5)计算综合权重(N_j)。

$$N_j = \frac{A_j \times W_j}{\sum_{j=1}^n A_j \times W_j} \quad (5)$$

2.8.4 综合评分

综合评分见公式(6):

$$\text{综合评分} = 100 \times \left(\frac{N_{\text{总三萜}} \times w_{\text{总三萜}}}{w_{\text{总三萜 max}}} + \frac{N_{\text{总多糖}} \times w_{\text{总多糖}}}{w_{\text{总多糖 max}}} + \frac{N_{\text{浸出物}} \times w_{\text{浸出物}}}{w_{\text{浸出物 max}}} + \frac{N_{\text{外观形状}} \times f}{f_{\text{max}}} \right), \quad (6)$$

式中, N 为样品数, w 为质量分数, f 为评分。

2.9 灵芝饮片米炒前后抗氧化活性的测定

2.9.1 供试品制备

取生灵芝饮片适量,粉碎过 60 目标准筛后置锥形瓶中,以料液比 1:30(g/mL)加入体积分数为 55% 的乙醇溶液,60℃水浴 2 h,超声 0.5 h 后减压抽滤得滤液^[16]。重复上述操作 3 次,将 3 次收集的滤液合并后旋转蒸发浓缩至浸膏状,冷冻干燥,即得生灵芝冻干粉,于-20℃保存备用。取最佳炮制工艺制备的米炒灵芝饮片适量,依照上述方法制备即得米炒灵芝冻干粉。

分别取上述样品粉末及抗坏血酸各适量,制成 62.5、125、250、500、1 000、1 500、2 000 μg/mL 的待测溶液。

2.9.2 DPPH 自由基清除能力

根据文献[17-18]方法,将已配制的灵芝梯度浓度样品溶液与 0.2 mmol/L DPPH 无水乙醇溶液 1:1(体积比)混合均匀,室温下避光 30 min,使用紫外可见分光光度计在 517 nm 处测定吸光值,并参照公式(7)计算 DPPH 自由基清除率 I :

$$I = \frac{(A_0 - A_1 + A_2)}{A_0} \times 100\%, \quad (7)$$

式中 A_0 为 2 mL 无水乙醇加 2 mL DPPH 无水乙醇溶液的吸光度, A_1 为 2 mL 样品溶液加 2 mL DPPH 无水乙醇溶液的吸光度, A_2 为 2 mL 样品溶液加 2 mL 无水乙醇的吸光度。

2.9.3 羟自由基清除能力

参照文献[18]等的方法,精密移取 30% H_2O_2 溶液 1 mL、已配制的灵芝梯度浓度样品溶液 1 mL、4 mmol/mL $FeSO_4$ 溶液 1 mL 和 4 mmol/mL 水杨酸无水乙醇溶液 1 mL 混匀,于 37℃避光反应 30 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,使用紫外可见分光光度计在 510 nm 波长处测定吸光度记作 A'_1 。用 1 mL 无水乙醇溶液代替 A'_1 中水杨酸无水乙醇,记作 A'_2 。用超纯水代替 A'_2 中的不同质量浓度样品液,记作 A'_0 。以维生素 C 为阳性对照。羟自由基清除率的计算方法见公式(8):

$$I' = \frac{(A'_0 - A'_1 + A'_2)}{A'_0} \times 100\% \quad (8)$$

2.9.4 ABTS⁺ 自由基清除能力

参考文献[19]ABTS⁺自由基清除能力测定方法,精密量取 7.4 mmol/L 的 ABTS 溶液、2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液等体积混合,于避光条件下反应 12 h。采用紫外可见分光光度计测定母液吸光度,加入无水乙醇调节至 734 nm 处吸光度值为 0.70 ± 0.02 ,得到 ABTS⁺母液备用。取 0.5 mL 已配制的灵芝梯度浓度样品溶液和 1.5 mL ABTS 稀释液于 E_p 管中涡旋均匀,避光反应 5 min,使用紫外可见分光光度计在 734 nm 波长处测定吸光值,并参照公式(9)计算清除率 I'' 。

$$I'' = \frac{(A''_0 - A''_1 + A''_2)}{A'_0} \times 100\% , \quad (9)$$

式中 A''_0 为 0.5 mL 超纯水加 1.5 mL ABTS 稀释液的吸光度, A''_1 为 0.5 mL 样品溶液加 1.5 mL ABTS 稀释液的吸光度, A''_2 为 0.5 mL 样品溶液加 1.5 mL 超纯水的吸光度。

3 结果与讨论

3.1 米炒灵芝炮制工艺单因素实验

3.1.1 炒制温度对米炒灵芝饮片综合评分影响

由图 1 可知,当炒制温度为 160 °C 时,综合评分达到峰值,之后综合评分下降。这主要是随着温度的升高,导致灵芝饮片表皮被破坏,增加了灵芝饮片有效成分溶解,当温度超过 160 °C 时,灵芝饮片中多糖、三萜等有效成分受热分解以及灵芝饮片外观炭化导致综合评分降低。因此,选取综合评分较高的炒制温度(140、160、180 °C) 3 个水平进行响应面拟合探究。

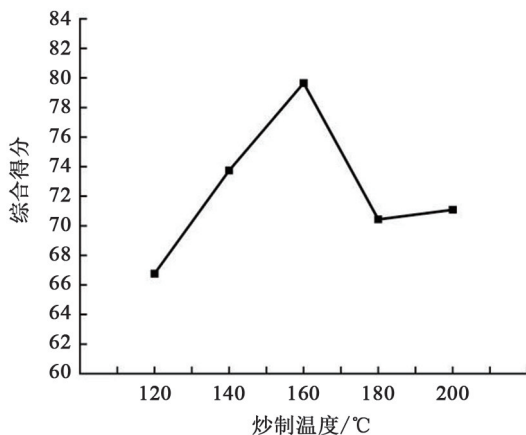


图 1 炒制温度对米炒灵芝综合得分的影响

Fig.1 Impact of frying temperature on the comprehensive score of rice-fried *Ganoderma lucidum*

3.1.2 炒制时间对米炒灵芝饮片综合评分影响

图 2 显示综合评分呈现明显时间阈值效应,当炒制时间为 10 min 时,所得的综合评分最大,之后综合评分急剧下降。这可能是由于炒制时间较短,外观变化不大,导致有效成分溶出较少,随着炒制时间加长,在 10 min 时综合评分达到最大,之后由于炒制时间过长导致灵芝饮片有效成分分解,从而造成综合得分下降。因此,选取炒制时间为 6、8、10 min 3 个水平进行响应面拟合探究。

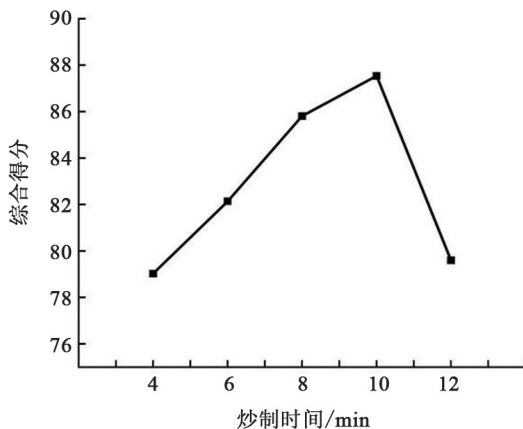


图 2 炒制时间对米炒灵芝综合得分的影响

Fig.2 Impact of frying time on the comprehensive score of rice-fried *Ganoderma lucidum*

3.1.3 药材跟辅料比例对米炒灵芝饮片综合评分影响

如图3所示,当药材跟辅料质量比为1:0.20时,所得的综合评分最大。推测是当辅料占比小时,与灵芝饮片反应不充分,随着辅料占比增加,有效成分溶出增加,当超过1:0.20时,辅料占比增加,对有效成分溶出具有一定影响。综上,选取药材和辅料质量比(1:0.15,1:0.20,1:0.25)3个水平进行响应面拟合探究。

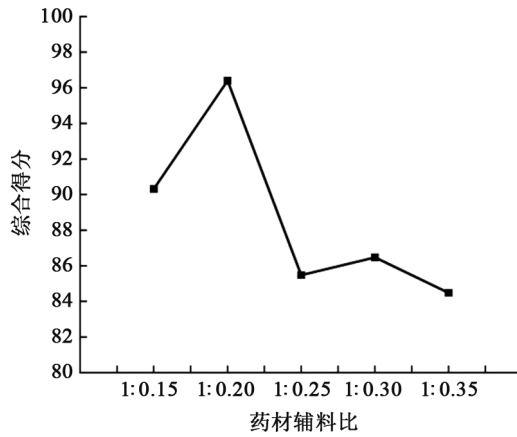


图3 药材与辅料比例对米炒灵芝综合得分的影响

Fig.3 Impact of material-to-auxiliary ratio on the comprehensive score of rice-fried *Ganoderma lucidum*

3.2 响应面优化实验

3.2.1 响应面优化实验结果

AHP法偏向于人们的主观爱好,EWM法则避免了主观因素,侧重于数据本身所蕴含的客观事实,得到的权重更具客观性。基于响应面实验数据,由AHP-EWM主客观综合确定米炒灵芝综合权重系数,见表4。

表4 AHP、EWM、AHP-EWM法权重系数

Table 4 Weighting coefficients of AHP, EWM and AHP-EWM methods

评价方法	各指标权重系数			
	$w_{\text{总多糖}}$	$w_{\text{总三萜}}$	$w_{\text{浸出物}}$	外观形状分数
AHP	0.557 9	0.263 3	0.121 9	0.056 9
EWM	0.199 9	0.358 7	0.273 3	0.168 1
AHP-EWM	0.448 2	0.379 5	0.133 8	0.038 4

基于上述权重系数可计算米炒灵芝饮片的综合评分,通过Design-Expert 13.0软件对实验结果进行多元拟合,得多项式回归模型方程:

$$Y = 91.28 - 0.231 3A + 0.293 7B - 0.100 0C - 1.26AB - 0.717 5AC - 0.012 5BC - 3.03A^2 - 2.02B^2 - 1.86C^2, r^2 = 0.984 6,$$

实验结果见表5。

表5 Box-Behnken实验设计与结果

Table 5 Box-Behnken experimental design and results

序号	炒制温度/°C	炒制时间/min	药材和辅料比例	各指标权重系数			外观形状评分	OD综合评分
				$w_{\text{总多糖}}/\%$	$w_{\text{总三萜}}/\%$	$w_{\text{浸出物}}/\%$		
1	140	8	1:0.20	4.48	1.05	6.67	5	84.80
2	180	8	1:0.20	4.68	1.11	6.93	5	87.06
3	140	12	1:0.20	4.14	1.20	5.81	5	87.93
4	180	12	1:0.20	4.03	1.45	6.03	5	85.13
5	140	10	1:0.15	4.75	1.15	6.01	5	86.00

表5(续)

序号	炒制温度/°C	炒制时间/min	药材和辅料比例	$w_{\text{总多糖}}/\%$	$w_{\text{总三萜}}/\%$	$w_{\text{浸出物}}/\%$	外观形状评分	OD综合评分
6	180	10	1:0.15	4.07	1.38	6.99	5	86.78
7	140	10	1:0.25	4.81	1.11	6.67	5	87.45
8	180	10	1:0.25	3.94	1.41	6.70	5	85.36
9	160	8	1:0.15	4.48	1.11	5.81	8	87.31
10	160	12	1:0.15	4.34	1.40	6.37	5	87.91
11	160	8	1:0.25	4.45	1.04	6.23	8	86.92
12	160	12	1:0.25	4.51	1.08	7.24	6	87.47
13	160	10	1:0.20	4.45	1.04	6.23	8	91.79
14	160	10	1:0.20	4.76	1.16	6.31	8	91.92
15	160	10	1:0.20	4.20	1.14	7.17	8	90.95
16	160	10	1:0.20	4.64	1.13	6.58	8	91.08
17	160	10	1:0.20	4.41	1.26	6.30	8	90.66

3.2.2 回归模型的建立与分析

根据表6分析方差结果,该二次项拟合模型的 F 值为49.77, $P<0.0001$,说明模型具有高度统计学意义;失拟项检验显示($P=0.9015>0.05$),说明该模型在整个回归区域内的拟合情况良好。方差分析显示:回归模型一次项主效应中炒制温度(A)、炒制时间(B)、药材与辅料比例(C)的 $P<0.05$,表明其对米炒灵芝炮制工艺影响显著;交互效应方面, AB 、 AC 的 $P<0.05$,说明两者之间交互作用显著, BC 之间 $P>0.5$,表明 B 跟 C 两者交互对米炒灵芝炮制工艺影响不显著。综合以上得出各工艺参数对米炒灵芝炮制工艺的影响强度由大到小为炒制温度、炒制时间、药材与辅料比例。

表6 二次多项式方程模型方差分析

Table 6 Analysis of variance for the quadratic polynomial model

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	87.59	9	9.74	49.77	<0.0001	显著
A 炒制温度	0.4278	1	0.4278	2.19	0.1836	
B 炒制时间	0.6903	1	0.6903	3.53	0.1024	
C 药材跟辅料比例	0.0800	1	0.0800	0.4088	0.5429	
AB	6.40	1	6.40	32.71	0.0007	
AC	2.06	1	2.06	10.52	0.0142	
BC	0.0006	1	0.0006	0.0032	0.9565	
A^2	38.59	1	38.59	197.21	<0.0001	
B^2	17.22	1	17.22	88.01	<0.0001	
C^2	14.49	1	14.49	74.04	<0.0001	
残差	1.37	7	0.1957			
失拟项	1.1669	3	0.0556	0.1850	0.9015	不显著
纯误差	1.20	4	0.3008			
总误差	80.04	16				

3.2.3 三维效应面分析

效应模型的效应面可直观反映各实验因素间的两两交互作用对灵芝炮制工艺的影响^[20]。根据回归模型方程,将炒制温度、炒制时间、药材与辅料比例对米炒灵芝炮制工艺的综合得分绘制成三维效应面图(图4)。由图4可知,各个因素在实验范围内对米炒灵芝综合得分的影响程度由大到小为:炒制温度、炒制时间、药材与辅料比例。炒制温度和炒制时间、炒制温度和药材与辅料比例之间的交互关系较为显著,当炒制温度在小于160℃时,综合得分随温度的升高而增大,而随着炒制温度继续增加综合得分下降。炒制时间和药材与辅料比例之间的交互关系不显著,表现为曲面较为平缓。

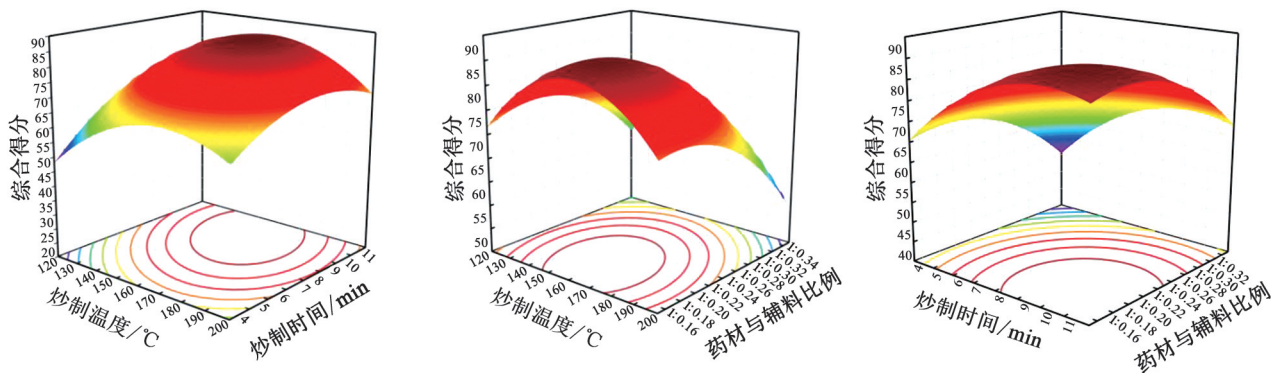


图4 各因素交互作用对米炒灵芝综合评分影响的响应面图

Fig.4 Response surface plots of the interactive impacts of various factors on the comprehensive score of rice-fried *Ganoderma lucidum*

3.2.4 最佳工艺条件的预测

经过 Design-Expert.13.0 软件对实验数据进行分析处理,预测的最佳炮制工艺是炒制温度为 158.91℃,炒制时间为 10.18 min,药材跟辅料质量比为 1:0.20,预测综合得分为 91.30。根据实际操作条件和炒药机控温精确度对最佳炮制工艺进行改进,确定炒制温度为 160℃,炒制时间为 10 min,药材跟辅料质量比为 1:0.20。

3.2.5 最佳工艺验证实验

依据优化出的米炒灵芝最佳工艺条件,炮制 3 批米炒灵芝饮片进行验证实验,实验结果见表 7。可知,3 批验证样品的综合得分分别为 90.24、92.02、91.45,平均值为 91.24,相对标准偏差为 0.81%,预测值为 91.30,即综合评分实测值与预测值的偏差控制在±3%以内,说明通过 Box-Behnken 响应面法优化得到的米炒灵芝炮制工艺条件具有可行性,且炮制出的药品质量稳定。

表7 工艺验证实验结果

Table 7 Process validation experiment results

批次	Y1	Y2	Y3	Y4	综合得分	预测值	偏差%	相对标准偏差/%
	$w_{\text{总多糖}}/\%$	$w_{\text{总三萜}}/\%$	$w_{\text{浸出物}}/\%$	外观形状评分				
1	1.17	3.38	6.20	8	90.24		-0.01	
2	1.20	3.63	6.70	7	92.02	91.30	0.01	0.81
3	1.29	3.39	6.20	7	91.45		0.002	

3.3 灵芝饮片米炒前后抗氧化活性对比

由图5可知,灵芝和米炒灵芝饮片提取物对 DPPH、ABTS⁺、羟自由基的清除率均呈现显著质量浓度依赖性。从表8可以得出,经大米炒制后,灵芝饮片提取物对羟自由基、ABTS⁺清除能力的半抑制浓度 IC₅₀ 值变小,这表明达到相同清除率时米炒灵芝饮片所需质量浓度更小,由此可以看出灵芝饮片经过米炒炮制后抗氧化活性增强。

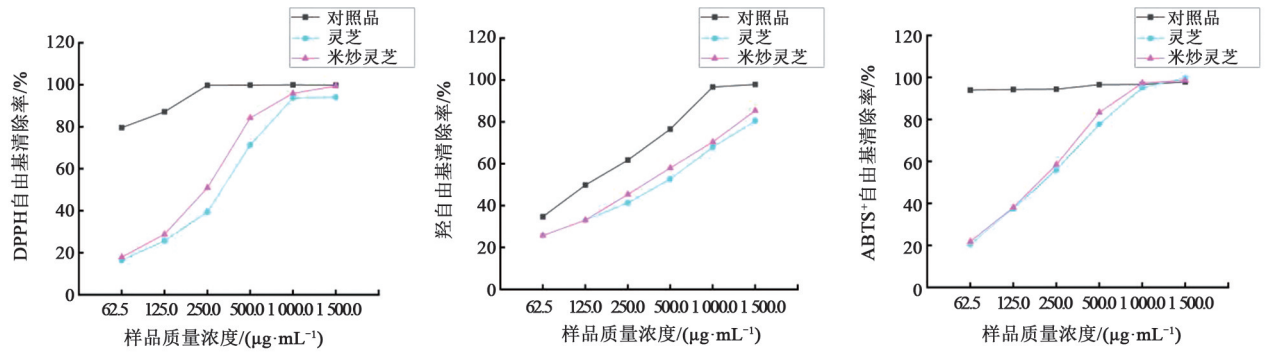


图5 灵芝、米炒灵芝提取物抗氧化活性对比

Fig.5 Comparison of antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* and rice-fried *Ganoderma lucidum* extracts表8 灵芝、米炒灵芝提取物 IC_{50} 值 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 8 IC_{50} values of *Ganoderma lucidum* and rice-fried *Ganoderma lucidum* extracts ($\bar{x} \pm s, n=3$)单位: $\mu\text{g}/\text{mL}$

组别	各抗氧化活性 IC_{50}		
	DPPH 自由基	羟自由基	ABTS ⁺ 自由基
灵芝提取物	329.83±2.44	568.73±14.54	251.26±0.54
米炒灵芝提取物	264.49±0.84***	496.07±5.70**	231.49±2.89***

注:与生品相比,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

4 结论

本研究通过单因素实验结合 Box-Behnken 响应面法,构建了米炒灵芝炮制工艺优化体系,并创新性采用层次分析法-熵权法组合赋权模型进行多指标综合评价。结果表明,影响米炒灵芝饮片质量的显著参数为炒制温度,工艺参数对米炒灵芝的影响程度由大到小依次为:炒制温度、炒制时间、药材跟辅料比例;当炒制温度为 160 ℃,炒制时间为 10 min,药材跟辅料比例为 1:0.20 时,米炒灵芝饮片综合评分最高,质量最优。经验证该炮制工艺质量稳定、合理可行,为规范灵芝米炒工艺提供了科学依据。

人体生命活动易产生大量的自由基,而过量的自由基可导致机体氧化与抗氧化体系的失衡,从而引发各种疾病^[21]。为系统评价米炒炮制工艺对灵芝饮片抗氧化活性的影响,采用 ABTS⁺、DPPH、羟自由基体外自由基清除实验进行多维度分析。实验结果表明灵芝经过米炒炮制后,抗氧化能力增强,这一现象与米炒炮制对灵芝活性成分的协同增效作用机理假说高度契合。

本研究筛选出米炒灵芝最佳炮制工艺,提供了具体、科学的炮制工艺参数,且经大米炒制后灵芝饮片抗氧化能力显著提升。不仅为阐明米制“甘味入脾”协同抗氧化机制提供数据支撑,更为后续米炒灵芝的质量标准和药理作用研究奠定了基础,拓展了灵芝饮片的应用。

参考文献:

- [1]胡凌娟,郑化先,王晓彤,等.赤芝道地药材形成源流考[J].中国现代应用药学,2020,37(6):681-684. DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.06.008.
- [2]冉靖,姚遵宝,徐慧,等.灵芝化学成分、药理作用及质量标志物预测分析[J].中华中医药学刊,2025,43(5):172-182. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.05.032.
- [3]杨晔,刘悦,张帆,等.基于线粒体研究论脾虚与脏腑疾病的相关性[J].中医杂志,2018,59(20):1742-1746. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.20.007.

- [4]李鑫,赵燕,涂勇刚,等. 蛋壳内膜酶解及其酶解液体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(9): 164-167. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2013.09.064.
- [5]王新娣,石晓峰,张晓萍,等. 米炒北沙参的质量标准研究[J]. 中国药房, 2022, 33(8): 962-967. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.08.10.
- [6]陈欣茵,冯楚茵,林洁微,等. 米炒灵芝的炮制工艺研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(14): 89-91. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2019.14.036.
- [7]郭福贵,兰子君,张月,等. 中药炮制用米的古今文献记载及现代研究进展[J]. 中药材, 2023, 46(2): 525-532. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2023.02.044.
- [8]国家药典委员会. 中华人民共和国药典 一部: 2020年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 195.
- [9]李正龙,胡德,董欣,等. 米炒红娘子炮制工艺优化及其质量标准建立[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2237-2242. DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223431.
- [10]ELSAYED M M A, ABOELEZ M O, ELSADEK B E M, et al. Tolmetin sodium fast dissolving tablets for rheumatoid arthritis treatment: Preparation and optimization using box-behnken design and response surface methodology[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(4): 880. DOI: 10.3390/pharmaceutics14040880.
- [11]SONG H, MOON E W, HA J H. Application of response surface methodology based on a box-behnken design to determine optimal parameters to produce brined cabbage used in kimchi[J]. *Foods*, 2021, 10(8): 1935. DOI: 10.3390/foods10081935.
- [12]张远帆,朱成豪,江媛,等. 基于 AHP-熵权法的天麻共生蜜环菌质量评价研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(7): 113-121. DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202401341.
- [13]付艳,周涛,许清清,等. 基于熵权法和层次分析法优选天麻趁鲜切制方法[J]. 中草药, 2024, 55: 1493-1501.
- [14]程中琴,王姗姗,刘小妹,等. 基于 AHP-熵权法结合指纹图谱优选盐黄柏炮制用盐[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 4298-4302.
- [15]张桂梅,岳珠珠,王慧楠,等. 基于 AHP-熵权法结合色差原理评价不同辅料大米对米炒党参饮片的影响[J]. 中草药, 2021, 52(24): 7447-7454. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.006.
- [16]钟千贵,陈天赐,邱铭锰,等. 无柄灵芝提取物中营养成分及体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(19): 321-326. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.19.050.
- [17]颜瑞辰,洪允炬,李悦,等. 响应面法优化灵芝多糖提取工艺及其抗氧化活性[J]. 菌物研究, 2024, 22(4): 378-386. DOI: 10.13341/j.jfr.2023.1642.
- [18]刘养山,张景,任洪飞,等. 冠县灵芝多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(12): 81-89. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080313.
- [19]代嫚婷,宋静,余潇,等. 海黄牡丹不同部位的成分分析、体外抗氧化能力及其 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制能力[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(19): 190-198. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033018.
- [20]赵福银. 炒陈皮炮制工艺与质量标准研究及其炮制机理解析[D]. 长春: 吉林化工学院, 2023. DOI: 10.27911/d.cnki.ghjgx.2023.000055.
- [21]木开代斯·买合木提,陈建,焦春伟,等. 赤芝提取物的抗氧化美白及细胞增殖作用研究[J]. 世界中医药, 2024, 19(7): 949-956. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2024.07.007.

