

超高压辅助胶束法提取落叶松中二氢槲皮素的工艺优化

杨帆, 霍志伟, 朱雯, 赵修华

Optimization of Ultrahigh Pressure Assisted Micellar Extraction of Taxifolin from Larch

YANG Fan, HUO Zhiwei, ZHU Wen, and ZHAO Xiuhua

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020026>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

长白落叶松3种黄酮化合物定性、定量分析及其抗氧化活性研究

Qualitative and Quantitative Analysis of 3 Kinds of Flavonoids in *Larix olgensis* var. *koreana* Extract and Their Antioxidant Activities

食品工业科技. 2019, 40(23): 66-72 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.23.011>

响应面法优化超高压处理提取金银花绿原酸工艺

Optimization of the Extraction of Chlorogenic Acid from Honeysuckle with Ultra-high Pressure Treatment by Response Surface Methodology

食品工业科技. 2019, 40(5): 201-206 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.05.033>

葡萄皮渣中花旗松素提取工艺优化及其抗氧化能力测定

Optimization of Extraction Process of Taxifolin from Grape Pomace and Determination of Its Antioxidant Capacity

食品工业科技. 2021, 42(5): 200-205, 220 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040186>

响应面法优化超高压提取枸杞多糖工艺

Optimization of Extraction Technology of *Lycium barbarum* Polysaccharide by Ultrahigh Pressure Based on Response Surface Methodology

食品工业科技. 2020, 41(17): 187-192 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.17.031>

桑葚花色苷超高压提取工艺优化及其组分分析

Optimization of Anthocyanins Extraction by Ultra-high Pressure from Mulberry and Its Compositions Analysis

食品工业科技. 2018, 39(21): 152-158 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.21.028>

超高压辅助制备老蒜提取物工艺研究

Study on preparation of aged garlic extract by ultra-high pressure pretreatment

食品工业科技. 2018, 39(11): 80-84, 98 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.11.015>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杨帆, 霍志伟, 朱雯, 等. 超高压辅助胶束法提取落叶松中二氢槲皮素的工艺优化 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(23): 175–183. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020026

YANG Fan, HUO Zhiwei, ZHU Wen, et al. Optimization of Ultrahigh Pressure Assisted Micellar Extraction of Taxifolin from Larch[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(23): 175–183. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020026

· 工艺技术 ·

超高压辅助胶束法提取落叶松中 二氢槲皮素的工艺优化

杨帆, 霍志伟, 朱雯, 赵修华*

(东北林业大学化学化工与资源利用学院, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要:为简化二氢槲皮素提取工艺, 降低能耗与成本, 提高提取效率, 促进二氢槲皮素的综合应用, 本研究采用黑龙江省的兴安落叶松为原料, 运用超高压辅助胶束提取技术提取落叶松中二氢槲皮素, 测定落叶松树根、树干等不同部位的二氢槲皮素总含量。以此总含量为基础, 对提取胶束进行筛选, 采用响应面试验对提取工艺进行优化, 考察了料液比、提取压力、提取次数及胶束浓度 4 种不同因素对二氢槲皮素提取率的影响, 并与微波提取、超声提取、回流提取等不同提取工艺进行能耗与 CO₂ 排放比较。结果表明, 最终确定提取胶束为茶皂素, 最佳提取工艺条件为: 茶皂素浓度 8%, 料液比 1:11.5, 提取压力 157 MPa, 提取次数 3 次, 保压时间 5 min, 在此最佳条件下重复进行 3 次实验, 二氢槲皮素实际提取率可达 84.35%±1.20%, 与预测值 84.98% 基本一致。与其他提取方法相比超高压辅助胶束提取率最高, 单位原料的能耗和 CO₂ 排放量均为最低, 分别为 1.71×10⁻⁴ kW·h·g⁻¹, 1.34×10⁻⁴ kg/g。综上, 利用超高压辅助胶束绿色溶剂提取技术提取落叶松中二氢槲皮素, 绿色环保、操作简单、工艺合理可靠, 并且重复性高, 可广泛应用。

关键词:落叶松, 二氢槲皮素, 超高压辅助胶束提取, 工艺优化, 响应面, 提取率

中图分类号: S791.22

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2023)23-0175-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020026



本文网刊:

Optimization of Ultrahigh Pressure Assisted Micellar Extraction of Taxifolin from Larch

YANG Fan, HUO Zhiwei, ZHU Wen, ZHAO Xiuhua*

(College of Chemistry, Chemical Engineering and Resource Utilization, Northeast Forestry University,
Harbin 150040, China)

Abstract: In this study, in order to simplify the extraction process of taxifolin, cut costs and energy sources, improve extraction efficiency, and promote comprehensive application of taxifolin. Taxifolin was extracted from the trunk of *Larix gemlini* by ultra-high pressure assisted micellar green solvent extraction technology, using *Larix gemlini* of Heilongjiang Province as raw material. Based on the total content of taxifolin in different parts of larch root and trunk, tea saponin was selected as the most appropriate surfactant from candidate surfactants. The extraction process was optimized by response surface experiment, investigating effects of solid-liquid ratio, extraction pressure, extraction times and micellar concentration on the extraction rate of taxifolin. Results showed that, the optimal extraction process conditions were selected as follows: The tea saponin concentration was 8%, the solid-liquid ratio was 1:11.5, the extraction pressure was 157 MPa, the extraction times were 3 times, the holding time was 5 min. The experiment was repeated for 3 times under the optimum condition, and the actual extraction rate of taxifolin was 84.35%±1.2%, which was basically consistent with the predicted value of 84.98%. Compared with different extraction processes such as microwave extraction, ultrasonic

收稿日期: 2023-02-06

基金项目: 黑龙江省重点研发计划 (2022ZX02C11)。

作者简介: 杨帆 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 药物化学, E-mail: 303946121@qq.com。

* 通信作者: 赵修华 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 植物化学与植物药, E-mail: xiuhua Zhao@nefu.edu.cn。

extraction and reflux extraction, the energy consumption and CO₂ emission per unit of raw material of ultra-high pressure assisted micelle extraction were the lowest, which was $1.64 \times 10^{-4} \text{ kW} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$ and $1.29 \times 10^{-4} \text{ kg/g}$ respectively. To summarize, the extraction of taxifolin from larch by ultra-high pressure assisted micellar green solvent extraction technology could be used widely which was environmentally friendly, simple, stable, reasonable and reliable.

Key words: larch; taxifolin; ultra-high pressure assisted micelle extraction; process optimization; response surface; extraction ratio

二氢槲皮素(taxifolin)又名花旗松素,由日本科学家福井于针叶植物中发现并提取^[1],作为一种存在于植物界中重要的二氢黄酮醇类化合物,其含有丰富的酚羟基,能够调节人体内多种酶的活性,进而发挥不同的生理作用,如抗氧化^[2-5]、抗肿瘤^[6-8]、抗病毒^[9-11]、抗心血管系统疾病、改善毛细血管微循环、抗血小板凝聚等作用^[12-15],而且对婴幼儿无毒无害,对胎儿也不会产生发育畸形、机体过敏和突变等副作用^[16-17]。2021 年 4 月 15 日,我国正式批准二氢槲皮素为新资源食品,可以在饮料、酸奶、风味发酵乳、可可制品、巧克力和巧克力制品中直接添加,利于二氢槲皮素及相关产品在我国食品工业领域的广泛应用^[18],根据 QY Research 数据,据保守估计二氢槲皮素全球每年需求量在 100 吨以上,相关产品的市场份额达到百亿^[19]。

目前,二氢槲皮素的制备工艺主要分为两大类:合成法、提取法,应用最多的是提取法,根据原料和提取方法分类主要有:利用水和乙醇从落叶松中加热回流提取^[20-23]、利用乙醇-水溶液从落叶松中微波提取^[24-25]、利用有机溶剂从落叶松中萃取提取^[26]、利用丙酮或乙醇从刺玫蔷薇中加热回流提取^[27-28]及利用乙醇从黄芪叶中加热回流提取^[29]等。但是与落叶松相比,刺玫蔷薇和黄芪叶的资源产量较低,故落叶松是当下二氢槲皮素的主要工业来源。利用单纯的水和有机溶剂回流或萃取虽然操作简便,但生产流程长、效率低下,并且生产中会消耗大量有机溶剂、成本高,容易污染环境。

与传统提取方法相比,超高压提取法具有效率高、耗能低、操作简便、绿色环保等优点,是当前进步与发展都十分快速的一种新式提取方法,这种技术通过升高压力破坏细胞壁,增强细胞基质内的活性成分与提取溶剂的接触,进而促进活性成分在溶剂中的溶解。在李彦炜^[30]的研究中,通过超高压技术,在最优条件下,实现了对黄精多糖 74.14% 的提取率。同时,在 Su 等^[31]的研究中,通过比较超高压技术与热回流等传统提取方法对黑茶的提取效果,发现超高压提取法对黑茶的提取率显著高于热回流提取法。胶束提取法通常用于黄酮类等水溶性较差天然产物的分离纯化。凭借粒径小、增溶性、低毒性等优点,主要应用于医药、环境等原料的预处理中。这种方法的机理是:随着表面活性剂在水中浓度的增加,当达到临界胶束浓度(CMC),无法继续降低溶液的表面张力时,便在水溶液中形成胶束,这种胶束内核为疏

水环境,外部为亲水基团,可将难溶性的成分包裹在疏水内核中,从而对其进行增溶,得以提高提取率。此方法对环境友好、操作简便、可显著提高提取率。在 Coscueta 等^[32]的研究中,通过筛选出具有良好提取性能的 Genapol X-080 作为表面活性剂,在一定条件下对大豆异黄酮进行提取,提取率得到显著提高,是相同条件下甲醇的 3 倍。

为解决传统二氢槲皮素生产工艺过程繁琐、有机溶剂使用量大、生产成本高等问题,本实验将超高压提取技术与胶束提取技术相结合,此方法原理为:以水或其他流体作为提取介质,通过在短时间内对提取原料施加较大的压强,从而对细胞壁进行破坏,进而使所需的活性物质从细胞中得到释放^[33],再通过溶剂中的胶束对活性物质进行包裹增溶。与其他技术相比,此技术具有耗能低、提取时间短、效率高等优点^[34]。在张圆圆^[35]的研究中,运用超高压辅助 APG1214 胶束提取黄花蒿中的青蒿素,最优条件下提取率可达 82.73%~88.08%。当前尚未有文献报道采用超高压辅助胶束提取技术对落叶松中二氢槲皮素进行提取研究,因此本实验采用此技术,以二氢槲皮素溶解度和提取率为指标,筛选出最优表面活性剂,构建水基胶束,选用超高压辅助提取手段,考察料液比、胶束溶液浓度、提取次数、提取压力等因素对二氢槲皮素提取率的影响,确定最优提取工艺。并与微波提取、超声提取、回流提取等不同提取工艺进行提取率、能耗和 CO₂ 排放量对比评价。以期借助本技术有效降低提取能耗和污染,提高林业剩余物的再利用,促进二氢槲皮素未来的多领域应用,满足国内外市场对其的需求。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

落叶松木质部 采样于黑龙江省牡丹江市灵泰药业股份有限公司,产地为黑龙江省;二氢槲皮素标准品(98%) 购买于上海麦克林生物科技股份有限公司;甲醇(色谱纯) 购于湖北弗顿实业有限公司;真空密封袋(16 丝) 购于河北永贺塑料包装制品有限公司;筛网(120 目) 购于绍兴市豪泉筛具厂;无水乙醇(分析纯)、乙腈(色谱纯) 购买于湖北弗顿化学试剂有限公司;茶皂素(40%)、吐温-60(分析纯)、吐温-80(分析纯)、司班-80(药用级)、月硅酸钠(70%)、十二烷基硫酸铵(分析纯)、PEG-400(化学纯)、APG-1214(50%)、月桂醇醚硫酸钠(70%)、十二烷基硫代硫酸钠(98%)、椰油酰胺丙基甜菜碱

(36%)、十二烷基二甲基甜菜碱(30%)、无患子皂苷(60%) 均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

L1-400/5 型超高压设备 中国天津华泰森森超高压制备工程技术有限公司; Waters-2487 型高效液相色谱仪 美国沃特世公司; 98-1-B 加热套 天津市泰斯特仪器有限公司; DK-150 超声仪 深圳市德康电器有限公司; M1-F23P 微波炉 广东格兰仕电器有限公司; RE-201D 旋转蒸发器 河南华特仪器设备有限公司; ZKJ-8803 型真空封口机 广东志高空调有限公司; FTT-2500T 型粉碎机 东莞市房太电器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 落叶松不同部位二氢槲皮素总含量 称取一定质量落叶松树根、根须、树干(地上部分 1 m 以下)、锯末等四个部位的鲜原料、粉碎、烘干,称量烘干后粉末的质量变化,计算含水率公式(1)。采取 1.2.3 中的提取方法提取树根、根须、树干(地上部分 1 m 以下)、锯末等 4 个部位干粉末原料的二氢槲皮素含量。分别计算干重总含量公式(2)、湿重总含量公式(3):

$$W(\%) = (G_s - G_{go}) / G_{go} \times 100$$
 式 (1)

式中, W 为含水率; G_s 为湿木粉重量(g); G_{go} 为干木粉重量(g)。

$$M1(\%) = \frac{m}{G_{go}} \times 100$$
 式 (2)

式中, M1 为干重总含量; G_{go} 为干木粉重量(g); m 为二氢槲皮素提取量(g)。

$$M2(\%) = M1 \times (1 - W) \times 100$$
 式 (3)

式中, M2 为湿重总含量; W 为含水率; M1 为干重总含量。

1.2.2 树干中二氢槲皮素总含量检测 取适量落叶松树干木块于粉碎机中粉碎,过 120 目筛得落叶松木粉,烘干。称取 50 g 木粉于烧瓶中,加入 500 mL 乙醇,加热回流 1 h,过滤后滤渣中再加入 500 mL 乙醇,加热回流,重复提取四次。每次取 1 mL 提取液进行 HPLC 检测,计算 4 次提取出的二氢槲皮素的总量。

1.2.3 超高压辅助胶束提取二氢槲皮素 称取 0.5 g 落叶松木粉于密封袋中,并加入一定体积(料液比为 1:6~1:14(g/mL))的胶束溶液(茶皂素、吐温-60、司班-80、十二烷基硫酸铵等 13 种表面活性剂,质量分数为 6%~10%),混合均匀后放入超高压提取设备中。设定所需参数(提取次数为 2~6 次;提取压力为 50~250 MPa;保压时间为 5 min)进行二氢槲皮素的提取。

1.2.4 胶束的筛选 本研究对落叶松中二氢槲皮素提取工艺中的胶束溶液进行筛选,依据对二氢槲皮素溶解度高、提取率高、绿色价廉的原则,以茶皂素、吐温-60、司班-80、月硅酸钠等 13 种表面活性剂作

为候选。通过向 10 mL 质量分数为 5% 的不同胶束溶液中分别加入过量二氢槲皮素原药,室温搅拌 24 h,离心取上清,甲醇稀释 10 倍,过滤进行 HPLC 检测,测定不同胶束溶液对二氢槲皮素的溶解度。

称取 0.5 g 落叶松木粉,采用超高压辅助胶束法,在料液比为 1:10,提取压力为 150 MPa,提取次数为 2 次,不同胶束浓度为 8%,保压时间为 5 min 条件下进行提取,测定不同胶束对落叶松木粉中二氢槲皮素的提取率。

1.2.5 响应面优化试验 基于预实验结果,响应面试验的参数优化范围为:料液比 1:6~1:14(g/mL),提取压力 50~250 MPa,提取次数 2~6 次,茶皂素浓度 6%~10%,利用 Central-Composite Design (CCD) 中心组合设计,对料液比(X₁)、提取压力(X₂)、提取次数(X₃)、茶皂素浓度(X₄)各因素进行试验设计,设定参数如表 1 所示。

表 1 因素水平编码表
Table 1 Factor level coding table

因素	水平				
	-α	-1	0	+1	+α
X ₁ 料液比(g/mL)	1:6	1:8	1:10	1:12	1:14
X ₂ 提取压力(MPa)	50	100	150	200	250
X ₃ 提取次数	2	3	4	5	6
X ₄ 茶皂素浓度(%)	6	7	8	9	10

1.2.6 二氢槲皮素提取率的测定 HPLC 法测定二氢槲皮素条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 反相柱(250 mm×4.6 mm);流动相为乙腈:水:醋酸=30:70:0.1(%);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 298 nm;柱温为 28 ℃;进样量为 10 μL^[36]。

HPLC 标准曲线的建立:精确称取 5 mg 二氢槲皮素标准品,用甲醇定容至 10 mL,得到 500 μg/mL 的二氢槲皮素标准品母液。采用对半稀释法,配得 500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125 μg/mL 的二氢槲皮素标准液,按照上述方法进行测定。计算得到其回归方程为:Y=27324.2521X-23014.7782, R²=0.9999(X 为标准品质量浓度(mg/mL), Y 为峰面积),在 7.8125×10⁻³~0.5 mg/mL 范围内呈现良好线性关系。

通过 HPLC 检测二氢槲皮素提取液浓度,代入以下公式(4)计算提取率。二氢槲皮素提取率公式为:

$$Y = \frac{c \times V}{M} \times 100$$
 式 (4)

式中, Y 为提取率(%); c 为二氢槲皮素的浓度(mg/mL); V 为提取液体积(mL); M 为原料木粉中二氢槲皮素总重量(mg)。

1.2.7 与其他提取方法的比较 为评价超高压辅助胶束提取工艺,实验选用超声提取法、微波提取法、回流法、超高压辅助胶束提取法对落叶松中二氢槲皮素进行提取,在理想状态无能量损耗条件下比较计

算提取率与能耗^[37-38],并根据目前碳排放数据,中国每千瓦时用电综合的 CO₂ 排放量为 0.785 kg^[39-40],计算 CO₂ 排放并比较。

1.2.7.1 回流法 称取 100 g 落叶松木粉于烧瓶中,按照 1:11.5(g/mL)的料液比加入乙醇,置于功率为 650 W 的加热套中,加热回流 1 h。提取完毕后取 1 mL 提取液,甲醇稀释 10 倍,过滤进行 HPLC 检测^[37]。

1.2.7.2 超声提取法 称取 100 g 落叶松木粉于烧瓶中,按照 1:11.5(g/mL)的料液比加入乙醇,置于功率为 360 W 的超声提取设备中,超声提取 30 min。提取完毕后取 1 mL 提取液,甲醇稀释 10 倍,过滤进行 HPLC 检测^[37]。

1.2.7.3 微波提取法 称取 100 g 落叶松木粉于烧瓶中,按照 1:11.5(g/mL)的料液比加入乙醇,置于功率为 480 W 的微波提取装置中,微波提取 30 min。提取完毕后取 1 mL 提取液,甲醇稀释 10 倍,过滤进行 HPLC 检测^[35]。

1.2.7.4 超高压辅助胶束提取法 称取 100 g 落叶松木粉于密封袋中,按照 1:11.5(g/mL)的料液比加入 8% 的茶皂素溶液,在提取压力为 157 MPa、保压时间为 5 min 条件下置于超高压提取装置中提取 3 次。提取完毕后取 1 mL 提取液,甲醇稀释 10 倍,过滤进行 HPLC 检测^[35]。

1.3 数据处理

本研究运用 Design-Expert 8.0.6 软件进行实验设计以及数据处理和结果分析,并按照优化得到的最优条件,进行 3 次重复实验验证。本实验使用 Origin 2019 软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 二氢槲皮素的总含量

2.1.1 落叶松不同部位二氢槲皮素干湿总含量 如表 2 所示,不同部位中二氢槲皮素干湿总含量排序

为:树干>锯末>树根>根须;湿重总含量为:树干>锯末>树根>根须,二者一致;含水率为:根须>锯末>树根>树干。树干的干湿重总含量均为最高,故后续实验以树干作为提取原料。

表 2 落叶松不同部位二氢槲皮素干湿总含量
Table 2 Content of taxifolin in different parts of larch

原料	干重含量(%)	含水率(%)	湿重含量(%)
树根	1.123	39.42	0.682
根须	0.059	55.91	0.026
锯末	1.710	43.65	0.964
树干	2.802	20.12	2.237

2.1.2 落叶松树干二氢槲皮素总含量 以烘干后的落叶松树干为原料,如表 3 所示,乙醇回流法重复四次,每 50 g 原料共提取到 1.401 g 二氢槲皮素,故二氢槲皮素总含量为 2.802%,后续实验中落叶松二氢槲皮素的总含量以乙醇回流法测得的 2.802% 为准。

表 3 树干中二氢槲皮素总含量
Table 3 Total taxifolin content in tree trunk

次数	第一次	第二次	第三次	第四次	总量
提取量(g)	1.001	0.266	0.073	0.061	1.401

2.2 表面活性剂筛选结果

对比不同表面活性剂对二氢槲皮素提取率和溶解度的影响。由图 1 可知,其中提取率表现最优的 3 种溶剂为茶皂素、十二烷基二甲基甜菜碱、十二烷基硫酸铵,提取率分别为 78.21%、65.45%、63.23%,溶解度分别为 2.92、2.16、2.04 mg/mL。一般情况下,溶剂是影响提取效果的关键因素,溶剂对提取成分的溶解度越高,提取效果越好^[32]。在胶束溶液中二氢槲皮素溶解度越高代表胶束对其增溶效果越好,使得在超高压提取过程中,能有更多二氢槲皮素被胶束包合溶解到提取液中,增强提取效果,而茶皂素对二氢槲皮素的增溶效果最好、提取率最高,这可能是由

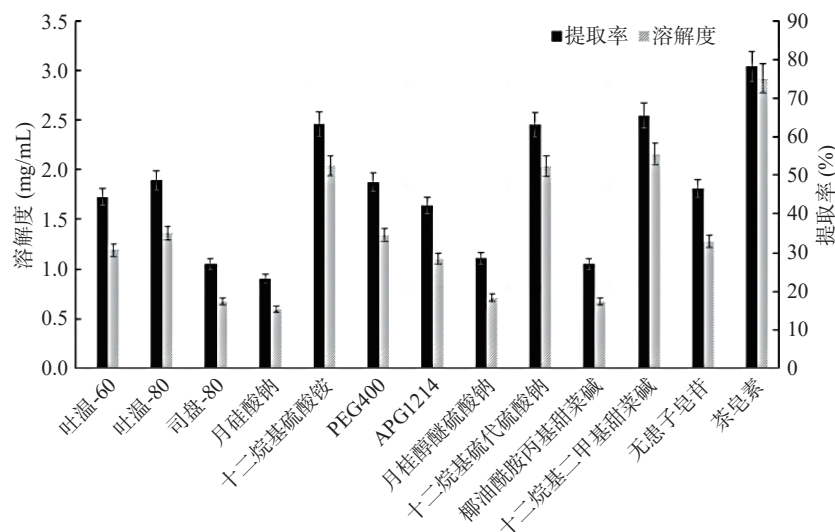


图 1 不同表面活性剂对二氢槲皮素提取率和溶解度的影响

Fig.1 Effects of different surfactants on the extraction rate and solubility of taxifolin

于茶皂素为植物来源的三萜类皂角苷,其在水溶液中形成胶束时的疏水核心为萜类,而二氢槲皮素为植物来源的二氢黄酮醇类化合物,可能与胶束的核心具有较好的相容性^[41],且茶皂素天然无毒、价格相对便宜且来源广,基于上述原因,确定茶皂素为提取胶束。

2.3 响应面试验结果

如表 4 所示,利用 Central-Composite Design (CCD)中心组合设计,研究料液比(X_1)、提取压力(X_2)、提取次数(X_3)和茶皂素浓度(X_4)对二氢槲皮素提取率(Y)影响。

表 4 响应面设计及结果
Table 4 Design and results of CCD design

实验号	X_1 料液比 (g/mL)	X_2 提取压力 (MPa)	X_3 提取 次数	X_4 茶皂素 浓度(%)	Y 提取率 (%)
1	1:10	150	6	8	64.56
2	1:8	200	3	7	56.22
3	1:6	150	4	8	52.38
4	1:10	50	4	8	75.47
5	1:8	100	5	9	62.39
6	1:12	100	5	9	77.44
7	1:10	150	4	8	83.59
8	1:10	150	4	8	84.59
9	1:8	200	5	9	63.67
10	1:10	150	4	8	83.86
11	1:12	200	3	9	75.71
12	1:10	150	4	8	84.98
13	1:12	100	3	7	74.41
14	1:8	200	3	9	66.72
15	1:10	150	4	10	73.27
16	1:8	100	3	9	66.42
17	1:12	100	3	9	84.28
18	1:10	150	2	8	70.60
19	1:10	250	4	8	69.01
20	1:12	100	5	7	73.32
21	1:8	100	3	7	57.49
22	1:12	200	3	7	71.85
23	1:10	150	4	6	61.02
24	1:8	200	5	7	58.05
25	1:10	150	4	8	83.94
26	1:12	200	5	9	74.49
27	1:10	150	4	8	83.41
28	1:12	200	5	7	72.13
29	1:8	100	5	7	57.22
30	1:14	150	4	8	79.37

2.3.1 实验设计及结果拟合 利用 Design-Expert 8.0.6 软件,进行多元回归拟合,得到二氢槲皮素提取率(Y)与料液比(X_1),提取压力(X_2),提取次数(X_3),茶皂素浓度(X_4)的拟合全变量二次回归方程模型:
 $Y=84.06+7.06X_1-1.13X_2-1.10X_3+3.12X_4-1.03X_1X_2-0.2098X_1X_3-0.6260X_1X_4+0.6286X_2X_3-0.3602X_2X_4-0.9915X_3X_4-4.54X_1^2-2.95X_2^2-4.12X_3^2-4.22X_4^2$

方程显著性检验分析结果如表 5 所示, $Pr>F$ 可分析模型与各因素之间的显著差异,回归模型的

F 值为 171.60,研究表明:若使模型符合极为显著标准,则 $Pr>F$ 应小于 0.0001;若使模型符合非常显著标准,则 $Pr>F$ 应小于 0.01;若使模型符合显著标准,则 $Pr>F$ 应小于 0.05,因此 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 对二氢槲皮素提取率的影响极为显著, X_1X_2 、 X_3X_4 影响非常显著, X_1X_4 、 X_2X_3 影响显著。此外,得到的模型中 $R^2=0.9838$,调整 $R^2_{adj}=0.9780$, Adeq Precision=42.3937,结果表明,该模型适应性好,可信度高,精确度强,适合二氢槲皮素提取实验的后续优化和预测。

表 5 二氢槲皮素提取率方程的方差与误差分析
Table 5 Analysis of variance and error of taxifolin regression equation

类型	变差平方和	自由度	平均方差	F	$Pr>F$	显著性差异
模型项	2787.45	14	199.10	171.60	<0.0001	***
X_1	1196.10	1	1196.10	1030.90	<0.0001	***
X_2	30.53	1	30.53	26.32	0.0001	***
X_3	29.19	1	29.19	25.16	0.0002	***
X_4	233.81	1	233.81	201.52	<0.0001	***
X_1X_2	16.82	1	16.82	14.49	0.0017	**
X_1X_3	0.71	1	0.71	0.61	0.4481	
X_1X_4	6.27	1	6.27	5.40	0.0345	*
X_2X_3	6.32	1	6.32	5.45	0.0339	*
X_2X_4	2.08	1	2.08	1.79	0.2009	
X_3X_4	15.73	1	15.73	13.56	0.0022	**
X_1^2	565.99	1	565.99	487.82	<0.0001	***
X_2^2	238.92	1	238.92	205.92	<0.0001	***
X_3^2	464.67	1	464.67	400.49	<0.0001	***
X_4^2	489.45	1	489.45	421.85	<0.0001	***
残差	17.40	15	1.16			
失拟项	15.57	10	1.56	4.25	0.0618	
纯误差	1.83	5	0.3661			
总和	2804.85	29				

注:***代表极为显著($P<0.001$);**代表非常显著($P<0.01$);*代表显著($P<0.05$)。

2.3.2 两因素间的交互作用 研究表明,响应曲面坡度明显,说明因素影响较大^[42]。图 2 为不同因素的交互作用对提取率的影响,响应面开口向下,提取率随着各因素参数的改变而变化,先升高到最大值后下降,呈现显著的二次抛物关系。而等高线图可以直观地表示两个变量之间交互作用的显著程度,等高线越密,则变量对提取效果的影响越大,当等高线为椭圆形时表示两变量的交互作用对提取效果影响明显^[43]。

如图 2(a)所示,当提取次数为 3 次,茶皂素浓度为 8% 时,随着料液比从 1:8 增长到 1:12,二氢槲皮素的提取率不断增加,最高范围是在提取压力为 157 MPa 左右,且等高线为椭圆形,说明料液比和提取压力交互作用对提取率影响显著。如图 2(b)所示,在茶皂素浓度为 8%~8.5%,料液比在 1:11.5 左右时,二氢槲皮素的提取率最高为 85% 左右,从等高线可以看出料液比和茶皂素浓度交互作用对提取率影响显著。

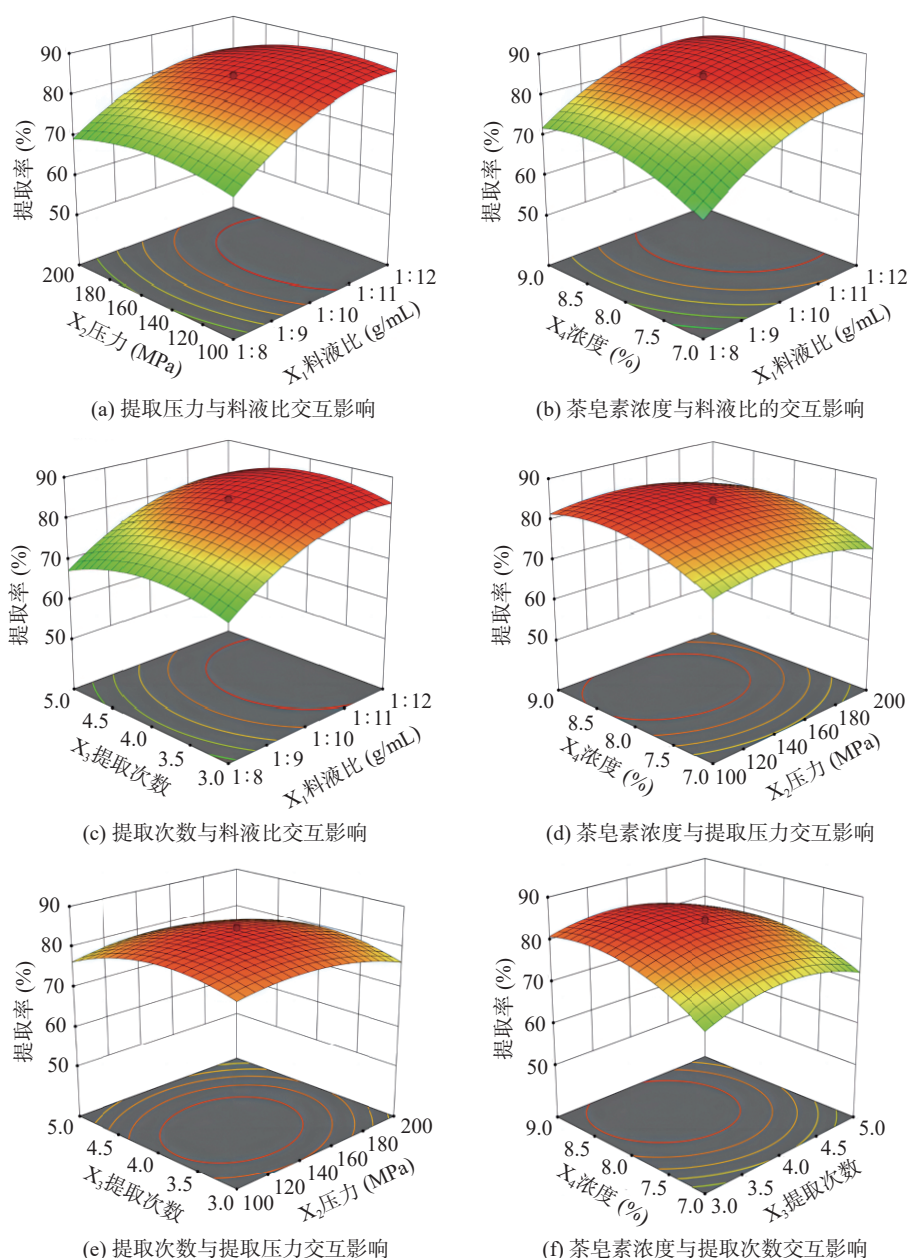


图2 两因素交互影响二氢槲皮素提取率的响应面图

Fig.2 Response surface plot of two factors that affect the extraction rate of taxifolin

如图2(c)所示,当提取压力为157 MPa,茶皂素浓度为8%时,料液比在1:11~1:12,提取次数在3~4次范围内,二氢槲皮素的提取率最高,料液比和提取次数的交互作用对二氢槲皮素的提取率影响显著性较小。如图2(d)所示,当料液比为1:11.5,提取次数是3次,茶皂素浓度在8%~8.5%,提取压力在140~160 MPa的范围内,二氢槲皮素具有较高的提取率,大约为84%,提取压力与茶皂素浓度交互作用对提取率影响显著性较小。

如图2(e)所示,当茶皂素浓度固定为8%,料液比为1:11.5时,提取压力在140~160 MPa,提取次数在3~3.5的范围内,二氢槲皮素约具有84%的提取率。且从二维等高线可以看出,提取次数与压力交互作用对提取率影响显著。如图2(f)所示,将料液比固定在1:11.5,提取压力157 MPa时,提取次数

在3~4次间和茶皂素浓度在8%~8.5%间,二氢槲皮素的提取率较高,等高线图显示,提取次数和茶皂素浓度交互作用对提取率影响显著。

2.3.3 最佳提取条件的验证 由 Design-Expert 8.0.6 软件优化出的最优条件为:料液比为1:11.535(g/mL),胶束浓度为7.961%,提取次数为3.1491次,提取压力为157.152 MPa。在料液比为1:11.5(g/mL)、提取压力为157 MPa、胶束浓度为8%、提取次数为3次,保压时间为5 min的条件下验证模型的有效性,试验重复3次。结果显示,二氢槲皮素的实际提取率为84.35%±1.20%。与预测的提取率84.98%相近。表明此提取方法在所得模型的拟合下程度较好,重复性强。

2.4 能耗与提取率的比较

2.4.1 回流法 回流法的能耗主要分为两部分:从室

温加热到乙醇沸点的过程,以及维持在沸点的过程。故此方法的能耗为:

$$E = E_1 + E_2 = Pt_1 + \frac{1}{3}Pt_2 = 650 \times 15 \times 60 + \frac{1}{3} \times 650 \times 45 \times 60 = 1.17 \times 10^6 \text{ J} = 0.325 \text{ kW} \cdot \text{h}$$

式中, E 为耗能 ($\text{kW} \cdot \text{h}$); E_1 为升温耗能 ($\text{kW} \cdot \text{h}$); E_2 为保温耗能 ($\text{kW} \cdot \text{h}$); P 为功率 (W); t_1 为升温时间 (s); t_2 为保温提取时间 (s)。

因此回流法的能耗为 $0.325 \text{ kW} \cdot \text{h}$, CO_2 排放量为 $0.325 \times 0.785 = 0.255 \text{ kg}$, 提取率为 71.5%

2.4.2 超声提取法 超声提取法的能耗主要分为两部分: 从室温加热到 50°C 的过程, 以及维持在 50°C 的过程。故此方法的能耗为:

$$E = E_1 + E_2 = Pt_1 + \frac{1}{3}Pt_2 = 360 \times 10 \times 60 + \frac{1}{3} \times 360 \times 20 \times 60 = 3.6 \times 10^5 \text{ J} = 0.1 \text{ kW} \cdot \text{h}$$

因此超声提取法的能耗为 $0.1 \text{ kW} \cdot \text{h}$, CO_2 排放量为 $0.1 \times 0.785 = 0.0785 \text{ kg}$, 提取率为 64.6%

2.4.3 微波提取法 微波提取法的能耗主要分为两部分: 从室温加热到 70°C 的过程, 以及维持在 70°C 的过程。故此方法的能耗为:

$$E = E_1 + E_2 = Pt_1 + \frac{1}{3}Pt_2 = 480 \times 5 \times 60 + \frac{1}{3} \times 480 \times 25 \times 60 = 3.84 \times 10^5 \text{ J} = 0.107 \text{ kW} \cdot \text{h}$$

因此微波提取法的能耗为 $0.107 \text{ kW} \cdot \text{h}$, CO_2 排放量为 $0.107 \times 0.785 = 0.0840 \text{ kg}$, 提取率为 69.7%

2.4.4 超高压辅助胶束提取法 由于超高压提取仅在加压阶段压缩提取剂消耗能量, 而在保压和卸压阶段不消耗能量, 故此方法的能耗为:

$$E = \int_0^t dE = \frac{v^2}{2l} PS \int_0^t dt^2 = \frac{v^2 t^2}{2l} \times P \times S = \frac{1}{2} \times P \times S$$

式中, S 为受力面积 (m^2); P 为压力 (Pa); l 为缸位移 (m); v 为缸位移速度 (m/s); t 为位移时间 (s)。

将仪器参数: $l=0.1$, $P=1.57 \times 10^8$, $S=7.85 \times 10^{-3}$ 代入上述公式, 得 $E=0.1 \times 1.57 \times 10^8 \times 7.85 \times 10^{-3} \times 0.5 = 6.16 \times 10^4 \text{ J} = 0.0171 \text{ kW} \cdot \text{h}$

因此超高压辅助胶束提取的能耗为 $0.0171 \text{ kW} \cdot \text{h}$, CO_2 排放量为 $0.0171 \times 0.785 = 0.0134 \text{ kg}$, 提取率为 83.9%

不同提取方法的提取率、能耗和 CO_2 排放量如表 6 所示, 通过计算: 超高压辅助胶束提取法与超声提取法相比, 节能 82.9% ; 与微波提取法相比, 节能 84.0% ; 与回流提取相比, 节能 94.7% 。超高压辅助胶束提取法能耗和 CO_2 排放量均为最低, 所用时间仅为 15 min , 提取效率也非常优异, 并且此方法只使用水作为提取溶剂, 未采用有毒有害且污染环境的其他有机溶剂。因此, 此方法是一种效率高、无污染、耗能低的提取工艺。

表 6 不同提取工艺的能耗

Table 6 Energy consumption of different extraction processes

提取方法	投药量(g)	时间(min)	单位处理量能耗($\text{kW} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$)	单位处理量 CO_2 排放量(kg/g)	提取率(%)
超声提取	100	30	1.00×10^{-3}	7.85×10^{-4}	64.6%
微波提取	100	30	1.07×10^{-3}	8.40×10^{-4}	69.7%
回流提取	100	60	3.25×10^{-3}	2.55×10^{-3}	71.5%
超高压辅助胶束提取	100	15	1.71×10^{-4}	1.34×10^{-4}	83.9%

3 结论

在本研究中, 以兴安落叶松为原料, 测定了落叶松不同部位二氢槲皮素的总含量, 并筛选合适的提取胶束, 采取超高压辅助胶束提取技术提取二氢槲皮素, 运用响应面分析法进行工艺优化。其中落叶松树干部位二氢槲皮素含量最高, 干重含量可达 2.802% 。选定茶皂素作为提取胶束, 最优提取工艺条件如下: 提取次数为 3 次, 茶皂素浓度为 8% , 料液比为 $1:11.5$ (g/mL), 提取压力为 157 MPa , 保压时间为 5 min , 此条件下进行 3 次重复实验, 二氢槲皮素实际提取率可达 $84.35\% \pm 1.20\%$, 同时单位能耗与 CO_2 排放量均显著低于微波提取、超声提取、回流提取等提取工艺, 分别为 $1.71 \times 10^{-4} \text{ kW} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $1.34 \times 10^{-4} \text{ kg/g}$, 说明超高压辅助胶束提取技术对落叶松中二氢槲皮素的提取重复性强, 提取时间短, 也可显著减少能量消耗和污染, 为提取二氢槲皮素提供了一种新方法。

参考文献

- [1] 田军军, 顾媛媛. 二氢槲皮素生物活性及作用机制最新研究进展[J]. 黑龙江科学, 2022(18): 5-8, 13. [TIAN J J, GU Y Y. Recent research progress in biological activity and mechanism of taxifolin[J]. Heilongjiang Science, 2022(18): 5-8, 13.]
- [2] 卢宁, 韩吉春, 任博雪, 等. 二氢槲皮素预处理对心肌缺血/再灌注损伤抗氧化作用的影响[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(4): 487-491. [LU N, HAN J C, REN B X, et al. Effect of taxifolin preconditioning on antioxidation of myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2017, 33(4): 487-491.]
- [3] 尚艳琦, 于莹, 顾媛媛, 等. 二氢槲皮素对心肌缺血大鼠血液流变学相关指标的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2019, 35(3): 509-512. [SHANG Y Q, YU Y, GU Y Y, et al. Effect of taxifolin on hemorheology in rats with myocardial ischemia[J]. Journal of Changchun University of Chinese Medicine, 2019, 35(3): 509-512.]
- [4] 顾媛媛, 于莹, 周忠光, 等. 二氢槲皮素对心肌缺血模型大鼠的保护作用及氧化应激水平的影响[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(10): 2370-2372. [GU Y Y, YU Y, ZHOU Z G, et al. Protec-

- tive effect of taxifolin on myocardial ischemia model rats and the effect of oxidative stress[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2019, 30(10): 2370–2372.]
- [5] SCHAUS A G, TSELYICO S S, KUZNETSOVA V A, et al. Toxicological and genotoxicity assessment of a taxifolin-rich *Dahurian* larch tree (*Larix gmelinii* Rupr) extract (*Lavitol*) [J]. *International Journal of Toxicology*, 2015, 34(2): 162–181.
- [6] 王佳奇, 宋明铭, 陈凯, 等. 二氢槲皮素与二氢杨梅素的抗肿瘤活性对比 [J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(11): 1614–1620. [WANG J Q, SONG M M, CHEN K, et al. Comparison of antitumor activities of taxifolin and dihydromyricetin [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2016, 32(11): 1614–1620.]
- [7] CHEN J, SUN X, XIA T, et al. Pretreatment with taxifolin, a dietary flavonoid, protected against concanavalin A-induced immunological hepatic injury in mice and TNF- α /ActD-induced apoptosis in HepG2 cells [J]. *Food & Function*, 2018, 9(4): 2341–2352.
- [8] MANIGANDAN K, MANIMARAN D, JAYARAJ R L, et al. Taxifolin curbs NF- κ B-mediated Wnt/ β -catenin signaling via up-regulating Nrf2 pathway in experimental colon carcinogenesis [J]. *Biochimie*, 2015, 119: 103–112.
- [9] GALOCHKINA A V, ZARUBAEV V V, KISELEV O I, et al. Antiviral activity of the taxifolin during the *Coxsackie virus* B4 replication *in vitro* [J]. *Problems of Virology*, 2016, 61(1): 27–31.
- [10] ZAI W, CHEN W, LUAN J, et al. Taxifolin ameliorated acetaminophen-induced hepatic cytotoxicity via activating JAK2/STAT3 pathway and autophagy [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(3): 1443–1453.
- [11] ŽIVKOVIĆ L, BAJIĆ V, TOPALOVIĆ D, et al. Antigenotoxic effects of biochaga and taxifolin on H₂O₂-induced DNA damage in human whole blood cells [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 19(11): 5039372.
- [12] 林骏, 谢庆, 赵明一, 等. Taxifolin protects hypoxia-induced cardiomyocytes injury via HIF1- α /HO-1/autophagy pathway [J]. *岭南心血管病杂志: 英文版*, 2017, 18(2): 150–156. [LIN J, XIE Q, ZHAO M Y, et al. Taxifolin protects hypoxia-induced cardiomyocytes injury via HIF1- α /HO-1/autophagy pathway [J]. *South China Journal of Cardiovascular Diseases*, 2017, 18(2): 150–156.]
- [13] 吴明娟, 费洪新, 田明, 等. 二氢槲皮素对异丙肾上腺素所致急性心肌缺血大鼠心肌磷脂酰肌醇 3-激酶/糖原合成酶激酶-3 β 信号通路的影响 [J]. *中国医药导报*, 2020, 17(2): 15–19. [WU M J, FEI H X, TIAN M, et al. Effect of taxifolin on myocardial phosphatidylinositol 3-kinase/glycogen synthetase kinase-3 in rats with acute myocardial ischemia induced by isoproterenol β -Influence of signal path [J]. *China Medical Herald*, 2020, 17(2): 15–19.]
- [14] PLOTNIKOV M B, ALIEV O I, SIDEKHMEENOVA A V, et al. Modes of hypotensive action of taxifolin in arterial hypertension [J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2017, 162(3): 353–356.
- [15] PLOTNIKOV M B, ALIEV O I, SIDEKHMEENOVA A V, et al. Taxifolin improves microvascularization and microcirculation in the brain cortex of SHR rats during the development of arterial hypertension [J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2017, 163(1): 57–60.
- [16] ORLOVA S V, TATARINOV V V, NIKITINA E A, et al. Bioavailability and safety of taxifolin [J]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2022, 55(11): 1133–1137.
- [17] DAS A, BAIDYA R, CHAKRABORTY T, et al. Pharmacological basis and new insights of taxifolin: A comprehensive review [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 142: 112004.
- [18] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委员会通告(国卫通〔2021〕4号) [Z]. 2021-04-15. [National Health Commission of the PRC. Proclamation No.4, 2021 of the National Health Commission [Z]. 2021-04-15.]
- [19] QY Research. 2021-2027 全球及中国二氢槲皮素行业研究及十四五规划分析报告 [EB/OL]. 2021-09-21/2023-03-10. <https://www.qyresearch.com.cn/reports/dihydroquercetin-p888206.html>. [Global and Chinese Dihydroquercetin Industry Research and Fourteenth five-year plan Report [EB/OL]. 2021-09-21/2023-03-10. <https://www.qyresearch.com.cn/reports/dihydroquercetin-p888206.html>.]
- [20] 金建忠. 落叶松中二氢槲皮素的提取工艺研究 [J]. *林产化工通讯*, 2005, 39(4): 12–15. [JIN J Z. Study on the extraction process of taxifolin from larch [J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2005, 39(4): 12–15.]
- [21] 金建忠, 申屠超, 许惠英, 等. 落叶松中二氢槲皮素的提取及鉴定 [J]. *浙江林业科技*, 2004, 24(5): 15–17. [JIN J Z, SHEN T C, XU H Y, et al. Extraction and identification of taxifolin from larch [J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2004, 24(5): 15–17.]
- [22] 王正平, 刘莹. 一种从落叶松中提取二氢槲皮素的方法 [P]. 中国专利: 200610035280.5, 2006-04-29. [WANG Z P, LIU Y. A method of extracting taxifolin from larch [P]. Chinese patent: 200610035280.5, 2006-04-29.]
- [23] 吴柏年, 陈静, 崔宝玉, 等. 一种从落叶松及其加工剩余物中提取二氢槲皮素和阿拉伯半乳糖的方法 [P]. 中国专利: 200710144650.3, 2007-11-21. [WU B N, CHEN J, CUI B Y, et al. A method for extracting taxifolin and arabinogalactan from larch and its processing residues [P]. Chinese patent: 200710144650.3, 2007-11-21.]
- [24] YANG L, MA C H, HUANG J M, et al. Comparison of extraction methods of taxifolin from *Larix gmelinii* [J]. *Forest Engineering*, 2009, 25(5): 6–11.
- [25] MA C H, SUN Z, HUANG J M, et al. Extraction of taxifolin from larch by ultrasonic-microwave alternate method [J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2010(1): 134–139.
- [26] KIEHLMANN E, LI E P M. Isomerization of taxifolin [J]. *Journal of Natural Products*, 1995, 58(3): 450–455.
- [27] 王萍, 贾斌, 宋林平. 刺玫蔷薇茎中二氢槲皮素的提取 [J]. *特产研究*, 2006(2): 53–55. [WANG P, JIA B, SONG L P. Extraction of taxifolin from the stem of *Rosa dahurica* [J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2006(2): 53–55.]
- [28] 王萍, 梁坤. 刺玫蔷薇茎中二氢槲皮素的提取工艺研究 [J]. *食品工业科技*, 2008(3): 196–198. [WANG P, LIANG K. Study on the extraction process of taxifolin from the stem of *Rosa dahurica* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2008(3): 196–198.]
- [29] 宋云飞. 一种从黄杞叶中提取分离二氢槲皮素的方法: 中国, 101054369 [P]. 2007-10-17. [SONG Y F. A method of extracting and separating taxifolin from the leaves of Chinese wolfberry: China, 101054369 [P]. 2007-10-17.]
- [30] 李彦伟. 超高压提取黄精多糖工艺优化、结构分析及抗氧化性研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2019. [LI Y W. Optimization of extraction process, structure analysis and antioxidant activity of *Polygonatum* polysaccharide by ultrahigh pressure [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019.]
- [31] SU K Y, LI Q, ZHAO S M, et al. Study on the hypoglycemic activity of black tea ultrahigh pressure and hot water extracts *in vit*

- ro[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(11): 237–242.
- [32] COSCUETA E R, MALPIEDI L P, NERLI B B. Micellar systems of aliphatic alcohol ethoxylates as a sustainable alternative to extract soybean isoflavones[J]. *Food Chemistry*, 2018, 264: 135–141.
- [33] 井凤, 刘峰, 刘伟. 超高压技术在中药有效成分提取中的应用[J]. 科学与管理, 2016, 36(4): 63–66, 73. [JING F, LIU F, LIU W. Application of ultra-high pressure technology in the extraction of effective components of traditional Chinese medicine[J]. *Science and Management*, 2016, 36(4): 63–66, 73.]
- [34] 简以柱, 陈有国, 熊德新. 万寿菊不同种植密度对比试验[J]. 农业科技通讯, 2019(4): 44–47. [LIN Y Z, CHEN Y G, XIONG D X. Comparative experiment of marigold with different planting densities[J]. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*, 2019(4): 44–47.]
- [35] 张圆圆. 黄花蒿中青蒿素的超高压胶束介质提取与口服药物递送系统研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2022. [ZHANG Y Y. Study on extraction of artemisinin from *Artemisia annua* by ultra-high pressure micelle medium and oral drug delivery system[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2022.]
- [36] 吴微微. 两种高水溶性二氢槲皮素粉体的制备、表征和生物利用度研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015. [WU W W. Preparation, characterization and bioavailability of two high water-soluble taxifolin powders[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2015.]
- [37] 王子剑. 甘草黄酮的提取纯化与水溶性纳米粒子的制备及评价[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020. [WANG Z J. Extraction and purification of liquorice flavonoids and preparation and evaluation of water-soluble nanoparticles[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2020.]
- [38] AMER MEZIANE I, MAIZI N, ABATZOGLOU N, et al. Modelling and optimization of energy consumption in essential oil extraction processes[J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2020, 119: 373–389.
- [39] ZHANG X P, CHENG X M. Energy consumption, carbon emissions, and economic growth in China[J]. *Ecological Economics*, 2009, 68(10): 2706–2712.
- [40] 曾静静, 张志强, 曲建升, 等. 家庭碳排放计算方法分析评价[J]. 地理科学进展, 2012, 31(10): 1341–1352. [ZENG J J, ZHANG Z Q, QU J S, et al. Analysis and evaluation of household carbon emission calculation methods[J]. *Progress in Geography*, 2012, 31(10): 1341–1352.]
- [41] 刘艳杰. 东北红豆杉中紫杉醇的提取和细菌纤维素基口服胶束的构建[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2022. [LIU Y J. Extraction of Paclitaxel from *Taxus cuspidata* and construction of bacterial cellulose-based oral micelles[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2022.]
- [42] WANG W, CHENG M, ZHANG W H, et al. Study on the technology of ultrahigh pressure extraction of the components from the pedicel of cicada flower[J]. *Hans Journal of Food and Nutrition Science*, 2020, 9: 236.
- [43] YU J, WANG J, LIU C, et al. Application of response surface methodology to optimise supercritical carbon dioxide extraction of oil from rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2012, 47(6): 1115–1121.