

响应面法优化咖啡生豆水提绿原酸 工艺研究

饶建平^{1,2}, 王文成³, 李国辉^{1,2}, 张远志^{1,*}, 尤惠君¹

(1. 大闽食品(漳州)有限公司, 福建漳州 363000;

2. 福建省饮料用植物提取加工企业重点实验室, 漳州 363000;

3. 漳州职业技术学院, 福建漳州 363000)

摘要:以越南Robusta咖啡生豆为原料,采用水提方法提取绿原酸。通过单因素实验对料水比、提取温度、pH、提取时间等提取工艺参数进行研究,并通过响应面法优化提取工艺,建立二次多项数学模型。结果表明,单因素和响应面优化咖啡生豆水提绿原酸的最优工艺参数为:料水比1:20、提取温度为81℃,提取时间为60 min, pH为3.6,绿原酸提取得率为3.27%。

关键词:绿原酸,水提,越南Robusta咖啡生豆,响应面法

Study on optimization of water extraction conditions of chlorogenic acid from green coffee beans by response surface method

RAO Jian-ping^{1,2}, WANG Wen-cheng³, LI Guo-hui^{1,2}, ZHANG Yuan-zhi^{1,*}, YOU Hui-jun¹

(1. Damin Foodstuff (Zhangzhou) Co., Ltd., Zhangzhou 363000, China;

2. Fujian Provincial Key Laboratory for Extracting & Processing Technology of Edible Plant, Zhangzhou 363000, China;

3. Zhangzhou Institute of Technology, Zhangzhou 363000, China)

Abstract: The water extraction of chlorogenic acid was studied by using Robusta green coffee beans from Vietnam as raw material. Main factors (the ratio of material to water, extraction temperature, pH, extraction time) influencing the extraction of chlorogenic acid were studied by single factor experiments, and further the response surface method was used to optimize conditions for the extraction of chlorogenic acid. Optimized conditions for the extraction of chlorogenic acid was obtained: the ratio of material to water 1:20, extraction temperature 81℃, pH 3.6, extraction time 60 min. The extraction ratio of chlorogenic acid was 3.27%.

Key words: chlorogenic acid; water extraction; Robusta green coffee beans from Vietnam; response surface method

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)22-0298-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.22.053

绿原酸,是由咖啡酸与奎尼酸生成的缩酚酸,是植物体在有氧呼吸过程中经莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物,具有广泛的生物活性,有抗菌、抗病毒、增高白血球、保肝利胆、抗肿瘤、降血压、降血脂、清除自由基和兴奋中枢神经系统等作用^[1-3]。绿原酸广泛存在于各类植物中,在杜仲叶、金银花、山银花、咖啡等植物中含量相对较高。咖啡属茜草科咖啡属多年生常绿灌木或小乔木,生咖啡豆中含2%~8%^[4]的绿原酸,提取绿原酸可选用生咖啡豆中的瑕疵豆(碎豆、未熟豆等),尤其是Robusta咖啡生豆的瑕疵豆,不仅绿原酸含量丰富,而且原料来源丰富、价格低廉。从Robusta咖啡生豆的瑕疵豆中提取绿原酸,即

充分利用了资源,又提高了咖啡的附加值(绿原酸附加值较高)。目前从Robusta咖啡生豆中提取绿原酸的研究鲜见报道。

绿原酸易溶于水、醇、丙酮等溶剂中,目前对于绿原酸的提取研究大部分都集中在从金银花、杜仲叶中提取,提取方法大多采用水提、醇提、超声波法、微波等方法^[5-6]。从实际生产应用来看,超声波法、微波等提取方法因自身技术难点问题,工艺放大风险、成本较高,目前大多仍处于实验室阶段。醇提绿原酸,虽然提取得率相对水提绿原酸会高,但是考虑到醇提绿原酸后,后续需增加乙醇分离这道工序,且醇提在实际生产应用过程中,涉及安全问题,对车间、

收稿日期: 2015-03-09

作者简介: 饶建平(1988-),男,硕士研究生,工程师,研究方向:农产品加工及贮藏, E-mail: rjp30503@163.com。

* 通讯作者: 张远志(1970-),男,高级工程师,研究方向:天然植物加工, E-mail: turelife@163.com。

生产设备、人员操作等要求较高(防爆等级),生产成本较高。本文从实际生产出发,选用水提方法提取咖啡生豆中的绿原酸。

本文选用越南Robusta咖啡生豆为原料,采用水提方法结合高效液相色谱法,对水提咖啡生豆绿原酸的工艺进行了探索,并用响应面法优化咖啡生豆水提绿原酸工艺,以期获得咖啡生豆水提绿原酸的最佳工艺,从而为开拓绿原酸的另一可行性来源提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

咖啡生豆 越南Robusta咖啡生豆,购于阿露玛咖啡(上海)有限公司;绿原酸标准品 质量分数大于99.0%,中国药品生物制品检定所;甲醇 色谱纯;冰醋酸、乙醇、盐酸、氢氧化钠、柠檬酸与柠檬酸钠 均为分析纯;水 RO水。

Waters2998高效液相色谱仪 美国Waters公司;BL-300电子天平 厦门佰伦斯电子科技有限公司;SENCO-GG17旋转蒸发器 上海申生科技有限公司;粉碎机 德国Mahlkonig;FD-1E-50冷冻干燥机 上海沪沁仪器设备有限公司;层析柱Φ1.5 cm×15 cm。

1.2 实验方法

1.2.1 实验工艺流程 咖啡生豆→粉碎→水提→过滤→滤液→测量滤液体积→高效液相色谱法测定滤液中绿原酸的含量。

采用Mahlkonig磨粉机10档粉碎越南Robusta咖啡生豆,称取40 g粉碎好咖啡生豆,不同条件下进行水提,提取液用300目滤布进行过滤,测量滤液体积,高效液相色谱法测定滤液中绿原酸的含量。

1.2.2 绿原酸提取得率 取过滤后滤液,采用高效液相色谱法测定滤液中绿原酸的含量^[7-8],绿原酸的提取得率按照以下公式进行计算。

绿原酸提取得率(%)=[滤液中绿原酸含量(g/L)×滤液体积(L)]/原料质量(g)×100

1.2.3 单因素实验 采用单因素实验研究咖啡生豆水提过程中料水比、温度、pH、提取时间等因素对绿原酸提取得率的影响。

1.2.3.1 料水比对咖啡生豆水提绿原酸的影响 选取40 g粉碎好咖啡生豆,水提条件:提取温度80 ℃,提取时间60 min,RO水pH=6.5,选取料液比1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,以绿原酸提取得率为指标,研究料水比对咖啡生豆水提绿原酸的影响。

1.2.3.2 提取温度对咖啡生豆水提绿原酸的影响 选取40 g粉碎好咖啡生豆,水提条件:料液比1:20,提取时间60 min,RO水pH=6.5,选取提取温度50、60、70、80、90 ℃,以绿原酸提取得率为指标,研究提取温度对咖啡生豆水提绿原酸的影响。

1.2.3.3 提取时间对咖啡生豆水提绿原酸的影响 选取40 g粉碎好咖啡生豆,水提条件:料液比1:20,提取温度80 ℃,RO水pH=6.5,提取时间选取30、60、90、120、150 min,以绿原酸提取得率为指标,研究提取时间对咖啡生豆水提绿原酸的影响。

1.2.3.4 pH对咖啡生豆水提绿原酸的影响 选取40 g

粉碎好咖啡生豆,水提条件:料液比1:20,提取时间60 min,提取温度80 ℃,调节提取用水pH,选取2、3.5、5、6.5、8、9.5,以绿原酸提取得率为指标,研究pH对咖啡生豆水提绿原酸的影响。

1.2.4 响应面实验 根据单因素实验的实验结果,选取提取温度、pH、提取时间三因素,通过Box- Behnken方法进行响应面实验,以获得咖啡生豆水提绿原酸最佳工艺。

表1 响应面分析因子及水平表

Table 1 Factors and levels of response surface method (RSM)

因子	水平		
	-1	0	1
x ₁ 提取温度(℃)	70	80	90
x ₂ 提取时间(min)	30	60	90
x ₃ pH	2	3.5	5

1.2.5 数据处理 统计数据采用Microsoft Excel 2003和Design-Expert V 8.0.6软件进行分析

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 料水比对咖啡生豆水提绿原酸的影响 由图1可以看出,随着料水比的增加,绿原酸提取得率也递增,从料水比1:10~1:20,绿原酸提取得率增加较快,随后随着料水比的增加,绿原酸提取得率增加较慢,基本持平。考虑到料水比的增加,不仅给后续的分纯化处理增加了难度,而且还增加了一定的生产成本(RO水、污水处理等),所以在保证提取得率的前提下,综合考虑,选取料水比1:20较佳。

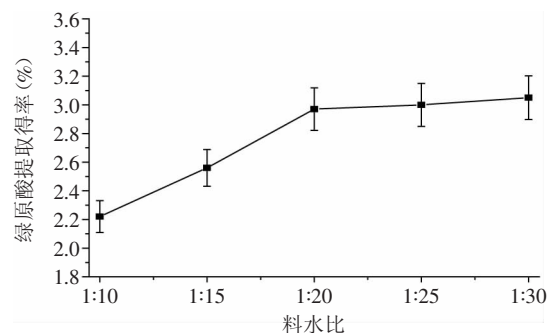


图1 料水比对咖啡生豆水提绿原酸得率的影响

Fig.1 Effect of ratio of material to solvent on extraction rate

2.1.2 提取温度对咖啡生豆水提绿原酸的影响 由图2可知,随着提取温度的升高,绿原酸提取得率也逐渐增加,但当温度升高到80 ℃左右时,绿原酸提取得率达到最大,当温度升高到90 ℃时,绿原酸提取得率开始有略微减少。分析原因:提取温度升高,提取过程传质扩散系数增加,加快了提取过程,有助于绿原酸的溶出,但是当温度升高到90 ℃左右,因绿原酸自身结构的不稳定性(绿原酸分子结构中有酯键、不饱和双键及多元酚三个不稳定部分),长时间处于高温状态易发生变化(氧化、分解等),所以绿原酸提取得率减少。综合考虑,提取温度不宜太高,选在80 ℃

左右为宜。

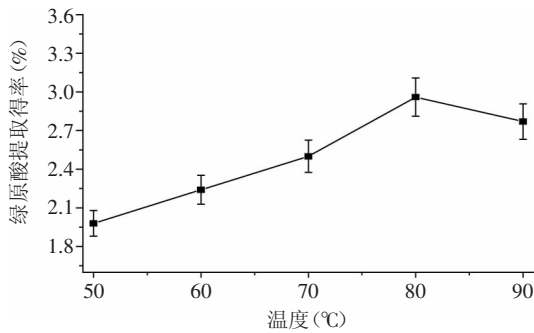


图2 提取温度对咖啡生豆水提绿原酸得率的影响

Fig.2 Effect of temperature on extraction rate

2.1.3 提取时间对咖啡生豆水提绿原酸的影响 由图3可以看出,提取时间小于60 min时,绿原酸提取得率随着提取时间的增加而增加,当提取时间在60~90 min,绿原酸提取得率基本维持不变,当提取时间大于90 min后,绿原酸提取得率随着提取时间的增加反而减少。分析原因:咖啡生豆水提过程中,传质过程大致如下:水先扩散至碎豆表面,再进入碎豆内部,绿原酸等水溶性成分在碎豆内部溶解,溶解后的绿原酸等水溶性成分扩散至碎豆表面,溶解后的绿原酸等水溶性成分扩散至水溶液中。提取时间的增加延长了传质过程,有助于绿原酸等水溶性成分的溶出,但当绿原酸等水溶性成分在水溶液中的浓度与碎豆细胞中的绿原酸等水溶性成分的浓度越接近时,传质速度越慢,绿原酸等水溶性成分溶出速度越慢。同时,咖啡生豆水溶性成分中绿原酸因分子结构中有酯键、不饱和双键及多元酚三个不稳定部分,高温条件下易氧化、分解,长时间条件下氧化、分解的更多,从而导致提取液中除绿原酸外的其他水溶性成分浓度越来越高,而绿原酸因氧化、分解,浓度越来越低。所以高温提取条件下,提取时间不宜过长,从趋势图上看,提取时间选在60~90 min提取得率出现峰值。考虑到实验结果在60 min较90 min高,因此提取时间选取60 min左右为宜。

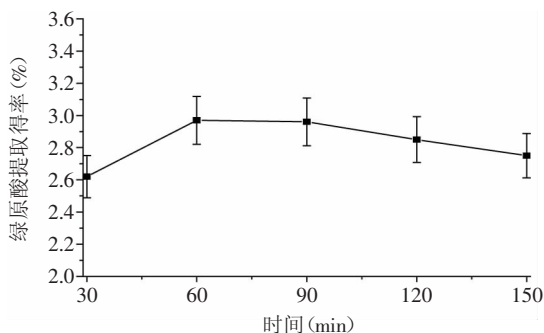


图3 提取时间对咖啡生豆水提绿原酸得率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on extraction rate

2.1.4 pH对咖啡生豆水提绿原酸的影响 由图4可以看出,随着pH的升高,绿原酸提取得率缓慢增加,当pH大于3.5后,随着pH的升高,绿原酸提取得率却

逐渐减小,从总体上看,在pH小于6.5时,绿原酸提取得率减小缓慢,pH大于6.5后,绿原酸提取得率迅速减小。分析原因:绿原酸为极性较强的有机酸,不稳定,在碱性条件下,更加不稳定,容易发生水解。碱性条件下,绿原酸发生水解,提取得率迅速减小,所以绿原酸提取应在酸性条件下,而绿原酸在pH3.5左右提取得率最高,综合考虑,绿原酸提取pH选在3.5左右为宜。

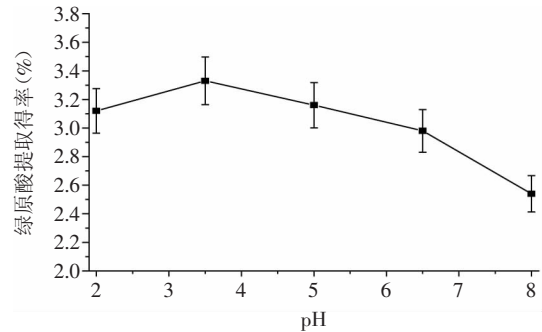


图4 pH对咖啡生豆水提绿原酸得率的影响

Fig.4 Effect of pH on extraction rate

2.2 响应面实验结果

2.2.1 响应面实验结果分析 响应面实验结果见表2,对表2数据进行回归分析,得到回归方程:

$$Y=0.033+0.000425x_1+0.0000125x_2+0.0001125x_3-0.000625x_1x_2-0.000325x_1x_3+0.000000x_2x_3-0.002045x_1^2-0.00177x_2^2-0.00097x_3^2$$

再对上述该模型进行响应面分析,并参照失拟项 F 值最小, p 值最高原则^[9],手动对不显著交互作用项(x_2x_3)进行有条件地剔除后,得到新的回归方程:

$$Y=0.033+0.000425x_1+0.0000125x_2+0.0001125x_3-0.000625x_1x_2-0.000325x_1x_3-0.002045x_1^2-0.00177x_2^2-$$

表2 响应面实验结果

Table 2 Results of response surface method (RSM)

实验号	x_1	x_2	x_3	Y 提取得率 (%)
1	0	0	0	3.29
2	-1	1	0	2.95
3	-1	0	1	3.02
4	1	0	-1	3.03
5	0	1	1	2.99
6	1	1	0	2.92
7	0	-1	-1	3.05
8	0	0	0	3.33
9	1	-1	0	3.00
10	0	0	0	3.24
11	0	-1	1	3.03
12	0	0	0	3.31
13	-1	-1	0	2.78
14	0	1	-1	3.01
15	1	0	1	3.03
16	0	0	0	3.30
17	-1	0	-1	2.89

表3 回归模型方差分析
Table 3 Variance analyses for the regression mode

差异来源	平方和	自由度	均方	F值	p	
模型项	4.194E-005	8	5.243E-006	35.11	<0.0001	**
x_1	1.445E-006	1	1.445E-006	9.68	0.0144	*
x_2	1.250E-009	1	1.250E-009	8.372E-003	0.9293	
x_3	1.013E-007	1	1.013E-007	0.68	0.4341	
x_1x_2	1.563E-006	1	1.563E-006	10.46	0.0120	*
x_1x_3	4.225E-007	1	4.225E-007	2.83	0.1310	
x_1^2	1.761E-005	1	1.761E-005	117.93	<0.0001	**
x_2^2	1.319E-005	1	1.319E-005	88.35	<0.0001	**
x_3^2	3.962E-006	1	3.962E-006	26.53	0.0009	**
残差	1.195E-006	8	1.493E-007			
失拟度	7.425E-007	4	1.856E-007	1.64	0.3212	
纯误差	4.520E-007	4	1.130E-007			
总变异	4.314E-005	16				
	$R^2=0.9723$		$R^2_{adj}=0.9446$		$R^2_{pred}=0.8087$	

0.00097 x_3^2

对新的模型进行方差分析结果见表3,由表3可以看出,该模型项 $p<0.0001$,说明模型高度显著;整体模型失拟度 $p=0.3212>0.1$,表明模型可信度高,而且调整确定系数与预测确定系数之差($Adj-R^2-Pre-R^2$) <0.2 ,说明模型的实验值与预测值相关性较高,所建模型准确^[10]。回归方程的 $R^2=0.9723$ 与校正 $R^2_{adj}=0.9446$ 相近,表明咖啡生豆水提绿原酸工艺提取率和预测值有较好的拟合度,可用于实验结果的预测^[11]。从F值可知,对提取率的影响顺序为:温度(x_1) $>pH$ (x_3) $>$ 时间(x_2), x_1 、 x_1x_2 对提取率的影响显著($p<0.05$),三个因子的二次项对提取率的影响极显著($p<0.01$),其余因子均不显著。

对表3的分析结果作回归优化响应曲面,得到图5、图6。

图5直观地反映了当固定pH($x_3=3.56$)时,提取温度和时间对绿原酸提取率影响显著,绿原酸提取率随提取温度及时间的增加而呈现由低到高再降低的趋势,即绿原酸提取率在合适的提取温度(80~83℃)及时间(55~63 min)下具有极大值。

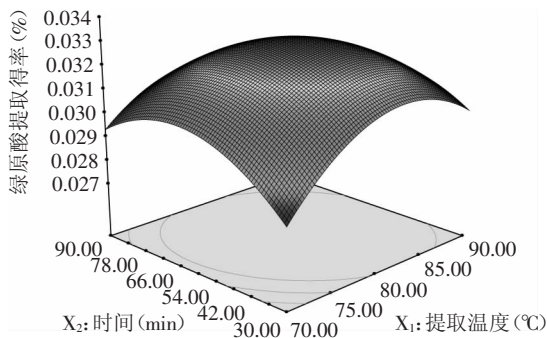


图5 提取温度和时间对咖啡生豆水提绿原酸工艺提取率的影响

Fig.5 The response surface of temperature and time on extraction rate of chlorogenic acid

图6反映了当固定时间($x_2=59.55$ min)时,绿原酸提取率随提取温度及pH的增加而呈现由低到高再降低的趋势,即绿原酸提取率在提取温度(80~83℃)及pH(3.2~3.8)下具有极大值。

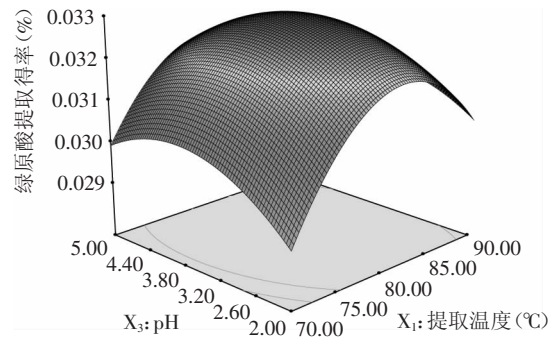


图6 提取温度和pH对咖啡生豆水提绿原酸工艺提取率的影响

Fig.6 The response surface of temperature and pH on extraction rate of chlorogenic acid

以绿原酸提取率作为响应值,利用Design-Expert.V8.0.6软件对实验数据进行最优化分析,最终得到最佳提取温度81.03℃,时间59.55 min,pH3.56,绿原酸提取率3.30%。

2.2.2 最佳工艺验证性实验 考虑到实际操作的方便,取提取温度为81℃,提取时间为60 min,pH为3.6时,进行三次验证性实验取平均值,得绿原酸提取率3.27%,实验值与预测值接近,验证了该模型的可靠性。

3 结论

采用水提法提取越南Robusta咖啡生豆中的绿原酸,根据单因素实验和Box-Behnken响应面分析法,获得咖啡生豆水提绿原酸的最佳工艺:料水比1:20、提取温度为81℃,提取时间为60 min,pH为3.6,最佳工艺条件下绿原酸提取率达到3.27%。本文为从

(下转第319页)

食品工业科技, 2015, 36(1): 280-284.

[6] Leistner L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 55(1-3): 181-186.

[7] 赵颖, 冯伟. 抗氧化剂延长低温肉制品保存期研究[J]. 中国食品添加剂, 2010(1): 181-185.

[8] Khanjari A, Karabagias I, Kontominas M. Combined effect of N, O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets[J]. Food Science and Technology, 2013, 53(1): 94-99.

[9] 张立彦, 贾艳花, 芮汉明. 壳聚糖和茶多酚对鸡肉的保鲜效果及复合保鲜条件的优选[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(12): 177-182.

[10] 赵毓芝, 刘成国, 周玄, 等. 响应面法优化冷鲜肉复合保鲜剂研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 263-269.

[11] 常超, 王凌, 伍金娥, 等. 响应面法优化冷鲜肉复合保鲜剂的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(2): 236-240.

[12] 施建兵, 谢晶, 高志立, 等. 响应面法优化鳕鱼复合生物保鲜剂配方[J]. 食品科学, 2014, 35(20): 37-41.

[13] 江苏省疾病预防控制中心, 上海市卫生监督所, 杭州市卫生监督所, 等. GB 2707-2005 鲜(冻)畜肉卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.

[14] 张全景, 冯小海, 徐虹, 等. ϵ -聚赖氨酸在冷鲜猪肉保鲜中的应用[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 290-296.

[15] Rababah TM, Feng H, Yang W, et al. Effect of grape seed extracts on physicochemical and sensory properties of goat meat cooked by conventional electric or microwave ovens[J]. Food Science Technology Research, 2012, 18(3): 325-332.

[16] GB/T 4789.2-2010 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[17] GB/T 5009.44-2003 肉与肉制品卫生标准的分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

[18] Ali S, Zhang W, Rajput N, et al. Effect of multiple freeze-thaw cycles on the quality of chicken breast meat[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 808-814.

[19] Guo Y C, Shuang Q H, Yan H Y, et al. Response surface

methodology with prediction uncertainty: A multi-objective optimisation approach[J]. Chemical Engineering Research and Design, 2012, 90(9): 1235-1244.

[20] Govaris A, Solomakos N, Pexara A, et al. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella Enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 137(2-3): 175-180.

[21] Ntzimani A G, Giatrakou V I, Savvaidis I N. Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4°C: Microbiological and sensory evaluation[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2010, 11(1): 187-196.

[22] 范文教, 王文睿, 张永奎, 等. 茶多酚对香肠发色效果影响的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 288-291.

[23] Zbigniew A K, Hyejeong Y, Rutley D L, et al. The effect of high pressure on microbial population, meat quality and sensory characteristics of chicken breast fillet[J]. Food Control, 2011, 22(1): 6-12.

[24] 周然, 刘源, 谢晶, 等. 电解水对冷藏河豚鱼肉质及品质变化的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(10): 365-369.

[25] 汤元睿, 谢晶, 李念文, 等. 不同冷链物流过程对金枪鱼品质及组织形态的影响[J]. 农业工程学报, 2014, 30(5): 285-291.

[26] McDougall B. Changes in colour and opacity of meat[J]. Food Chemistry, 1982, 9(1-2): 75-88.

[27] Latou E, Mexis S F, Badeka A V, et al. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets[J]. Food Science and Technology, 2014, 55(1): 263-268.

[28] 张晓娟, 张岗, 吕欣. 羊肉保鲜技术研究进展及发展趋势[J]. 食品工业科技, 2006, 27(2): 198-200.

[29] 刘晓丽, 姚秀玲, 吴克刚, 等. 复合香辛料精油在冷却猪肉保鲜中的应用[J]. 食品科技, 2010, 35(5): 271-276.

[30] 薛菲. 维生素C与异抗坏血酸钠对辐照盐水鹅品质的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 325-327.

(上接第301页)

Robusta咖啡生豆中提取绿原酸的产业化提供了一定的理论依据, 也为开拓绿原酸的另一可行性来源提供了科学依据。

参考文献

[1] 龙文静. 咖啡豆中咖啡因与绿原酸的研究进展[J]. 广西轻工业, 2010, 1(1): 1-2.

[2] Kasai H, Fukada S, Yamaizumi Z, et al. Action of chlorogenic acid in vegetables and fruits as an inhibitor of 8-hydroxydeoxyguanosine formation *in vitro* and in a rat carcinogenesis model-El[J]. Food & Chem Toxicol, 2000, 38(5): 467-471.

[3] 张泽生, 乌兰. 金银花中绿原酸的体外抑菌和抗氧化性的研究[J]. 天津科技大学报, 2005, 6(2): 6-8.

[4] 刘军海, 裘爱泳. 绿原酸及其提取纯化和应用前景[J]. 粮食

与油脂, 2003(9): 44-46.

[5] 胡鲜宝, 范贵生, 吕加平. 绿原酸提取纯化及检测方法的研究进展[J]. 农产品加工·学刊, 2009, 11(11): 85-88.

[6] 尤秀丽, 池路花, 曹芸梅, 等. 响应面法优化微波超声双辅助提取金银花绿原酸工艺[J]. 食品工业科技, 2014, 35(12): 272-276.

[7] 许善伟. 高效液相法测定咖啡豆提取物中绿原酸的含量[J]. 广西医学, 2009, 11(11): 1702-1703.

[8] 罗晓燕, 吴九九, 温艳梅, 等. 高效液相色谱法同时测定绿原酸及其五种主要代谢产物[J]. 食品工业科技, 2013(4): 66-68.

[9] 徐向宏, 何明珠. 实验设计与 Design-Expert、SPSS 应用[M]. 北京: 科学工业出版社, 2010: 146-160.

[10] 朱俊向, 吴昊, 杨绍兰, 等. 超声辅助提取冻干番茄粉番茄红素的工艺优化[J]. 北京: 农业工程学报, 2013, 29(18): 284-290.

[11] 李云雁, 胡传荣. 实验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 134-136.