酵母源金属硫蛋白对慢性铅中毒小鼠排铅及肝脏保护作用

王颖[1,2]，徐炳政[3]，王欣卉[1]，李晶晶[1]，张东杰[1]，张桂芳[2]
（1.黑龙江八一农垦大学食品学院，黑龙江大庆 163319）（2.国家杂粮工程技术研究中心，黑龙江大庆 163319）
（3.青岛琅琊台集团股份有限公司，山东青岛 266400）

摘要：探讨具有自主知识产权酵母源金属硫蛋白（MT）对慢性铅中毒小鼠的排铅及肝损伤保护作用。以二巯基丁二酸（DMSA）与动物源金属硫蛋白（兔肝 Zn-MT）为对照，醋酸铅溶液致慢性铅中毒小鼠连续灌胃给予 MT 35 d后，测定小鼠体重、血铅、部分血常规及肝功能指标水平，观察小鼠肝组织病变程度。与模型组比较，MT 处理组小鼠体重无显著变化（$P>0.05$）；高剂量 MT 处理组小鼠血铅含量显著下降（$P<0.05$），白细胞、红细胞平均体积及血红蛋白水平显著升高（$P<0.05$），但各中毒组小鼠粒细胞计数水平无显著差异性（$P>0.05$）；各给药组小鼠 GPT 水平均显著下降（$P<0.05$），同时高剂量 MT 处理组小鼠 GOT 水平均显著下降（$P<0.05$），小鼠肝组织病变程度明显改善，其改善程度优于 DMSA 组。两种酵母源金属硫蛋白对慢性铅中毒小鼠均具有明显的排铅及肝脏保护作用，作用效果类似于动物源金属硫蛋白。

关键词：金属硫蛋白；铅中毒；损伤；保护
文章篇号：1673-9078(2015)8-12-17 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.003

Lead-expelling and Liver-protecting Effects of Yeast Metallothionein on Mice with Chronic Lead Poisoning

WANG Ying[1,2], XU Bing-zheng[3], WANG Xin-hui[1], LI Jing-jing[1], ZHANG Dong-jie[1], ZHANG Gui-fang[2]
(1.College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China) (2.National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing 163319, China) (3.Qingdao Langyatai (Group) Co., Ltd, Qingdao 266400, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of yeast metallothionein (MT) with known lead-expelling and liver-protecting properties on mice in which, chronic lead poisoning was induced by lead acetate solution gavage for 35 days. Dimercaptosuccinic acid (DMSA) and animal MT (rabbit liver Zn-MT) were used as controls and MT was administered to the mice. Subsequently, the weight, blood lead levels, and liver function indices were measured and a routine blood tests were conducted to observe the severity of pathological changes in the liver tissue. Compared with that of the control group, the weight of MT-treated groups was not significantly different. The blood lead level in high-dose MT-treated group was significantly decreased, while the levels of white blood cells (WBC), mean corpuscular volume (MCV), and hemoglobin (HGB) were significantly increased ($p < 0.05$). However, there were no significant differences in granulocyte (GR) counts between all groups ($p > 0.05$). The levels of glutamate pyruvate transaminase (GPT) in all MT-treated groups were significantly decreased ($p <0.05$). Meanwhile, the levels of glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) in the high-dose MT-treated group were significantly decreased ($p <0.05$), pathological changes in liver tissue were ameliorated, and the degree of improvement was higher than that of DMSA group. Two types of yeast metallothionein exhibited lead-expelling and liver-protecting effects on mice with chronic lead poisoning, similar to animal metallothionein.

Key words: metallothioneins; lead poisoning; damage; protection

随着工业污染的加剧，铅中毒已被公认为全球性的公共健康问题[1]。大量事实表明，铅对肝具有显著的致损毒性，其毒性机制主要为刺激机体氧化应激增加，增强生物膜脂质过氧化，从而导致肝损伤及生理功能失调[2]。伴随着铅中毒事件的不断出现，铅中毒已经引起国内外健康领域高度重视，我国卫生部与劳动保障部已于 2002 年将铅中毒列为十大类职业病的

收稿日期：2014-09-12
项目基金：黑龙江省博士后资助项目（LBH-Z13168）；黑龙江省自然基金（C201445）；黑龙江省农垦总局“十二五”重点科技计划项目（HNK125B-13-05）；黑龙江省新世纪优秀人才培养计划（2014-2016）
作者简介：王颖（1979-），女，副教授，研究方向为农产品加工与贮藏工程及食品质量安全；徐炳政，并列第一作者
通讯作者：张东杰（1966-），男，博士，教授

一种，因此寻求一种高效、廉价及安全的广谱功能性排铅食品及促排铅药物引起国内外学者越来越多的关注[3]。目前国内外用于排铅治疗的药物主要分为EDTA类金属螯合剂（依地酸二钠钙）、DMSA 类竞争性解毒剂（DMSA）与高锌中药方剂（金银花、木瓜及枸杞等），但西药类排铅制剂虽然排铅效果明显，但普遍存在增加肾功能负担等副作用，而中药方剂因其疗效慢及毒性不确定性受到极大的限制[4]。

金属硫蛋白（Metallothionein，简称 MT）为一类低分子、富金属并含大量半胱氨酸的蛋白质，广泛存在于各类生物体中[5]，因其结构中的金属硫醇簇赋予了其螯合重金属、抗氧化应激及抑制脂质过氧化等功能[6]。酵母源 MT 为铜、锌及镉等金属离子诱导酵母表达所产生的一类，相对于动物源 MT 具有生产周期短、提取率高、价格低廉及高安全性等优点，越来越多的受到国内外学者的重视。本文以动物源金属硫蛋白（兔肝 Zn-MT）与常用化学类促排铅药物（二巯基丁二酸，DMSA）为对照，探究了具有自主知识产权[7-9]的两种构型酵母源 MT 对慢性铅中毒小鼠排铅及肝脏保护作用，并对其保护机制进行初步探究，旨在为酵母源 MT 在功能性排铅食品及促排铅药物方面的应用提供理论基础及数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康昆明种小鼠（批准号：医动字第 10-5101），雄性，体质量（20±2）g，由长春生物制品研究所提供。

1.2 实验材料与试剂

酵母源金属硫蛋白（MT-Ⅰ、MT-Ⅱ，纯度 95%），黑龙江八一农垦大学实验室自提；兔肝 Zn-MT（纯度 99%），购自上海源叶生物科技有限公司；二巯基丁二酸（DMSA），购自上海研臣实业有限公司；醋酸铅、肝素钠、伊红染液，均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 实验仪器

血常规分析仪，东莞市健威医疗器械有限公司；XD811F 型快速生化分析仪，武汉三丰医疗设备有限公司；YB-P50001 型电子天平，北京长拓锐新科技发展有限公司；BS224S 型电子天平，鹤壁市鑫泰高科仪器制造有限公司；SpectrAA 200Z 型石墨炉原子吸收分光光度计，美国 Varian 公司；1805 型切片机（石蜡）、EG1150 型组织包埋机，德国 Leica 公司；CK40 型光学显微镜，日本 Olympus 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物分组与饲养

按照中华人民共和国卫生部颁布的保健食品检验与评价技术规范（2003 版）进行促排铅模型建立与功能评价的研究。取健康小鼠 120 只，适应性饲养一周，称重，随机抽取 10 只为正常对照组（NOR 组），其余小鼠作为铅染毒小鼠，随机分为 11 组：模型对照组（MoD 组）、阳性对照组（DMSA 组）、Zn-MT 处理组（低、中、高剂量各 1 组）、MT-Ⅰ处理组（低、中、高剂量各 1 组）、MT-Ⅱ处理组（低、中、高剂量各 1 组），每组小鼠 10 只。

小鼠饲养在动物实验专用塑料鼠笼中，以无菌碎木屑为垫料，每隔两天换一次垫料，顶部配有钢丝网盖以及自动饮水器，室温（24±2）℃，相对湿度（45±3）%，每日光照 12 h，摄食标准饲料。

1.4.2 给药剂量与方法

各组小鼠每天同一时间一次性灌胃给药 0.2 mL，连续 35 d，其中 NOR 组小鼠每天自由饮用含 25 μl/L 冰醋酸的去离子水，其余各铅染毒组小鼠每天自由饮用含 0.24%醋酸铅的去离子水溶液（溶液中加入 25 μl/L 冰醋酸），各组小鼠具体灌胃药剂分配见表 1。

表 1 实验动物的药剂分配

Table 1 Reagent and drugs administered to experimental animals

组名	药物名	药物剂量
正常对照组（NOR 组）	生理盐水	2.00 mg/kg b.w.
模型对照组（MoD 组）	生理盐水	2.00 mg/kg b.w.
阳性对照组（DMSA 组）	DMSA	2.00 mg/kg b.w.
MT 低剂量组（MT-LD 组）	Zn-MT、MT-Ⅰ或 MT-Ⅱ	1.60 mg/kg b.w.
MT 中剂量组（MT-MD 组）	Zn-MT、MT-Ⅰ或 MT-Ⅱ	2.00 mg/kg b.w.
MT 高剂量组（MT-HD 组）	Zn-MT、MT-Ⅰ或 MT-Ⅱ	2.40 mg/kg b.w.

1.4.3 动物指标测定

实验期间，每天观察并记录小鼠形态特征、死亡率及体重变化，末次给药 24 h 后，摘眼球取血，每组随机选取 5 只小鼠分离血清，采用快速生化分析仪测定血清中谷丙转氨酶(GPT)与谷草转氨酶(GOT)水平，其余 5 只小鼠保存全血（肝素钠抗凝），血常规分析仪测定选定的部分血常规指标，另用石墨炉原子吸收光

谱法测定血液中矿物元素铅的含量。

1.4.4 统计学分析

数据采用$\bar{x}\pm s$表示，采用SAS 9.1统计学软件进行统计学分析（T检验），P<0.05有统计学意义，Origin 8.5软件绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 实验动物一般情况

小鼠铅染毒初期，皮毛粗糙，活动量增加，与正常组比较，各染毒组小鼠对外界环境刺激敏感，明显出现好斗现象，但日常聚集于鼠笼一角，饮食及饮水量明显减少，尿液呈深黄色。该现象与本课题组前期急性铅中毒小鼠模型研究结果相类似（未发表）。灌胃给药35 d后，各给药组小鼠铅中毒症状有不同程度的缓解。

2.2 酵母源MT对慢性铅中毒小鼠体重的影响

小鼠饲喂35 d后，各组体重无显著差别（P>0.05），由此推测本实验所设置染毒铅浓度对小鼠正常新陈代谢并未产生重度影响，且小鼠自身对低浓度的慢性铅毒性具有一定的抗性。

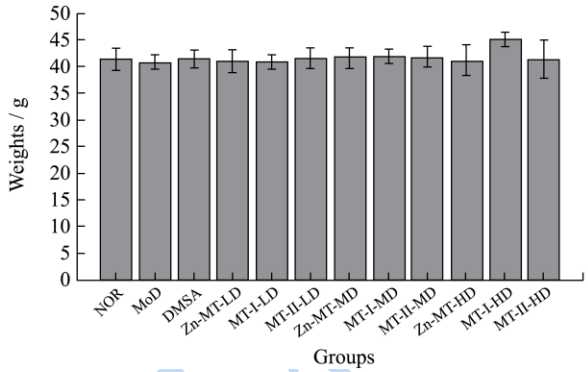


图1 酵母源MT对小鼠体重的影响

Fig.1 Effects of yeast metallothioneins on the body-weight of mice

2.3 酵母源MT对慢性铅中毒小鼠血铅水平的影响

由图2可以看出，与正常组比较，小鼠慢性铅接触后，模型对照组小鼠血铅水平显著升高（P<0.05）。灌胃给药35 d后，与模型对照组比较，DMSA与中、高剂量MT处理组（MT-Ⅱ-MD除外）小鼠血铅水平显著下降（P<0.05），且高剂量MT处理组小鼠血铅水平显著低于DMSA组（P<0.05），其中高剂量MT-Ⅰ处理组小鼠血铅水平显著低于其他药物处理组（P<0.05）。结果表明，DMSA与三类MT均具有较好的排铅效果，能够显著降低慢性铅中毒小鼠血铅水平，其中高剂量MT排铅效果显著优于实验设置浓度（常用口服浓度）下的DMSA，且MT排铅效果与剂量呈正相关，其中高剂量MT-Ⅰ排铅效果最好。

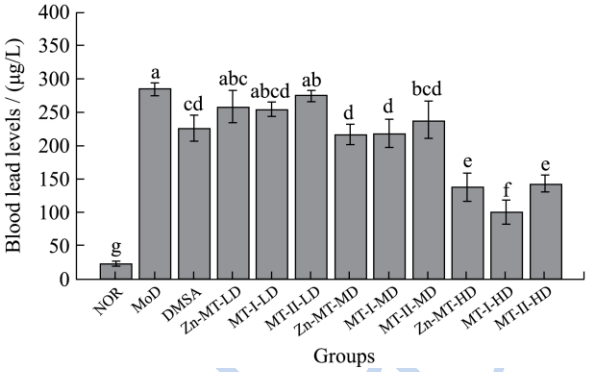


图2 酵母源MT对小鼠血铅水平的影响

Fig.2 Effect of yeast metallothioneins on the bloodleadlevels in mice

注：“a~g代”表差异显著性，字母不同表示差异显著（P<0.05），字母相同表示差异不显著（P>0.05）。

2.4 酵母源MT对慢性铅中毒小鼠血常规指标的影响

目前医疗上通常将血常规检查作为铅中毒检测的首检项，而白细胞、粒细胞计数、红细胞平均体积及血红蛋白等被认为受铅影响较大的指标。普遍认为铅在机体蓄积后，能够破坏血红素合成相关酶活性，减少血红素与球蛋白的结合，同时损伤红细胞DNA及其正常细胞结构，造成溶血，从而导致红细胞平均体积及血红蛋白水平异常[10]。另外，高铅蓄积使机体氧化应激增强，过氧化产物增多，损伤肝组织及功能，引起大量炎症，同时破坏机体免疫系统，从而导致白细胞及粒细胞计数水平下降。

在本实验中，与正常组比较，模型对照组小鼠白细胞、粒细胞计数、红细胞平均体积及血红蛋白水平均显著下降（P<0.05）。与模型组比较，三类MT处理组各指标水平均有不同程度的改善，其中，中、高剂量MT处理组小鼠白细胞（Zn-MT-MD除外）、红细胞平均体积及血红蛋白水平显著升高（P<0.05），但各中毒组小鼠粒细胞计数水平无显著差异性（P>0.05）。结果表明，酵母源MT对慢性铅中毒小鼠血常规指标异常具有良好的改善作用，这可能是由于MT在减少铅蓄积的同时，对肝脏等器官已有损伤及并发炎症具有一定的修复与治疗作用，且高剂量处理效果最好，结果见表2。

表 2 酵母源 MT 对小鼠血常规指标的影响

Table 2 Effects of yeast metallothioneins on the routine blood test indices of mice

组名	白细胞(WBC) 10^9/L	粒细胞计数(GR) 10^9/L	红细胞平均体积 (MCV)/fL	血红蛋白 (HGB)/(g/L)
NOR	6.90±1.10^{a}	0.72±0.22^{a}	53.06±2.35^{a}	160.60±2.07^{a}
MoD	3.14±0.63^{e}	0.30±0.10^{b}	46.66±1.19^{d}	138.20±7.92^{b}
DMSA	4.12±0.50^{cde}	0.50±0.19^{ab}	46.16±2.05^{d}	156.60±3.21^{a}
Zn-MT-LD	3.54±0.84^{de}	0.40±0.07^{ab}	47.4±1.05^{cd}	155.40±3.91^{a}
MT-Ⅰ-LD	4.18±0.55^{cde}	0.52±0.25^{ab}	48.88±1.18^{bcd}	154.60±11.61^{a}
MT-Ⅱ-LD	3.58±0.25^{de}	0.50±0.07^{ab}	48.90±2.38^{bcd}	157.00±3.16^{a}
Zn-MT-MD	2.28±0.26^{cde}	0.50±0.16^{ab}	50.22±0.30^{abc}	155.00±2.35^{a}
MT-Ⅰ-MD	5.38±0.89^{abc}	0.58±0.22^{ab}	50.94±1.58^{ab}	154.20±10.99^{a}
MT-Ⅱ-MD	5.02±0.76^{bcd}	0.52±0.15^{ab}	50.18±0.47^{abc}	155.80±2.28^{a}
Zn-MT-HD	5.30±0.60^{abc}	0.60±0.23^{ab}	50.28±1.13^{abc}	156.00±6.82^{a}
MT-Ⅰ-HD	6.08±1.20^{ab}	0.58±0.16^{ab}	50.68±1.57^{abc}	156.40±3.91^{a}
MT-Ⅱ-HD	5.06±0.83^{bcd}	0.58±0.30^{ab}	50.36±1.72^{abc}	156.00±4.85^{a}

注：“a~e”代表同一指标差异显著性，字母不同表示差异显著（P＜0.05），字母相同表示差异不显著（P＞0.05）。

2.5 酵母源 MT 对慢性铅中毒小鼠肝功能指标的影响

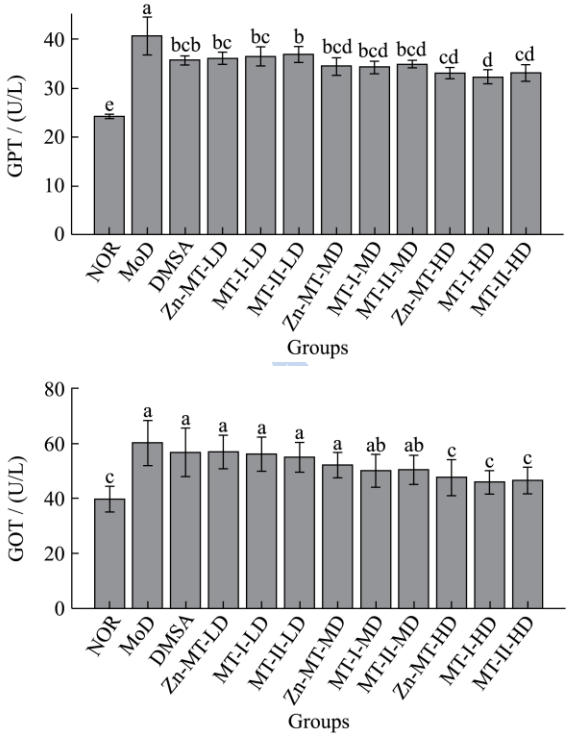


图 3 酵母源 MT 对小鼠肝功能指标的影响

Fig.3 Effect of yeast metallothioneins on the liver function indices of mice

注：“a~e”代表同一指标差异显著性，字母不同表示差异显著（P＜0.05），字母相同表示差异不显著（P＞0.05）。

肝功能检查是通过检测与肝脏功能代谢有关的各项指标，以反映肝脏功能基本状况的基本医学检验项目，其中谷丙转氨酶（GPT）与谷草转氨酶（GOT）为肝功能损害最敏感的检测指标，通常用来评价肝组织损伤及其并发炎症[11]。由图 3 可以看出，与正常对照组比较，模型对照组小鼠 GPT 与 GOT 水平显著升高（P<0.05），与模型对照组比较，各给药组小鼠 GPT 水平均显著下降（P<0.05），高剂量 MT 处理组小鼠 GOT 水平均显著下降（P<0.05），且高浓度 MT 处理组组间无差异（P>0.05）。结果表明，慢性铅接触能够显著升高小鼠血清 GPT 与 GOT 水平，而 MT 对该毒性具有一定的抗性作用，这可能是因为铅蓄积体内后，能够损伤正常肝组织及其功能，并引发炎症，而三类 MT 均能够降低铅对肝脏额的损伤作用或对已有肝损伤具有与一定修复作用，从而调节血清 GPT 与 GOT 水平趋于正常，且高剂量处理对两指标改善效果最好，三类 MT 在高剂量下作用效果无差异（P>0.05）。

2.6 酵母源 MT 对慢性铅中毒小鼠肝组织病理学观察的影响

综合高剂量 MT 对慢性铅中毒小鼠血铅、血常规及肝功能指标水平影响度最高，由此选取正常对照组、模型对照组、DMSA 对照组及高剂量 MT 处理组小鼠肝组织 H&E 染色切片光镜观察图，结果如图 4 所示。从图中可以看出，正常组小鼠肝组织结构完整，清晰，肝索在中央静脉周围呈放射状，肝细胞体积饱满，大小均匀，细胞核明显；模型组小鼠肝组织细胞核明显减少，胞浆疏松，大量细胞水肿并破裂，形成凋亡小

体，并出现一定炎性细胞浸润现象，细胞核明显减少且分布不均，肝索紊乱，该损伤表现与已有铅毒性报道类似[12]；DMSA 与高剂量 MT 处理后，小鼠各肝损伤程度明显下降，肝组织结构趋于正常，其中三种高剂量 MT 处理组小鼠肝组织正常效果优于 DMSA 组。结果表明，慢性铅接触对肝脏具有显著的损伤作用，MT 对铅致肝损伤具有明显的恢复作用，其中两类酵母源 MT 与动物源 MT 作用效果类似。

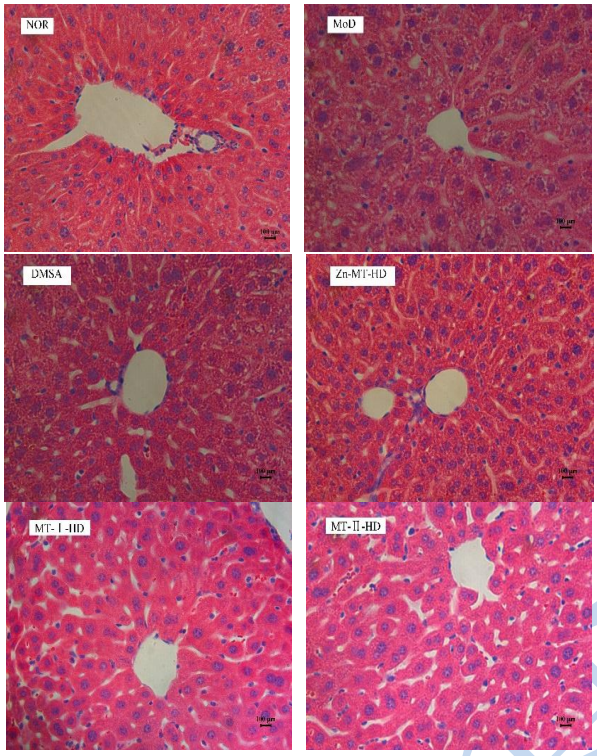


图 4 酵母源 MT 对小鼠肝组织病理学观察的影响（×400）

Fig.4 Effect of yeast metallothioneins on the histopathological examination of liver tissues from mice (×400)

3 结论

3.1 随着对 MT 认识及研究的深入，因其高效排铅及强抗氧化性越来越多的受到排铅领域的重视，其中动物源 MT 在排铅方面的应用及研究最为常见，但由于动物源 MT 提纯技术复杂、周期时间长以及价格昂贵等限制，使得 MT 的排铅研究及应用极为受限。而本课题组获得的具有自主知识产权酵母源 MT，是金属诱导剂诱导酵母类微生物产生，周期时间短，提取技术简易、价格低廉及较高的安全性等优点显著，利于工业化生产和推广应用。

3.2 本实验以慢性饮用醋酸铅溶液方式构建慢性铅中毒小鼠模型，以常见排铅药物 DMSA 与动物源 Zn-MT 为对照，探究不同构型酵母源 MT 对慢性铅中毒小鼠排铅及肝脏保护作用。实验结果表明，与正常对照组比较，慢性铅接触对肝组织具有明显的损伤作用，并引发机体部分炎症，小鼠部分血常规及肝功能指标水平异常，但小鼠体重无显著变化。与模型对照组小鼠比较，慢性铅中毒小鼠经灌胃给予 MT 后，血铅水平均有一定程度下降，且下降程度与 MT 剂量呈正相关，同时高剂量 MT 处理对慢性铅中毒小鼠红细胞平均体积及血红蛋白水平具有显著的恢复作用。综合慢性铅中毒小鼠血铅、血常规指标、肝功能指标及肝组织病理学观察结果，酵母源 MT 对慢性铅中毒小鼠具有良好的排铅及肝脏保护作用，其中高浓度 MT 效果最好，结合课题组在 MT 抗氧化与体外螯合铅离子方面的研究（未发表），推测其主要机制可能是 MT 进入机体后，其结构中的大量巯基能够与血液中矿物元素铅结合并排除体外，减少铅引起的机体氧化应激，减少过氧化产物的生成或直接抑制过氧化产物的合成途径，从而保护并修复铅致肝损伤[13]。

3.3 由于金属硫蛋白来源广泛，不同构型酵母源金属硫蛋白在体内代谢途径尚不明确，且铅在不同组织蓄积程度及损伤机制尚不明确，因此酵母源金属硫蛋白对不同铅毒性的解毒作用仍待进一步研究。但在本实验中，两种酵母源金属硫蛋白显示了显著地排铅效果，并对铅致肝损伤具有较好的修复及保护作用，作用效果与动物源金属硫蛋白类似，这将在金属硫蛋白促排铅、联合排铅及治疗或预防铅致过氧化损伤方面具有广阔的应用及市场前景。

参考文献

[1] Ponce-Canchihuamán J C, Pérez-Méndez O, Hernández-Muñoz R, et al. Protective effects of Spirulina maxima on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney [J]. Lipids in Health and Disease, 2009, 9(1): 1-7

[2] Salińska A, Włostowski T, Zambrzycka E. Effect of dietary cadmium and/or lead on histopathological changes in the kidneys and liver of bank voles Myodes glareolus kept in different group densities [J]. Ecotoxicology, 2012, 21(8): 2235-2243

[3] 胡孔友,从仁怀,马方励,等.一种中草药组方保健食品促进排铅功能的研究[J].现代食品科技,2009,25(11):1265-1268
HU Kong-you, CONG Ren-huai, MA Fang-li, et al. Study of lead-removing function of a health food containing Chinese herbal medicines [J]. Modern Food Science and Technology, 2009, 25(11): 1265-1268

[4] Crinnion W J. EDTA redistribution of lead and cadmium into the soft tissues in a human with a high lead burden-should DMSA always be used to follow EDTA in such cases? [J].

Alternative Medicine Review: a Journal of Clinical Therapeutic, 2011, 16(2): 109-112

[5] Vašák M. Metallothioneins: chemical and biological challenges [J]. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2011, 16(7): 975-976

[6] Ushakova G A, Kruchinenko O A. Peculiarities of the molecular structure and functions of metallothioneins in the central nervous system [J]. Neurophysiology, 2009, 41(5): 355-364

[7] 苗兰兰.产金属硫蛋白菌株的诱变育种及蛋白的分离提纯[D].黑龙江八一农垦大学,2013
MIAO Lan-lan. Mutagenesis of metallothioneins producing strains and purification of protein [D]. Heilongjiang Bayi Agricultural University

[8] 李靖元.假丝酵母菌筛选及金属硫蛋白制备工艺研究[D].黑龙江八一农垦大学,2013
LI Jing-yuan. Study on the screening of Candida strains and preparation of metallothionein [D]. Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2013

[9] 李冰,王颖,徐炳政,等.超声波辅助提取酵母源类金属硫蛋白工艺的优化[J].食品与机械,2014,3:194-197
LI Bing, WANG Ying, XU Bing-zheng, et al. Optimization of the parameter of ultrasonic extraction technique of metallothionein [J]. Food & Machinery, 2014, 3: 194-197

[10] Ibrahim N M, Eweis E A, El-Beltagi H S, et al. Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2(1): 41-46

[11] Mehana E E, Meki A R, Fazili K M. Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats [J]. Experimental and Toxicologic Pathology, 2012, 64(4): 291-295

[12] 耿雪侠,戴欣,晁秋杰,等.急性铅应激诱导肝肾损伤及其分子机制初探[J].动物学杂志,2013,4:642-649
GENG Xue-xia, DAI Xin, ZHAO Qiu-jie, et al. Ingury of liver and kidney caused by acute lead poisoning and related molecular mechanisms in mice [J]. Chinese Journal Of Zoology, 2013, 4: 642-649

[13] Agrawal S, Flora G, Bhatnagar P, et al. Comparative oxidative stress, metallothionein induction and organ toxicity following chronic exposure to arsenic, lead and mercury in rats [J]. Cellular and Molecular Biology, 2014, 60(2): 13-21

现代食品科技