

Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 对模拟胃液中 NDMA 形成的影响*

Studies on the Effect of Cu²⁺ and Zn²⁺ on Carcinogenic NDMA Formation in Simulated Gastric Fluid

张 欧,刘梦雪,刘永东**,钟儒刚

ZHANG Ou, LIU Mengxue, LIU Yongdong, ZHONG Rugang

(北京工业大学生命科学与生物工程学院,北京 100124)

(College of Life Science & Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing, 100124, China)

摘要:【目的】在模拟胃液条件下研究重金属 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 对内源致癌性 N-二甲基亚硝胺(NDMA)形成的影响,并进一步探讨其作用机理。【方法】分别用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)和离子色谱法(IC)来测定 NDMA、二甲胺(DMA)和亚硝酸根(NO₂⁻)含量。【结果】在模拟胃液条件下,Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 浓度高于 50 mg/L 时,可以促进 NDMA 的形成,且当浓度由 50 mg/L 增大到 200 mg/L 时,Cu²⁺ 促进率由 1.16% 增大到 94.56%,Zn²⁺ 促进率由 21.32% 增大到 45.86%。在重金属浓度为符合或接近符合水质基准值 1.0 mg/L 时,Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 对 NDMA 的形成也分别有 16.88% 和 13.42% 的促进率;而当重金属浓度为 10 mg/L 时,两种离子却均抑制 NDMA 的形成。机理研究表明 Cu²⁺、Zn²⁺ 促进 NDMA 的形成主要是由于其与 DMA 发生相互作用,进而导致 NDMA 形成。【结论】高浓度的 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 通过与 DMA 相互作用,形成活性中间体从而促进 NDMA 的生成。

关键词:模拟胃液 重金属离子 NDMA 促进率 中间体

中图分类号:Q89 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2016)01-0067-05

Abstract:【Objective】The aim of this study was to investigate the effect of heavy metal ions Cu²⁺ and Zn²⁺ on the formation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in simulated gastric fluid (SGF) and further explore its mechanism.【Methods】The concentrations of NDMA and dimethylamine (DMA), nitrite (NO₂⁻) were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and ion chromatography (IC), respectively.【Results】Cu²⁺ and Zn²⁺ could promote the formation of NDMA when the concentrations of Cu²⁺ and Zn²⁺ were higher than 50 mg/L in simulated gastric fluid (SGF). Meanwhile, the promotion rates were increased from 1.16% to 94.56% and 21.32% to 45.86% for Cu²⁺ and Zn²⁺, respectively, with their concentrations increasing from 50 mg/L to 200 mg/L. It is noteworthy that very low concentration of Cu²⁺ and Zn²⁺ at 1.0 mg/L, which already or almost met their guideline values in drinking water, could still enhance NDMA formation with the promotion rates of 16.88% and 13.42%, respectively.

Interestingly, both Cu²⁺ and Zn²⁺ could inhibit NDMA formation when their concentration was 10 mg/L. Mechanism research showed that the promotion of the NDMA was mainly due to the interaction between the heavy metal ions and DMA.【Conclusion】Heavy metal ions Cu²⁺ and Zn²⁺ at relatively high concentrations can both promote NDMA formation in SGF through interacting with DMA.

Key word: SGF, heavy metal ions, NDMA, promotion rate, intermediate

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.2016.01.006

收稿日期:2015-12-01

修回日期:2016-02-03

作者简介:张 欧(1989-),女,硕士研究生,主要从事致癌物形成机理与抑制方法的研究。

*北京市自然科学基金项目(8132015)资助。

**通讯作者:刘永东(1975-),女,副研究员,硕士生导师,主要从事环境致癌物形成机理方面的研究,E-mail: ydliu@bjut.edu.cn。

0 引言

【研究意义】WHO 指出 80%~90% 的癌症由环境因素导致,而 80% 以上的环境因素与化学致癌剂有关,N-亚硝基化合物(NOC)就是其中非常重要的一种^[1-2]。在已报道的 300 多种 NOC 中,约 90% 具有致癌活性,其中 N-亚硝基二甲胺(NDMA)是结构最简单而致癌性、诱变性与致畸性却最强的物质之一^[3-4]。在人类暴露于 NOC 的总量中,内源性形成的 NOC 占 60%。内源性 NOC 主要是在人胃肠中形成,它严重威胁到人类健康^[5-6]。因此,有关内源性 NOC 形成的研究已成为保护人体健康的重要研究内容和被关注领域。另外,近年来随着工业的发展,大量的重金属排入土壤和河流、湖泊及海洋等水体中,危害土壤和水体生态环境。环境中的重金属不能被降解,主要通过水和土壤等途径进入动植物体,并经由食物链放大富集进入人体,其极低浓度就能破坏人体正常的生理活动,损害人体健康^[7]。综上所述,NDMA 和重金属都对人体健康具有很大威胁,尤其是发展中国家粮食、蔬菜中重金属的浓度常常高于限量值^[8-9]。因此,研究重金属对体内 NDMA 形成的影响具有重要意义。【前人研究进展】国内外许多学者从外源性和内源性角度开展重金属对 N-亚硝胺形成影响的研究。在外源性 NDMA 的形成上,Andrews 等^[10]报道在氯胺存在的偏碱性条件的饮用水运输管道中,铜能促进 NDMA 的生成;Mitch 等^[11]也发现在二氧化碳捕获系统中铜能促进 N-亚硝胺的生成。而在内源性 NDMA 的形成上,曾婷等^[12]研究表明,在模拟胃液条件下,含量极低但生物毒性显著的重金属汞、镉和铅能够促进内源性 NDMA 的生成。【本研究切入点】对于毒性一般但含量较高的重金属,如铜和锌等对于内源性 NDMA 的生成影响尚未见报道。因此,本文从该方面着手,研究重金属 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 与内源性 NDMA 形成的关系。【拟解决的关键问题】研究在模拟胃液条件下,重金属 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 对 NDMA 形成的影响,并进一步探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

NDMA、NDMA- d_6 标准溶液(Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心);二氯甲烷、正己烷、甲醇为色谱纯(美国 Sigma 公司);二甲胺盐酸盐、亚硝酸

钠、氯化钠为分析纯(美国 Sigma 公司);胃蛋白酶(美国 Sigma 公司);去离子(Milli Q 超纯水机制备)。

Trace DSQ 气相色谱-质谱联用仪(GC/MS; 色谱柱:DB-1701, 30 m×0.25 mm×0.25 μm , Agilent J&W;美国 Thermo 公司);ICS-2100 离子色谱仪(IC;阴离子抑制器:ASRS-4 mm;阴离子色谱柱:IonPac AS11-HC;阴离子保护柱:IonPac AG11-HC;阳离子抑制器:CSRS-4 mm;阳离子色谱柱:IonPac CS12A;阳离子保护柱:IonPac CG12A;美国 Dionex 公司);12 位真空固相萃取装置(萃取柱:椰壳质填料,天津博纳艾杰尔公司)。

1.2 方法

1.2.1 NDMA 检测的 GC/MS 条件

进样口温度:200℃;离子源温度:250℃;传输线温度:230℃;载气流速:1.0 mL/min;进样模式:不分流;程序升温方法:初始温度为 45℃,保持 5 min,再以 10℃/min 速率升高至 200℃,保持 5 min;溶剂延迟时间:3.50 min;Full Scan 扫描范围:20~300;SIM 碎片离子选择:74,42,28,80;进样量:1 μL ;EI 源电子轰击能量:70 eV。

1.2.2 DMA 和 NO_2^- 检测的 IC 条件

DMA 检测条件:柱温为 30℃;流动相为 20 mmol/L 的甲基磺酸溶液;抑制器电流为 59 mA,进样体积为 25 μL 。 NO_2^- 检测条件:柱温为 30℃;流动相为 30 mmol/L 的氢氧化钾溶液;抑制器电流为 75 mA,进样体积为 25 μL 。用去离子水配制浓度为 5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 的 DMA 标准溶液和浓度为 0.5 mg/L、1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、25 mg/L 的 NaNO_2 标准溶液。以 DMA 浓度(mg/L)为横坐标,其峰面积($\mu\text{s} \cdot \text{min}$)为纵坐标,绘制标准工作曲线,线性回归方程为 $Y = 0.0668 X - 0.0885$, $R^2 = 0.9993$,线性关系良好。以 NO_2^- 浓度(mg/L)为横坐标,其峰面积($\mu\text{s} \cdot \text{min}$)为纵坐标,绘制标准工作曲线,线性回归方程 $Y = 0.2126 X - 0.0004$, $R^2 = 1$,线性关系良好。

1.2.3 模拟胃液条件

模拟胃液的配制参考文献^[13]的方法:将 3.2 g 胃蛋白酶,2.0 g 氯化钠和 7.0 mL 质量分数为 37% 的盐酸,加入足量的去离子水中,用去离子水定容至 1 000 mL,最后用 4 mol/L 的盐酸调节溶液的 pH 值至 2.0,制得模拟胃液。反应时间为 2 h(文献^[14]),反应温度为人体的温度 37℃。

1.2.4 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 对 NDMA 形成的影响

反应体系分为空白组和实验组。空白组:向试管

中依次加入 50 mmol/L 的 DMA 溶液和 50 mmol/L 的亚硝酸钠(NaNO_2)溶液各 1 mL,然后加入模拟胃液定容至 10 mL,最后用 4 mol/L 盐酸调节溶液 pH 值至 2.0 ± 0.05 ,震荡均匀。实验组:分别取 10 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、500 mg/L、1 000 mg/L、1 500 mg/L 和 2 000 mg/L 的 Cu^{2+} 或 Zn^{2+} 标准溶液 1 mL 于试管中,然后依次加入 50 mmol/L 的 DMA 溶液和 50 mmol/L 的 NaNO_2 溶液各 1 mL,用模拟胃液定容至 10 mL,最后用 4 mol/L 盐酸调节 pH 值至 2.0 ± 0.05 ,震荡均匀。将空白体系和实验体系置于 37°C 恒温水浴中反应 2 h。反应结束后,迅速将试管置于冰水中冷却,随后向样品中加入 200 μL 0.1 mg/L 的 NDMA- d_6 溶液作为内标,振荡混匀之后,迅速将样品依照刘清明等^[15]报道的方法对样品进行处理,测定 NDMA 的生成量。

1.2.5 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 影响 NDMA 生成的机理研究

反应体系分为空白组和实验组。空白组:向试管中加入 50 mmol/L 的 DMA 溶液 1 mL 或 50 mmol/L 的 NaNO_2 溶液 1 mL,然后用模拟胃液(不含胃蛋白酶)定容至 10 mL,最后用 4 mol/L 盐酸调节溶液 pH 值至 2.0 ± 0.05 ,震荡均匀。实验组:分别取 10 mg/L、1 000 mg/L 和 2 000 mg/L 的 Cu^{2+} 或 Zn^{2+} 标准溶液 1 mL 于试管中,然后依次加入 50 mmol/L 的 DMA 溶液 1 mL 或 50 mmol/L 的 NaNO_2 溶液 1 mL,用模拟胃液(不含胃蛋白酶)定容至 10 mL,最后用 4 mol/L 盐酸调节 pH 值至 2.0 ± 0.05 ,震荡均匀。将空白体系和实验体系置于 37°C 恒温水浴中反应 2 h。反应结束后,迅速将试管置于冰水中冷却,将样品稀释 10 倍后用 Na 柱除去溶液中重金属,经 0.22 μm 滤膜过滤后测定样品中的 DMA 和 NO_2^- 的浓度。

2 结果与分析

2.1 Cu^{2+} 对 NDMA 形成的影响

如图 1 所示,当反应体系中不存在 Cu^{2+} 时,NDMA 的平均生成量约为 76 $\mu\text{g/L}$ 。当 Cu^{2+} 的浓度为 1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L 和 200 mg/L 时,NDMA 的平均生成量分别为 88.33 $\mu\text{g/L}$ 、67.48 $\mu\text{g/L}$ 、68.17 $\mu\text{g/L}$ 、76.45 $\mu\text{g/L}$ 、103.94 $\mu\text{g/L}$ 、126.31 $\mu\text{g/L}$ 和 147.04 $\mu\text{g/L}$ 。由图 1 可以看出,当 Cu^{2+} 浓度符合或接近水质基准值 1 mg/L 时, Cu^{2+} 对 NDMA 的促进率能达到 16.88%,这与 Andrews 等^[10]报道的 1 mg/L Cu^{2+} 在偏碱性环境中能够促进 NDMA 的生成相符合。与空白试验相比,在加入 10 mg/L 和 20 mg/L 的 Cu^{2+}

后,NDMA 生成量减少, Cu^{2+} 抑制 NDMA 的生成,但作用不明显;当 Cu^{2+} 浓度为 50 mg/L 时,NDMA 生成量几乎没有变化。当 Cu^{2+} 浓度在 50~200 mg/L 时, Cu^{2+} 浓度与 NDMA 的生成量呈正相关,说明 Cu^{2+} 能够促进 NDMA 的生成。当浓度达到 200 mg/L 时,促进率非常高,能够达到 94.56%。因此,在重金属浓度普遍偏高的地方,水质的污染应该引起足够的重视。

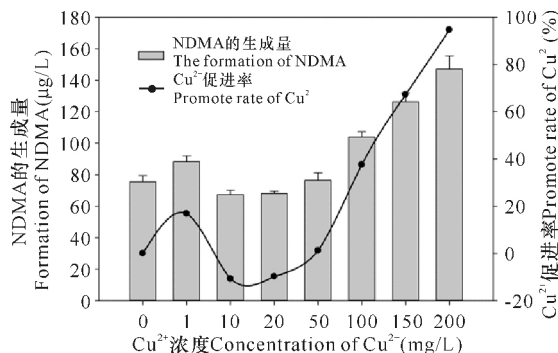


图 1 Cu^{2+} 对 NDMA 生成的影响

Fig. 1 The effect of Cu^{2+} on NDMA formation

2.2 Zn^{2+} 对 NDMA 形成的影响

由图 2 可知,当反应体系中不存在 Zn^{2+} 时,NDMA 的平均生成量约为 76 $\mu\text{g/L}$ 。当反应体系中 Zn^{2+} 的浓度为 1 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L 和 200 mg/L 时,NDMA 的平均生成量分别为 85.72 $\mu\text{g/L}$ 、67.52 $\mu\text{g/L}$ 、76.04 $\mu\text{g/L}$ 、91.69 $\mu\text{g/L}$ 、107.24 $\mu\text{g/L}$ 、107.57 $\mu\text{g/L}$ 和 109.70 $\mu\text{g/L}$ 。与空白试验相比,当 Zn^{2+} 浓度为 10 mg/L 时,NDMA 生成量减少, Zn^{2+} 显示出抑制作用;当浓度为 20 mg/L 时, Zn^{2+} 对 NDMA 的生成无影响;其余浓度下, Zn^{2+} 都能使 NDMA 的生成量有不同程度的增加,这说明 Zn^{2+} 在一定浓度下能够促进 NDMA 的生成。当浓度大于 100 mg/L 时,NDMA 的生成量几乎不再增加, Zn^{2+} 的促进作用达到饱和。

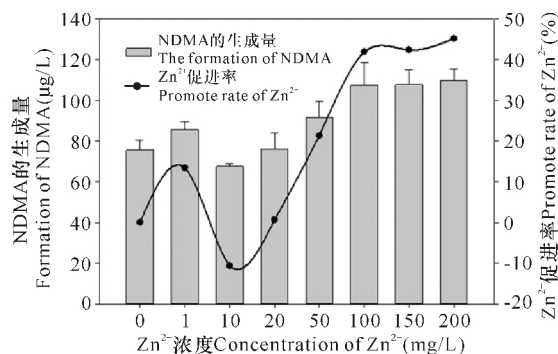


图 2 Zn^{2+} 对 NDMA 生成的影响

Fig. 2 The effect of Zn^{2+} on NDMA formation

2.3 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 影响 NDMA 生成的机理研究

从图 3 中可以看出,加入不同浓度 Cu^{2+} 和 Zn^{2+}

后,NO₂⁻ 变化率都在 6% 以下。而对于 DMA 来说,除了当体系中分别加入 10 mg/L 的 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 后,DMA 的变化率分别为 7.13% 和 6.45%,与在此浓度下 NO₂⁻ 变化率差别不大外,其余浓度下,DMA 的变化率都大于 NO₂⁻ 变化率。尤其是当分别加入 100 mg/L 和 200 mg/L 的 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 后,DMA 的变化率为 20% ~ 40%,而 NO₂⁻ 变化率只是接近 6%,DMA 的变化率与 NO₂⁻ 变化率有非常明显的区别。由此可以说明,Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 与 DMA 的相互作用更为强烈。因此可以推断,Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 对 NDMA 生成的影响可能是由于它们与 DMA 产生了强烈的相互作用,这种相互作用导致稳定的中间体形成,同时这种稳定的中间体较 DMA 可能更容易与 NO₂⁻ 反应,最终促进 NDMA 的生成。

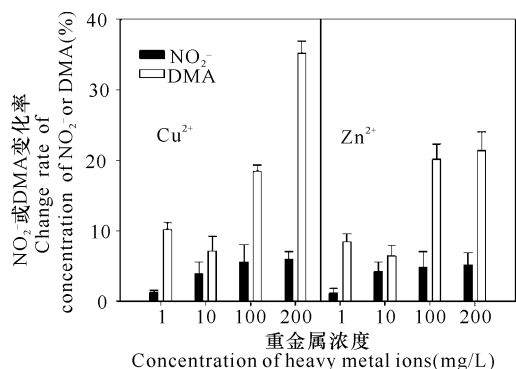


图 3 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 与 NO₂⁻ 或 DMA 的相互作用

Fig. 3 The Interaction between different concentrations of Cu²⁺ and Zn²⁺ and NO₂⁻ or DMA

3 讨论

NDMA 作为一种强烈致癌物,早已引起人们的重视,而对于能促进其生成的重金属离子的相关研究更应该引起足够的重视。本文模拟胃液的反应体系,考察重金属离子铜和锌对于内源性 NDMA 形成的影响。

在研究重金属离子对于内源性 NDMA 形成的影响时,发现模拟胃液中 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 浓度高于 50 mg/L 时,可以明显看到它们对 NDMA 的形成有促进作用,并且随浓度增大而增大。在重金属浓度符合或接近符合水质基准值 1.0 mg/L 时,Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 对 NDMA 的形成也有 16.88% 和 13.42% 的促进率。而当重金属浓度为 10 mg/L 时,两种离子却分别对 NDMA 的形成有 10.70% 和 10.52% 的抑制作用,但抑制效果不明显,引起该现象的原因有待进一步研究。另外,机理研究表明,Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 能够促进 NDMA 形成主要是由于重金属离子与 DMA 之间的相互作用导致稳定的中间体的形成,很可能这种稳定的

中间体较 DMA 更容易与 NO₂⁻ 反应,最终促进 NDMA 的生成。本研究将有助于了解重金属对人体健康影响的作用机理,为提出有效的环境因素控制阈值提出新视角。

参考文献:

- [1] CHEN W H, YOUNG T M. NDMA formation during chlorination and chloramination of aqueous diuron solutions[J]. Environmental Science and Technology, 2008 (42):1072-1077.
- [2] HOLLINGSWORTH R E, LEE W H. Tumor suppressor genes: New prospects for cancer research[J]. Journal of the National Cancer Institute, 1991(83):91-96.
- [3] DENNEHY M K, LOEPPKY R N. Mass spectrometric methodology for the determination of glyoxaldehyde adducts produced by nitrosamine bident carcinogens[J]. Chemical Research in Toxicology, 2005(18):556-565.
- [4] MIRVISH S S. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC[J]. Cancer Letters, 1995(93):17-48.
- [5] TRICKER A R. N-nitroso compounds and man; Sources of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids[J]. European Journal of Cancer Prevention, 1997(6):226-268.
- [6] HOLTROP G, JOHNSTONE A M, FYFE C, et al. Diet composition is associated with endogenous formation of N-nitroso compounds in obese men[J]. Journal of Nutrition, 2012(142):1652-1658.
- [7] SHARMA R K, AGRAWAL M, MARSHALL F M. Heavy metals in vegetables collected from production and market sites of a tropical urban area of India[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009(47):583-591.
- [8] 胡霓红, 文典, 王富华, 等. 珠三角主要工业区周边蔬菜产地土壤重金属污染调查分析[J]. 热带农业科学, 2012, 32(4):67-71.
HU N H, WEN D, WANG F H, et al. Investigation and analysis of heavy metal in vegetable producing soils around main industrial areas in the pearl river delta[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2012, 32(4):67-71.
- [9] 赵静, 孙海娟, 冯叙桥. 食品中重金属汞污染状况及其检测技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(7):357-367.
ZHAO J, SUN H J, FENG X Q. Research progress on pollution of heavy metals mercury and its detection technology in food[J]. Science and Technology of Food In-Guangxi Sciences, Vol 23 No 1, February 2016

- dustry, 2014, 35(7):357-367.
- [10] ZHANG H, ANDREWS S A. Factors affecting catalysis of copper corrosion products in NDMA formation from DMA in simulated premise plumbing[J]. *Chemosphere*, 2013(93):2683-2689.
- [11] WANG Z, MITCH W A. Influence of dissolved metals on *N*-nitrosamine formation under amine-based CO₂ capture conditions [J]. *Environmental Science and Technology*, 2015(49):11974-11981.
- [12] 曾婷, 刘雅萌, 刘永东. 重金属离子对致癌性 NDMA 形成影响的实验与理论研究[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2014, 37(6):42-46.
- ZENG T, LIU Y M, LIU Y D. An experimental and theoretical investigation of effect of heavy metal ions on carcinogenic NDMA formation[J]. *Journal of Natural Science of Hunan Normal University*, 2014, 37(6):42-46.
- [13] The United States Pharmacopeia Convention, United States Pharmacopoeia 32/National Formulary 27[M]. USA:United States Pharmacopeia, 2009.
- [14] PÉREZ-VICENTE A, GIL-IZQUIERDO A, GARCÍA-VIGUERA C. In vitro gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(8):2308-2312.
- [15] 刘清明, 张雪晨, 刘永东. 一种基于气相色谱-质谱检测水中 *N*-亚硝基二甲胺 (NDMA) 的固相萃取方法[J]. *环境化学*, 2011, 30(7):1327-1331.
- LIU Q M, ZHANG X C, LIU Y D. An SPE-method for GC-MS analysis of *N*-nitrosodimethylamine in drinking water[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(7):1327-1331.

(责任编辑:米慧芝)

(上接第 66 页 Continue from page 66)

- [7] 杨璇璇, 朱思明, 于淑娟. 糖用钙型离子交换树脂的制备及其脱盐特性[J]. *食品工业科技*, 2009(12):149-152.
- YANG X X, ZHU S M, YU S J. Preparation of calcium ion-exchange resin and the study on its desalting property[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2009(12):149-152.
- [8] ROBLES-GONZÁLEZ V, GALÍNDEZ-MAYER J, RINDERKNECHT-SEIJAS N, et al. Treatment of mezcal vinegars: A review[J]. *Journal of Biotechnology*, 2012, 157(4):524-546.
- [9] 邵曼君, 陈勇, 陈慧萍. 研究简报水溶液中硫酸钾晶体生长动力学[J]. *化工学报*, 2003, 54(12):1766-1768.
- SHAO M J, CHEN Y, CHEN H P. Crystal growth kinetics from aqueous solution of potassium sulfate[J]. *Journal of Chemical Industry and Engineering*, 2003, 54(12):1766-1768.
- [10] 靳朝辉. 离子交换动力学的研究[D]. 天津:天津大学, 2004.
- JIN C H. Study on Ion-Exchange Kinetics[D]. Tianjin: Tianjin University, 2004.
- [11] 蔡吉祥, 于淑娟, 杨永军, 等. 二混蜜中钾在离子交换柱上的吸附性质及动力学[J]. *食品科学*, 2012, 33(21):43-46.
- CAI J X, YU S J, YANG Y J, et al. Adsorption properties and dynamics of potassium in mother liquor B on ion exchange resin[J]. *Food Science*, 2012, 33(21):43-46.
- [12] GODE F, PEHLIVAN E. Removal of Cr(VI) from aqueous solution by two Lewatit-anion exchange resins [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2005(119):175-182.
- [13] KAMMERER J, CARLE R, KAMMERER D R. Adsorption and ion exchange: Basic principles and their application in food processing[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(1):22-42.

(责任编辑:米慧芝)