

## DHA 藻油软胶囊改善小鼠记忆功能的研究

徐维盛 韩枫 朴玮 孙静 毕烨 霍军生<sup>1</sup>

中国疾病预防控制中心营养与健康所 卫生部微量元素营养重点实验室,北京 100050

**摘要:**目的 探讨 DHA 藻油软胶囊辅助改善记忆功能的作用。方法 将 144 只昆明种小鼠分为 3 组,分别用于跳台实验、避暗实验和水迷宫实验。每项实验取 48 只,随机分为 4 组,每组 12 只。根据 DHA 藻油软胶囊人体推荐剂量 600 mg/d,本实验按成人体重 60 kg 计,3 个剂量组分别为 50、100 和 300 mg/kg BW(相当于人拟用剂量的 5、10、30 倍),经口灌胃量为 10 ml/kg BW,对照组给予等量食用植物油,每日一次,连续灌胃 30 d。于末次灌胃后次日,分别进行跳台实验、避暗实验和水迷宫实验。结果 DHA 藻油软胶囊制剂低、中、高 3 个剂量组小鼠跳台试验潜伏期延长、错误次数减少、跳下平台动物百分率降低;避暗潜伏期延长、错误次数减少、进入暗室动物百分率降低( $P < 0.05$ )。水迷宫试验中,高剂量组在到达终点时间、到达终点前错误次数及达到终点的动物百分率与对照组差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 DHA 藻油软胶囊具有辅助改善小鼠记忆的功能。

**关键词:**DHA 记忆 跳台试验 避暗试验 水迷宫试验

中图分类号:Q593.2 R338.64 Q547

文献标志码:A

## Study of DHA algal oil compound preparation on improving memory in mice

XU Weisheng, HAN Feng, PIAO Wei, SUN Jing, BI Ye, HUO Junsheng

Key Laboratory of Trace Element Nutrition, Ministry of Health of the People's Republic of China, National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of docosahexaenoic acid(DHA) algal oil compound preparation on improving memory in mice. **Methods** A total of 144 KM mice weighed 18 - 22 gram were classified into three groups randomized for the step-down test, passive avoidance test and water maze test respectively. For each test, we select 48 mice initially, then allocated the mice into 4 groups at random, each with 12 mice. According to the recommended dose of DHA algae oil soft capsule (600 mg/d) for human, each adult weight calculating on 60 kg meters, then we calibrate the dose to 50, 100 and 300 mg/kg BW (the equivalent doses of 5, 10 and 30 times to human) for three groups, respectively. The dose for intragastric injection administration is 10 ml/kg BW DHA algae oil, equivalent amount of edible vegetable oil for the control group, once per day for continuous 30 days. Just after the last lavage, we conduct the step-down test, passive avoidance test and water maze test respectively. **Results** DHA algal oil compound

基金项目:中国营养学会营养科研基金——帝斯曼专项科研基金

作者简介:徐维盛,男,副研究员,医学博士,食品营养与卫生学博士后,研究方向:营养与功能食品, E-mail: hbxuweisheng@163.com

<sup>1</sup> 通信作者:霍军生,男,研究员,博士生导师, E-mail: jshuo@263.net.cn

preparation has obvious effect on improving the reappearance ability of passive avoidance and the response of the avoiding darkness ( $P < 0.05$ ). The indicators of water maze test were different statistically between DHA algal oil compound preparation groups and control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** DHA algal oil compound preparation may play an important role in memory improvement in mice.

**Key words:** docosahexaenoic acid, memory, step-down test, passive avoidance test, water maze test

二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 属于 $\omega$ -3型多不饱和脂肪酸,是人脑脂肪酸中的重要组成部分,其人体合成转化率极低,主要通过食物摄入,主要来源包括深海鱼油和藻类。近年有研究表明,DHA具有健脑益智、维持脑功能、延缓脑衰老<sup>[1-3]</sup>、降血脂<sup>[4-5]</sup>、预防和治疗动脉硬化<sup>[6]</sup>、抗癌<sup>[7-8]</sup>、抗炎、抗血小板凝集<sup>[1]</sup>、保护视力<sup>[9-10]</sup>等功效。但有关DHA益智生理功能也存在一定的争议。王丽梅等<sup>[11]</sup>对DHA油、紫苏油、核桃油、花生油、菜籽油等5种油脂对大鼠空间学习记忆能力的研究表明,DHA油具有降血脂功能,却未体现出增强学习记忆能力。王筱璐等<sup>[12]</sup>发现,孕妇和乳母摄食DHA含量丰富的食品,可提高母血及母乳中DHA含量,从而满足婴儿大脑发育的需求,提高婴儿精神发育指数和运动发育指数。但谢林<sup>[13]</sup>对70例婴儿的研究结果表明,尚不能认为孕期摄入DHA对婴儿智力及视力发育有影响。基于上述研究的不确定性,本研究拟采用小鼠经口灌胃DHA藻油软胶囊制剂,观察DHA藻油软胶囊制剂对小鼠记忆功能的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 受试物

DHA藻油软胶囊,由某公司提供,人体推荐量为1粒/人·日,规格(净含量)600 mg/粒,其中DHA含量为33 g/100 g,内容物为黄色混悬油状物,采用胶囊内容物进行本研究。

### 1.2 主要仪器

SBA-2型小鼠避暗程序自动控制仪,STT-2型小鼠跳台仪,SMG-2型小鼠水迷宫程序自动控制仪,均购于中国医学科学院药物研究所。

### 1.3 实验动物和分组

SPF级雌性昆明种3~4周龄小鼠144只,体重18~22 g。按卫法监发〔2003〕42号《保健食品检验与评价技术规范》中的辅助改善记忆功能检验方法要求,第一次试验实验动物由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心

提供,许可证号SCXK-(军)2012-0004;第二次实验(重复试验)实验动物由北京华卓康生物技术股份有限公司提供,许可证号SCXK-(京)2009-0007。饲养于中国疾病预防控制中心动物房,许可证号SCXK-(京)2009-0032。SPF级鼠维持饲料由北京科奥协力饲料有限公司提供,合格证号SCXK-(京)2009-0012。动物饮用水经按照实验动物饮用水要求制造的反渗透过滤、管路内置进口紫外线照射灯管照射灭菌一体装置制备获得,取水过程持续紫外线照射,动物饮用水每日定时更换。

将144只小鼠分为3组,分别用于跳台实验、避暗实验和水迷宫实验。每项实验取48只,随机分为4组,每组12只。根据DHA藻油软胶囊人体推荐剂量600 mg/d,低、中、高剂量组分别为50、100和300 mg/kg BW(相当于人拟用剂量的5、10、30倍),经口灌胃量为10 ml/kg BW,对照组给予等量食用植物油,每日一次,连续灌胃30 d。于末次灌胃后次日,分别进行跳台实验、避暗实验和水迷宫实验。

### 1.4 跳台实验

将小鼠放入反应箱内适应3 min,随即通以36 V交流电刺激小鼠。然后将小鼠放在绝缘平台上,记录各小鼠第一次跳下平台的潜伏期、5 min内每鼠跳下平台的错误次数和各组跳下平台的动物数(记忆获得)。24 h后重复测试,记录第一次跳下平台的潜伏期、3 min内跳下平台的错误次数和各组跳下平台的动物数(记忆巩固)。停止给予受试物继续饲养,3 d后进行消退试验(记忆再现)。

### 1.5 避暗实验

将小鼠面部背向洞口放入明室,同时启动计时器,记录每鼠进入暗室的潜伏期、5 min内进入暗室的错误次数和各组进入暗室的动物数(记忆获得)。24 h后同一时间点再进行测验,记录每鼠进入暗室的潜伏期、5 min内进入暗室的错误次数和各组进入暗室的动物数(记忆巩固)。停止给予受试物继续饲养,3 d后进行消退试验(记忆再现)。

## 1.6 水迷宫试验

小鼠训练时间限定为 120 s, 在 120 s 内未到达终点的小鼠均记为 120 s。每天训练一次, 连续 5 d, 训练期间继续给予受试物。最后以 5 d 的总学习成绩进行评价, 计算各组 5 d 到达终点的总时间、总错误次数和每组 2 min 内到达终点的动物数。停止给予受试物继续饲养, 5 d 后进行消退试验(记忆再现)。

## 1.7 统计分析

试验数据由双人录入计算机, 用 SPSS 17.0 软件统计处理。计量指标采用方差分析, 进行方差齐性检验, 用多个实验组和一个对照组间均数

的两两比较方法进行统计, 计数指标多组间比较采用卡方检验。

## 2 结果

### 2.1 跳台实验

由表 1 可见, 各剂量组跳台测验潜伏期与对照组比较均变长, 各剂量组跳台测验错误次数均低于对照组, 且差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 两次试验结果一致。中、高剂量组跳下平台的动物百分率与对照组比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 DHA 藻油对小鼠记忆获得与巩固的影响: 跳台实验

Table 1 DHA algal oil's effect on memorial acquisition and consolidation in mice: step-down test ( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	DHA/ (mg/kg BW)	记忆获得(学习成绩)		记忆巩固(24 h 后)		
		潜伏期/s	5 min 内错误次数	潜伏期/s	3 min 内错误次数	错误反应率/%
对照组	0	63.3 ± 26.0	4.3 ± 1.2	31.3 ± 23.9	2.7 ± 1.1	100
低剂量组	50	66.6 ± 23.0	3.1 ± 0.9 <sup>(1)</sup>	114.4 ± 69.1 <sup>(1)</sup>	1.4 ± 2.0 <sup>(1)</sup>	50 <sup>(1)</sup>
中剂量组	100	46.9 ± 25.6	3.1 ± 1.0 <sup>(1)</sup>	125.4 ± 53.5 <sup>(2)</sup>	0.7 ± 0.7 <sup>(2)</sup>	58.3 <sup>(1)</sup>
高剂量组	300	66.2 ± 29.7	3.0 ± 1.0 <sup>(2)</sup>	104.9 ± 69.3 <sup>(2)</sup>	0.7 ± 0.7 <sup>(2)</sup>	58.3 <sup>(1)</sup>

注: 与对照组比较, (1) $P < 0.05$ , (2) $P < 0.01$

由表 2 结果可见, 消退试验(记忆再现)表明, 各剂量组小鼠在跳台被动回避反应中, 潜伏期与对照组比较, 差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 2 DHA 藻油对小鼠记忆再现-消退试验的影响: 跳台实验

Table 2 DHA algal oil's effect on the experiment of memory reappearance-retrogression in mice: step-down test ( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	DHA/ (mg/kg BW)	潜伏期/S	错误次数	错误反应率/%
对照组	0	46.3 ± 52.9	1.8 ± 1.1	91.7
低剂量组	50	146.6 ± 43.7 <sup>(2)</sup>	0.4 ± 0.5	41.7 <sup>(1)</sup>
中剂量组	100	107.0 ± 55.7 <sup>(2)</sup>	0.7 ± 0.5	66.7
高剂量组	300	149.7 ± 30.7 <sup>(2)</sup>	0.6 ± 0.5	58.3

注: 与对照组比较, (1) $P < 0.05$ , (2) $P < 0.01$

## 2.2 避暗实验

由表 3 可见, 高剂量组避暗测验潜伏期较对照组延长( $P < 0.05$ ); 各剂量组在训练错误次数、测验错误次数、进入暗室的动物百分率均较对照组低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

由表 4 可见, 消退试验(记忆再现)表明, 中剂量组在避暗潜伏期、错误次数、进入暗室的动物

百分率与对照组比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.3 水迷宫实验

由表 5 可见, 高剂量组水迷宫试验小鼠到达终点的时间和达到终点前的错误次数、中剂量组水迷宫试验小鼠 2 min 内到达终点的动物百分率与对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 3 DHA 藻油对小鼠记忆获得与巩固的影响: 避暗实验

Table 4 DHA algal oil's effect on memorial acquisition and consolidation in mice: passive avoidance test ( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	DHA/ (mg/kg BW)	记忆获得(学习成绩)		记忆巩固(24 h 后)		
		潜伏期/s	5 min 内错误次数	潜伏期/s	3 min 内错误次数	错误反应率/%
对照组	0	58.8 ± 34.3	3.7 ± 1.5	181.0 ± 90.4	1.2 ± 0.7	91.7
低剂量组	50	88.3 ± 42.0	1.7 ± 0.8 <sup>(2)</sup>	365.4 ± 69.8 <sup>(2)</sup>	0.3 ± 0.5 <sup>(2)</sup>	41.7 <sup>(1)</sup>
中剂量组	100	90.4 ± 44.3	1.5 ± 0.5 <sup>(2)</sup>	280.8 ± 37.3 <sup>(2)</sup>	0.3 ± 0.5 <sup>(2)</sup>	41.7 <sup>(1)</sup>
高剂量组	300	110.4 ± 38.7 <sup>(2)</sup>	1.8 ± 1.0 <sup>(2)</sup>	263.3 ± 60.4 <sup>(1)</sup>	0.3 ± 0.5 <sup>(2)</sup>	58.3 <sup>(2)</sup>

注: 与对照组比较, (1) $P < 0.05$ , (2) $P < 0.01$

表 4 DHA 藻油对小鼠记忆再现-消退试验的影响:避暗实验

Table 4 DHA algal oil's effect on the experiment of memory reappearance-retrogression in mice; passive avoidance test ( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	DHA/ (mg/kg BW)	潜伏期/S	错误次数	错误反应率/%
对照组	0	162.2 ± 95.4	0.9 ± 0.5	83.3
低剂量组	50	261.3 ± 60.3 <sup>(2)</sup>	0.4 ± 0.5 <sup>(1)</sup>	41.7
中剂量组	100	269.2 ± 59.0 <sup>(2)</sup>	0.3 ± 0.5 <sup>(2)</sup>	25.0 <sup>(1)</sup>
高剂量组	300	292.3 ± 26.6 <sup>(2)</sup>	0.1 ± 0.3 <sup>(2)</sup>	8.3 <sup>(2)</sup>

注:与对照组比较,(1) $P < 0.05$ , (2) $P < 0.01$

表 5 DHA 藻油对小鼠记忆获得与巩固的影响:水迷宫实验

Table 5 DHA algal oil's effect on memorial acquisition and consolidation in mice; water maze test ( $n = 60, \bar{x} \pm s$ )

组别	DHA/ (mg/kg BW)	到达终点时间/s	到达终点前的 错误次数	2 min 内到达终 点的动物数/%
对照组	0	410.3 ± 59.2	32.8 ± 4.6	61.7
低剂量组	50	398.7 ± 61.8	29.1 ± 6.4	78.3
中剂量组	100	334.3 ± 111.5	26.1 ± 8.9	80.0 <sup>(1)</sup>
高剂量组	300	308.8 ± 145.3 <sup>(1)</sup>	23.8 ± 9.8 <sup>(1)</sup>	75.0

注:与对照组比较,(1) $P < 0.05$ , (2) $P < 0.01$

由表 6 可见,消退试验(记忆再现)表明,各剂量组小鼠在到达终点时间、到达终点前的错误次数以及 2 min 内到达终点的动物数与对照组比较,差异均无统计学意义。

表 6 DHA 藻油对小鼠记忆再现-消退试验的影响:水迷宫实验

Table 6 DHA algal oil's effect on the experiment of memory reappearance-retrogression in mice; water maze test ( $n = 12, \bar{x} \pm s$ )

组别	DHA/ (mg/kg BW)	到达终点时间/s	到达终点前的 错误次数	2 min 内到达终 点的动物数/%
对照组	0	91.2 ± 34.4	6.6 ± 3.1	58.3
低剂量组	50	72.8 ± 36.1	5.2 ± 3.0	75.0
中剂量组	100	55.9 ± 34.5	4.9 ± 3.1	83.3
高剂量组	300	65.3 ± 38.0	6.8 ± 4.6	75.0

### 3 讨论

DHA 在大脑神经发育和学习记忆行为方面有重要作用,尤其是婴儿中枢神经系统的发育<sup>[9]</sup>,郭艳芬等<sup>[14]</sup>的试验结果表明,DHA 对大鼠学习记忆的作用呈“钟型”量效曲线,低(150 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、中剂量(300 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)连续喂养 12 周,均具有较明显的改善记忆功效,大剂量的 DHA(600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)并不能增加其效果,反而降低了大鼠的空间学习记忆能力。本研究所用 DHA 藻油软胶囊折合后推荐人体用量为 3.3 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,属于较低的使用剂量,实验结果表明,DHA 藻油软胶囊具有辅助改善记忆的功能。马琳等<sup>[15]</sup>研究结果表明,DHA 对初断乳大鼠学习记忆能力有提高作用,且存在一定的量效关系,其机制与 DHA 上调海马组织中 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)受体亚基(NRI)、cAMP 反应元件结合蛋白(CERB)、即刻早期基因(*c-fos*) mRNA 的表达水平有关。SCHMITT 等<sup>[16]</sup>对富含 DHA 的藻油制剂安全性进行了研究,未发现其体内和体外

具有遗传毒性,其对雄性和雌性大鼠的无明显伤害作用的最大剂量分别达到了 3305 和 3679 mg/kg BW。

鱼油,尤其是深海鱼油是 DHA 传统上的主要来源,但其含量与鱼的种类、季节及地理位置等有关,存在不稳定性,鱼油 DHA 中胆固醇的含量较高,且有腥味,海洋重金属等污染也严重影响了鱼油 DHA 的品质,鱼油中除 DHA 外尚含有较高的二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA),奶粉中高 EPA 含量和儿童体内低花生四烯酸(arachidonic acid, AA)含量是婴幼儿生长阻滞的主要因素,海洋微藻具有生长繁殖快速、不带腥味、不含胆固醇、几乎不含 EPA、DHA 纯度高等优点,目前在婴幼儿奶粉中具有较广泛的应用<sup>[3,9,17]</sup>。丁慧萍等<sup>[18]</sup>采用对照、双盲、随机方法对某小学年龄在 11 到 12 岁之间的健康学生,分别服用藻油来源 DHA 和鱼油来源 DHA 复合制剂的研究结果表明,DHA 复方制剂具有改善儿童记忆的效果,同时同等剂量不同来源的 DHA 对记忆力的改善具有相同的影响。

本研究参考卫法监发〔2003〕42号《保健食品检验与评价技术规范》中的辅助改善记忆功能检验方法进行跳台试验、避暗试验和水迷宫试验并略作调整,分别进行两次试验,可以排除非特异性的干扰,本文所列试验数据均为第一次试验数据,因两次试验结果基本一致,故重复试验数据未列出。结果表明,连续经口灌胃给予小鼠低、中、高3个不同剂量的DHA藻油软胶囊制剂30d,跳台试验、避暗试验和水迷宫试验均呈阳性结果,对小鼠记忆获得、记忆巩固、记忆再现两次试验结果基本一致,具有较好的重现性,证明DHA藻油软胶囊制剂具有辅助改善小鼠记忆的功能。

### 参考文献

- [1] 杨贤庆,吕军伟,林婉玲,等. DHA功能特性以及抗氧化性研究进展[J]. 食品工业科技,2014,35(2):390-394.
- [2] 曾强,张静妹,刘忠慧,等. 深海鱼油改善小鼠记忆功能的试验研究[J]. 卫生研究,2012,41(3):441-444.
- [3] 李妍,王静,李麒麟,等. EPA和DHA最新研究进展[J]. 农产品加工·学刊,2013(2):6-13.
- [4] 付成伟,赵小玲,尚刚,等. 脂肪酸构成比和DHA含量对血脂代谢的调节[J]. 食品研究与开发,2013,34(9):88-91.
- [5] 朱昱哲,王静凤,毛磊,等. 高含量DHA/EPA甘油三酯鱼油改善脂肪肝大鼠脂质代谢作用的研究[J]. 营养学报,2013,35(4):332-337.
- [6] CASULA M, SORANNA D, CATAPANO A, et al. Long-term effect of high dose omega-3 fatty acid supplementation for secondary prevention of cardiovascular outcomes: a meta-analysis of randomized, double blind, placebo controlled trials [J]. *Atheroscler Suppl*, 2013,14(2):243-251.
- [7] SUN Si-Nan, LI Jian-sheng, JIA Wei-dong, et al. Docosahexaenoic acid reduces proliferation and inhibits invasion of human hepatocellular carcinoma cell lines. *Proceedings of the 22<sup>nd</sup> Asia Pacific Cancer Conference* [J]. *Cancer Biol Med*, 2013,10(1):221-222.
- [8] CHISATO K, LIU Y, TAKESHI Y, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid has an anti-oxidant effect via the Nrf-2/HO-1 pathway in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013,430(1):225-230.
- [9] 王月囡,侯冬岩,辛广,等. DHA对婴幼儿的生理作用及应用研究[J]. 鞍山师范学院学报,2012,14(8):50-53.
- [10] STOUGH C, DOWNEY L, SILBER B, et al. The effects of 90-day supplementation with the Omega-3 essential fatty acid docosahexaenoic acid (DHA) on cognitive function and visual acuity in a healthy aging population [J]. *Neurobiol Aging*, 2012,33(4):824.e1-824.e3.
- [11] 王丽梅,叶诚,郭艳芬,等. DHA油与其他4种油脂对大鼠空间学习记忆、脂质过氧化及其血脂水平的影响[J]. 中国油脂,2013,38(3):34-38.
- [12] 王筱璐,张丹霞,曾晓娟,等. 孕妇/乳母DHA含量对婴儿智能发育的影响[J]. 海南医学,2007,18(8):31-33.
- [13] 谢林. “孕期摄入DHA补充剂对婴儿生长发育/智力及视力影响的追踪研究”项目进展报告[R]//中国营养学会. 中国营养学会营养科研基金帝斯曼专项科研基金资助项目进展报告. 北京:中国营养学会,2013:35-38.
- [14] 郭艳芬,王丽梅,肖娜,等. 发育期补充DHA对大鼠空间学习记忆能力的影响[J]. 中国油脂,2011,36(9):43-47.
- [15] 马琳,王丽梅,樊永波,等. DHA提高大鼠学习记忆的分子机制研究[J]. 食品科学,2013,34(17):246-249.
- [16] SCHMITT D, TRAN N, PEACH J, et al. Toxicologic evaluation of DHA-rich algal oil: Genotoxicity, acute and subchronic toxicity in rats [J]. *Food Chemical Toxicol*, 2012,50(10):3567-3576.
- [17] 陈殊贤,郑晓辉. 微藻油和鱼油中DHA的特性及应用研究进展[J]. 食品科学,2013,34(21):439-444.
- [18] 丁慧萍,李艳红,丁倩,等. 藻油及鱼油二十二碳六烯酸复方制剂对儿童记忆功能的影响[J]. 中华临床营养杂志,2011,19(2):112-115.
- [16] 脑卒中、冠心病发病危险因素进一步研究协作组. 11省市队列人群代谢综合征的临床流行病学研究[J]. 中华预防医学杂志,2002,36(5):298-300.
- [17] 顾东风,REYNOLDS K, 杨文杰,等. 中国成人代谢综合征的患病率[J]. 中华糖尿病杂志,2005,13(3):181-186.
- [18] 黄世超,李尧连,杨红珍,等. 高温作业工人的血粘度和血循环功能调查[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,1992,10(2):94-96.
- [19] 王莹,顾祖维. 现代职业医学[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:575.
- [20] 梁友信. 劳动卫生与职业病学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,2000:188.

收稿日期:2014-04-11

收稿日期:2013-12-27

(上接第81页)



知网查重限时 **7折** 最高可优惠 **120元**

本科定稿，硕博定稿，查重结果与学校一致

立即检测

免费论文查重: <http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载: <http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重: [http://www.paperyy.com/reduce\\_repetition](http://www.paperyy.com/reduce_repetition)

PPT免费模版下载: <http://ppt.ixueshu.com>

---