



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 115299533 B

(45) 授权公告日 2024. 06. 14

(21) 申请号 202210707119.7

A23K 20/189 (2016.01)

(22) 申请日 2022.06.21

A23K 20/142 (2016.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A23K 10/30 (2016.01)

申请公布号 CN 115299533 A

A23K 10/20 (2016.01)

(43) 申请公布日 2022.11.08

(56) 对比文件

CN 114223788 A, 2022.03.25

(73) 专利权人 南京壹宠汇生物科技有限公司

张楠. 角蛋白纤维的化学-酶法协同降解及其产物结构表征和性能分析. 中国博士学位论文全文数据库 工程科技I辑. 2022, (第3期), B027-128, 论文第21-22, 95-96页.

地址 210046 江苏省南京市栖霞区马群街道紫东路2号紫东国际创意园C11-502室

(72) 发明人 黄丽帆 马若天 王畅 范元芳

审查员 毕晓华

(74) 专利代理机构 上海微策知识产权代理事务

所(普通合伙) 31333

专利代理师 徐娟

(51) Int. Cl.

A23K 50/40 (2016.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物

(57) 摘要

本发明涉及宠物食品领域, 尤其涉及IPC A23K1领域, 更具体地, 涉及一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物。所述含酶复合物, 按重量份计, 原料包括: 复合酶0.1-2份, L-半胱氨酸0.01-0.5份。所述含酶复合物制备的宠物化毛及排毛用可食用组合物, 按重量份计, 植物成分30-55份, 含酶复合物0.1-3份。本发明所述的可食用组合物具有化毛和排毛的功能, 可应用于罐头、猫条、咕噜酱、冻干肉、宠物饼干、化毛膏、化毛片、主粮这些宠物零食、宠物保健品或全价宠物食品中。

1. 一种宠物化毛及排毛用食用组合物,其特征在于,原料按重量计包括:植物成分30-55份,含酶复合物0.1-3份;

所述植物成分为禾本科植物和洋车前子壳;所述禾本科植物:洋车前子壳=(10-60):(1-3);所述禾本科植物为燕麦苗和大麦苗;所述燕麦苗和大麦苗的重量比为1:(1-5);所述禾本科植物为经过烘干或冷冻脱水的粉末状或长条状;

所述的含酶复合物,按重量份计,原料包括:复合酶0.1-2份,L-半胱氨酸0.01-0.5份;所述复合酶为角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、丝氨酸内切肽酶;角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、丝氨酸内切肽酶的重量比为(1-2):(1-2):(1-2):(1-2);

所述的丝氨酸内切肽酶需进行包被处理,具体步骤如下:把丝氨酸内切肽酶、淀粉、海藻糖混合均匀后,在摇摆制粒机中制成颗粒,后将颗粒放入抛丸机进行抛丸,抛丸后进行底喷流化床包衣机喷涂包衣材料,包衣温度为35-45℃,包衣后在30-45℃下干燥1-3h,过筛即得;所述包衣材料为肠溶性聚丙烯酸树脂乳胶液;所述过筛的目数为20-80目;所述丝氨酸内切肽酶、淀粉、海藻糖的重量比为(1-2):(1-3):(1-2);

所述含酶复合物的制备方法为:将原料按重量份计混合,即得。

2. 一种根据权利要求1所述的宠物化毛及排毛用食用组合物的应用,其特征在于,应用于宠物零食、宠物保健品或全价宠物食品中。

一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及宠物食品领域,尤其涉及IPC A23K1领域,更具体地,涉及一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物。

背景技术

[0002] 猫咪每天舔舐自己的毛发上百次,在给自己梳理毛发的过程中,会将部分毛发吃进嘴里。大多数的毛发会通过胃进入肠道,随着粪便一起排出体外,但是毛发一旦多了会容易卷在一起,变成毛球卡在消化道中。有的毛球会通过呕吐排出体外,但呕吐会伴随胃酸反流,长期呕吐导致猫咪容易患上慢性肠胃道疾病;长期的毛球堆积会阻塞猫咪消化道,造成营养吸收不良,甚至发展成为毛球病,需要开刀取出。

[0003] 为了预防毛球病的发生,饲主通常会选择猫草、化毛膏、化毛片等产品来辅助毛球排出。禾本科植物富含大量膳食纤维,采食后可促进胃肠道蠕动,从而促使猫毛排出体外,但无论是从野外摘取还是人工种植,都不够便捷,饲主无法保持宠物可以时刻吃到新鲜的猫草,另外有一些猫不喜欢吃植物,会引发采食量不足、排毛效果不好等问题;化毛膏的主要成分是天然纤维素和润肠因子,但化毛膏中油脂、糖浆含量过高,多吃容易造成宠物肥胖;化毛片的主要成分也是膳食纤维,为了提高适口性,通常需要添加诱食剂,且单日用量较高。

[0004] 现有技术中,申请公布号为CN107373095A的专利申请文件,公开了一种宠物化毛膏及其制备方法,通过各原料之间的结合,能够促进肠胃蠕动,帮助宠物排出胃中的毛球,改善其便秘状况,但是含有比例较高的淀粉、蔗糖和少量调味剂,且功能性成分中燕麦苗纤维素含量不高,七水硫酸镁是泻盐,大量服用后可能会有呕吐、腹泻、脱水等风险。

[0005] 申请公布号为CN103907765A的专利申请文件,公开了一种室内成猫食用的草本猫粮,通过加入纤麸物,可改善排便不通畅、粪便稀软等问题,促进消化道蠕动,还具有抗菌利尿的作用,但是纤麸物使用过量会导致猫咪呕吐,容易患上慢性胃肠道疾病。

[0006] 值得注意的是,现有的化毛产品主要还是以增强肠道蠕动、促进毛球排出为目的,并未在真正意义上对猫毛进行分解消化。

[0007] 猫毛的主要成分是角蛋白,角蛋白是一种不溶于水、含硫量高的丝状结构蛋白,结构高度稳定,可通过物理法、化学法、生物法等多种方式进行降解,应用于体内时生物降解法最为理想。角蛋白酶是一种专门酶解角蛋白的特异性蛋白酶,对猫毛有一定的降解作用,但单独使用时降解效率较低。

发明内容

[0008] 为了解决上述问题,本发明第一方面,提供了一种含酶复合物,其特征在于,按重量份计,原料包括:复合酶0.1-2份,L-半胱氨酸0.01-0.5份。

[0009] 优选的,所述复合酶包括角蛋白酶、菠萝蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶、重组二硫键氧化还原酶、丝氨酸内切肽酶、木瓜蛋白酶中的一种或多种;进一步优选的,为角蛋白酶、菠

菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、丝氨酸内切肽酶。

[0010] 优选的,所述角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶和丝氨酸内切肽酶的重量比为(1-2):(1-2):(1-2):(1-2);进一步的,为1:1:1:1。

[0011] 优选的,将丝氨酸内切肽酶进行包被处理,具体步骤如下:

[0012] 把丝氨酸内切肽酶、淀粉、海藻糖混合均匀后,在摇摆制粒机中制成颗粒,后将颗粒放入抛丸机进行抛丸,抛丸后进行底喷流化床包衣机喷涂包衣材料,包衣温度为35-45℃,包衣后在30-45℃下干燥1-3h,过筛即得。

[0013] 优选的,所述丝氨酸内切肽酶、淀粉、海藻糖的重量比为(1-2):(1-3):(1-2);进一步优选的,为1:2:1。

[0014] 所述包衣材料为肠溶性聚丙烯酸树脂乳胶液。

[0015] 在一些优选的方案中,所述肠溶性聚丙烯酸树脂乳胶液购买自武汉鹏垒生物科技有限公司。

[0016] 所述过筛的目数为20-80目;进一步优选的,为50目。

[0017] 所述含酶复合物的制备方法为:将丝氨酸内切肽酶包被处理后,将原料按重量份计混合,即得。

[0018] 申请人意外发现,选用角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶和丝氨酸内切肽酶作为复合酶,同时辅以L-半胱氨酸应用于可食用组合中,可以促进猫毛的分解。这可能是由于猫毛的主要成分是一种不溶于水、含硫量高的丝状结构蛋白,尤其是鳞片外层,二硫键和异构键含量很高,结构高度稳定,普通的方法对其降解有限,申请人选用生物酶解法与化学法相结合的方式。

[0019] 生物酶具有绿色环保、专一选择性等特点,普通蛋白酶如胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶等已被用于降解角蛋白纤维,但单一蛋白酶仅作用于含硫量较低的非角蛋白组分如细胞间复合物和鳞片内层等,而对主要蛋白组分-鳞片和皮质细胞几乎不能降解;丝氨酸内切肽酶(丝氨酸碱性蛋白酶)可以高效催化水解蛋白分子中的肽键,其最优作用pH为中性偏碱性。L-半胱氨酸属于硫醇类还原剂,角蛋白分子间二硫键和氢键紧密交联使物理化学机构非常稳定,而L-半胱氨酸能有效还原角蛋白纤维中二硫键生成巯基,反应原理如图1所示。

[0020] 申请人发现,通过加入重量比为(1-5):(0.5-2):(0-5):(0.2-1.5)的角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶和丝氨酸内切肽酶作为复合酶,加上半胱氨酸的二硫键还原作用,可将部分猫毛降解为多肽、寡肽及游离氨基酸,未被降解的猫毛也因鳞片外层疏水屏障被破坏,更容易随粪便排出体外,在有效预防猫毛聚集成毛球的同时增加了蛋白消化率。

[0021] 本发明第二方面,提供了一种由所述的含酶复合物制备的宠物化毛及排毛用可食用组合,其特征在于,按重量份计,所述宠物化毛及排毛用可食用组合物的原料包括:植物成分30-55份,含酶复合物0.1-3份。

[0022] 优选的,所述植物成分为禾本科植物、车前子(PLANTAGINIS SEMEN)、洋车前子壳(PSYLLIUM seed husk)、蜂胶(CollaApis)、黄芩(ScutellariabaicalensisGeorgi)、苍术(AtractylodesLancea(Thunb.)DC.)中的一种或多种;进一步优选的,为禾本科植物和洋车前子。

[0023] 优选的,按重量比计,所述禾本科植物:洋车前子壳=(10-60):(1-3);进一步优选

的,为30:1。

[0024] 优选的,所述禾本科植物为燕麦苗 (*Avena sativa* Linn.)、小麦苗 (Wheatgrass)、大麦苗 (*Hordeum vulgare* L.)、狗尾巴草 (*Setaria viridis* (L.) Beauv.)、绿豆 (*Vigna radiata* (Linn.) Wilczek)、水竹 (*Phyllostachys heteroclada* Oliver) 中的一种或多种;进一步优选的,为燕麦苗和大麦苗。

[0025] 优选的,所述燕麦苗和大麦苗的重量比为1:(1-5);进一步优选的,为3:7。

[0026] 优选的,所述禾本科植物为经过烘干或冷冻脱水的粉末状或长条状。

[0027] 申请人发现,选用富含纤维的禾本科植物,尤其是选用重量比为1:(1-5)的燕麦苗和大麦苗作为禾本科植物,且将其经过烘干或冷冻脱水制成粉末状或长条状,应用在可食用组合物中,能够促进肠胃蠕动,不仅有助于宠物消化,还能平衡宠物的营养需求、舒缓宠物的精神压力,但单独使用且用量过多会导致宠物出现厌食、呕吐等现象。申请人意外发现,加入一定量的洋车前子壳不仅能够缓解猫咪呕吐的现象,还能吸收粪便中的水分使其成形,可在一定程度上缓解腹泻,但添加量不能过高。申请人发现,选用重量比为(10-60):(1-3)的禾本科植物:洋车前子壳,可为机体提供膳食纤维,促进肠道蠕动、改善便秘问题,能将胃肠道内的猫毛顺利排出体外,真正起到排毛的作用。

[0028] 所述宠物化毛及排毛用的可食用组合物的制备方法,包括以下步骤:

[0029] S1、将按比例称取植物成分、复合酶和L-半胱氨酸;

[0030] S2、将S1中原料混合,即得。

[0031] 本发明第三方面提供了所述宠物化毛及排毛用的可食用组合物的应用,其可应用于罐头、猫条、咕噜酱、冻干肉、宠物饼干、化毛膏、化毛片、主粮这些宠物零食、宠物保健品或全价宠物食品中。

[0032] 有益效果:

[0033] 1、通过选用重量比为1:(1-5)的燕麦苗和大麦苗作为禾本科植物,且将其经过烘干或冷冻脱水制成粉末状或长条状,应用在可食用组合物中,能够促进肠胃蠕动,不仅有助于宠物消化,还能平衡宠物的营养需求、舒缓宠物的精神压力。

[0034] 2、通过加入一定量的洋车前子壳不仅能够缓解猫咪呕吐的现象,还有助于软化肠道中的粪便,促进宠物的排便,同时缓解腹泻。

[0035] 3、通过选用重量比为(10-60):(1-3)的禾本科植物:洋车前子壳,可为机体提供膳食纤维,促进肠道蠕动、改善便秘问题,能将体内的猫毛顺利排出体外,真正起到排毛的作用。

[0036] 4、通过选用重量比为(1-5):(0.5-2):(0-5):(0.2-1.5)的角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶和丝氨酸内切肽酶作为复合酶,辅以重量比为(0.01-0.5)的L-半胱氨酸,可将体内的猫毛降解为多肽、寡肽及游离氨基酸,有效预防毛球生成的同时增加了蛋白消化率,真正起到化毛作用。

[0037] 5、本发明所述一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物,原料简单,制备方法简便,可应用于罐头、猫条、咕噜酱、冻干肉、宠物饼干、化毛膏、化毛片、主粮这些宠物零食、宠物保健品或全价宠物食品中,尤其适用于冻干肉和罐头。

附图说明

- [0038] 图1为硫醇类还原剂与角蛋白纤维中二硫键的反应原理；
- [0039] 图2为用1g实施例1所制备的复合酶处理前的猫毛图片，显微镜放大倍数为400倍；
- [0040] 图3为用1g实施例1所制备的复合酶处理前的猫毛图片，显微镜放大倍数为400倍；
- [0041] 图4为用1g实施例1所制备的复合酶处理后的猫毛图片，显微镜放大倍数为400倍；
- [0042] 图5为用1g实施例1所制备的复合酶处理后的猫毛图片，显微镜放大倍数为400倍；
- [0043] 图6为用1g实施例1所制备的复合酶处理后的猫毛实拍图片；
- [0044] 图7为用1g离心管编号⑦所制备的复合酶处理后的猫毛实拍图片。

具体实施方式

- [0045] 实施例
- [0046] 实施例1
- [0047] 实施例1提供了一种含酶复合物，其特征在于，按重量份计，原料包括：复合酶1份，L-半胱氨酸0.25份。
- [0048] 所述复合酶为角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶和丝氨酸内切肽酶。
- [0049] 所述角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶和丝氨酸内切肽酶的重量比为1:1:1:1。
- [0050] 所述角蛋白酶购买自供应商青岛海维森生物科技有限公司生产的固体食品级角蛋白酶。
- [0051] 所述菠萝蛋白酶的CAS号为9001-00-7。
- [0052] 所述木瓜蛋白酶的CAS号为9001-73-4。
- [0053] 所述丝氨酸内切肽酶购买自北京高瑞森科技有限公司
- [0054] 将丝氨酸内切肽酶进行包被处理，具体步骤如下：
- [0055] 把丝氨酸内切肽酶、淀粉、海藻糖混合均匀后，在摇摆制粒机中制成颗粒，后将颗粒放入抛丸机进行抛丸，抛丸后进行底喷流化床包衣机喷涂包衣材料，包衣温度为40℃，包衣后在40℃下干燥2h，过筛即得。
- [0056] 所述丝氨酸内切肽酶、淀粉、海藻糖的重量比为1:2:1。
- [0057] 所述包衣材料为肠溶性聚丙烯酸树脂乳胶液。
- [0058] 所述肠溶性聚丙烯酸树脂乳胶液购买自武汉鹏垒生物科技有限公司。
- [0059] 所述过筛的目数为50目。
- [0060] 所述L-半胱氨酸的CAS号为52-90-4。
- [0061] 所述含酶复合物的制备方法为：将丝氨酸内切肽酶包被处理后，将原料按重量份计混合，即得。
- [0062] 本发明第二方面，提供了一种由所述的含酶复合物制备的宠物化毛及排毛用可食用组合物，包括如下重量份的原料：植物成分31份，含酶复合物1.25份。
- [0063] 所述植物成分为禾本科植物和洋车前子壳。
- [0064] 所述洋车前子壳购买自供应商扶风斯诺特生物科技有限公司生产的洋车前子壳浓缩粉。
- [0065] 按重量比计，所述禾本科植物：洋车前子壳为30:1。
- [0066] 所述禾本科植物为燕麦苗和大麦苗。

- [0067] 所述燕麦苗和大麦苗的重量比为3:7。
- [0068] 所述燕麦苗购买自供应商宝鸡六盘韵生物科技有限公司生产的燕麦苗粉。
- [0069] 所述大麦苗购买自供应商陕西赛扬粉体技术有限公司生产的大麦苗粉。
- [0070] 所述宠物化毛及排毛用的可食用组合物的制备方法,包括以下步骤:
- [0071] S1、将按比例称取各组分;
- [0072] S2、将各组分混合,即得。
- [0073] 所述宠物化毛及排毛用的可食用组合物可应用于宠物罐头。
- [0074] 实施例2
- [0075] 实施例2提供了一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物,具体实施方式同实施例1,不同点在于:一种含酶复合物,其特征在于,按重量份计,原料包括:复合酶1份。所述复合酶为角蛋白酶、木瓜蛋白酶。
- [0076] 所述角蛋白酶、木瓜蛋白酶的重量比为1:1。
- [0077] 实施例3
- [0078] 实施例3提供了一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物,具体实施方式同实施例1,不同点在于:一种含酶复合物,其特征在于,按重量份计,原料包括:复合酶1份。所述复合酶为角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶。
- [0079] 所述角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶的重量比为1:1:1。
- [0080] 实施例4
- [0081] 实施例4提供了一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物,具体实施方式同实施例1,不同点在于:一种含酶复合物,其特征在于,按重量份计,原料包括:复合酶0.75份,L-半胱氨酸0.25份。所述复合酶为角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶。
- [0082] 所述角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶的重量比为1:1:1。
- [0083] 实施例5
- [0084] 实施例5提供了一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物,具体实施方式同实施例1,不同点在于:一种含酶复合物,其特征在于,按重量份计,原料包括:复合酶1份。所述复合酶为角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、丝氨酸内切肽酶。
- [0085] 所述角蛋白酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、丝氨酸内切肽酶的重量比为1:1:1:1。所述丝氨酸内切肽酶未进行包被处理。
- [0086] 实施例6
- [0087] 实施例6提供了一种含酶复合物及其制备的宠物化毛排毛用可食用组合物,具体实施方式同实施例1,不同点在于:
- [0088] 所述丝氨酸内切肽酶未进行包被处理。
- [0089] 性能测试方法
- [0090] 猫毛体外仿生消化试验(仅添加含酶复合物)
- [0091] 1、试验材料:选择皮肤健康状况良好、不同品种和毛发长度的4只猫(品种分别为布偶、蓝猫、银渐层、田园),进行猫毛采集
- [0092] 2、试验方法:
- [0093] 1)将四种猫毛置于65℃烘箱中烘干至恒重;
- [0094] 2)取1L蒸馏水,用盐酸溶液调节pH至2.5(模仿猫胃pH环境)备用;

[0095] 3) 称量猫毛0.25g(4种猫毛各0.0625g)于100mL离心管中;

[0096] 4) 分别称取1g实施例1-6制备的含酶复合物和3g实施例1制备的含酶复合物于100mL离心管中,并分别在其中添加0.25g的胃蛋白酶模拟胃中环境,离心管分别设置编号为①-⑦;设置未添加任何酶的试剂管为负对照试验,设置添加含有0.25g胃蛋白酶的试剂为正对照试验;

[0097] 5) 在离心管中加入80mLpH为2.5的盐酸溶液并摇匀;

[0098] 6) 将离心管至于温度为38.5℃、转速为30r/min的水浴锅中,2h后取出,调节pH为6.75(模拟猫肠道pH),继续水浴22h;

[0099] 7) 用80目尼龙过滤网将离心管中的猫毛过滤出来,并用蒸馏水洗涤三次,置于65℃烘箱中干燥至恒重;

[0100] 8) 称量恒重后的猫毛重量,计算猫毛失重率,猫毛失重率(%)=(步骤3中的猫毛重量-步骤7中的猫毛重量)/步骤3中的猫毛重量*100%,每个离心管试验重复三次,结果记入表1。

[0101] 9) 用显微镜镜检离心管编号①处理前后的猫毛,观察猫毛的形态变化,如图2-6所示;离心管编号⑦处理前后的猫毛实拍图片如图7所示。

[0102] 表1猫毛失重率

[0103]

离心管编号	具体成份	重复	猫毛失重率/%	失重率均值/%
负对照	未添加成份	1	2.68	3.41
		2	3.47	
		3	4.10	
正对照	0.25g 胃蛋白酶	1	5.27	5.20
		2	4.68	
		3	5.66	
①	1g 实施例 1 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	15.82	20.27
		2	19.80	
		3	25.17	
②	1g 实施例 2 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	10.88	11.50
		2	9.63	
		3	14.00	
③	1g 实施例 3 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	13.85	12.45
		2	9.40	
		3	14.10	
④	1g 实施例 4 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	15.09	16.09
		2	20.06	
		3	13.12	
⑤	1g 实施例 5 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	16.71	16.30
		2	15.91	
		3	16.27	
⑥	1g 实施例 6 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	15.91	16.45
		2	19.10	
		3	14.35	
⑦	3g 实施例 1 中含酶复合物+0.25g 胃蛋白酶	1	13.67	11.97
		2	11.01	
		3	11.25	

[0104] 从表中可以看出,离心管编号①的猫毛失重率最高,但是加3倍含酶复合物剂量的编号⑦的猫毛失重率反而降低,但是通过肉眼观察,其分解的更为彻底,这可能是因为被分解之后的猫毛大部分都变成了疏松的絮状,过滤时在滤网上形成网状粘结,无法将细碎的猫毛完全过滤下来,导致猫毛失重率的降低。

[0105] 离心管编号④和⑤的失重率均明显高于离心管编号③,说明L-半胱氨酸或丝氨酸内切肽酶均能有效与其他酶复合物进行协同作用,促进猫毛的分解。

[0106] 尽管丝氨酸内切肽酶最适pH通常为中性偏碱性,本实验发现,在不做包被处理时,该酶在酸性环境中并未被完全破坏,仍能有效地对猫毛进行协同分解。

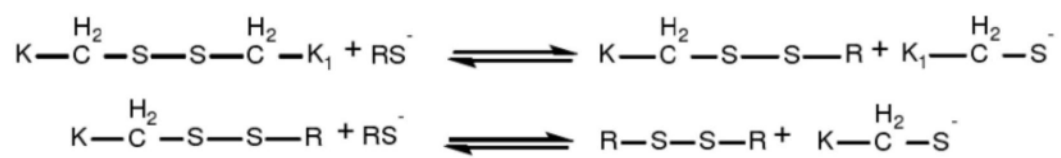


图1

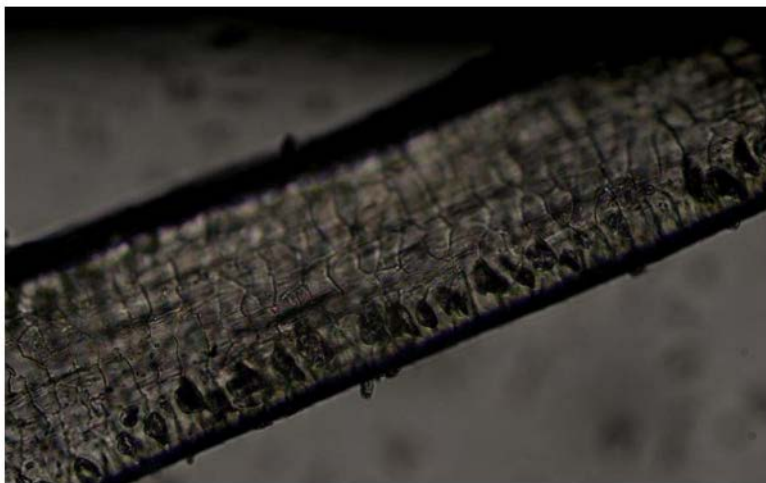


图2



图3

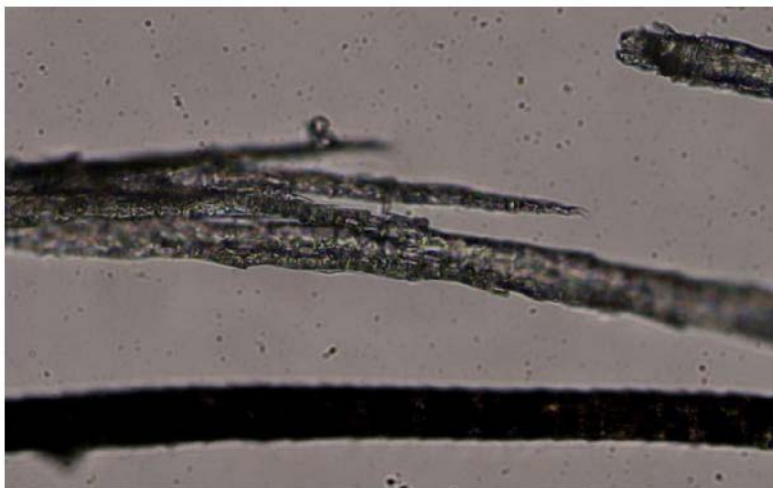


图4



图5



图6



图7