

# 分散固相萃取-超高压液相色谱-串联质谱法 测定黄瓜中的噻胺灵

陈武瑛, 张德咏, 李宗云, 何明远, 罗香文, 刘建宇, 刘绍文, 刘 勇<sup>\*</sup>  
(湖南省农业科学院植物保护研究所, 园艺作物病虫害治理湖南重点实验室, 长沙 410125)

**摘 要:** **目的** 建立黄瓜中噻胺灵残留的液质串联快速分析检测方法。**方法** 样品中的噻胺灵经乙腈提取用 *N*-丙基乙二胺(PSA)和石墨化碳黑(GCB)净化, 利用超高压液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)在多反应监测模式下进行检测。**结果** 以碎片离子对 432.8>212.9、432.8>82.9 定性、离子对 432.8>97.8 进行外标法定量。仪器在 0.01~1.00 mg/kg 范围内, 具有良好线性关系。在 0.02~1.00 mg/kg 添加水平范围内, 噻胺灵在黄瓜中的平均回收率为 85.3%~92.2%, 其相对标准偏差为 2.8%~7.5%。该方法的检出限(LOD)为 2.0 µg/kg, 定量限(LOQ)为 20 µg/kg。**结论** 本方法简便、快速、准确, 能满足国内外法规的要求, 可用于黄瓜样品中噻胺灵的农药残留确证检测。**关键词:** 噻胺灵; 超高压液相色谱-串联质谱法; 分散固相萃取; 黄瓜

## Determination of triforine in cucumber by dispersive solid phase extraction-ultra perssure liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry

CHEN Wu-Ying, ZHANG De-Yong, LI Zong-Yun, HE Ming-Yuan, LUO Xiang-Wen,  
LIU Jian-Yu, LIU Shao-Wen, LIU Yong<sup>\*</sup>

(Key Laboratory of Environmental Safety Assessment of Hunan Province, Hunan Plant Protection Institute,  
Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China)

**ABSTRACT: Objective** A rapid method has been developed for the determination of germicide triforine residues in cucumber. **Methods** The triforine from cucumber sample, which was extracted by acetonitrile and cleaned up by primary secondary amine (PSA) and graphitized carbon black (GCB), was determined by ultra perssure liquid chromatography-mass spectrometry under multiple reaction monitoring mode, then quantified by matrix-match standard solution. **Results** The qualitative results were obtained based on retention time, the precursor ion and three daughter ions, and the quantitation results were on the characteristic 432.8>212.9 ion, 432.8>82.9 ion and 432.8>97.8 ion. Average recoveries of triforine in cucumber samples were found in the range of 85.3%~92.2% at four spiking levels from 0.02 mg/kg to 1.0 mg/kg with relative standard deviations

基金项目: 国家大宗蔬菜产业体系项目(CARS-25-B-05)、湖南省农科院创新团队项目(湘农科科[2012]12号)、园艺作物病虫害治理湖南重点实验室平台建设项目

**Fund:** Supported by the Project of National Vegetable Science and Industrial Technology Innovation Alliance(CARS-25-B-05), the project of integrated Pests management innovation group in HAAS([2012]12) and the Project of Key laboratory of integrated management of the pests and diseases on Horticultural crops in Hunan province.

\*通讯作者: 刘勇, 研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: haoasliu@163.com

\*Corresponding author: LIU Yong, Researcher, Insutitute of Plant Protection of Hunan, No726, Yuanda 2 Road, Changsha 410125, China. E-mail: haoasliu@163.com

of 2.8%~7.5%. Limit of detections of triforine were 2.0  $\mu\text{g/kg}$ , while limit of quantifications were 20  $\mu\text{g/kg}$ , respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid, and accurate, and it can meet the requirements of the domestic and international legislation. The method adapts to confirm residues of triforine pesticides in cucumber samples.

**KEY WORDS:** triforine; UPLC-MS/MS; dispersive solid phase extraction; cucumber

## 1 引言

噻胺灵( $N,N'$ -[piperazine-1,4-diylbis [(trichloromethyl)-methylene]]diformamide)是一种酰胺类杀菌剂<sup>[1]</sup>,被广泛用于防治粮谷、果树和黄瓜上的白粉病、锈病和黑星病。由于它能够破坏动物体内红细胞,世界各国对它在水果和黄瓜中的最高残留限量有严格规定<sup>[2]</sup>。

目前,国内外关于噻胺灵的残留检测仅有少量报道。由于噻胺灵本体不能直接进行气相色谱测定,报道中普遍利用噻胺灵与醇类反应生成三氯乙酰胺类化合物或进行高温降解后再进行气相色谱 ECD 检测<sup>[2-5]</sup>。前者反应条件苛刻,操作繁复,耗时耗力,后者噻胺灵降解成三氯甲烷进行测定,需使用顶空进样方式,样品中基质干扰严重,重现性差。有研究采用液相色谱-紫外检测器(HPLC-UV)<sup>[6]</sup>和气液色谱-热离子检测器(GLC-TSD)直接检测噻胺灵<sup>[7]</sup>,但该方法的检出限较高。超高压液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定,结合基质固相分散萃取技术净化,是一种同时具备高效率、高特异性和高灵敏度的普适性方法,广泛用于农药及环境污染物的残留分析测定<sup>[8-13]</sup>。目前采用分散固相萃取-UPLC-MS/MS法测定黄瓜中噻胺灵尚未见报道。

本文建立了噻胺灵在黄瓜中残留分析检测方法,黄瓜样品经乙腈提取, $N$ -丙基乙二胺(PSA)和石墨化碳黑(GCB)净化,利用 UPLC-MS/MS 进行基质外标法检测。该方法有效地去除了干扰,提高了灵敏度,定性定量准确。且该方法简便快捷、易操作,完全满足黄瓜中噻胺灵残留量的快速检测和确证应用。同时,对噻胺灵的线性相关性及其基质效应进行了研究。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

超高压液相色谱-串联质谱(ACQUITY UPLC-TQD, 美国 Waters 公司); Milli-QA10 纯水机

(德国 Millipore); XW-80A 漩涡混合器(上海精科实业有限公司); TG-16G 台式快速离心机(湖南凯达实业发展有限公司); 针孔滤膜(0.22  $\mu\text{m}$ , Agela Technologies 公司)。

噻胺灵标准品(纯度 95.5%, 国家标准物中心); 乙腈(色谱纯); 水(Milli-Q 制备超纯水); 分散净化剂 PSA、GCB、Florisil (Agela Technologies); 无水硫酸镁和氯化钠均为分析纯。

### 2.2 标准溶液的配制

噻胺灵标准工作液的配制: 准确称取噻胺灵标准品 10.47 mg 用乙腈溶解定容到 10 mL 容量瓶中配成质量浓度为 999.88 mg/L 的储备液, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。准确移取适量标准储备液, 配制 0.01、0.02、0.10、0.05、0.50、1.00 mg/kg 噻胺灵系列标准工作液。

基质匹配标准样液的配制: 取按 2.3 步骤反应得出的空白样品 1 mL 氮吹至干, 用相应的标准工作液定容成 1 mL, 混匀, 即得基质标准样液。

### 2.3 样品前处理

准确称取切碎均质良好的样品 20 g 于 50 mL 具塞离心管中, 加入 20 mL 乙腈后漩涡振荡 5 min, 加入 4 g 无水硫酸镁和 3 g 氯化钠, 剧烈振荡 1 min 后在 4000 r/min 下离心 5 min。取上清液 1 mL 转入已加有 30 mg PSA、10 mg GCB 的 1.5 mL 3810 型微量离心管中, 涡旋 1 min; 8000 r/min 速度下离心 5 min。上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机系滤膜于自动进样瓶中, 待测。

### 2.4 色谱和质谱条件

色谱条件: Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm $\times$ 50 mm, (Waters 公司); 流动相: A 为乙腈, B 为超纯水; 二元梯度洗脱分离, 梯度洗脱: 0~2.0 min, 5%~100% A; 2.0~3.0 min, 100% A; 3.0~3.5 min, 100%~5% A; 3.5~5.0 min, 5% A; 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 3  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件: 电喷雾电离, 正离子扫描 ESI(+); 检测方式: 多反应监测(MRM); 毛细管电压: 3.0 kV;

离子源温度: 120 ℃; 去溶剂温度: 350 ℃; 去溶剂气流量: N<sub>2</sub>=650 L/h; 锥孔反吹气流量: N<sub>2</sub>=50 L/h; 锥孔电压: 22 V; 碰撞气: 氩气, 0.15 mL/min。以碎片离子对 432.8>212.9(碰撞能量: 26 V)、432.8>82.9(碰撞能量: 50 V)定性、离子对 432.8>97.8(碰撞能量: 36 V)进行外标法定量。

3 结果与分析

3.1 色谱条件的优化

为了获得最佳的灵敏度和峰形, 首先, 采用直接进样方式, 扫描范围  $m/z$  为 100~900, 选择合适的离子源和流动相。实验结果表明, 以乙腈-水体系为流动相<sup>[14]</sup>, 正离子扫描模式下, 电喷雾离子化可使噻胺灵具有较好的电离效果并获得特征离子峰  $[M+H]$ 。在此基础上, 进一步优化色谱和质谱参数, 如梯度洗脱条件、流动相配比和干燥气的流量等。通过试验证明, 采用乙腈-水体系为流动相, 在 2.4 中梯度洗脱条件下, 可得到较高的灵敏度、重现性

及峰形。

另外, 研究表明<sup>[15]</sup>, 干燥气的流速对溶质的离子化也有一定的影响。流量过小, 不能很好地将流动相(例如乙腈、水)汽化; 而流速大会致使部分溶质挥发, 因而导致灵敏度下降。锥孔反吹气对采集离子起到净化作用, 可以降低源内簇离子的形成, 然而过高或过低的锥孔反吹气都会导致灵敏度下降。针对噻胺灵本实验得出, 干燥气的流速为 650 L/h, 锥孔反吹气为 50 L/h 效果最佳。

3.2 净化剂的选择

本文对噻胺灵在黄瓜中添加水平为 0.1 mg/kg 条件下, 对不同净化剂对净化效率的影响进行了考察, 结果表明, 净化剂的选择对黄瓜中噻胺灵的回收率有明显影响, 其回收率高低顺序为:  $R_{10\text{ mg GCB}+30\text{ mg Florisil}}=136.0\% > R_{10\text{ mg GCB}+30\text{ mg C18}}=126.75\% > R_{10\text{ mg GCB}+30\text{ mg PSA}}=89.9\% > R_{\text{无净化剂}}=52.0\%$ , 净化剂 10 mg GCB+30 mg PSA 可获得最佳的回收率, 因而本方法最终将净化剂的确定为 10 mg GCB+30 mg PSA。

表 1 黄瓜样品中噻胺灵的基质效应(n=3)  
Table 1 Matrix effect of triforine in cucumber samples(n=3)

| 浓度(mg/kg) | 基质匹配标准样液平均响应值 | 溶剂标准样液平均响应值 | 基质效应  |
|-----------|---------------|-------------|-------|
| 0.01      | 9.7           | 31.6        | -0.69 |
| 0.02      | 20.1          | 69.9        | -0.71 |
| 0.05      | 53.7          | 182.8       | -0.71 |
| 0.10      | 95.3          | 310.0       | -0.69 |
| 0.50      | 409.0         | 859.1       | -0.52 |
| 1.00      | 714.0         | 1051.3      | -0.32 |

表 2 噻胺灵在黄瓜样品中的添加回收率(n=5)  
Table 2 Recoveries of triforine in cucumber samples(n=5)

| 净化剂                             | 添加水平 (mg/kg) | 回收率%        | 平均回收率% | RSD% |
|---------------------------------|--------------|-------------|--------|------|
| 10 mg GCB+ 30 mg PSA            | 0.02         | 80.1~93.7   | 87.1   | 6.2  |
|                                 | 0.10         | 81.6~97.7   | 89.9   | 7.5  |
|                                 | 0.50         | 81.2~85.7   | 92.2   | 3.8  |
|                                 | 1.00         | 86.1~95.1   | 85.3   | 2.8  |
| 无净化剂                            | 0.10         | 46.5~55.4   | 52.0   | 7.7  |
| 10 mg GCB+30 mg C <sub>18</sub> | 0.10         | 113.9~132.2 | 126.7  | 6.2  |
| 10 mgGCB+30 mg Florisil         | 0.10         | 127.4~151.5 | 136.0  | 6.8  |

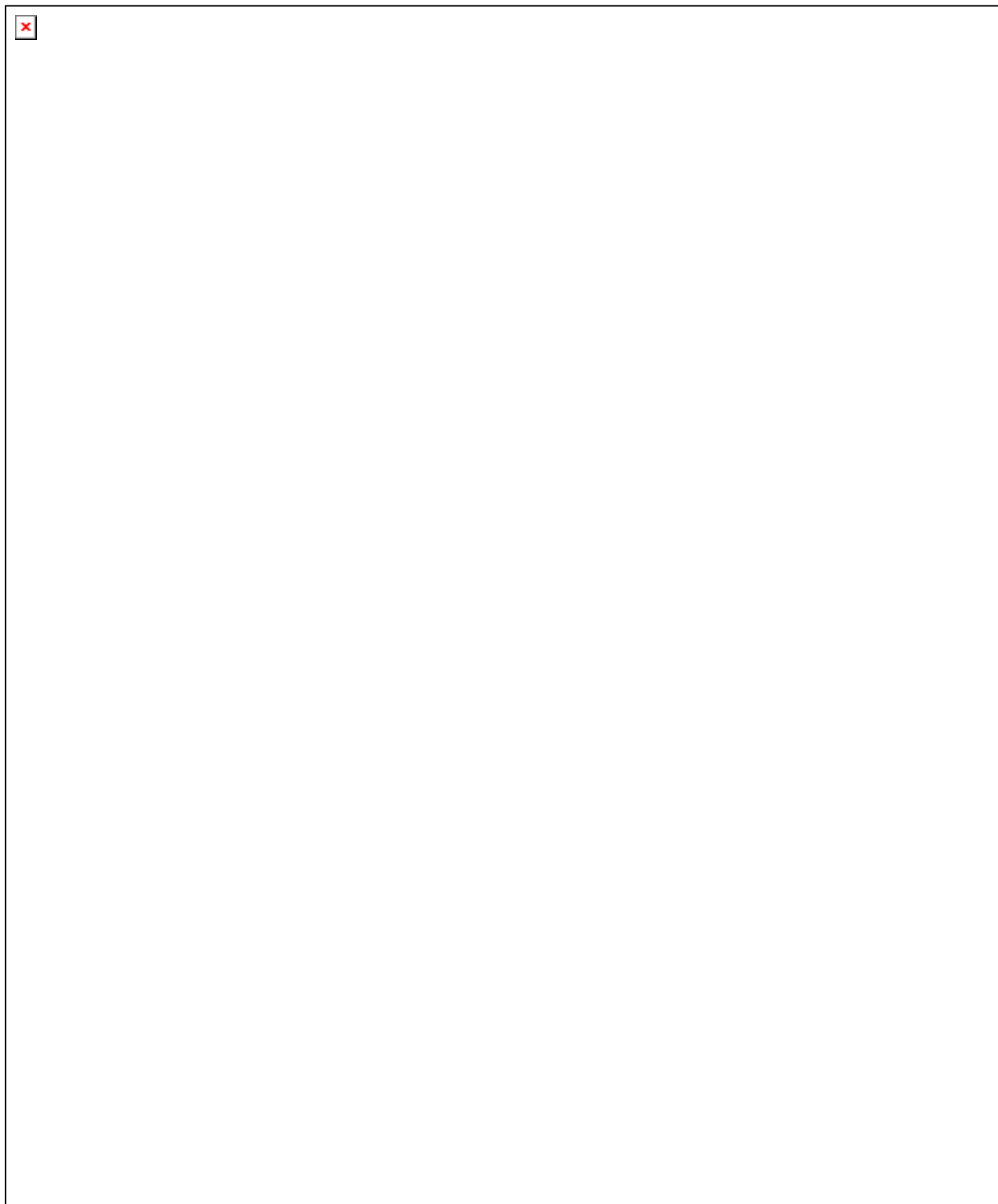


图1 噻胺灵在黄瓜样品中的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of triforine in cucumber

注: a: 噻胺灵标准品色谱图(总离子流图保留时间=2.62 min) (0.02 mg/kg<sup>1</sup>); b: 噻胺灵标准品色谱图(定性离子对 432.8>82.9 保留时间=2.62 min) (0.02 mg/kg); c: 噻胺灵标准品色谱图(定量离子对 432.8>97.8 保留时间=2.62 min) (0.02 mg/kg); d: 噻胺灵标准品色谱图定性离子对 432.8>212.9(保留时间=2.62 min) (0.02 mg/kg); e: 噻胺灵黄瓜基质标准品色谱图(0.02 mg/kg); f: 黄瓜添加样品(0.02 mg/kg); g: 黄瓜空白; h: 黄瓜实测样品

### 3.3 基质效应

基质效应(matrix effects)是指色谱分离时共洗脱的物质改变了待测成分的离子化效率,所引起的信号的抑制或提高。基质效应影响大时会降低方法的灵敏度和影响方法的准确性给测定带来误差<sup>[16]</sup>。本文对目标化合物中存在的基质效应进行了研究。

取 0.01、0.02、0.10、0.05、0.50、1.00 mg/kg 浓度的标准样液和基质标准样液在相同色谱条件下分别进样,重复 3 次,两者响应信号的差除以标准样液的响应信号,得出基质效应。公式如:  $\text{Matrix effect (ME)} = (A-B)/B \times 100\%$  (A: 基质匹配标准样液的响应; B: 等浓度标准样液的响应) 结果如表 1。

结果表明: 基质降低了仪器的响应值, 且基质效应随着噻胺灵浓度升高而降低。这种现象可能是由于基质中某些干扰组分的存在会使待测组分离子生成的速度同标准样品相比有显著不同, 使得信号响应值产生较大差异<sup>[16-17]</sup>。为保证方法的通用性和适用性, 本文通过基质匹配标准样液校正消除基质效应影响。

### 3.4 方法的线性关系

溶剂标准样液和基质标准样液分别在 2.4 色谱条件下进样, 以噻胺灵的浓度为横坐标, 以它对应的峰面积为纵坐标作图。经最小二乘法拟合得: 在 0.01~1.00 mg/L 范围内溶剂标准曲线线性方程为  $Y = 1036X + 127.2$ ,  $R_1^2 = 0.912$ ; 在 0.01~1.00 mg/L 范围内黄瓜基质标准曲线线性方程为  $Y = 715X + 16.77$ ,  $R_2^2 = 0.995$ 。

### 3.5 回收率

在黄瓜空白样品中分别准确加入噻胺灵标准液于 20 g 样本中, 使其分别相当于 0.02、0.10、0.0、1.00 mg/kg 的添加水平。按照 2.3 中所述步骤进行提取、净化、测定(见表 2、图 1)。由表 2 可见经基质匹配标准品校正后噻胺灵在黄瓜中的平均回收率为 85.3%~92.2%, 变异系数为 2.8%~7.5%, 表明本方法有较好的准确度和精密度可以满足残留定量分析的要求。

### 3.6 方法的灵敏度和仪器稳定性

以添加回收率最低添加浓度 0.02 mg/kg 的色谱图进行衡量, 以噪音信号的 3 倍得出该方法的检出限(LOD)为 2.0  $\mu\text{g/kg}$ , 定量限(LOQ)为 20  $\mu\text{g/kg}$ 。

采用 0.1 mg/kg 的标准液, 在相同色谱条件下: 连续进样 10 次, 测定其峰面积, 多次测定的峰面积相对标准偏差为 2.6%; 连续 7 天进样, 测定其峰面积, 多次测定的峰面积相对标准偏差为 7.6%, 表明仪器具有很好的稳定性。

### 3.7 黄瓜样品的测定

将购自长沙某市场的黄瓜切碎后准确称取 20 g, 操作按 2.3 前处理方法进行, 利用 2.4 设定条件进行 UPLC-MS/MS 测定, 结果表明该样品中噻胺灵残留量为 0.03 mg/kg(见图 1-h)。我国及国际食品法典委员会(CAC)均未制定黄瓜上噻胺灵的最大残留限量, 日本肯定列表中规定黄瓜上噻胺灵的最大残留限量为 1 mg/kg, 该样品属于合格产品。

## 4 结 论

本文建立了采用 QuEChERS 和超高压液相串联质谱(UPLC-MS/MS)快速检测噻胺灵在黄瓜中的残留方法。仪器在 0.01~1.00 mg/kg 范围内, 具有良好线性相应。在 0.02~1.00 mg/kg 添加浓度范围内, 噻胺灵在黄瓜中的平均回收率分别为 83.5%~92.2%, 相对标准偏差(RSD) 2.8%~7.5%。方法的灵敏度、准确度和精密度均满足我国国家标准的要求(RAQCG)<sup>[18]</sup>, 实际样品分析结果表明, 该方法可以用于黄瓜中噻胺灵的快速检测和确证应用。

### 参考文献

- [1] Tomlin CDS (ed). The e-Pesticide Manual[M]. 12th edn, BCPC, 2002-2003.
- [2] 潘健伟, 祁彦, 李淑娟, 等. 毛细管柱头衍生化气相色谱法测定水果、蔬菜中噻胺灵残留量[J]. 检验检疫科学, 2004, 2, 14: 19-21.  
Pan JW, Qi Y, Li SJ, et al. Determination of triforine in fruits and vegetables by derivatization capillary gas chromatography [J]. Inspection Quarantine Sci, 2004, 2, 14: 19-21.
- [3] John BB, Thomas RN, Dietrich E. Residues and disappearance of triforine from various crops[J]. J Agric Food Chem, 1977, 25(1): 36-39.
- [4] Newsome WH. Determination of Triforine in Fruit Crop as N, N'-bis (pentafluorobenzoyl) Piperazine[J]. J Agric Food Chem, 1982, 30(4): 778-779.
- [5] Odanaka Y, Tanaka Y, Washio M. New Method for Microdetermination of triforine and Its Metabolite Using Thermal Reaction with Alcohol [J]. J Agric Food Chem, 1988, 36(6): 1216-1220.

- [6] Bicchi C, Balbo C, Binello A, *et al.* HPLC—UV Determination of Pesticide Residues at 0.01 ppm in Apple and Pear Pulp Used For Baby Food [J]. *J High Resol Chromatogr*, 1996, 19(2): 105–110.
- [7] Alary J, Benoit-Guyod JL, Nasfi FH, *et al.* Residues of pesticides in Tunisian vegetables [J]. *Fresenius Environ Bull*, 1993, 2: 281.
- [8] 陈武瑛, 董丰收, 刘新刚, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定苹果中代森锰锌残留[J]. *分析化学*, 2010, 38(4): 508–512.
- Chen WY, Dong FS, Liu XG, *et al.* Simplified Method for Determination of Mancozeb Residues in Apple Using QuEChERS and UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Anal Chem*, 2010, 38(4): 508–512.
- [9] 张新忠, 罗逢健, 刘光明, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶和土壤中丁醚脲及其代谢物的残留[J]. *分析化学*, 2011, 39(9): 1329–1335.
- Zhang XZ, Luo FJ, Liu GM, *et al.* Determination of Diafenthiuron and Its Metabolites in Tea and Soil by Ultra Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2011, 39(9): 1329–1335.
- [10] 余晟, 黄克靖, 余萌, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测水样中戊唑醇, 乙霉威, 啁菌唑, 精甲霜灵和扑草净 5 种农药残留[J]. *分析化学*, 2012, 40(7): 1065–1070.
- Yu S, Huang KJ, Yu M, *et al.* Determination of Tebuconazole, Diflufenican, Myclobutanil, Metalaxyl, and Prometryn Pesticide Residue in Water Sample Based on Solid Phase Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography [J]. *Chinese J Anal Chem*, 2012, 40(7): 1065–1070.
- [11] 孔志强, 董丰收, 刘新刚, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定柑橘及柑橘精油中 4 种农药残留[J]. *分析化学*, 2012, 40(3): 474–477.
- Kong ZQ, Dong FS, Liu XG, *et al.* Determination of 4 Pesticides Residues in Citrus and Essential Oil by Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2012, 40(3): 474–477.
- [12] 张新忠, 罗逢健, 陈宗懋, 等. 分散固相萃取净化超高效液相色谱串联质谱法研究茶叶与茶汤中茚虫威残留降解规律[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(1): 1–8.
- Zhang XZ, Luo FJ, Chen ZM, *et al.* Study of Residue Degradation in Tea and Tea Infusion by Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled with tandem Mass Spectrometry after Dispersive Solid-Phase Extraction Cleanup [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(1): 1–8.
- [13] 徐娟, 陈捷, 王岚, 等. QuEChERS 提取与超高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱联用法检测果蔬中的 230 种农药残留[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(3): 293–301.
- Xu J, Chen J, Wang L, *et al.* Large-scale Analysis of Pesticides Liquid Chromatography - Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry with QuEChERS as Cleanup Step [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(3): 293–301.
- [14] 程莉, 董丰收, 刘新刚, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱方法快速测定小麦中的咪鲜胺残留[J]. *农药学报*, 2009, 11(3): 357–361.
- Cheng L, Dong FS, Liu XG, *et al.* Simplified Method for Determination of Fungicide Prochloraz Residues in Wheat Using QuEChERS and UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2009, 11(3): 357–361.
- [15] 刘敏, 端裕树, 宋苑苑, 等. 分散固相萃取-液相色谱-质谱检测蔬菜水果中氨基甲酸酯和有机磷农药[J]. *分析化学*, 2006, 34(7): 941–945.
- Liu M, Duan YS, Song YY, *et al.* Determination of Carbamate and Organophosphorus Pesticides in Fruits and Vegetables by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry with Dispersive Solid-Phase Extraction [J]. *Chin J Anal Chem*, 2006, 34(7): 941–945.
- [16] King R, Bonfiglio R, Fernandez-Metzler C, *et al.* Mechanistic investigation of ionization suppression in electrospray ionization [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2000, 11(11): 942–950.
- [17] 齐美玲. 液相色谱-质谱法在生物样品药物定量分析中的基质效应[J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(4): 476–479.
- Qi ML. Matrix effect in Liquid chromatography-mass spectrometry determination of Drugs in biological samples [J]. *J Chin Pharm Anal*, 2005, 25(4): 476–479.
- [18] 中华人民共和国质量监督检验检疫总局. 残留分析质量控制指南. 北京, 2002.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Residues Analysis Quality Control Guide. Beijing, 2002.

(责任编辑: 赵静)

## 作者简介



陈武瑛, 硕士, 主要研究方向为农药残留分析。

E-mail: chenwuying333@126.com



刘勇, 研究员, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: haoasliu@163.com