

云南产6种蜂蜜中35种游离氨基酸的测定

牛之瑞*, 冯雷, 谭建林, 鲁燕骅, 王吉祥, 晏龙, 王亚琴, 杨凡, 王世波, 张晓红
(云南省产品质量监督检验研究院, 国家热带农副产品质量监督检验中心, 昆明 650223)

摘要: **目的** 采用全自动氨基酸分析仪测定蜂蜜中35种游离氨基酸的含量。**方法** 蜂蜜样品经水溶解, 采用全自动氨基酸分析仪进行定量检测。检测器为荧光检测器, 脯氨酸在波长440 nm处测定, 其余34种氨基酸在570 nm波长下测定。**结果** 蜂蜜中含有丰富的游离氨基酸成分, 且氨基酸组成及含量存在较大区别。脯氨酸是蜂蜜中的主要氨基酸, 其平均含量为0.042978 g/100 g, 占氨基酸组分总含量的71.21%。35种游离氨基酸的线性相关系数均达到0.99以上, 回收率在92.4%~109.4%范围内。**结论** 该方法快速、准确, 可用于蜂蜜中游离氨基酸含量的测定。

关键词: 蜂蜜; 游离氨基酸; 氨基酸分析仪

Determination of 35 kinds of free amino acids in 6 kinds of honeys produced in Yunnan

NIU Zhi-Rui*, FENG Lei, TAN Jian-Lin, LU Yan-Hua, WANG Ji-Xiang, YAN Long,
WANG Ya-Qin, YANG Fan, WANG Shi-Bo, ZHANG Xiao-Hong

(Yunnan Institute of Product Quality Supervision & Inspection, National Agricultural and Sideline Products Quality Supervision and Inspection Center, Kunming 650223, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for detection of 35 kinds of free amino acids by amino acid analyzer. **Methods** Honey was dissolved with water, and the quantitative detection was carried out by automatic amino acid analyzer. Proline was detected by fluorescence detector at the wavelength of 440 nm while the other 34 kinds of amino acid were detected at the wavelength of 570 nm. **Results** Honey contained rich free amino acid compositions, and the composition and content of amino acids existed big differences. The main amino acid in honey was proline, and the content of proline was 0.042978 g/100 g, accounting for 71.21% of the total content of amino acids. Linear regression coefficients of 35 kinds of free amino acids were all above 0.99, and the recoveries were in the range of 92.4%~109.4%. **Conclusion** The method is rapid and accurate, which can be used for the determination of free amino acids in honey.

KEY WORDS: honey; free amino acids; amino acid analyzer

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2011QK367)

Fund: Supported by the Science and Technology Planning Project of General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China (2011QK367)

*通讯作者: 牛之瑞, 工程师, 主要研究方向为食品安全和理化检测。E-mail: bull.nzr@163.com

*Corresponding author: NIU Zhi-Rui, Engineer, Yunnan Institute of Product Quality Supervision & Inspection, No.23, Jiaochang Road, Wuhua District, Kunming 650223, China. E-mail: bull.nzr@163.com

1 引言

蜂蜜是蜜蜂采集植物的花蜜、分泌物或蜜露,经自然发酵而成的黄白色粘稠液体,被誉为“大自然中最完美的营养食品”^[1]。蜂蜜中糖类约占 3/4,还含有蛋白质、氨基酸、维生素、微量元素、有机酸、色素、芳香物质的高级醇、胶质物、蜂花粉、激素等物质,具有保护肝脏、调节消化系统等保健功能^[2]。已有研究表明,蜂蜜中含有多种游离氨基酸,其中以脯氨酸的含量最高^[3-5]。

目前检测氨基酸的方法主要有光谱法^[6,7]、电泳法^[8]、液相色谱法^[9,10]、液相色谱-串联质谱法^[11]和氨基酸分析仪检测法^[12,13]等。测定蜂蜜中的游离氨基酸可以用水溶液直接提取而无需对蜂蜜中的蛋白质进行水解,再经全自动氨基酸分析仪进行检测。全自动氨基酸分析仪采用在线衍生和氮气全封闭系统,可以获得较高的灵敏度、较低的检出限和较好的重现性和再现性。

蜂蜜中游离氨基酸的种类和含量随蜂蜜来源的不同而存在一定的差异,同时还会受到当地的气候、土壤条件甚至成熟程度等因素的影响。因此,仅利用蜂蜜中某些氨基酸比率的差异来区分蜂蜜的植物源还存在一定的困难^[13-19]。现有的游离氨基酸国标检测方法仅有 GB/T 8314-2013《茶 游离氨基酸总量的测定》^[20],该方法为理化检测方法,无法测定蜂蜜中游离氨基酸的种类和每种氨基酸的具体含量。本研究拟采用全自动氨基酸分析技术建

立快速、准确测定蜂蜜中 35 种游离氨基酸含量的方法。

2 材料与方法

2.1 原料与试剂

蜂蜜由云南白塔蜂业有限公司提供;35 种氨基酸标准物质混合标准溶液由德国 Wako Chemicals GmbH 公司和日本和光纯药工业株式会社提供;实验用水为 MilliQ 纯水机制备高纯水。

2.2 仪器与设备

L-8900 型氨基酸分析仪(日本 HITACHI 公司);BS223S 型分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO)。

2.3 实验方法

2.3.1 氨基酸标准曲线的绘制

分别精密量取氨基酸混合对照品 1 mL,以 0.1 mol/L 盐酸定容至刻度,上机测定。以氨基酸峰面积 Y 对氨基酸浓度 X 进行回归处理,并绘制标准曲线。

2.3.2 蜂蜜中游离氨基酸含量的测定

称取 2 g 蜂蜜样品于 50 mL 离心管内,加入 10 mL 水流涡震荡,充分溶解后过 0.22 μm 滤膜,上机。

2.3.3 氨基酸分析仪条件

检测器类型:荧光检测器;检测波长:570 nm、440 nm;色谱柱:离子交换柱;柱温:60 $^{\circ}\text{C}$;进样体积 10 μL ,柱后反应温度:135 $^{\circ}\text{C}$ 。

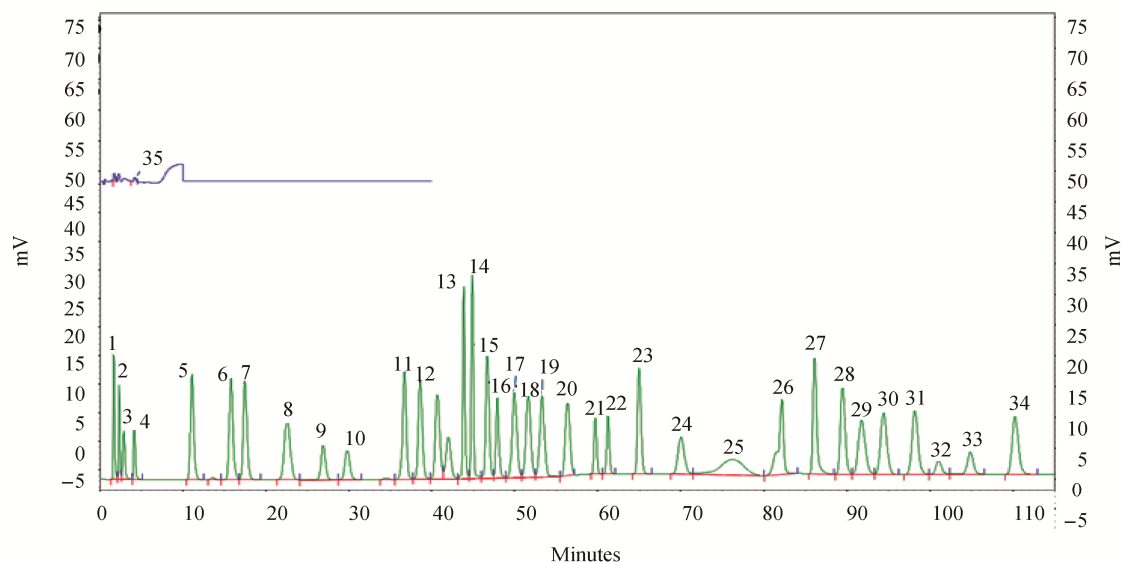


图 1 35 种氨基酸标准物质的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of 35 kinds of amino acids standard

注:1.L-O-磷酸丝氨酸(P-Ser);2.2',3',5'-三乙酰尿苷(Tau);3.N-苯基乙醇胺(PEA);4.尿素(Urea);5.天门冬氨酸(Asp);6.苏氨酸(Thr);7.丝氨酸(Ser);8.谷氨酸(Glu);9.肌氨酸(Sar);10. α -氨基己二酸(α -AAA);11.甘氨酸(Gly);12.丙氨酸(Ala);13.缬氨酸(Val);14.胱氨酸(Cys);15.蛋氨酸(Met);16.胱硫醚(Cysthi);17.异亮氨酸(Ile);18.为亮氨酸(Leu);19.酪氨酸(Tyr);20.苯丙氨酸(Phe);21. β -丙氨酸(β -Ala);22. β -氨基异丁酸(β -AiBA);23. γ -氨基丁酸(γ -ABA);24.乙醇胺(ETA);25.氨 (NH_3);26.羟赖氨酸(Hyllys);27.鸟氨酸(Orn);28.赖氨酸(Lys);29.1-甲基组氨酸(1-Mehis);30.组氨酸(His);31.3-甲基组氨酸(3-Mehis);32.鹅肌肽(Ans);33.肌肽(Car);34.精氨酸(Arg);35.脯氨酸(Pro)

3 结果与分析

3.1 色谱分析

蜂蜜采用氨基酸自动分析仪测定, 脯氨酸在波长 440 nm 处测定, 其余 34 种氨基酸在 570 nm 波长下测定, 35 种游离氨基酸在该条件下可达到较好的分离效果, 35 种游离氨基酸的标样色谱图见图 1。

3.2 线性关系与回收率

35 种游离氨基酸的线性相关系数均达到 0.99 以上, 且回收率范围在 92.4%~109.4%之间, 具体结果见表 1; 除尿素外, 其他氨基酸的方法检出限为 5~10 nmol/L。

3.3 实际样品的检测结果

通过对实际样品的检测发现(见表 2), 6 种蜂蜜中均不含有 α -氨基己二酸、缬氨酸、胱氨酸、蛋氨酸、羟赖氨酸和肌肽这 6 种氨基酸成分, 且不同蜜源的蜂蜜中氨基酸含量相差较大, 但脯氨酸的含量均为最高。不同品种蜂蜜的氨基酸介于 0.044129~0.071300 g/100 g 之间, 平均值为 0.060160 g/100 g。其中椴树蜜的氨基酸组分总量最高, 为 0.071300 g/100 g, 姚安硬蜜的氨基酸组分总量最低, 为 0.044129 g/100 g。脯氨酸是蜂蜜中的主要氨基酸, 其中脯氨酸的平均含量为 0.042978 g/100 g, 占氨基酸组分总含量的 71.21%。

表 1 35 种游离氨基酸的线性方程、线性范围、线性相关系数和回收率($n=4$)
Table 1 Regression equations, liner ranges, correlation coefficients and recoveries of 35 kinds of free amino acids ($n=4$)

序号	名称	标准曲线	线性范围(nmol/mL)	相关系数(r^2)	回收率(%)
1	L-O-磷酸丝氨酸(P-Ser)	$Y = 5.65470e-005X - 0.453886$	10~1000	0.999055	95.4
2	2',3',5'-三乙酰尿苷(Tau)	$Y = 5.21549e-005 X - 1.04909$	10~1000	0.999418	98.2
3	N-苯基乙醇胺(PEA)	$Y = 6.62540e-005 X - 2.17521$	10~1000	0.998179	97.3
4	尿素(Urea)	$Y = 0.00138575 X - 91.9284$	200~2000	0.999588	101.2
5	天冬氨酸(Asp)	$Y = 2.72979e-005 X - 0.0843345$	10~1000	0.999850	102.5
6	苏氨酸(Thr)	$Y = 2.54983e-005 X - 0.132665$	10~1000	0.999952	101.1
7	丝氨酸(Ser)	$Y = 2.50443e-005 X - 0.0463180$	10~1000	0.999918	96.4
8	谷氨酸(Glu)	$Y = 2.62263e-005 X - 0.864843$	10~1000	0.999891	99.8
9	肌氨酸(Sar)	$Y = 1.85629e-005 X - 1.16997$	10~1000	0.999825	99.1
10	α -氨基己二酸(α -AAA)	$Y = 3.48054e-005 X - 0.832159$	10~1000	0.999572	98.0
11	甘氨酸(Gly)	$Y = 2.54118e-005 X + 0.303356$	5~500	0.999812	97.5
12	丙氨酸(Ala)	$Y = 2.54302e-005 X - 0.802202$	10~1000	0.999994	92.4
13	缬氨酸(Val)	$Y = 2.51417e-005 X - 0.506691$	10~1000	0.999837	97.1
14	胱氨酸(Cys)	$Y = 2.01673e-005 X + 0.538793$	5~500	0.999185	98.5
15	蛋氨酸(Met)	$Y = 2.48380e-005 X + 1.31552$	10~1000	0.999152	96.7
16	胱硫醚(Cysthi)	$Y = 1.58113e-005 X + 3.14440$	10~1000	0.996319	99.8
17	异亮氨酸(Ile)	$Y = 2.34995e-005 X + 4.63197$	10~1000	0.995710	96.4
18	亮氨酸(Leu)	$Y = 2.38378e-005 X + 2.65953$	5~500	0.998034	97.3
19	酪氨酸(Tyr)	$Y = 2.44276e-005 X + 2.77858$	10~1000	0.997145	101.2
20	苯丙氨酸(Phe)	$Y = 2.43829e-005 X + 5.76203$	10~1000	0.993555	103.2
21	β -丙氨酸(β -Ala)	$Y = 3.84019e-005 X + 6.43197$	10~1000	0.999760	106.7
22	β -氨基异丁酸(β -AiBA)	$Y = 3.99997e-005 X + 7.35375$	10~1000	0.999690	103.4
23	γ -氨基丁酸(γ -ABA)	$Y = 2.12734e-005 X + 6.26215$	10~1000	0.999323	104.1
24	乙醇胺(ETA)	$Y = 2.61506e-005 X + 6.08715$	10~1000	0.998690	92.9
25	氨(NH ₃)	$Y = 2.24948e-005 X - 3.75297$	10~1000	0.990896	105.7

续表 1

序号	名称	标准曲线	线性范围(nmol/mL)	相关系数(r^2)	回收率(%)
26	羟赖氨酸(Hyllys)	$Y = 3.84344e-005 X - 14.0941$	10~1000	0.999914	99.9
27	鸟氨酸(Orn)	$Y = 2.19194e-005 X - 1.11255$	10~1000	0.999999	93.4
28	赖氨酸(Lys)	$Y = 2.18280e-005 X - 0.135421$	10~1000	0.999942	92.5
29	1-甲基组氨酸(1-Mehis)	$Y = 2.42424e-005 X - 0.295960$	10~1000	1	109.4
30	组氨酸(His)	$Y = 2.40370e-005 X + 0.328555$	10~1000	0.999989	101.5
31	3-甲基组氨酸(3-Mehis)	$Y = 2.38848e-005 X + 0.110632$	10~1000	0.999859	93.6
32	鹅肌肽(Ans)	$Y = 7.92663e-005 X - 2.33484$	10~1000	0.995768	99.8
33	肌肽(Car)	$Y = 5.50430e-005 X - 2.29590$	10~1000	0.999842	99.1
34	精氨酸(Arg)	$Y = 2.53807e-005 X - 0.549476$	10~1000	0.999979	98.2
35	脯氨酸(Pro)	$Y = 0.000123654 X - 12.7170$	10~1000	0.996361	97.9

表 2 实际样品测定结果($n=6$)Table 2 Determination results of samples ($n=6$)

序号	名称	桔花蜜	紫云英蜜	苦刺花蜜	槐花蜜	姚安硬蜜	桉树蜜
1	L-O-磷酸丝氨酸(P-Ser)	0.000540	0.000314	0.00049	0.000224	0.000666	0.000202
2	2',3',5'-三乙酰尿苷(Tau)	0.001501	0.001313	0.001832	0.001812	0.001469	0.001237
3	N-苯基乙醇胺(PEA)	ND	ND	ND	0.000289	ND	ND
4	尿素(Urea)	0.002060	0.001765	0.008656	ND	0.001438	ND
5	天冬氨酸(Asp)	0.000712	0.000492	0.002202	0.001714	0.000359	0.000453
6	苏氨酸(Thr)	0.000224	0.000362	0.000181	0.000201	0.000168	0.000273
7	丝氨酸(Ser)	0.000561	0.001122	0.000799	0.000684	0.000810	0.000674
8	谷氨酸(Glu)	0.000672	0.000857	0.000640	0.000341	0.000536	0.000700
9	肌氨酸(Sar)	0.000081	0.000073	0.000089	0.000102	0.00007	0.000091
10	α -氨基己二酸(α -AAA)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	甘氨酸(Gly)	0.000174	0.000132	0.000118	0.000104	0.000105	0.000146
12	丙氨酸(Ala)	0.000688	0.002090	0.000974	0.000658	0.001359	0.000997
13	缬氨酸(Val)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	胱氨酸(Cys)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	蛋氨酸(Met)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	胱硫醚(Cysthi)	ND	ND	ND	0.000265	ND	ND
17	异亮氨酸(Ile)	0.000511	0.000472	0.000258	0.000459	0.000294	0.000788
18	亮氨酸(Leu)	0.000274	0.000147	0.000112	0.000221	0.000093	0.000640
19	酪氨酸(Tyr)	0.000579	0.000418	0.000278	0.000563	0.000337	0.001505
20	苯丙氨酸(Phe)	0.000733	0.000747	0.000518	0.000930	0.000836	0.003868
21	β -丙氨酸(β -Ala)	0.001342	0.001611	0.001476	0.001871	0.001267	0.001393
22	β -氨基异丁酸(β -AiBA)	0.000212	0.000059	0.000044	0.000110	0.000391	0.000308
23	γ -氨基丁酸(γ -ABA)	0.000598	0.000356	0.000379	0.000398	0.000440	0.000510

续表 2

序号	名称	桔花蜜	紫云英蜜	苦刺花蜜	槐花蜜	姚安硬蜜	桉树蜜
24	乙醇胺(ETA)	0.000353	ND	ND	0.000017	0.000120	0.000063
25	氨(NH ₃)	0.000562	0.000275	0.000265	0.000333	0.000451	0.000500
26	羟赖氨酸(Hyllys)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	鸟氨酸(Orn)	0.000299	0.000211	0.000234	ND	0.000154	0.000248
28	赖氨酸(Lys)	0.001916	0.002763	0.002146	0.001301	0.001507	0.002229
29	1-甲基组氨酸(1-Mehis)	0.000304	ND	0.00006	ND	ND	0.000331
30	组氨酸(His)	0.000601	0.000873	0.000647	0.000428	0.000304	0.001480
31	3-甲基组氨酸(3-Mehis)	0.000046	ND	ND	ND	ND	ND
32	鹅肌肽(Ans)	ND	ND	ND	0.00003	ND	ND
33	肌肽(Car)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
34	精氨酸(Arg)	0.000638	0.000454	0.000586	0.000385	0.000206	0.001564
35	脯氨酸(Pro)	0.032915	0.051398	0.043561	0.048146	0.030749	0.051100
	总量	0.049096	0.068304	0.066545	0.061586	0.044129	0.071300

注: 检测结果单位为 g/100 g; ND 为未检出。

4 结 论

利用全自动氨基酸分析仪建立的分析方法可以有效测定蜂蜜中 35 种游离氨基酸的含量。通过分析云南产的 6 个品种蜂蜜的氨基酸组分发现, 蜂蜜含有丰富的游离氨基酸组分, 不同品种蜂蜜中的游离氨基酸含量的比率受到的影响因素较多, 仅利用蜂蜜中某些氨基酸比率的差异来区分蜂蜜的植物源还存在一定的困难。但通过研究发现, 6 种云南产蜂蜜的脯氨酸含量均高于 0.030 g/100 g, 这与张金振等^[16]提出的天然蜂蜜中脯氨酸含量应大于 180 mg/kg 的研究结论基本一致。

参考文献

- [1] 陈盛禄. 中国蜜蜂学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
Chen SL. The apicultural science in China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002.
- [2] 闫玲玲, 杨秀芬. 蜂蜜的化学组成及其药理作用[J]. 特种经济动植物, 2005, (2): 40-42.
Yan LL, Yang XF. Chemical composition and pharmacological action of honey [J]. Special Econ Anim Plant, 2005, (2): 40-42.
- [3] 郭冬生. 蜜蜂应用的相关进展[J]. 中国蜂业, 2010, 61(8): 43-47.
Guo DS. Advances in the application of honey [J]. Apicult China, 2010, 61(8): 43-47.
- [4] 孙长波, 张晶. 蜂蜜化学成分研究概况[J]. 农业与技术, 2014, (8): 242-243.
Sun CB, Zhang J. Study on chemical composition of honey [J]. Agric Technol, 2014, (8): 242-243.
- [5] Vorlova L, Celechovska O. Activity of enzymes and trace element content in bee honey [J]. Acta Vet Brno, 2002, 71: 375-378.
- [6] 杨远帆, 倪辉, 吴黎明. 茚三酮法测定蜂蜜及果葡糖浆中的氨基酸含量[J]. 中国食品学报, 2013, 13(2): 171-176.
Yang YF, Ni H, Wu LM. Determination of amino acid in honey and high fructose corn syrup (HFCS) by the method of ninhydrin colorization [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2013, 13(2): 171-176.
- [7] 童蕾, 王焰新, 赵中一, 等. 同步荧光光谱法测定蜂蜜中游离氨基酸[J]. 理化检验-化学分册, 2008, 44(8): 757-759.
Tong L, Wang YX, Zhao ZY, et al. Synchronous fluorimetric determination of free amino acids in honey [J]. Phys Test Chem Anal Part B: Chem Anal, 2008, 44(8): 757-759.
- [8] 周贤婧, 师彦平. 毛细管电泳-间接紫外检测法测定蜂蜜中的氨基酸[J]. 色谱, 2013, 31(7): 661-666.
Zhou XJ, Shi YP. Determination of amino acids in honey by capillary electrophoresis with indirect ultraviolet detection [J]. Chin J Chromatogr, 2013, 31(7): 661-666.
- [9] 于洪超, 马荣申, 郭庆梅, 等. PITC 柱前衍生高效液相色谱法测定接骨木果实中氨基酸含量[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(8): 213-216.
Yu HC, Ma RS, Guo QM, et al. Determination of amino acids in the fruits of Sambucus Williamsii by PITC Pre-column Derivation and RP-HPLC Method [J]. Guizhou Agric Sci, 2015, 43(8): 213-216.
- [10] 黄蕴芝, 祁龙凯, 林励, 等. 蜂蜜中氨基酸类成分高效液相指纹图谱研究[J]. 广州中医药大学学报, 2015, (4): 745-750.
Huang YZ, Qi LK, Lin L, et al. Study on fingerprint of amino acids in honey by high performance liquid chromatography [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2015, (4): 745-750.
- [11] 李鹏飞, 陶蓓蓓, 张绪得, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定人体内 30 种氨基酸[J]. 分析化学, 2013, 41(9): 1347-1352.
Li PF, Tao BB, Zhang XD, et al. High-flux detection of 30 kinds amino acids with isotope-labeled internal standard by LC-MS/MS [J]. Chin J

- Anal Chem, 2013, 41(9): 1347–1352.
- [12] 杨苞梅, 姚丽贤, 国彬, 等. 不同品种荔枝果实游离氨基酸分析[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 249.
Yang BM, Yao LX, Guo B, *et al.* Analysis of free amino acids in litchi fruits from different cultivars [J]. Food Sci, 2008, 32(12): 249–252.
- [13] GB/T 5009.124-2003 食品中氨基酸的测定[S].
GB/T 5009.124-2003 Determination of amino acids in foods [S].
- [14] 胡方圆, 杨方, 黄诚, 等. 蜂蜜掺假检测技术研究进展[J]. 轻工科技, 2014, (2): 3–5.
Hu FY, Yang F, Huang C, *et al.* Research progress in detection of adulteration in honey [J]. Guangxi J Light Ind, 2014, (2): 3–5.
- [15] 周厚报, 邓建军, 胡苗苗, 等. 基于蛋白质差异鉴别蜂蜜真伪的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(6): 116–119.
Zhou HB, Deng JJ, Hu MM, *et al.* Advance in identifying honey adulteration based on the protein differentiation [J]. Food Ferment Ind, 2013, 39(6): 116–119.
- [16] 张金振, 李熠, 赵静, 等. 蜂蜜中的脯氨酸及其在品质评价中的应用[J]. 中国蜂业, 2013, (6x): 34–36.
Zhang JZ, Li Y, Zhao J, *et al.* Proline in honey and its application in quality evaluation [J]. Apicult China, 2013, (6x): 34–36.
- [17] GB/T 18932.1-2002 蜂蜜中碳-4 植物糖含量测定方法稳定碳同位素比率法[S].
GB/T 18932.1-2002 Method for the determination of C-4 plant sugars in honey Stable carbon isotope ratio method [S].
- [18] 胡莹. 生物技术提取蜂蜜中的游离氨基酸[J]. 中国蜂业, 2008, (8): 36.
Hu Y. Extraction of free amino acids in honey by biotechnology [J]. Apicult China, 2008, (8): 36.
- [19] 崔珊珊, 胡卓炎, 余恺, 等. 不同产地妃子笑荔枝果汁的氨基酸组分[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 269–273.
Cui SS, Hu ZY, Yu K, *et al.* Amino Acid composition of feizixiao litchi juice from different geographic origins [J]. Food Sci, 2012, 32(12): 269–273.
- [20] GB/T 8314-2013 茶 游离氨基酸总量的测定[S].
GB/T 8314-2013 Tea Determination of free amino acids content [S].

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



牛之瑞, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全和理化检测。
E-mail: bull.nzr@163.com