

测汞仪/高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用法测定鱼松中总汞和甲基汞的含量

李吉龙, 李 姗*, 何 霜, 赵一霖, 王志雄

(广州质量监督检测研究院, 广州 510110)

摘要: 目的 测汞仪和高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, HPLC-ICP-MS)测定鱼松中总汞及甲基汞的含量。方法 样品粉碎均匀后, 无需前处理环节, 直接通过测汞仪内置的模块对样品中的总汞进行一站式检测。以 L-半胱氨酸-乙酸铵-甲醇-盐酸为提取液, 高效液相色谱分离, ICP-MS 为检测手段对样品中的甲基汞进行测定。结果 在优化的检测条件下, 总汞的检出限为 0.05 μg/kg, 甲基汞的检出限为 0.001 mg/kg; 5 种鱼松样品中总汞的加标回收率为 80.2%~109.6%, 甲基汞的回收率为 85.0%~108.5%, 样品中总汞和甲基汞的相对标准偏差均小于 8.0%。样品中甲基汞在总汞中的含量约为 49.3%~82.5%, 是汞的主要存在形态。**结论** 该方法操作简便、提取效率高, 可实现鱼松样品中总汞和甲基汞的快速测定。

关键词: 测汞仪; 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法; 鱼松; 汞; 甲基汞

Determination of total mercury and methylmercury content in fish-meat floss by direct mercury analyzer and high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry

LI Ji-Long, LI Shan*, HE Shuang, ZHAO Yi-Lin, WANG Zhi-Xiong

(Guangzhou Quality Supervision and Testing Research Institute, Guangzhou 510110, China)

ABSTRACT: Objective To determine the total mercury and methylmercury in fish-meat floss samples by mercury vapourmeter and high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry(HPLC-ICP-MS). **Methods** The total mercury in samples was directly detected by the inner modules of mercury vapourmeter without any pretreatment after the samples were crushed and homogenized. The determination of methylmercury was carried out using *L*-Cysteine-ammonium acetate-methanol-hydrochloric acid as the extraction agent, the samples were separated by high performance liquid chromatography, and the methylmercury was detected by ICP-MS. **Results** The method detection limits of total mercury and methylmercury were 0.05 μg/kg and 0.001 mg/kg, the recoveries of total mercury and methylmercury in 5 fish-meat floss samples were 80.2%~109.6% and 85.0%~108.5%, respectively. The relative standard deviations (RSDs) of total mercury and methylmercury in samples were less than 8%. The content of methylmercury in total mercury in samples was

基金项目: 广东省质监局科研项目(2016PZ10)

Fund: Supported by Quality and Technology Supervision of Guangdong Province (2016PZ10)

*通讯作者: 李姗, 工程师, 主要研究方向为食品及相关产品的检测与研究. E-mail: lishan007009shan@126.com

Corresponding author: LI Shan, Engineer, Guangzhou Quality Supervision and Testing Research Institute, Guangzhou 510110, China. E-mail: lishan007009shan@126.com

49.3%~82.5%, and methylmercury was the main form of mercury. **Conclusion** This method has the advantages of simple operation and high extraction efficiency, which can realize the rapid determination of total mercury and methylmercury in fish-meat floss samples.

KEY WORDS: mercury vapourmeter; high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry; fish-meat floss; mercury; methylmercury

1 引言

汞是一种具有蓄积性的重金属, 汞的毒性强弱主要取决于它的化学形态, 在环境中主要存在的形态是无机汞和有机汞, 有机汞的毒性强于无机汞, 其中甲基汞因具有很强的生物积累和生物放大效应是毒性最强的有机汞^[1]。鱼松较细软、易消化吸收, 特别适合稚嫩的肠胃, 常常被作为儿童的辅食, 与稀饭和面条等主食搭配食用, 而鱼松的主要配料为水产品, 如鳕鱼、金枪鱼、三文鱼和桂花鱼的鱼肉等。较高含量的甲基汞会影响儿童的神经系统, 尤其是对中枢神经系统具有不可逆的损害^[2], 因此测定鱼松中总汞和甲基汞的含量具有重要的意义, 同时为科学评价样品中甲基汞在总汞中的比例提供必要的理论依据。

目前测定总汞的方法有原子荧光光谱法^[3]、电感耦合等离子体质谱法^[4-6]和测汞仪法^[7], 由于测定甲基汞需通过联用技术进行形态分析, 常见的方法有高效液相色谱-原子荧光法(high performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry, HPLC-AFS)^[8]、高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法 (high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, HPLC-ICP-MS)^[9,10]和气相色谱-电感耦合等离子体质谱法 (gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, GC-ICP-MS)^[11]。汞形态分析前处理方法有固相萃取法^[12]、固相微萃取法^[13]、冷阱捕集法^[14]、碱消化萃取^[15]、酸挥发富集及酸溶解萃取法^[16], 其中前3种方法虽可得到较高的富集倍数, 但是操作较繁琐, 容易在处理过程中损失。本研究以鱼松为研究对象, 利用测汞仪测定总汞, 以L半胱氨酸-乙酸铵-甲醇-盐酸体系为萃取剂, HPLC-ICP-MS法测定样品中的甲基汞。

2 材料与方法

2.1 主要仪器和试剂

Agilent7500 CX型电感耦合等离子体质谱仪(美国Agilent公司); Agilent 1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); DMA-80全自动测汞仪(意大利milestone公司); A11型粉碎机(德国IKA公司); MS3振荡器(德国IKA公司); KS501型数显圆周振荡器(德国IKA公司); KQ-500E型超声波清洗器(昆明超声仪器有限公司); KDC-170型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); 0.45 μm

有机相滤膜(天津市津腾实验设备有限公司)。

实验用水为GB/T 6682中规定的一级水; L-半胱氨酸(德国CNW公司); 甲醇(色谱纯, 德国Merck公司); 乙酸铵(优级纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 盐酸(优级纯, 广州化学试剂厂); Hg标准储备液(GSBG62069-90, 国家钢铁研究院); 氯化甲基汞(96.0%, Dr. Ehrenstorfer GmbH公司)。

13种市售鱼松样品购买于实体超市和网络平台。

甲基汞提取液: 0.12% (m:m) L-半胱氨酸+10 mmol/L的乙酸铵+5% (V:V)甲醇+0.1% (V:V)盐酸。

流动相: 0.12% (m:m) L-半胱氨酸+10 mmol/L的乙酸铵+5% (V:V)甲醇。

2.2 仪器条件

DMA-80测汞仪程序设置升温控制模式: 温度200 °C, 爬升10 s; 温度200 °C, 保持60 s; 温度650 °C, 爬升90 s; 温度650 °C, 保持90 s。

高效液相色谱条件: C₁₈色谱柱(4.6 mm×150 mm, Agilent poroshell 120 SB-Aq, 2.7 μm); 流速为0.4 mL/min; 进样量20 μL。

ICP-MS仪器条件: RF功率1550 W; 采样深度8.5 mm; 积分时间0.3 s; 积分次数3次; 采集质量数汞202; 碰撞池He模式; 甲基汞为-5 °C; 载气流量0.4 L/min; 辅助气流量0.7 L/min。

2.3 样品处理

测定样品中总汞含量的前处理: 准确称取经粉碎后的样品0.1 g左右(精确到0.0001 g)于样品舟中, 放入测汞仪样品盘内, 仪器将样品自动送入热解炉中, 经加热、干燥、高温氧化分解, 分解产物进入催化管, 经催化还原后的产物进入金汞齐化器, 对Hg元素进行选择性吸附, 然后仪器对金汞齐化器进行迅速加热, 使其吸附的汞释放出来, 汞蒸气随载气通过吸收池, 在253.7 nm处测定其峰高, 得出汞含量。

测定样品中甲基汞的前处理: 准确称取经粉碎后的样品约1 g(精确到0.0001 g)于50 mL PP管中, 加入10.0 mL提取液, 涡旋混匀后, 置于振荡床上振荡1 h, 以4000 r/min转速离心2 min。取上清液过0.45 μm滤膜后注入HPLC-ICP-MS进行分析, 同时制备试剂空白溶液。

2.4 标准曲线绘制

Hg标准工作液(0、10、20、50、100、200 μg/mL)由

标准储备液按照不同的比例逐级稀释, 稀释液为 5% HNO₃, 测定时移取工作液的量为 0.100 mL。

甲基汞标准溶液: 准确称取 0.02918 g 甲基氯化汞于烧杯中, 加入甲醇溶解, 并转至 25 mL 的容量瓶中, 用提取液定容至刻度, 甲基汞的含量为 100 mg/L, 密封保存于 4 ℃冰箱中, 使用时用流动相逐级稀释至相应工作液浓度(0、0.5、1、2、5、20 μg/mL)。

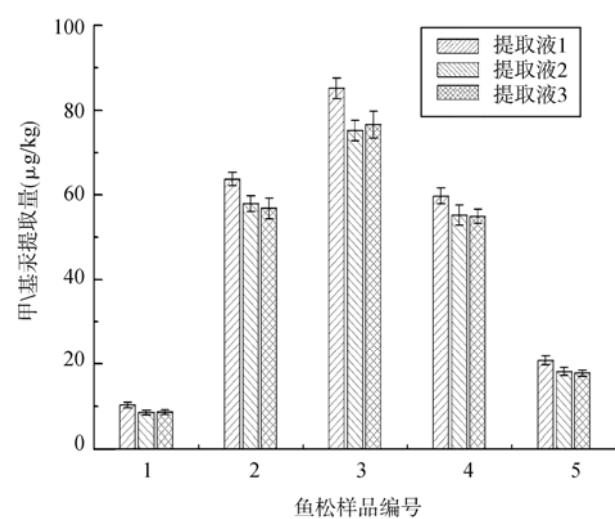
3 结果与分析

3.1 甲基汞样品前处理方法的选择

称取一定量的样品于 PP 管中, 加入 10.0 mL 提取液, 分别按照 2 种方法进行前处理。一种是涡旋混匀, 恒温(20 ℃)超声萃取 60 min, 期间数次振荡; 另一种是放入振荡床上, 设置振荡频率为 300 r/min, 时间为 60 min, 通过对 5 种鱼松样品(1、2 为鳕鱼松, 3、4、5 为金枪鱼松)的分析, 2 种前处理方法对样品中甲基汞的萃取效率无明显差别, 因此本研究选择振荡的方法。

3.2 提取液的选择

实验研究了 3 种提取液对分析上述 5 种鱼松样品的提取效果。提取液 1: 0.12% (m:m) L-半胱氨酸+10 mmol/L 的乙酸铵+5% (V:V) 甲醇+0.1% (V:V) 盐酸; 提取液 2: 0.12% (m:m) L-半胱氨酸+10 mmol/L 的乙酸铵+5% (V:V) 甲醇; 提取液 3: 0.10% (g/g) L-半胱氨酸+0.06 mol/L 的乙酸铵+5% (V:V) 甲醇, 结果如图 1 所示。从图 1 中可以看出, 加入盐酸的提取效率最高, 采用不同浓度的 L-半胱氨酸和乙酸铵作为提取液的提取效果无差异。因此本研究选择第 1 种提取液。



1. 鳕鱼松 1 (codfish-meat floss 1); 2. 鳕鱼松 2 (codfish-meat floss 2); 3. 金枪鱼松 1 (tuna-meat floss 1); 4. 金枪鱼松 2 (tuna-meat floss 2); 5. 金枪鱼松 3 (tuna-meat floss 3)

图 1 不同提取液的提取效果($n=3$)

Fig. 1 Extraction effect of the different extract agents($n=3$)

3.3 方法的检出限

在实验确定的最佳条件下, 以 3 倍信噪比(S/N)确定检出限, 总汞的检出限为 0.005 ng/mL, 甲基汞的检出限为 0.1 ng/mL, 根据样品的前处理过程, 计算得到总汞的检出限为 0.05 μg/kg, 甲基汞的检出限为 0.001 mg/kg。总汞二次低曲曲线范围为 0~20 ng, 相关系数为 0.9997。甲基汞曲线以 ²⁰²Hg 峰面积 Y 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标, 出峰时间为 1.87 min, 线性范围为 0~20 ng/mL, $Y=228175C+27176$, 相关系数 $r=0.9997$, 甲基汞的 HPLC-ICP-MS 谱图如图 2 所示。

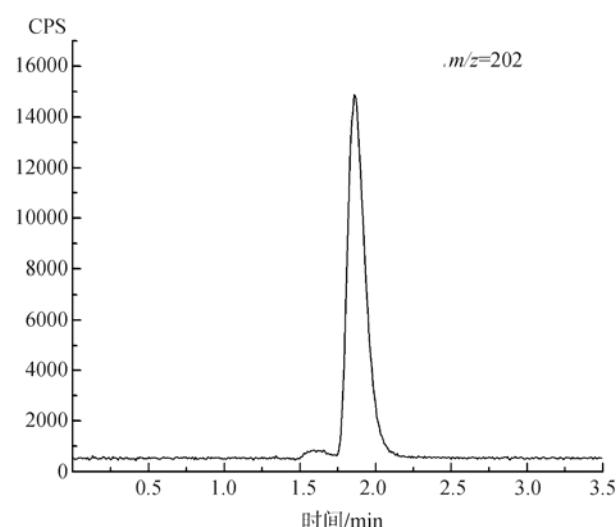


图 2 甲基汞的 HPLC-ICP-MS 色谱图

Fig. 2 Chromatogram of methylmercury by HPLC-ICP-MS

3.4 方法的精密度

对上述 5 种鱼松样品中总汞和甲基汞的测定进行平行性实验, 结果如表 1 所示。从结果可以看出, 该方法对测定样品中总汞和甲基汞的相对标准偏差均小于 8.0%, 说明该方法的精密度较好, 可满足样品中总汞和甲基汞的测定要求。同时以标准物质 GBW10024 扇贝 (40 ± 7 μg/kg) 和 GBW10023 紫菜 (16 ± 4) 进行了测汞仪的准确性实验, 扇贝测定结果为 45.4 μg/kg ($n=5$), 紫菜测定结果为 16.3 μg/kg ($n=5$), 结果均在标准证书值的范围内, 说明测汞仪测定样品总汞的准确度满足实验要求。

3.5 加标回收率实验

对上述 5 种样品进行样品处理前的加标实验, 加入一定浓度的汞标准溶液和甲基汞标准溶液, 测定结果如表 2 所示。从表 2 中可以看出, 样品中总汞的加标回收率为 80.2%~109.6%, 甲基汞的回收率在 85.0%~108.5% 之间, 说明该方法具有较好的准确性。

表 1 实验方法的精密度($n=5$)
Table 1 Precision of the analytical method ($n=5$)

样品名称	总汞		甲基汞	
	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	RSD(%)	测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	RSD(%)
鱼松 1	17.9±1.3	7.26	10.0±0.5	5.00
鱼松 2	80.0±3.9	4.88	64.2±1.6	2.49
鱼松 3	113.1±4.0	3.54	84.2±2.3	2.73
鱼松 4	120.4±6.0	4.98	59.3±2.6	4.38
鱼松 5	31.8±2.0	6.29	21.4±1.4	6.54

3.6 样品测定结果

应用本研究中的方法对从超市和网络平台购买的 13 种鱼松样品进行测定, 包含鳕鱼松(样品 1、2、10 和 12)、金枪鱼松(样品 3、4、5、7、8 和 9)、淡水鱼松(样品 6)及三文鱼松(样品 11 和 13), 测定结果见表 3 和图 3。

从表 3 和图 3 的结果可以看出: (1)不同鱼松种类、不同厂家的产品所含总汞和甲基汞的含量均未超过 0.2 mg/kg ; (2)甲基汞在总汞的含量约为 49.3%~82.5%, 其中有 84.6% 以上的鱼松中甲基汞占总汞的比例集中在 68.5%~82.5%, 说明所测鱼松中的甲基汞是汞的主要存在形态。(3)元素形态的 Hg 在湖泊和海洋底中容易在硫酸盐

表 2 样品中总汞和甲基汞的加标回收率($n=3$)
Table 2 Recoveries for the determination of total mercury and methylmercury in samples ($n=3$)

样品名称	总汞				甲基汞			
	样品测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	样品测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总测定值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)
鱼松 1	18.4	20.0	36.8	92.0	9.80	10.0	18.3	85.0
		50.0	58.5	80.2		40.0	46.6	92.0
鱼松 2	80.4	50.0	130.0	99.2	64.2	40.0	98.9	86.8
		100.0	182.7	102.3		100.0	165.7	101.5
鱼松 3	112.7	50.0	156.5	87.6	85.2	40.0	123.3	95.2
		100.0	216.1	103.4		100.0	182.4	97.2
鱼松 4	121.1	50.0	173.7	105.2	59.7	40.0	103.1	108.5
		100.0	218.9	97.8		100.0	157.8	98.1
鱼松 5	31.3	30.0	61.9	102.0	22.1	20.0	40.6	92.5
		50.0	86.1	109.6		40.0	57.3	88.0

表 3 样品中总汞和甲基汞的测定结果($n=5$)
Table 3 Test results for the determination of total mercury and methylmercury in samples ($n=5$)

样品名称	总汞含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	甲基汞含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	样品名称	总汞含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	甲基汞含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)
鱼松 1	17.9	10.0	鱼松 8	64.7	45.7
鱼松 2	80.0	64.2	鱼松 9	89.0	67.1
鱼松 3	113.1	84.8	鱼松 10	90.0	65.0
鱼松 4	120.4	59.3	鱼松 11	37.8	31.2
鱼松 5	31.7	21.7	鱼松 12	24.0	19.1
鱼松 6	42.0	30.4	鱼松 13	16.0	12.6
鱼松 7	139.8	113.2			

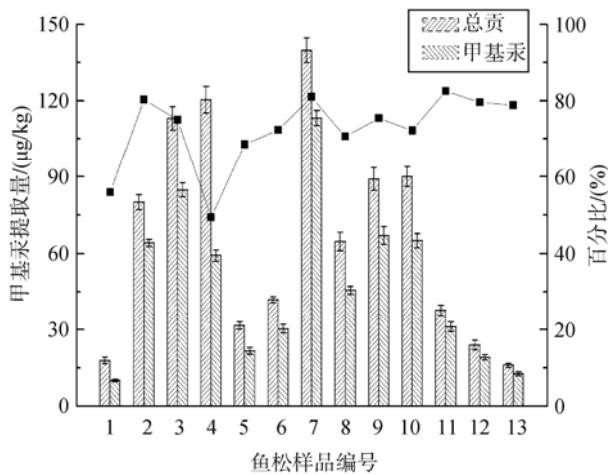


图3 样品中总汞和甲基汞的含量及甲基汞占总汞的百分比($n=5$)

Fig. 3 Content of total mercury and methylmercury and the percentage of methylmercury in total mercury in samples($n=5$)

还原菌或者化学作用下转化成具有高致毒性的甲基汞，而鱼松的主要配料为水产品，因此鱼松中甲基汞在总汞中的百分比含量偏高。

4 结 论

本研究使用 DMA-80 测汞仪和 HPLC-ICP-MS 技术对鱼松中总汞和甲基汞的含量进行测定分析。样品经粉碎均匀，直接通过测汞仪内置的模块对其总汞含量进行一站式检测，避免了前处理环节的污染与损失。以 *L*-半胱氨酸-乙酸铵-甲醇-盐酸为提取液，高效液相色谱分离，ICP-MS 为检测手段对样品中的甲基汞进行测定。在优化的检测条件下，可较好地满足鱼松样品中总汞及甲基汞的测定。通过对 13 个鱼松样品中的总汞与甲基汞含量的分析，所测样品中总汞的含量均低于 0.2 mg/kg，甲基汞在总汞中的含量约为 49.3%~82.5%，为鱼松样品的质量检验和食用安全性控制提供了参考依据。

参考文献

- [1] 王学峰, 贾晓平, 陈海刚, 等. 广东沿岸牡蛎体内总汞含量变动趋势及其健康风险评价[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(12): 2408~2415.
Wang XF, Jia XP, Chen HG, et al. Spatial-temporal trends and health risk assessments of total mercury in the oysters from Guangdong coastal bays, China [J]. J Agro-Environ Sci, 2011, 30(12): 2408~2415.
- [2] 蔡文洁, 江研因. 甲基汞暴露健康风险评价的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(1): 77~81.
Cai WJ, Jiang YY. Research advance of health risk assessment on methylmercury exposure [J]. J Environ Health, 2008, 25(1): 77~81.
- [3] 乌尼尔, 高娃, 其其格, 等. 微波消解-原子荧光光谱法测定香精中的汞[J]. 中国酿造, 2010, 8(221): 142~144.
Wu NE, Gao W, Qi QG, et al. Determination of mercury in essence with atomic fluorescence spectrometry after microwave digestion [J]. China Brew, 2010, 8(221): 142~144.
- [4] 赵一霖, 李姗, 何霜, 等. 电感耦合等离子体质谱法测定水产品中 16 种元素的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(10): 4156~4162.
Zhao YL, Li S, He S, et al. Uncertainty evaluation for the determination of 16 kinds of elements in aquatic product by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(10): 4156~4162.
- [5] Wysocka I, Vassileva E. Determination of cadmium, copper, mercury, lead and zinc mass fractions in marine sediment by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry applied as a reference method [J]. Microchem J, 128: 198~207.
- [6] 李姗, 何霜, 李吉龙, 等. ICP-OES/ICP-MS 测定 15 种鱼肉松中的 30 种矿物质元素含量[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(18): 150~154.
Li S, He S, Li JL, et al. Analysis of 30 mineral elements in 15 fish-meat floss samples by using ICP-OES and ICP-MS [J]. Food Res Dev, 2016, 37(18): 150~154.
- [7] 周宇, 贾宏新, 郑凤娥, 等. 测汞仪直接测定食品中总汞[J]. 中国无机分析化学, 2015, 5(3): 5~7.
Zhou Y, Jia HX, Zheng FE, et al. Direct determination of total mercury in food by mercury analyzer [J]. Chin J Inorg Anal Chem, 2015, 5(3): 5~7.
- [8] 袁洁, 罗海英, 洪燕萍, 等. 高效液相色谱串联原子荧光光度计法测定鱼肉中甲基汞、乙基汞和苯基汞[J]. 现代食品科技, 2009, 25(7): 838~840.
Yuan J, Luo HY, Xian YP, et al. Determination of methylmercury, ethylmercury and penylmercury residues in fish by HPLC-AFS [J]. Mod Food Sci Technol, 2009, 25(7): 838~840.
- [9] 欧阳佩佩, 黄诚, 丘福保. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法同时测定水产品中的无机汞、甲基汞和乙基汞[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(1): 50~53.
Ou YPP, Huang C, Qiu FB. Simultaneous determination of inorganic mercury, methyl mercury and ethyl mercury in aquatic products by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, 26(1): 50~53.
- [10] 彭国俊, 朱晓艳, 陈建国, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用快速测定水样和生物样品中的 4 种汞形态[J]. 分析试验室, 2015, 34(1): 44~48.
Peng GJ, Zhu XY, Chen JG, et al. Rapid speciation analysis of four mercury species in water and biological samples by high performance liquid chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2015, 34(1): 44~48.
- [11] Pietilä H, Perämäki P, Piispanen J, et al. Determination of low methylmercury concentrations in peat soil samples by isotope dilution GC-ICP-MS using distillation and solvent extraction methods [J]. Chemosphere, 2015, 124: 47~53.
- [12] 戴礼洪, 刘威威, 王迪, 等. 固相萃取-高效液相色谱-原子荧光光谱法联用测定水中无机汞(II)及有机汞[J]. 理化检验(化学分册), 2015, 8: 1178~1182.
Dai LH, Liu XW, Wang D, et al. Determination of inorganic mercury(II) and organic mercury in water by HPLC hyphenated to AFS with solid phase extraction [J]. Phys Test Chem Anal Part B (Chem Anal), 2015, 8: 1178~1182.
- [13] 朱霞萍, 汪模辉, 倪师军, 等. 固相微萃取-原子荧光测定鱼样品中痕量甲基汞[J]. 分析试验室, 2006, 25(9): 49~52.

- Zhu XP, Wang MH, Ni SJ, et al. Determination of trace methyl-mercury in fish samples by solid-phase micro-extraction atomic fluorescence spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2006, 25(9): 49–52.
- [14] 仇广乐, 冯新斌, 梁琏, 等. 溶剂萃取-水相乙基化衍生 GC-CVAFS 联用测定苔藓样品中的甲基汞[J]. 分析测试学报, 2005, 24(1): 29–32.
Qiu GL, Feng XB, Liang L, et al. Determination of methylmercury in moss by ethylation-gas chromatography-cold vapor atomic fluorescence spectrometry with solvent extraction [J]. J Instrum Anal, 2005, 24(1): 29–32.
- [15] Logar M, Horvat M, Farnoga I, et al. A methodological study of mercury speciation using Dogfish liver CRM (DOLT-2) [J]. Fresenius J Anal Chem, 2000, 366: 453–460.
- [16] 高尔乐, 何滨, 江桂斌, 等. 酸浸提-HPLC-ICP-MS 系统测定土壤与底泥样品中的甲基汞、乙基汞[J]. 环境化学, 2008, 27(5): 698–700.
Gao EL, He B, Jiang GB, et al. Determination of methylmercury and ethylmercury in soil or sediment using acid leaching-HPLC-ICP-MS [J].

Environ Chem, 2008, 27(5): 698–700.

(责任编辑: 刘丹)

作者简介



李吉龙, 助理工程师, 主要研究方向为食品及相关产品的检测与研究。

E-mail: 1046104220@qq.com



李 娜, 工程师, 主要研究方向为食品及相关产品的检测与研究。

E-mail: lishan007009shan@126.com