

响应面法优化超声辅助提取-原子荧光法快速测定茶叶痕量汞

熊春红, 彭康年, 谢明勇*

南昌大学, 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047

摘要 研究了一种使用超声波辅助提取(UAE)-原子荧光法测定茶叶痕量汞的快速方法。采用 Plackett-Burman 设计从 6 个影响汞提取率的因素中筛选出 3 个显著因素—超声时间 St , 超声温度 T 和 $HNO_3 : H_2O_2 (1 : 1, \varphi)$ 体积 A_2 , 并采用中心组合设计和响应面法优化参数。结果表明, 最优提取条件为, 浸泡时间 6 min, St 8.1 min, $T: 70.5\text{ }^\circ\text{C}$, $A_2: 4.4\text{ mL}$, 称样量 300 mg。以 GBW10016 茶叶为标准参考物质, 与微波消解(MAD)法对比。优化条件的 UAE 法对 GBW10016 的测定值与标准值符合良好, 加标回收率 94.2%~102.0%, 检测限 $0.0078\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 重复测定的相对标准偏差小于 10%。该方法应用于 63 个茶鲜叶样品和十种商品茶叶的测定, UAE 法与 MAD 法结果无显著差异, 汞含量(干基)在 $4.6\sim 17.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间, 未超过 NY659—2003 限量标准。

关键词 超声辅助提取; 响应面法; 原子荧光光谱法(AFS); 痕量汞; 茶叶

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)10-2843-05

引言

除水以外, 茶是世界消费最广的饮料。然而, 随着环境污染的加剧, 人们不得不更加关注茶叶中汞的累积污染, 汞的灵敏测定关系到茶消费者食用安全及饮用风险分析的准确监测。汞也是我国《NY659—2003 茶叶中镉铬汞砷及氟化物限量》的检测控制指标之一, 影响茶叶贸易。但茶叶中存在的汞不仅痕量而且极易挥发损失, 检测难度大。

按照《GB/T 5009.17—2003 食品中总汞及有机汞的测定》, 茶叶消解主要有高压、微波、回流等方法。但这些方法均耗时长、耗试剂多或有高压操作安全隐患。对此, 有研究对环境和生物样品尝试采用不同的混酸、氧化剂结合超声波进行重金属提取或称拟消解(pseudo-digestion), 如人发、海产品^[1]、污水污泥^[2, 3]、土壤^[4]。超声波波长短、频率高且穿透力强, 有特殊的搅拌、冲击破碎等作用^[5, 6], 能显著提高固体物料中组分的提取效率, 简化提取步骤、降低溶剂消耗及污染^[7-11]。少量报道也在发酵培养基^[12]、蔬菜和谷物^[13]中采用此类方法。但由于原料差异, 报道的试验条件各不相同, 而且多为对诸多因素一一测试, 费时费力且可能对因素交互作用考虑不够全面。本文首次采用 Plackett-Burman 设计法筛选影响茶叶汞提取率的主要因素, 继而用响应面法对

主要因素优化得出最佳提取条件, 方法更全面、经济。本研究可以为茶叶痕量汞的测定提供更便捷、准确的测定方法, 并可适用于其他植物组织痕量汞测定。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

KQ2200E 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司), 超声频率 35 kHz; AFS-230E 双道原子荧光光度计(北京海光仪器公司); Milli-Q[®] Academic 超纯水系统(美国 Millipore 公司); WX-4000 型微波消解仪(上海屹尧分析仪器有限公司), 仪器工作程序: 首先加热使消解罐内温度达到 $150\text{ }^\circ\text{C}$, 压力控制在 1.8 MPa, 保持 4 min; 继续加热使消解罐内温度达到 $180\text{ }^\circ\text{C}$, 压力控制在 2.4 MPa, 保持 4 min。

所用试剂纯度均为优级纯, 超纯水电阻率为 $18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。所有实验器皿洗净后置于 10% 的硝酸中浸泡 48 h 以上, 然后用超纯水冲洗 5 次以上, 晾干备用。

载流液 HNO_3 溶液(1 : 9, φ): 取 50 mL HNO_3 , 缓缓倒入 450 mL 水中, 混匀。

还原剂 KBH_4 溶液($5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$): 称取 5.0 g KBH_4 , 溶于 $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 KOH 溶液中, 并稀释至 1 000 mL, 混匀, 现用现配。

收稿日期: 2010-11-21, 修订日期: 2011-03-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(20462005)资助

作者简介: 熊春红, 女, 1971 年生, 南昌大学生命科学与食品工程学院副教授

e-mail: hongyu_9567@163.com

* 通讯联系人 e-mail: myxie@ncu.edu.cn, xmync@163.com

汞标准储备液 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 质控标样: GBW10016 茶叶, 汞含量 $(3.8 \pm 0.8) \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 购自国家标准物质中心。

1.2 样品预处理

采集江西省 5 个主要茶区 11 个市县的 63 个茶鲜叶样本, 其中高山(海拔 300 m 以上)样 36 个, 公路边(含居民区边)样 27 个; 以及鲜叶样品当地生产的对应品牌商品茶叶十种。茶鲜叶经自来水轻柔清洗, 超纯水清洗 3 次; 干燥箱 $130 \text{ }^\circ\text{C}$ 杀青 5 min 后于 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干, 取出摊凉。所有茶叶样以及 GBW10016 均用玛瑙研钵研磨, 尼龙筛过筛, 取粒径 $\leq 58 \mu\text{m}$ (过 250 目)样, 双层聚乙烯塑料袋包装, 袋夹层内放标签。

1.3 消解方法

1.3.1 超声波辅助提取 (ultrasound-assisted extraction, UAE) 法

试验设计考察的因素及水平见表 1。

Table 1 Variables and levels used for the Plackett-Burman design and estimated effects of main variables

因素	符号	水平		效应 T 值	显著性 P
		低值(-)	高值(+)		
浸泡时间/min	Pst	2	10	0.93	0.394
超声时间/min	St	2	10	4.47	0.007
超声温度/ $^\circ\text{C}$	T	40	80	6.04	0.002
HNO_3/mL	A1	2	5	0.91	0.404
$\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2(1 : 1, \varphi)/\text{mL}$	A2	2	5	4.59	0.006
称样量/mg	SM	200	400	0.21	0.841

试验中, 茶标样采用 6 个平行样, 其他茶叶样为 3 个平行样。按表 1 中设置的高值(+)和低值(-)以及表 2 试验组分别精确称量茶标样于 25 mL 聚四氟乙烯器皿中, 加入酸溶液, 室温浸泡, 超声提取后, 加超纯水定容至 10 mL, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。上清液转入聚乙烯管于 $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏备用。同时做空白对照。其余茶叶样则根据茶标样 Plackett-Burman 试验及响应面优化后的条件进行 UAE 法处理。

1.3.2 微波辅助消解 (microwave-assisted digestion, MAD) 法

采用 GB/T 5009.17-2003 中的微波消解方法, 作为标准对照方法。与同组 UAE 法称取同样重量样品于聚四氟乙烯的高压消解罐中, 加浓 HNO_3 4 mL, 静置 1 h 后, 按微波消解仪程序分阶段消解、冷却, 开罐后为无色或浅黄绿色透明溶液, 用 HNO_3 溶液 (1 : 9, φ) 定容至 10 mL, 待测, 同时做空白对照。

1.4 原子荧光光谱法分析汞含量

仪器条件: 光电倍增管负高压 280 V, 灯电流 30 mA, 原子化器温度 $200 \text{ }^\circ\text{C}$, 原子化器高度 8 mm, 载气流量 $400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 屏蔽气流量 $1000 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 读数时间 10 s, 延迟时间 2 s, 重复次数 3 次, 注入量 1.0 mL, 测量方法为标准曲线法, 读数方式为峰面积法, 标准曲线的配制方式为手工配制。

配置浓度为 0.000, 0.025, 0.050, 0.100, 0.200, 0.400 和 $0.800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的汞标准系列溶液, 测荧光强度, 绘制标

准曲线。文中所有汞含量测定值均为干基含量。

2 结果与讨论

2.1 Plackett-Burman (PB) 试验设计确定各因素的主要效应

PB 试验设计主要用于筛选显著性影响因素^[14], 试验设计及测定结果见表 1 和表 2。表 2 中 1~12 组的汞提取率 (extraction rate of mercury, ERM) % 均为 6 个平行茶标样测定结果的平均值。利用 Minitab 15 软件处理数据。

汞提取率 $\text{ERM}(\%) = [\text{UAE 法测得的汞含量}] / [\text{MAD 法测得的汞含量}] \times 100\%$

$P < 0.05$ 说明因素影响显著, $P < 0.01$ 说明影响高度显著。其中 T, A2 和 St 这 3 个因素对汞提取率的影响高度显著, 而 Pst 和 SM 则影响不显著。其结果用 Pareto 图 (见图 1) 表示可以看出, 影响汞提取率的因素重要性排序依次为: $T > A2 > \text{St}$ 。因此, 选用 T, A2 和 St 这 3 个因素进一步做响应面分析, 以确定它们的最优水平。

Table 2 Plackett-Burman design for the significant variable determination ($n=6$)

序号	Pst	St	T	A1	A2	SM	汞提取率 * / %
1	+	-	+	-	-	-	42.5 ± 1.4
2	+	+	-	+	-	-	40.0 ± 2.0
3	-	+	+	-	+	-	91.7 ± 1.6
4	+	-	+	+	-	+	60.8 ± 1.5
5	+	+	-	+	+	-	72.6 ± 2.0
6	+	+	+	-	+	+	89.0 ± 2.5
7	-	+	+	+	-	+	73.5 ± 1.7
8	-	-	+	+	+	-	64.0 ± 1.7
9	-	-	-	+	+	+	38.8 ± 1.1
10	+	-	-	-	+	+	45.1 ± 1.8
11	-	+	-	-	-	+	32.7 ± 1.9
12	-	-	-	-	-	-	23.2 ± 1.0

* 平均值 \pm 标准偏差 (mean \pm SD)

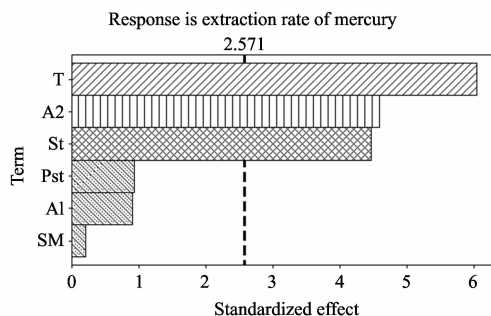


Fig. 1 Pareto chart of the standardized effect on extraction rate of mercury ($\alpha=0.05$)

2.2 响应面优化试验设计及结果分析

根据中心组合设计 (central composite design, CCD) 原理, 结合 PB 筛选的 3 个显著因素 (St, T, A2), 进行响应面优化试验, 共 20 组试验。其余非显著因素根据便于操作的原

则, 固定取恰当的数值试验: Pst=6 min, SM=300 mg。CCD 设计的因素、水平及结果见表 3。

Table 3 Design and results of central composite design for St, T and A2(n=6)

序号	St/min	T/°C	A2/mL	汞提取率* /%
1	2	40	2	49.0±1.7
2	10	40	2	58.7±2.0
3	2	80	2	61.5±1.9
4	10	80	2	75.3±1.5
5	2	40	5	60.6±2.1
6	10	40	5	73.5±1.8
7	2	80	5	81.8±2.0
8	10	80	5	98.5±1.1
9	-0.727 2	60	3.5	66.7±1.0
10	12.727 2	60	3.5	88.2±1.2
11	6	26.364 1	3.5	51.0±1.9
12	6	93.635 9	3.5	83.6±1.5
13	6	60	0.977 3	57.4±1.3
14	6	60	6.022 7	88.7±1.3
15	6	60	3.5	96.8±1.6
16	6	60	3.5	96.7±1.4
17	6	60	3.5	95.1±1.5
18	6	60	3.5	97.1±1.2
19	6	60	3.5	95.5±1.0
20	6	60	3.5	97.2±1.1

* 平均值±标准偏差(mean±SD)

2.2.1 模型的建立及其显著性检验

以汞提取率为响应值, 根据表 3 的试验结果, 运用 Minitab 15 软件进行回归分析。经过回归拟合后, 各试验因素对响应值的影响可用如下函数表示:

$$Y = -97.98 + 5.68 St + 3.32 T + 27.48 A2 - 0.436 St^2 - 0.03 T^2 - 3.79 A2^2 + 0.01 St \times T + 0.07 T \times A2$$

式中: Y 为汞提取率的预测值; T, St, A2 分别为各自的未编码值。

进一步进行方差分析来验证回归模型及各参数的显著度。失拟项 P 值为 0.272, 大于 0.05, 表明回归拟合的模型成立。另外方程中 St, T, A2, St², T², A2², St×T, T×A2 对 Y 值的影响均高度显著, 表明试验因素对响应值的影响不是简单的线性关系, 交互项和二次项同时都有显著影响。

2.2.2 汞提取率响应面优化

根据上述回归方程, 运用 Minitab 15 软件作出响应曲面图(图 2), 并对响应面进行优化分析, 得到 UAE 法提取汞最

佳工艺条件为: St=8.1 min, T=70.5 °C, A2=4.4 mL; Pst 为 6 min, SM 300 mg 时, 汞提取率的理论最大值为 103.5 %。

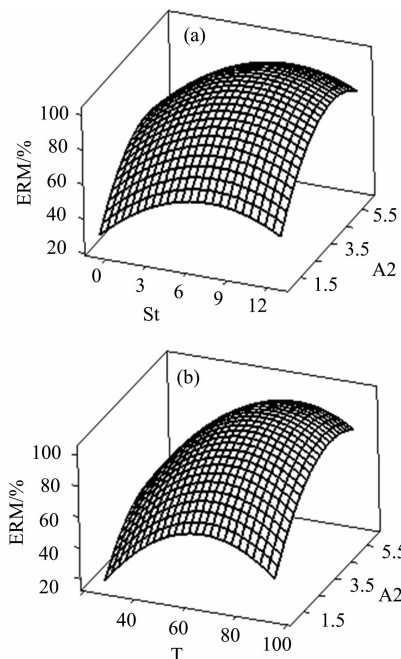


Fig. 2 Response surface showing the interactive effect of variables on ERM

(a): A2 and St; (b): A2 and T

2.2.3 汞提取率的验证试验

采用上述最优提取条件进行超声波辅助提取 GBW10016 汞试验, 所得汞提取率为 100.0%(见表 4), 理论预测值与实测值非常接近, 相对偏差 3.5%, 说明得到的二次回归模型适合本试验, 提取条件准确可靠, 具有使用价值。

2.3 UAE 法的检出限、准确度、精密度

按 1.4 步骤绘制的标准曲线, 回归方程为 $y = 1275.22x - 16.37$, 相关系数 $r = 0.999 5$, 线性范围在 $0 \sim 5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 测得检出限(limit of detection, LOD)为 $0.007 8 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。(LOD=3 s · m⁻¹, 其中 s 为连续 11 次全程序空白试验的标准偏差, m 为标准曲线的斜率)。从表 4 数据分析显示: GBW10016 茶叶, 平行测定 6 次, 测定值与标准值符合良好, 测定值的相对标准偏差为 7.7%。应用本方法对样品进行加标回收实验, 回收率在 94.2%~102.0%。本法重现性较好, 精密度理想。

Table 4 Determination of mercury in standard reference materials tea leaves (GBW 10016) ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)(n=6)

元素	标准值	MAD		UAE		实测汞提取率/%
		测定值*	相对误差/%	测定值*	相对误差/%	
汞	3.8±0.8	3.9±0.4	2.6	3.9±0.3	2.6	100.0

* 平均值±标准偏差(mean±SD)

2.4 UAE 法、MAD 法测定茶样品及比较

对表 5 中 UAE 法及 MAD 法两列数据, 采用 Minit-

ab 15 中“one-way ANOVA”进行方差分析。结果显示, 高山组与公路边组, P=0.000<0.05, 公路边组汞含量显著高

Table 5 Determination of mercury in fresh tea leaves and processed tea leaves by MAD method and UAE method

茶样品		UAE测定值 ^a	MAD测定值 ^a	汞提取率 ^b /%
茶鲜叶	高山 ^c	4.6±5.0	4.6±5.5	100.0±2.2
	公路边 ^d	10.9±11.2	10.8±11.0	100.9±1.3
商品茶叶	庐山云雾 ^e	11.7±0.7	11.6±0.8	100.9±1.2
	狗脑岩 ^e	9.2±0.5	9.1±0.7	101.1±1.7
	婺源茗眉 ^e	7.0±0.5	6.9±0.5	101.4±2.0
	浮瑶仙芝 ^e	10.5±0.6	10.6±0.9	99.1±0.9
	前岭银毫 ^e	21.5±1.1	21.7±1.3	99.1±0.8
	白槎家乡茶 ^e	17.3±1.0	17.1±0.4	101.2±1.5
	梅岭毛尖 ^e	7.4±0.5	7.5±0.4	98.6±1.4
	赤水仙·岩眉 ^e	7.8±0.6	7.7±0.7	101.3±1.4
	南山雀眉 ^e	9.1±0.8	9.1±0.7	100.0±1.0
	玉山春芽 ^e	10.4±0.9	10.3±0.7	101.0±1.1

^a $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 平均值±标准偏差(mean±SD); ^b 平均值±标准偏差(mean±SD); ^c $n=36$; ^d $n=27$; ^e $n=3$

于高山组, 表明: 人为活动造成种植环境的污染(如杀虫剂的大量应用及丢弃污染土壤、水体)可以引起茶鲜叶汞基

础值的提高。茶鲜叶组(8.4 ± 3.2) $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与商品茶叶组(11.2 ± 4.7) $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $P=0.087 > 0.05$, 汞含量不存在显著差异, 表明: 茶叶中汞的主要来源是种植环境, 加工过程对其影响不明显。UAE法及MAD法比较, $P=0.989 > 0.05$, 表明UAE法与国标MAD法测定结果无显著差异, UAE法可以满足茶叶痕量汞的测定要求。

3 结 论

本试验优化超声波辅助提取—原子荧光光谱法用于茶叶痕量汞的测定, 方法准确、快速, 试剂消耗少, 适于大批样测定。首次采用多因素试验设计及响应面法以较少的试验次数获得了最优的提取条件: 超声温度 $70.5\text{ }^\circ\text{C}$ 、超声时间 8.1 min 、 $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2 (1:1, \varphi)$ 4.4 mL , 浸泡时间 6 min 、称样量 300 mg , 其中前三个因素为显著影响因素。UAE法成功应用于江西省代表性茶产区的茶鲜叶及商品茶叶的汞含量测定, 测定值均在农业部 NY659—2003 限量标准($<0.3\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)内。UAE法与国标微波法测定结果无显著差异。

References

- [1] Dos S W, Hatje V, Sandil D, et al. *Microchemical Journal*, 2010, 95: 169.
- [2] Deng J C, Feng X, Qiu X H. *Chemical Engineering Journal*, 2009, 152: 177.
- [3] Li C C, Xie F C, Ma Y, et al. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 178: 823.
- [4] Tadeo J L, Sanchez B C, Albero B, et al. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217: 2415.
- [5] Becerril B E, Lamas J P, Sanchez P L, et al. *Chemosphere*, 2010, 81: 1378.
- [6] Pereira S, Fonseca L P, Capelo J L, et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 398: 2315.
- [7] Zhang L L, Xu M, Wang Y M, et al. *Molecules*, 2010, 15: 7923.
- [8] Gomez G S, Ruiz J J, Priego C F, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58: 12292.
- [9] Bonggotgetsakul Y Y, Ashokkumar M, Cattrall R W, et al. *Journal of Membrane Science*, 2010, 365: 242.
- [10] Khoshnam F, Zargar B, Pourreza N, et al. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 2010, 7: 853.
- [11] Zou Y, Xie C Y, Fan G J, et al. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2010, 11: 611.
- [12] Pourhossein A, Madani M, Shahlai M, et al. *Central European Journal of Chemistry*, 2009, 7: 382.
- [13] Kazi T G, Jamali M K, Arain M B, et al. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 161: 1391.
- [14] Kazi T G, Jalbani N, Baig J A, et al. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47: 2163.

Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Combined with AFS by Response Surface Methodology for Rapid Determination of Trace Mercury in Tea Leaves

XIONG Chun-hong, PENG Kang-nian, XIE Ming-yong*

State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China

Abstract A rapid ultrasound-assisted extraction (UAE) procedure was developed for the determination of trace mercury (Hg) in tea leaves combined with atomic fluorescence spectrometry. Three variables including sonication time (St), ultrasonic bath temperature (T) and $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2 (1:1, \varphi)$ volume (A_2) showed the significant effect on extraction rate of total Hg evaluated by a Plackett-Burman design, and they were further optimized by a central composite design and response surface methodology. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: presonication time 6 min , St 8.1 min , $T\ 70.5\text{ }^\circ\text{C}$,

A2 4.4 mL, and sample mass 300 mg. GBW10016 (tea leaves) was used as certified reference material; for comparative purposes, a microwave-assisted digestion (MAD) was used. The result obtained by optimized UAE method showed good agreement with the certified values. Under optimal conditions, recovery was evaluated to be 94.2%~102.0% and the limit of detection 0.0078 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The relative standard deviation (RSD) of replicate measurements was generally less than 10%. The proposed UAE method was successfully applied to the determination of Hg in 63 samples of fresh tea leaves and 10 different branded tea samples. No significant differences were established between the analytical results of UAE method and MAD method. The Hg concentrations of them were found in the range of 4.6~17.3 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ on a dried basis, which were within the permissible limit of the NY659-2003.

Keywords Ultrasound-assisted extraction; Response surface methodology; Atomic fluorescence spectrometry (AFS); Trace mercury; Tea leaves

(Received Nov. 21, 2010; accepted Mar. 25, 2011)

* Corresponding author

《分析化学》征订启事

邮发代号 12-6

《分析化学》(ISSN 0253-3820, CODEN FHHHDT, CN 22-1125/O6)是中国科学院和中国化学会共同主办的专业性学术期刊,主要报道我国分析化学创新性研究成果,反映国内外分析化学学科前沿和进展。刊物设有特约来稿、研究快报、研究报告、研究简报、评述与进展、仪器装置与实验技术、来稿摘登等栏目。读者对象为从事分析化学研究和测试的科技人员及大专院校师生。本刊也是有关图书、情报等部门必不可少的信息来源。

《分析化学》目前是我国自然科学核心期刊及全国优秀科技期刊,1999年荣获首届国家期刊奖,2000年获中国科学院优秀期刊特别奖,2001年入选“中国期刊方阵”高知名度、高学术水平的“双高”期刊,2002年又荣获第二届国家期刊奖和第三届中国科协优秀科技期刊奖。论文已被包括美、英、日、俄的国内外近20种刊物和检索系统收录。根据中国科技信息研究所历年发布的“中国科技期刊引证报告”获悉,2009年公布的影响因子为1.29。多年来,本刊逐年被选入美国权威文摘《化学文摘》(CA)摘引量最大的1000种期刊(简称“CA千种表”)中,并居我国入选“CA千种表”期刊的前列。从1999年第27卷第一期开始被美国科学信息研究所(Institute for Scientific Information)正式收入《科学引文索引扩大版》(Science Citation Index-Expanded, SCIE, also known as SciSearch),同时还被收入《Research Alert》和《Chemistry Citation Index》等ISI系列。近期公布的2010年SCI影响因子为0.798。

本刊为月刊,每期160页(大16开),由科学出版社出版。国内单价30.00元,全年360.00元。邮发代号12-6,全国各地邮局订阅,国外代号M336,中国国际书店订购,漏订读者,可与编辑部联系。广告经营许可证号:2200004000094,广告代理:北京行胜言广告有限公司,电话:010-52086537。

编辑部地址:长春市人民大街5625号

邮政编码:130022

编辑部电话:(0431)85262017/85262018

传真:(0431)85262018

E-mail: fxhx@ciac.jl.cn

网址: <http://www.analchem.cn>