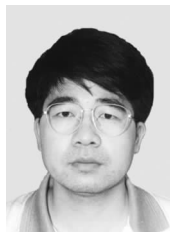


# 杨梅树叶、皮、根部精油成分及其抗氧化活性物质



ZHONG R M

钟瑞敏<sup>1,2</sup>, 张振明<sup>2</sup>, 王羽梅<sup>2\*</sup>, 曾庆孝<sup>1</sup>, 彭华贵<sup>3</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640; 2. 韶关学院 英东生物工程学院, 广东 韶关 512005; 3. 广东南岭自然保护区大顶山管理站, 广东 韶关 512726)

**摘 要:** 采用 GC-MS 技术结合 Kovats 保留指数(KI)对比法分析鉴定了采自南岭自然保护区的乌杨梅(*Myrica rubra* var. *astropurea* Tsen.)叶、皮和根部芳香精油的成分,同时运用薄层层析(TLC)筛分法对其抗氧化活性物质进行了对比分析。杨梅树根和树皮精油的主要成分为 5-羟基萹蒲烯(相对含量分别为 74.66% 和 60.32%)和油酸(7.74% 和 11.39%),而树叶精油的主体成分为 5-羟基萹蒲烯(30.44%)、石竹烯(11.61%)、异石竹烯(10.17%)、(E)-橙花叔醇(9.57%)和油酸(4.40%)。树根、树皮到树叶部位的次生代谢物明显出现越来越复杂的分化特性。5-羟基萹蒲烯是 3 个部位精油的主要抗氧化活性物质,但叶部精油中的倍半萜烯类物质也表现出一定的二苯代苦味酰(DPPH)自由基清除活性。

**关键词:** 乌杨梅;芳香精油;Kovats 保留指数;抗氧化活性

中图分类号:TQ351.014;Q946.85

文献标识码:A

文章编号:0253-2417(2006)01-0001-05

## Chemical Composition and Antioxidant Components of Essential Oils from Leaves, Bark and Root of *Myrica rubra*

ZHONG Rui-min<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhen-ming<sup>2</sup>, WANG Yu-mei<sup>2</sup>, ZENG Qing-xiao<sup>1</sup>, PENG Hua-gui<sup>3</sup>

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. Yingdong College of Biotechnology, Shaoguan College, Shaoguan 512005, China; 3. Dadingshan Mountain Administration of Nanling National Nature Reserve, Shaoguan 512726, China)

**Abstract:** Essential oils from leaves, bark and root of Chinese waxmyrtle (*Myrica rubra* var. *astropurea* Tsen), growing wild in Nanling National Nature Reserve, have been analyzed for their chemical composition and investigated for their antioxidant components. The GC-MS analysis as well as comparison of the Kovats retention indices (KI) of elution peaks with literature data were used for compound identification of the essential oils; TLC-screening method was used for analysis of antioxidant components in the oils. The essential oils of *M. rubra* bark and root are both dominated with 5-hydroxycalamenene (74.66% and 60.32%) and oleic acid (7.74% and 11.39%), respectively, whereas, the leaves oil is constituted mainly by 5-hydroxycalamenene (30.44%), caryophyllene (11.61%), isocaryophyllene (10.17%), (E)-nerolidol (9.57%) and oleic acid (4.40%), respectively. The composition matrixes of the essential oils of *M. rubra* leaves, bark and root express the differential complexity of secondary metabolites in this species. 5-Hydroxycalamenene is identified as the principal antioxidant in all three essential oils. However, the sesquiterpenes in leaves oil also show positive 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity in certain extent.

**Key words:** *Myrica rubra* var. *astropurea* Tsen; essential oil; Kovats retention index; antioxidant activity

杨梅属杨梅科,是原产于中国的亚热带果树,世界上有 60 多个种,中国有 6 个种<sup>[1]</sup>。杨梅为药食两用芳香植物,已有几千年的利用历史,宋代《食疗本草》和明代《本草纲目》对杨梅的药用功效均有记载。杨梅枝叶和根皮在中国和日本等地常用作收敛剂、解毒剂和肠胃止泻剂等传统中药成分<sup>[2]</sup>。药理研究

收稿日期:2005-10-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30370151)

作者简介:钟瑞敏(1967-),男,江西瑞金人,副教授,博士生,主要从事食品保藏与天然产物利用的研究;E-mail: zhongrm9898@163.com

\* 通讯作者:王羽梅,教授,博士,博士生导师,主要从事植物生理和天然产物利用研究。

表明,杨梅叶甲醇萃取物可治疗由  $\text{CCl}_4$  和  $\alpha$ -萘基异硫氰酸酯诱导的肝损伤,而 50% 乙醇萃取物可抑制体内黑色素的合成<sup>[3]</sup>。近年来还从杨梅叶萃取物中分离得到两种具有抗肿瘤活性的香豆素衍生物<sup>[4]</sup>。然而,有关杨梅树药用部位所含的挥发性芳香精油成分及其生物活性的研究却非常缺乏。作者对国内南方省份资源丰富的乌杨梅 (*Myrica rubra* var. *astropurea* Tsen.) 的树叶、树皮和树根中的芳香精油进行了含量测定,采用气相色谱质谱联用技术并结合 Kovats 保留指数 (*KI*) 对比法对其成分进行了对比分析,同时采用薄层层析 (TLC) 筛分法对其主要抗氧化活性成分进行了分析,旨在为系统开发杨梅植物资源在食品保藏、医药和保健领域的应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

**材料:**乌杨梅枝叶、树皮和树根采自同一株杨梅树,由广东南岭国家自然保护区大顶山管理处于 2005 年 4 月提供,速冻处理待用。品种在该保护区标本库进行了对照鉴定。**试剂:** $\text{C}_8 \sim \text{C}_{21}$  系列正烷烃,色谱纯,上海中国医药集团;薄层层析硅胶板 ( $\text{HF}_{254}$ ,  $10 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ ), 青岛海洋化工;二苯代苦味酰 (DPPH) 自由基, Sigma 公司;正己烷、乙酸乙酯等均为 HPLC 纯。**仪器:**芳香精油测定仪,广州玻璃厂;气质联用仪 Finnigan TRACE /DSQ, 美国热电。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 精油提取与含量测定** 采用水蒸气同步蒸馏法提取精油。原料经破碎后沸蒸回流 3 h。精油用无水硫酸钠脱水,过滤后量取体积,取适量用正己烷溶解稀释为 0.1% (体积分数,下同)用于气质联用分析。样品测定前均置于  $-25 \text{ }^\circ\text{C}$  下贮存。

**1.2.2 气质联用分析** GC-MS 分析采用 TRACE GC/DSQ 气质联用仪完成。GC 条件:色谱柱为 DB-5 石英毛细管柱,  $30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \text{ }\mu\text{m}$ ;载气为高纯氦 (99.999%) ;柱流量  $1 \text{ mL/min}$ ;不分流进样;进样口温度  $220 \text{ }^\circ\text{C}$ ;传输线温度  $210 \text{ }^\circ\text{C}$ ;进样量  $1 \text{ }\mu\text{L}$ 。程序升温,柱温  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $1 \text{ min}$ )  $\xrightarrow{10 \text{ }^\circ\text{C/min}}$   $200 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $3 \text{ min}$ )。MS 条件:电离方式 EI,电子能量  $70 \text{ eV}$ ,发射电流  $100 \text{ mA}$ ,离子源温度  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ ,质量扫描范围  $50 \sim 350 \text{ u}$ ,溶剂延迟  $4 \text{ min}$ 。 $\text{C}_8 \sim \text{C}_{21}$  系列正烷烃均以 0.1% 正己烷溶解,与上述 GC 条件一样进样测定。GC 分离的各精油成分用下列线性升温公式<sup>[5]</sup>计算其 *KI* 值:

$$KI = 100n + 100(t_x - t_n)/(t_{n+1} - t_n)$$

式中: $t_x$  为测定物质的保留时间; $t_n$  和  $t_{n+1}$  分别为碳原子数相差为 1 的正烷烃的保留时间 ( $t_n < t_x < t_{n+1}$ )。

结果用随机所带的美国 NIST Library (2002 版) 质谱库检索,并与相应标准文献 *KI* 值<sup>[6]</sup>对比确定,无文献 *KI* 值的组分只用质谱库检索结果确定。相对含量的确定采用峰面积归一化法。

**1.2.3 抗氧化活性成分鉴别试验** 采用 TLC 筛分法<sup>[7-8]</sup>。将  $5 \text{ }\mu\text{L}$  精油的正己烷液 (体积比 1 : 10,下同) 在硅胶板点样,用正己烷-乙酸乙酯 (体积比 97 : 3,下同) 展开,待溶剂挥发后于  $254 \text{ nm}$  紫外线下荧光显色拍照,然后在其表面用 0.2% DPPH 自由基甲醇溶液均匀喷雾。30 min 内显黄色的点确定为具有抗氧化活性的成分。

## 2 结果与讨论

### 2.1 精油的 GC-MS 成分分析

乌杨梅鲜叶、皮和根部精油含量分别为 0.125、0.036 和 0.096 mL/g,其色泽叶部为黄绿色,其它为黄色。3 个部位的精油均无刺激性,呈类似中药的芳香。叶和根部的精油含量相对较高,但根部和皮部精油相对密度大,且在室温下为黄色膏状凝固态。

GC-MS 技术是植物芳香精油成分鉴定的常用方法。然而,由于精油成分复杂,而且不同 GC-MS 仪器性能和分离柱柱效存在差异,只凭借质谱库计算机检索的匹配结果来鉴定化合物存在一定的不确定

性。而  $KI$  值是化合物在同型分离柱上的比较稳定的性质。GC-MS 结合  $KI$  标准文献值比较的方法可大大提高化合物鉴定的准确性<sup>[9]</sup>。从乌杨梅叶、皮和根部精油分别分离出 92、85 和 59 种成分。采用质谱谱库检索,同时计算各峰的  $KI$  值与同型分离柱(DB-5)测定的标准物质的  $KI$  值匹配对比,分别对 3 种精油中相对含量  $\geq 0.5\%$  的 27、25 和 26 种成分进行了鉴定,被鉴定的组分相对含量总和分别为相应精油的 95.42%、94.70% 和 92.57%。鉴定结果见表 1。

表 1 杨梅叶、皮和根部精油鉴定的成分及其相对含量

Table 1 Chemical constituents identified in the essential oils of *M. rubra* leaves, bark and root

序号 No.	化合物 compounds	$KI^{1)}$	$KI^{2)}$	相对含量/% relative content			鉴定方法 identification methods
				叶 leaf	皮 bark	根 root	
1	$\beta$ -橙烯 $\beta$ -cubebene	1388	1385	1.27	0.25	0.70	GC-MS, KI
2	异石竹烯 isocaryophyllene	1438	1435	10.17	1.85	0.40	GC-MS, KI
3	$\alpha$ -愈创木烯 $\alpha$ -guaiene	1453	1453	0.73	0.21	0.06	GC-MS, KI
4	石竹烯 caryophyllene (9-epi-( <i>E</i> )-)	1466	1470	11.61	2.17	0.14	GC-MS, KI
5	大根香叶烯 A germacrene A	1485	1486	2.59	1.26	0.31	GC-MS, KI
6	$\alpha$ -依兰油烯 $\alpha$ -muurolene	1500	1500	3.50	2.26	-	GC-MS, KI
7	$\alpha$ -金合欢烯 $\alpha$ -farnesene	1506	1505	3.73	2.88	0.47	GC-MS, KI
8	$\delta$ -杜松萜烯 $\delta$ -cadinene	1523	1522	1.14	0.36	0.06	GC-MS, KI
9	反式杜松萜-1(2),4-二烯 <i>trans</i> -cadin-1(2),4-diene	1535	1528	3.31	1.26	0.40	GC-MS, KI
10	( <i>E</i> )-橙花叔醇( <i>E</i> )-nerolidol	1563	1557	9.57	2.42	0.34	GC-MS, KI
11	$\beta$ -甜旗烯 $\beta$ -calacorene	1566	1565	0.10	0.53	痕量 tr	GC-MS, KI
12	匙叶桉油烯醇 spathylenol	1578	1583	0.53	0.29	0.21	GC-MS, KI
13	绿花白千层醇 viridiflorol	1593	1590	1.84	0.32	0.11	GC-MS, KI
14	愈创木醇 guaiol	1601	1600	1.12	0.25	0.09	GC-MS, KI
15	$\beta$ -雪松烯氧化物 $\beta$ -himachalene oxide	1616	1615	2.18	0.37	痕量 tr	GC-MS, KI
16	顺式- $\alpha$ -檀香醇 <i>cis</i> - $\alpha$ -santalol	1624	1624	0.58	0.37	0.50	GC-MS, KI
17	库贝醇 cubenol(1-epi-)	1630	1632	1.35	-	痕量 tr	GC-MS, KI
18	$\gamma$ -桉叶油醇 $\gamma$ -eudesmol	1632	1635	1.13	0.83	0.28	GC-MS, KI
19	$\alpha$ -杜松萜醇 $\alpha$ -cadinol	1654	1654	2.18	1.65	0.62	GC-MS, KI
20	异香橙烯环氧化物 isoaromadendrene epoxide	-	1668	0.47	-	0.76	GC-MS
21	桉叶油重叠-4(15),7-二烯-1- $\beta$ -醇 eudesma-4(15),7-dien-1- $\beta$ -ol	1685	1679	0.39	0.70	0.65	GC-MS, KI
22	4,4,5,6,8-五甲基异香豆素 isocoumarin-3-one, 4,4,5,6,8-pentamethyl-	-	1751	0.26	0.64	1.11	GC-MS
23	5-羟基菖蒲烯 5-hydroxycalamenene	-	1825	30.44	60.32	74.66	GC-MS
24	1-(2,3,6-三甲基苯基)-3-丁烯-2-酮 3-buten-2-one, 1-(2,3,6-trimethylphenyl)-	-	1849	0.29	0.79	0.21	GC-MS
25	叶绿醇 phytol	1942	1943	0.22	0.49	0.60	GC-MS, KI
26	油酸 oleic acid	2082	2078	4.40	11.39	7.74	GC-MS, KI
27	7-羟基卡达烯 7-hydroxycadalene	-	2090	0.32	0.84	2.15	GC-MS
合计 total				95.42	94.70	92.57	
单萜类 monoterpenoids				0	0	0	
倍半萜烯类 sesquiterpene hydrocarbons				38.15	13.03	2.54	
含氧倍半萜烯类 oxygenated sesquiterpenes				52.61	69.64	81.18	
其它 others				4.66	12.03	8.85	

1)  $KI$  Adams 标准 Kovats 保留指数(非极性 DB-5 柱) Kovats retention indices published by Adams (DB-5 column);

2)  $KI'$ 以  $C_8 \sim C_{21}$  系列正烷烃内标测定的各组分的 Kovats 保留指数(非极性 DB-5 柱) Kovats retention index relative to  $C_8 \sim C_{21}$  *n*-alkanes on DB-5 column.

杨梅叶、皮和根部精油中主要成分为含氧倍半萜类化合物,分别占精油总含量的 52.61%、69.64% 和 81.18%,其次为倍半萜烯类化合物。而单萜类化合物含量均很少,这正是这些精油没有刺激性的主要原因。精油中大部分组分的  $KI$  值与文献标准  $KI$  值接近,这提高了成分鉴定的确定性;而尚

无标准文献 *KI* 值可参照的组分则以计算机检索相似度最高者来命名,如 5-羟基萹蒲烯、4,4,5,6,8-五甲基异香豆素等成分。

叶、皮、根 3 个部位精油的主成分分别为(精油的相对含量):5-羟基萹蒲烯(30.44%、60.32% 和 74.66%)、石竹烯(11.61%、2.17% 和 0.14%)、异石竹烯(10.17%、1.85% 和 0.40%)、(*E*)-橙花叔醇(9.57%、2.42% 和 0.34%)和油酸(4.40%、11.39% 和 7.74%)。杨梅根部精油除了 5-羟基萹蒲烯和油酸为主要成分外,其它均为次要成分,含量均较小。但值得注意的是,它含有一些低含量的单萜烯类化合物(如 *p*-薄荷烷-1,4(8)二烯、 $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯和柠檬烯),而在树叶和树皮精油中却没有这些单萜烯类化合物。树皮精油的主体成分也是 5-羟基萹蒲烯和油酸,与树根精油非常相似,但倍半萜类化合物在精油中的含量均比树根精油的高,如含量  $\geq 1\%$  的有石竹烯、异石竹烯、橙花叔醇、 $\alpha$ -金合欢烯、 $\alpha$ -依兰油烯、 $\alpha$ -杜松萜醇和大根香叶烯 A 等。树叶精油中化合物的数量最多,而且主要集中在倍半萜类,含量  $\geq 1\%$  的倍半萜化合物有 16 个。总之,从杨梅树根、皮和叶部精油所含化合物成分的数量及其含量来看,树根、树皮到树叶部位的次生代谢物明显出现越来越复杂的分化特性。

## 2.2 精油中主要抗氧化活性物质的鉴别

TLC 是芳香精油成分分离常用方法之一,精油中含氧化合物一般具有一定极性,采用 TLC 法可对这些成分进行快速有效的分离<sup>[9]</sup>。DPPH 自由基在有机溶剂中是一种稳定的自由基,其甲醇液在 517 nm 附近有强吸收(显深紫色)。当有自由基清除剂存在时,孤对电子被配对,该物质颜色由紫色变为黄色,通过测定 517 nm 处吸收的变化或观察其颜色的变化可评价自由基清除剂抗氧化活性的大小。这就是通过 TLC 筛分法快速判断抗氧化物的原理。

采用低极性展开剂正己烷-乙酸乙酯可将杨梅树 3 种精油进行分离,在紫外光下显影,分离的组分带均为 7 个,从点样线到展开剂前沿方向依次为  $F_1$  ( $R_f = 0.12$ )、 $F_2$  ( $R_f = 0.18$ )、 $F_3$  ( $R_f = 0.28$ )、 $F_4$  ( $R_f = 0.38$ )、 $F_5$  ( $R_f = 0.46$ )、 $F_6$  ( $R_f = 0.75$ ) 和  $F_7$  ( $R_f = 0.96$ )。从紫外显色面积判断, $F_4$  量最多,其次为  $F_7$ 、 $F_3$  和  $F_5$ 。杨梅树 3 种精油中无极性的单萜烯和倍半萜烯类成分集中在展开剂前沿  $F_7$  部分,为混合物,没有得到分离。但其它极性组分在硅胶 HF<sub>254</sub> 板上可较好分离。具有极性的含氧化合物在硅胶板上的排列顺序与气相色谱流出峰的顺序是一致的。对照 GC-MS 的分析结果, $F_4$  组分为 5-羟基萹蒲烯。经 DPPH 自由基喷雾后,立即显现黄色的也是这个点,而且该点显色面积比在紫外线下显色面积更大,说明该物质在硅胶板上浓度很小的边缘扩散部分也显示出很强的 DPPH 自由基清除能力。5-羟基萹蒲烯分子上拥有一个酚羟基,而酚羟基通常显示出较醛类和醇类羟基更强的自由基清除能力<sup>[10]</sup>。

DPPH 自由基喷雾 30 min 后,杨梅叶精油的展开剂前沿部分  $F_7$  显示为黄色,说明叶部精油中的主要倍半萜烯类物质也有一定的自由基清除能力,但反应速度较慢。在皮和根部精油的展开剂前沿  $F_7$  部分未显示黄色,说明它们的倍半萜烯成分较少。但在 5-羟基萹蒲烯点的下面出现一个明显的小黄点  $F_3$  ( $R_f = 0.28$ ),该物质可能是含有一个 C=C 的油酸,它表现出缓慢的 DPPH 自由基清除能力。

在硅胶板上,杨梅叶、皮和根部精油还存在分离的  $F_5$  和  $F_6$  (紫外线显色),经 DPPH 自由基喷雾 30 min 后均未出现明显的黄色,这表明,这些物质要么含量小不足以清除硅胶板上的 DPPH 自由基,要么本身的抗氧化能力较弱。值得注意的是,在杨梅叶精油中(*E*)-橙花叔醇含量达到 9.57%,该物质极性比 5-羟基萹蒲烯小,应该出现在 5-羟基萹蒲烯点的上方,即  $F_5$ ,但在硅胶板上的 5-羟基萹蒲烯点和展开剂前沿之间并未出现黄色的点,说明该物质不具抗氧化能力。此结果与 Ruberto 等人<sup>[9]</sup>的研究结论一致。由于(*E*)-橙花叔醇的羟基属于烯丙基上的叔醇基,不但没有提供质子的能力,甚至还表现出一定的氧化性质(类似的化合物还有芳樟醇)。

## 3 结论

运用气质联用技术结合分离峰 Kovats 保留指数(*KI*)匹配的方法首次对比分析鉴定了杨梅叶、皮和根部精油的化合物组成,同时采用薄层层析(TLC)筛分法可鉴定出其中的主要抗氧化活性成分。从杨梅树 3 个部位的芳香精油成分数量及其含量的对比分析结果表明,次生代谢物的分化从树根、树皮到树

叶部位出现越来越复杂的特性。杨梅树皮、树根精油中含有高含量的 5-羟基萹蒲烯,分别为 60.32 % 和 74.66 % ,该物质是精油中的主要抗氧化物质。杨梅树叶精油主体成分除了含有 30.44 % 的 5-羟基萹蒲烯外,还有石竹烯、异石竹烯和橙花叔醇等成分,其中石竹烯、异石竹烯等成分也表现一定的二苯代苦味酰(DPPH)自由基清除活性。

本研究结果可为杨梅这种药食两用芳香植物在食品保藏、医药和化妆品领域的利用提供一定的科学参考。

#### 参考文献:

- [1] 李兴军,吕均良,李三立. 中国杨梅研究进展[J]. 四川农业大学学报,1999, 17(2):224-229.
- [2] MATSUDA H, MORIKAWA T, TAO J, *et al.* Bioactive constituents of Chinese natural medicine. VII. Inhibitors of degranulation in RBL-2H<sub>3</sub> cells and absolute stereostructures of three new diarylheptanoid glycosides from the bark of *Myrica rubra* [J]. Chem Pharm Bull, 2002, 50: 208-215.
- [3] MATSUDA H, HIGASHINO M, CHEN W, *et al.* Studies of cuticle drugs from natural sources. III. Inhibitory effect of *Myrica rubra* on melanin biosynthesis[J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18: 1 148-1 150.
- [4] YANG L L, CHANG C C, CHEN L H, *et al.* Antitumor principle constituents of *Myrica rubra* var. *acuminata* [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 2 974-2 979.
- [5] ISIDOROV V A, KRAJEWSKA U, VINOGROROVA V T, *et al.* Gas chromatographic analysis of essential oil from buds of different birch species with preliminary partition of components [J]. Biochemical Systematics and Ecology,2004, 32: 1-13.
- [6] ADAMS R P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy[M]. Carol Stream, Illinois, USA: Allured Publishing Corporation, 2001. 1-40.
- [7] KIRBY A J, SCHMIDT R J. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-I [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1997, 56: 103-108.
- [8] BURITS M, BUCAR F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil[J]. Phytotherapy Research, 2000, 14: 323-328.
- [9] RUBERTO G, BARATTA M T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems [J]. Food Chemistry, 2000, 69: 167-174.
- [10] POTHIER J, GALAND N, ELOUALI M, *et al.* Comparison of planar chromatographic methods (TLC, OPLC, AMD) applied to essential oils of wild thyme and seven chemotypes of thyme [J]. II Farmoco, 2001, 56:505-511.

## 本刊信息

鉴于《林产化学与工业》稿源充足,而容量较小,稿件发表周期过长的状况,为更好地为林产化工行业服务,为作者和读者服务,经江苏省新闻出版局批准,2006年起《林产化学与工业》由 88 页增扩为 136 页,定价 15.00 元,全年 60.00 元。欢迎新老订户踊跃订阅,我们将竭诚为您服务。