

应用纪要

应用MaxPeak高性能表面技术改进B族维生素的LC-MS/MS分析

Jinchua Yang, Paul D. Rainville

Waters Corporation



摘要

Waters MaxPeak高性能表面(HPS)为缓解液相色谱中分析物与金属表面之间的相互作用提供了一种有效的解

决方案。本应用纪要考察了MaxPeak HPS对B族维生素LC-MS/MS分析的影响，并展示了使用MaxPeak HPS同步分析能量饮料和维生素B复合膳食补充剂中B族维生素的主要优势。与常规液相色谱系统使用的不锈钢表面相比，在使用MaxPeak HPS的系统中观察到响应提高、灵敏度改善、峰拖尾减小、校准线性更出色且无残留等主要优势。使用Waters ACQUITY Premier解决方案，核黄素、硫胺素、烟酰胺、黄素单核苷酸、5'-磷酸吡哆醛和5-甲基四氢叶酸均获得更高的灵敏度（3~10倍）。本研究还展示了LC-MS/MS法同步分析能量饮料和维生素B复合膳食补充剂中B族维生素的分析性能（准确度和重复性）。ACQUITY Premier解决方案（系统和色谱柱）与常规液相色谱解决方案相比，在B族维生素分析中表现出明显优势，例如灵敏度更高、峰拖尾更小、校准线性更出色且无残留问题。

优势

- Waters ACQUITY Premier解决方案改进了B族维生素的LC-MS/MS分析
- 与常规不锈钢表面相比，使用MaxPeak HPS观察到六种B族维生素的灵敏度提高至3~10倍
- 使用Waters ACQUITY Premier解决方案观察到响应提高、峰拖尾减小和残留减少

简介

B族维生素包括八种维生素，即硫胺素(B₁)、核黄素(B₂)、烟酸(B₃)、泛酸(B₅)、吡哆醇(B₆)、生物素(B₇)、叶酸(B₉)和氰钴胺(B₁₂)。每种B族维生素具有不同的形式（或同效维生素）。最近，膳食补充剂配方中加入了全新的B族同效维生素，如黄素单核苷酸(FMN)和5'-磷酸吡哆醛(PLP)，这些含磷酸基团的化合物通常被称为“天然”或辅酶B族维生素，据称其容易被人体吸收。B族维生素及其同效维生素的结构如图1所示。含磷酸基团的化合物与不锈钢表面之间的相互作用及其对高效液相色谱(HPLC)的不利影响已见诸报道¹⁻²。这些相互作用可能导致严重的峰拖尾、峰高下降和/或残留，使HPLC分析结果不准确、不可靠。目前针对这种分析物与金属相互作用的问题已经采用了一些解决方法，但这些方法自身存在局限性³，因此需要更出色的方法。

Waters ACQUITY Premier解决方案（包括系统和色谱柱）中采用的Waters MaxPeak高性能表面(HPS)技术为缓解分析物与金属相互作用提供了一种有效方式。目前的研究结果证明，MaxPeak HPS技术能够显著改善有机酸、寡核苷酸、肽、糖基和磷脂的HPLC分析⁴⁻⁷。本应用纪要考察了MaxPeak HPS对液相色谱-串联质谱联用系统(LC-MS/MS)分析B族维生素的影响。通过LC-MS/MS法同步分析能量饮料和膳食补充剂样品中的B族维生素凸显了MaxPeak HPS应用于B族维生素（包括不含磷酸基团的B族维生素）分析的优势。

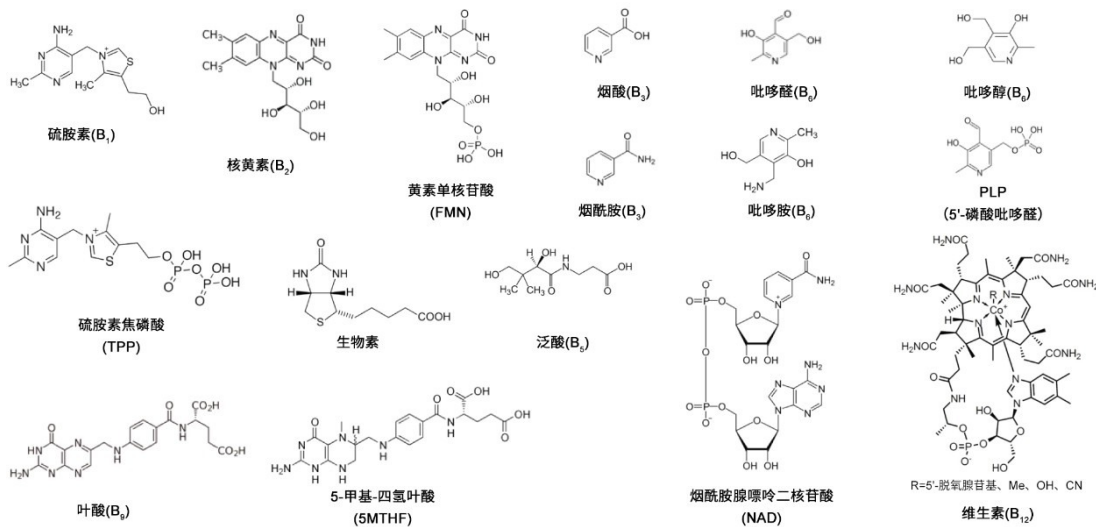


图1. B族维生素及其同效维生素的结构

实验

所有样品前处理步骤均在微光环境中使用棕色玻璃器皿完成。

标样制备

硫胺素、硫胺素焦磷酸(TPP)、核黄素、黄素单核苷酸(FMN)、烟酸、烟酰胺、泛酸、吡哆醇、吡哆胺、吡哆醛、5'-磷酸吡哆醛(PLP)、生物素、叶酸、5-甲基四氢叶酸(5MTHF)、氰钴胺(CN B₁₂)、甲钴胺(Me B₁₂)、腺苷钴胺素(Aden B₁₂)购自Sigma-Aldrich (美国密苏里州圣路易斯)。稳定同位素标记的B族维生素：¹³C₅, ¹⁵N-叶酸、¹³C₄, ¹⁵N₂-核黄素、¹³C₄-硫胺素、²H₄-生物素、¹³C₆, ¹⁵N-泛酸、²H₂-吡哆醇和²H₄-烟酸购自Isosciences (isosciences.com, Ambler, PA)。用去离子水溶解各种维生素来制备浓度为0.5 mg/mL (记录3位有效数字)的各B族维生素储备液,但核黄素和生物素除外,其制备为分别含0.05 mg/mL (记录3位有效数字)核黄素和生物素标准品的混合储备液。叶酸储备液可能需要添加少量(一滴或两滴)氢氧化铵溶液(28~30% NH₃)以辅助溶解。PLP储备溶液则加热至50 °C以助其溶解。

用去离子水稀释各储备液的等分试样来制备以下三种中间B族维生素混标溶液:一种由CN B₁₂ (0.1 mg/mL)和Me B₁₂ (0.1 mg/mL)组成的中间混标溶液;一种由硫胺素(0.01 mg/mL)、泛酸(0.1 mg/mL)、吡哆醇(0.01 mg/mL)、烟酰胺(0.1 mg/mL)、烟酸(0.1 mg/mL)和吡哆醛(0.01 mg/mL)组成的中间混标溶液;一种由叶酸(0.1 mg/mL)和5MTHF (0.1 mg/mL)组成的中间混标溶液。用去离子水混合这些中间B族维生素混标溶液和剩余的单标储备液,将其稀释为不同浓度水平的工作标准溶液。

稳定同位素标记的B族维生素单标储备液的制备方法与之前针对B族维生素单标储备液所述的方法类似。利用这些单一储备液制备所有稳定同位素标准储备液的混合物，方法如下：将适当体积的单一储备溶液与去离子水混合，使各种标准品的浓度达到0.02 mg/mL（但 $^{13}\text{C}_5$ 、 ^{15}N -叶酸除外，其浓度为0.2 mg/mL）。将该稳定同位素混标储备液用去离子水稀释10倍，制得中间稳定同位素混合溶液，随后作为参比内标以浓度0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加至工作标准溶液和样品溶液中（但 $^{13}\text{C}_5$ 、 ^{15}N -叶酸除外，其在最终溶液中的加标浓度为1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。

样品前处理

从当地商店购得主流品牌的能量饮料(ED)，例如Red Bull、Monster Energy和Rockstar。用0.45 μm GMF膜针式过滤器过滤这些样品。取一份滤液在未经稀释的情况下分析其中的低浓度B族维生素(CN B₁₂)。再取一份滤液用去离子水稀释50倍（体积比1:50），用于分析其他B族维生素。还检测了B族维生素复合膳食补充剂（DS，液体形式）。取50 μL DS，首先用200 mL去离子水稀释，再通过0.45 μm GMF膜针式过滤器过滤，并用去离子水按不同比例的（0.95:1、1:10、1:100，按体积计）进一步稀释后进行分析。

方法条件

液相色谱条件

液相色谱系统：	ACQUITY Premier系统
质谱系统：	Xevo TQ-S micro质谱系统
运行时间：	9.0 min
色谱柱：	ACQUITY Premier BEH C ₁₈ , 1.7 μm , 2.1 \times 100 mm（部件号186009453）
样品瓶：	LCMS认证棕色玻璃最大回收样品瓶（部件号600000755CV）
温度：	40 $^{\circ}\text{C}$
流动相：	A: 20 mM甲酸铵水溶液(pH 5.0) B: 甲醇
流速：	0.35 mL/min

进样体积:

2 μ L

梯度程序

时间 (min)	流速 (mL/min)	A%	B%
初始	0.35	99	1
0.5	0.35	99	1
2.5	0.35	92	8
5	0.35	10	90
6	0.35	10	90
6.1	0.35	99	1
9	0.35	99	1

质谱条件

极性:

ES+

毛细管电压:

1.4 kV

锥孔电压:

70V

离子源温度:

150 °C

脱溶剂气温度:

350 °C

锥孔气流速:

350 L/h

脱溶剂气流速:

650 L/h

MRM参数 (定量通道以粗体显示)

化合物	分子离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
CN B ₁₂	678.3	147.1	85	35
CN B ₁₂	678.3	359.1	85	35
Me B ₁₂	673.7	147.1	10	45
Me B ₁₂	673.7	359.2	10	25
Aden B ₁₂	791.1	359.2	50	28
Aden B ₁₂	791.1	486.6	50	33
核黄素	377.2	243.2	90	20
核黄素	377.2	172	90	20
硫胺素	265.1	122	35	13
硫胺素	265.1	144	35	13
TPP	425.2	122.1	20	23
TPP	425.2	303.8	20	15
生物素	245.1	227.1	50	13
生物素	245.1	97	50	13
泛酸	220.2	90.1	50	18
烟酸	170.1	134	50	21
烟酸	170.1	152.2	50	21
烟酰胺	124.1	78	75	18
烟酰胺	124.1	80	75	18
烟酰胺	123.1	80	70	18
烟酰胺	123.1	78.1	70	18
NAD	664.4	428.2	70	45
NAD	664.4	542.4	70	23
叶酸	442.2	176.2	70	40
叶酸	442.2	295.2	70	15
FMN	457.2	359.2	70	25
FMN	457.2	439.3	70	25
PLP	248.1	150	50	25
PLP	248.1	168.1	50	25
吡哆醛	168	150.1	10	14
吡哆醛	168	93.9	10	25
吡哆胺	169.1	152.1	20	15
吡哆胺	169.1	134	20	25
5MTHF	460.2	313.2	70	18
5MTHF	460.2	194.2	70	33
¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₂ -核黄素	383	249	20	20
¹³ C ₄ -硫胺素	269.1	122	35	13
¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₂ -泛酸钙	224.2	94.1	50	18
² H ₂ -吡哆醇	172.1	136	50	21
² H ₄ -烟酸	128.1	84	75	18
¹³ C ₆ , ¹⁵ N-叶酸	448.2	295.2	70	15

结果与讨论

本研究利用AOAC官方方法2015.14中规定的LC-MS/MS条件同时测定婴儿配方奶粉及相关营养制品⁸中维生素

B₁、B₂、B₃和B₆的总量，并对这些条件进行了两处细微调整。将流动相A的pH值调整为pH 5.0，以确保结果一致。针对Xevo TQ-S micro MS系统优化了18种维生素（包括额外的B₅、B₇、B₉和B₁₂）的MRM通道和MS检测参数。

MaxPeak HPS对B族维生素分析的影响

本研究使用了两种液相色谱系统设置，就MaxPeak HPS对B族维生素分析的影响开展对比研究。其中一种由ACQUITY Premier系统和ACQUITY Premier BEH C₁₈ (1.7 μm, 2.1 × 100 mm)色谱柱组成（称为HPS设置），另一种由ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统和ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (1.7 μm, 2.1 × 100 mm)色谱柱组成（称为SOP设置）。除HPS设置采用MaxPeak HPS而SOP设置采用常规不锈钢表面外，这两套液相色谱系统完全相同。这两套系统使用了同一套Xevo TQ-S micro质谱系统，旨在尽量减少对比研究中的仪器变量。

使用MaxPeak HPS提高响应

使用HPS设置观察到18种维生素中大多数的峰强度和峰面积都有所提升。图2展示了采用两种液相色谱设置将混标溶液（浓度为1 μg/mL）重复进样7次所得到的峰面积比较图。收集数据时的系统和色谱柱处于全新状态，即从未在系统中进样分析任何B族维生素。可以看出，与SOP设置相比，HPS设置使所有18种维生素获得相同或更大的峰面积。图3A展示了采用两种液相色谱设置首次进样同一混标溶液所获得的FMN、硫胺素、PLP和泛酸的比较色谱图。这些化合物在HPS设置中的峰强度明显更高。重复进样B族维生素后，LC-MS/MS响应表现出的这一巨大差异有所减小（因为表面，尤其是不锈钢表面，因不断接触分析物而被老化），但在LC-MS系统长期使用后仍然很明显（见图3B）。图3B展示了这两种液相色谱设置分析DS样品中B族维生素所得到的比较色谱图。采集图3B所示的色谱图时，两种液相色谱系统均已经进行了一百多次进样。在HPS与SOP设置之间观察到这些B族维生素的峰强度差异很小，但峰高差异仍然很明显。此外，在SOP设置中仍观察到硫胺发生严重的峰拖尾（图3B）。



图2.采用HPS设置与SOP设置分析B族维生素及其同效维生素获得的LC-MS/MS峰面积比较。并绘制由不锈钢表面（SOP，蓝色数据条）与MaxPeak HPS（HPS，橙色数据条）获得的结果。

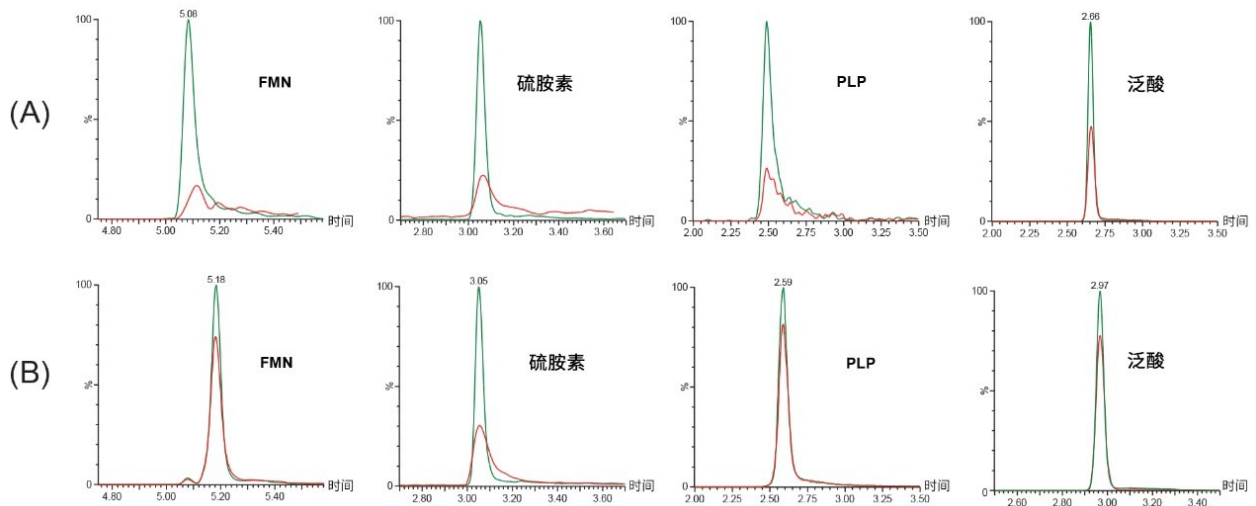


图3.采用HPS设置（绿色迹线）与SOP设置（红色迹线）获得的FMN、硫胺素、PLP和泛酸的LC-MS色谱图比较。(A)在全新液相色谱系统上首次进样同一混标所观察到的结果。(B)在长期使用后的液相色谱系统上分析同一DS样品中的B族维生素所观察到的结果。

使用MaxPeak HPS提高灵敏度

在B族维生素的LC-MS/MS分析中，采用HPS设置所获得的灵敏度也高于SOP设置。使用信噪比(S/N)为10的工作混标溶液估算定量限(LOQ)。表1列出了使用两种液相色谱系统设置同时分析ED和DS样品中B族维生素所获得的LOQ值和校准结果。采用HPS设置所获得的LOQ与采用SOP设置所获得的LOQ相同或更出色，HPS设置中

六种B族维生素的LOQ改善至3-10倍，此外还观察到更出色的校准线性(R^2) (表1)。

维生素	LOQ (ng/mL)	范围 (ng/mL)	R^2	LOQ (ng/mL)	范围 (ng/mL)	R^2	多项式拟合的阶数	内标
	HPS			SOP				
氰钴胺	10	10-3,000	0.99	10	10-3,000	0.97	1st	无
甲钴胺	10	10-10,000	0.995	10	10-10,000	0.99	1st	无
核黄素	3	3-10,000	0.9993	10	10-10,000	0.998	1st	$^{13}C_4^{16}N_2$ -核黄素
硫胺素	3	3-1,000	0.9991	10	10-1,000	0.99	1st	$^{13}C_4$ -硫胺素
生物素	3	3-3,000	0.9991	3	3-3,000	0.99	1st	无
泛酸	10	10-10,000	0.99	10	10-10,000	0.99	1st	$^{13}C_3^{15}N$ -泛酸
吡哆醇	1	1-1,000	0.998	1	1-1,000	0.998	1st	2H_2 -吡哆醇
烟酸	30	30-10,000	0.993	30	30-10,000	0.99	2nd	2H_4 -烟酸
烟酰胺	10	10-3,000	0.997	30	30-10,000	0.99	2nd	2H_4 -烟酸
叶酸	100	100-10,000	0.99	100	100-10,000	0.93	1st	$^{13}C_6^{15}N$ -叶酸
FMN	100	100-100,000	0.995	300	300-30,000	0.95	1st	无
PLP	100	100-30,000	0.991	300	300-3,000	0.96	2nd	2H_2 -吡哆醇
吡哆醛	3	3-300	0.9993	3	3-300	0.99	2nd	2H_2 -吡哆醇
5-M-THF	10	10-10,000	0.9991	100	100-3,000	0.98	1st	无

表1.两种液相色谱系统设置分析B族维生素得到的LOQ和校准结果

使用MaxPeak HPS时无残留

图4展示了在残留研究中使用HPS与SOP系统设置分析B族维生素获得的LC-MS/MS比较色谱图。采用SOP系统设置时，在空白进样中发现核黄素、吡哆醛、5MTHF和MeB₁₂的残留峰，而采用HPS系统设置时未见残留峰。

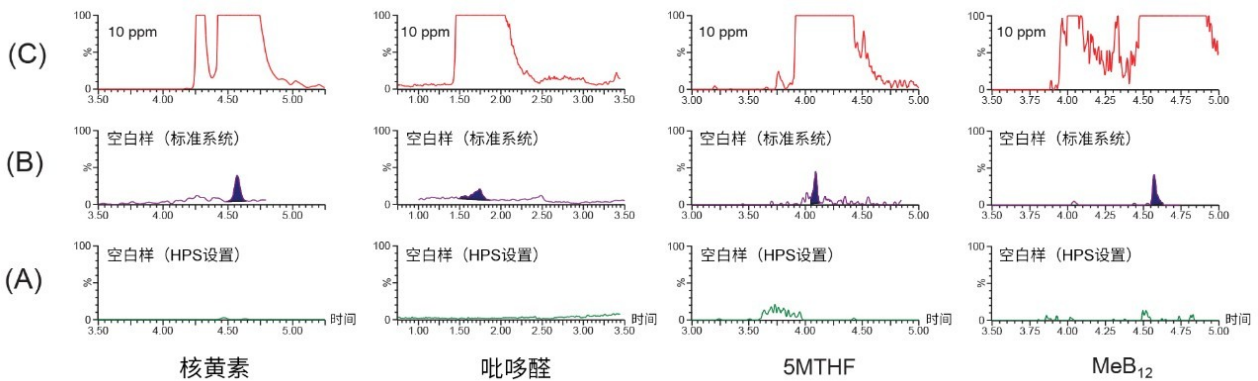


图4.采用两种设置进样分析10 ppm核黄素、吡哆醇、5-甲基-THF和甲钴胺标准溶液后(C)，立即执行空白进样在HPS设置(A)与SOP设置(B)中获得的LC-MS色谱图比较。采用SOP系统设置时(B)，观察到这四种维生素出现较小的残留峰，含量为10 ppm峰(C)的0.03~0.1%。采用HPS系统未观察到残留峰(A)。

能量饮料和膳食补充剂样品的分析

将HPS设置与Xevo TQ-S micro质谱系统联用，分析ED和维生素B复合DS中的B族维生素。图5和6分别展示了ED和DS中B族维生素的色谱图。这些样品中并未包含所有18种B族维生素，仅分析了样品中存在的B族维生素。

功能饮料

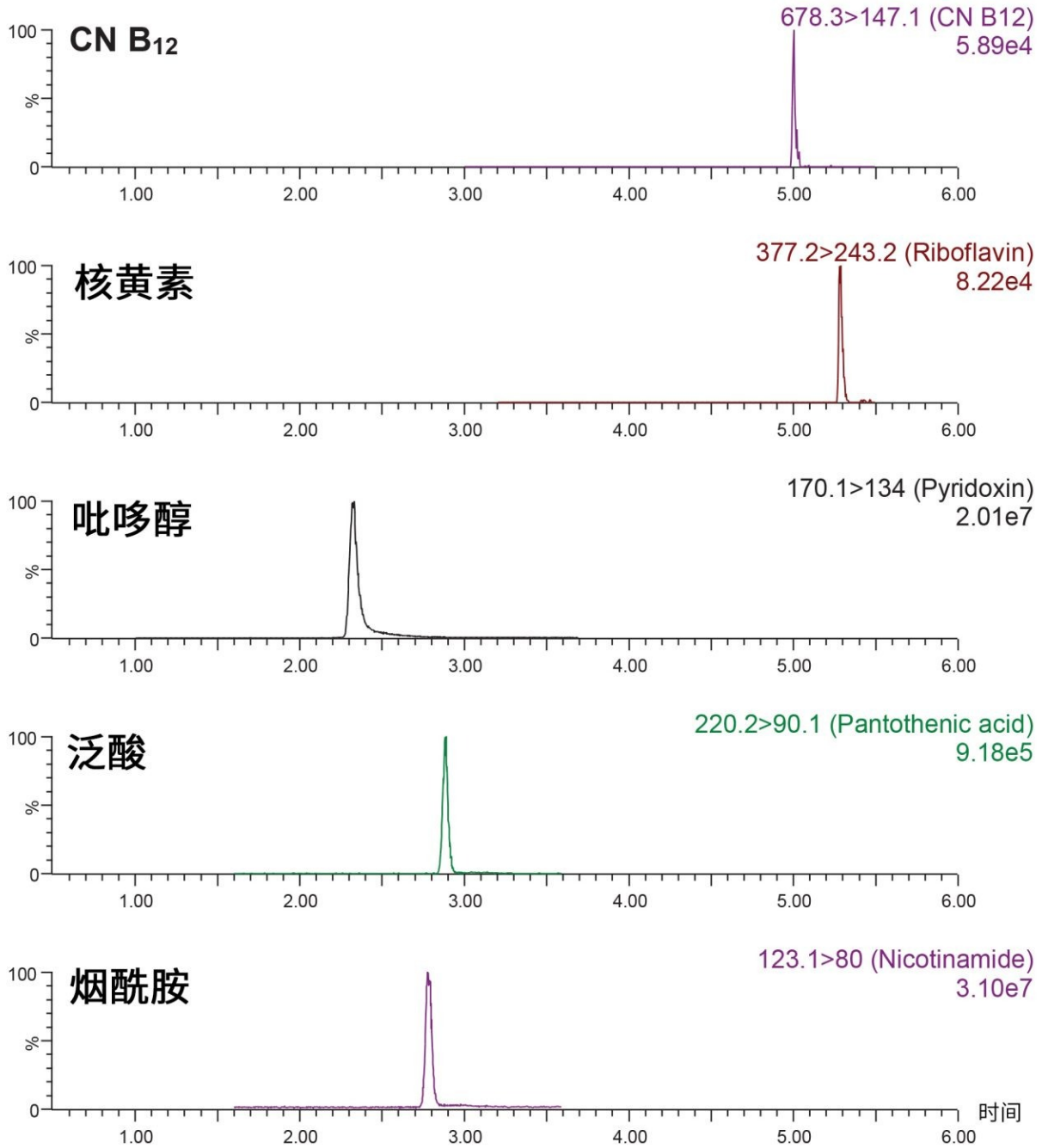


图5.能量饮料样品中B族维生素的色谱图

膳食补充剂

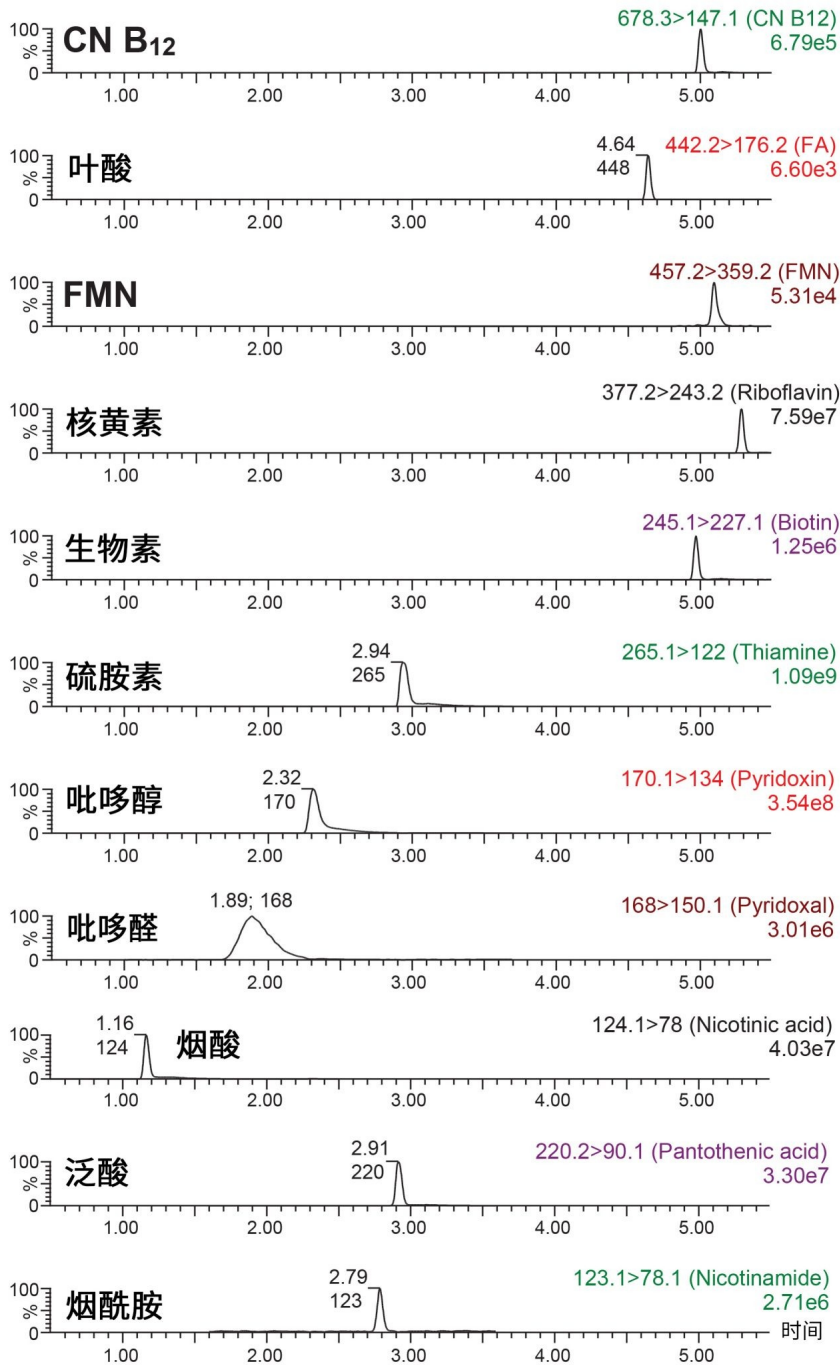


图6.维生素B复合膳食补充剂样品中B族维生素的色谱图

表2列出了ED样品中B族维生素的分析结果以及标示或标明值。对ED1样品进行加标实验来评估LC-MS/MS分析的准确度。这些B族维生素的回收率为91%~107%。与标示值相比，ED1和ED2中B族维生素的测定值为标示值的90%~124%，ED3中B族维生素的测定值为标示值的138%~180%。食品中通常会使用过量

25~50%的强化营养素，ED3中相对较高的B族维生素含量表明在该产品中严重过量。大多数B族维生素的分析重现性低于7% RSD，但ED2中氰钴胺以及一次烟酰胺测定结果除外，它们的RSD分别高达17%和11%。氰钴胺的高RSD可以用ED1和ED3中氰钴胺的浓度极低（接近LOQ）来解释。表3列出了维生素B复合DS的分析和加标实验结果，12种维生素均获得了优异的回收率(78%~122%)。这些B族维生素的重复性总体上处于7% RSD以内。

样品		氰钴胺(B ₁₂) (µg/份)	核黄素(B ₂) (µg/份)	泛酸(B ₅) (µg/份)	吡哆醇(B ₆) (µg/份)	烟酰胺(B ₃) (µg/份)
ED1	标示值	2.88	—	3.5	5.96	22.4
	实测含量	3.59	0.23	4.97	7.03	23.54
	RSD (%) (n=4)	10%*	7%	1%	3%	3%
	实测含量/标示值	124%	—	142%	118%	105%
	加标量	2.14	0.18	15.66	1.49	20.84
	回收率(%)	96%	103%	95%	107%	91%
ED2	标示值	12	3.38	—	4.08	40
	实测含量	10.8	3.89	—	4.43	43.3
	RSD (%) (n=3)	1%	3%	—	3%	11%
	实测含量/标示值	90%	115%	—	109%	108%
ED3	标示值	2.4	1.3	5	1.7	16
	实测含量	3.78	1.79	8.99	2.74	22.75
	RSD (%) (n=3)	17.4%*	5%	4%	7%	5%
	实测含量/标示值	158%	138%	180%	161%	142%

注：*B₁₂含量较低，约为LOQ的3倍。

表2.能量饮料的分析和加标回收率结果

样品	DS						
	标示值	实测含量 (平均值)	RSD (%) (n=3)	加标量	实测含量 (加标后)	RSD (%) (n=3)	回收率 (%)
氰钴胺(B ₁₂) (µg/份)	1000	2124	7.00%	378	2453	6.90%	87%
甲钴胺(B ₁₂) (µg/份)	0	0	—	347	270	13%	78%
叶酸(B ₉) (µg/份)	0	0	—	355	323	0.40%	91%
5MTHF (B ₉) (µg/份)	0	0	—	400	374	1.40%	94%
FMN (B ₂) (µg/份)	1.7	2.86	10%	0.8	3.73	4.30%	107%
PLP (B ₆) (µg/份)	0	0	—	44	54	3.10%	122%
核黄素(B ₂) (µg/份)	0	0.159	9.50%	0.43	0.57	1.30%	95%
硫胺素(B ₁) (µg/份)	0	0	—	31	29	5.80%	92%
生物素(B ₇) (µg/份)	0	0	—	441	448	5.20%	102%
泛酸(B ₅) (µg/份)	30*	0	—	36	44	6.80%	120%
吡哆醇(B ₆) (µg/份)	2	2.53	4.20%	4.03	7.09	2.10%	113%
烟酰胺(B ₃) (µg/份)	20	25	1.00%	—	—	—	—
烟酸(B ₃) (µg/份)	0	0	—	40	39	4.40%	98%

注：*B₅表示D-泛醇。

表3.维生素B复合膳食补充剂的分析和加标回收率结果

结论

本应用纪要考察了MaxPeak HPS对18种B族维生素LC-MS/MS分析的影响，并展示了在B族维生素分析中使用MaxPeak HPS相比于常规不锈钢表面的持久优势。在B族维生素的LC-MS/MS分析中发现的主要优势包括响应值更高、峰拖尾减小、灵敏度更高、校准线性更出色和残留更少。这些优势在仪器的初始使用阶段非常显著。在液相色谱系统和色谱柱经过长期使用后，MaxPeak HPS与常规不锈钢表面之间的差异开始不明显，但是在市售ED和维生素B复合DS的B族维生素分析中仍然很明显。使用ED和DS样品进行方法验证，结果表现出优异的准确度和重复性。在B族维生素的分析中，Waters ACQUITY Premier解决方案与常规液相色谱解决方案相比，在灵敏度、准确度和精密度方面具有明显优势。

参考资料

1. Wakamatsu, A.; Morimoto, K.; Shimizu, M.; Kudoh, S. A Severe Peak Tailing of Phosphate Compounds Caused by Interaction with Stainless Steel Used for Liquid Chromatography and Electrospray Mass Spectrometry. *J. Sep. Sci.* 2005, 28, 1823–1830.
2. Asakawa, Y.; Tokida, N.; Ozawa, C.; Ishiba, M.; Tagaya, O.; Asakawa, N. Suppression Effects of Carbonate on the Interaction between Stainless Steel and Phosphate Groups of Phosphate Compounds in High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2008, 1198–1199, 80–86.
3. Lauber, M.; Walter, T. H.; DeLano, M.; Gilar, M.; Boissel, C.; Smith, K.; Birdsall, R.; Rainville, P.; Belanger, J.; Wyndham, K. Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper, [720006930EN](#) <
<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135074404&lcid=135074403>> 2020.
4. Birdsall, R. E.; Kellet J.; Ippoliti, S.; Ranbaduge, N.; Shion, H.; Yu, Y. Q. 采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier可提高RPLC-MS方法分析酸性肽的色谱性能. 沃特世应用纪要, [720007003ZH](#) <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/increasing-chromatographic-performance-of-acidic-peptides-in-rplc-ms-based-assays-with-acquity-premier-featuring-maxpeak-hps-technology.html>> , 2020.
5. Boissel, C.; Walter, T. H. 使用ACQUITY Premier色谱柱改善峰形并扩大选择性范围. 沃特世应用纪要, [720007014ZH](#) <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application->

[notes/2020/improved-peak-shape-and-wide-selectivity-range-with-acquity-premier-columns.html](#)> , 2020.

6. Smith, K. M.和Rainville, P. 利用MaxPeak高性能表面提高三羧酸循环相关分析物的分离效果和回收率.沃特世应用纪要, 720006727ZH <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/tca-cycle-analytes-by-mixed-mode-chromatography-mass-spectrometry.html>> , 2020.
7. Brennan, K.; Lame, M. L.; Donegan, M.; Rainville, P. D. 使用MaxPeak高性能表面技术改善寡核苷酸的SPE-LC-MS分析性能.沃特世应用纪要, 720007019ZH <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/improved-oligonucleotide-spe-lc-ms-analysis-using-maxpeak-high-performance-technology.html>> , 2020.
8. Official Methods of Analysis (2019) 21st Ed., AOAC INTERNATIONAL, Rockville, MD, Method 2015.14. www.eoma.aoc.org <<http://www.eoma.aoc.org>> [accessed on June 19, 2020].

特色产品

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

ACQUITY Premier解决方案 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135071970>>

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

720007264ZH, 2021年5月