

基于杂化颗粒的新型混合模式反相/阴离子交换固定相

Thomas H. Walter, Bonnie A. Alden, Cheryl Boissel, Jessica Field, Nicole Lawrence, Donna Osterman, Amit Patel

Waters Corporation

摘要

本应用纪要重点介绍了新型混合模式RP/AX固定相的特性，该固定相具有与传统反相固定相截然不同的选择性。

优势

- 改善极性酸性分析物在反相色谱中的保留
 - 色谱选择性与传统反相色谱柱互为补充
 - 优异的固定相批次间重现性
 - 在宽pH范围(2-10)内保持稳定，有助于提高方法灵活性
 - 流动相含有甲酸，为碱性分析物提供优异的峰形
-

简介

虽然当前可用的反相(RP)色谱柱种类繁多,但设计用于保留和分离极性酸性分析物的反相(RP)色谱柱相对较少。广泛使用的硅胶基质RP填料通常同时表现出反相和阳离子交换行为,后者来自离子化硅醇¹。离子化硅醇的存在会使表面产生负电荷,从而排斥带负电荷的分析物,例如离子化酸。保留离子化酸的一种策略是在流动相中使用离子对试剂²。这种方法存在若干缺点,包括平衡时间长和背景水平高。另一种策略是对分析物进行衍生化以形成疏水性更强的中性物质³。这种方法的缺点是样品制备时间较长,并且可能会增加定量测量的差异性。为克服这两种策略的局限性,研究人员开发出混合模式RP/阴离子交换(AX)色谱柱,其中采用的固定相同时包含疏水性和AX功能⁴。但是,许多混合模式RP/AX色谱柱的批次间重现性不佳且适用的pH范围有限。为克服这些问题,我们开发出一种采用有机/无机杂化颗粒的新型固定相,可提供优异的批次间重现性,并且能够在宽泛的pH范围内保持稳定。本应用纪要介绍了新型Atlantis BEH C₁₈ AX固定相的色谱选择性。该材料填充在新型MaxPeak高性能表面色谱柱硬件中,旨在通过大幅减少分析物与不锈钢表面的相互作用而减少损失,从而提高分析物的回收率。此类填充柱被命名为Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱。

实验

极性混合物分离

样品包含5 µg/mL硫脲、12.5 µg/mL 5-氟尿嘧啶、25 µg/mL烟酰胺、37.5 µg/mL 5'-单磷酸腺苷、37.5 µg/mL普鲁卡因胺和125 µg/mL间苯二酚,溶于10 mM甲酸铵水溶液(pH 3.00)中。连续进行四次分离,利用最后三次进样所得到的保留时间计算保留因子。以乙腈作为流动相,使用硫脲测量死体积时间(t_0)。

仪器: 配备PDA检测器的ACQUITY
UPLC I-Class系统

数据管理: Empower 3 CDS

LC方法条件

色谱柱大小: 2.1 × 50 mm

柱温: 30 °C

进样体积:	1.5 μ L
流速:	0.2 mL/min
流动相:	10 mM甲酸铵, pH 3.00 (水溶液)
UV检测波长:	254 nm

宽极性范围的混合物分离

用15.4 mM甲酸铵水溶液(pH 3.00)制备包含5 μ g/mL硫脲、50 μ g/mL间苯二酚、10 μ g/mL咖啡因、5 μ g/mL 2-硝基苯甲酸、100 μ g/mL美托洛尔、10 μ g/mL 2-硝基苯甲醇、2 μ g/mL罂粟碱、125 μ g/mL 2-氯苯甲酸、20 μ g/mL普奈洛尔、25 μ g/mL 4-硝基苯酚、10 μ g/mL小檗碱、25 μ g/mL 3-硝基苯酚、100 μ g/mL 2-氯酚、25 μ g/mL 2-硝基苯酚、10 μ g/mL阿米替林、500 μ g/mL氟西汀、25 μ g/mL邻苯二甲酸二乙酯、100 μ g/mL非诺洛芬和25 μ g/mL邻苯二甲酸二丙酯的样品。连续进行三次分离,使用平均保留时间计算梯度保留因子。利用硫脲作为死体积时间(t_0)标志物,以100%乙腈作为流动相。

仪器:	配备PDA检测器的ACQUITY UPLC系统
数据管理:	Empower 3 CDS

LC方法条件

色谱柱大小:	2.1 \times 50 mm
柱温:	30 $^{\circ}$ C
进样体积:	5 μ L
流速:	0.5 mL/min

流动相A:	15.4 mM甲酸铵, pH 3.00 (水溶液)
流动相B:	乙腈
梯度:	流动相B在5.3 min内从5%增加到95% (线性)
UV检测波长:	254 nm

停止并重新开始液流后的保留损失

样品包含10 µg/mL硫脲和12 µg/mL胸腺嘧啶, 溶于10 mM甲酸铵水溶液(pH 3.00)中。仪器和分离条件与极性混合物分离相同。将极性混合物分离四次后, 停止液流10 min。然后以0.2 mL/min重新开始液流。0.6 min后, 将硫脲/胸腺嘧啶样品进样两次。使用胸腺嘧啶的平均保留时间以及先前使用硫脲并以乙腈作为流动相所获得的 t_0 测量值计算胸腺嘧啶的保留因子。

在pH 10下的稳定性研究

酸、碱和中性混合物分离

样品包含10 µg/mL硫脲、100 µg/mL 5'-单磷酸鸟苷、100 µg/mL间苯二酚和100 µg/mL烟酰胺的水溶液。

仪器:	配备PDA检测器的ACQUITY UPLC H-Class系统
-----	------------------------------------

数据管理:	Empower 3 CDS
-------	---------------

LC方法条件

色谱柱大小:	2.1 × 50 mm
--------	-------------

柱温:	30 °C
-----	-------

进样体积:	2.0 μ L
流速:	0.2 mL/min
流动相:	(95/5 v/v) 10 mM碳酸氢铵水溶液(pH 10.08)/甲醇
UV检测波长:	254 nm

碱性分析物混合物分离

样品包含200 μ g/mL酒石酸美托洛尔、10 μ g/mL罂粟碱和50 μ g/mL阿米替林的甲醇/水(1/5 v/v)溶液。连续进行三次分离，并确定各种分析物在13.4%峰高处的平均峰宽。

仪器:	配备TUV检测器的ACQUITY UPLC系统
数据管理:	Empower 3 CDS

LC方法条件

色谱柱大小:	2.1 \times 50 mm
柱温:	30 $^{\circ}$ C
进样体积:	2 μ L
流速:	0.4 mL/min
流动相A:	0.1%甲酸 (水溶液)
流动相B:	乙腈

梯度：流动相B在7.37 min内从15%增加到95%（线性）

UV检测波长：260 nm

结果与讨论

Atlantis BEH C₁₈ AX的理化特性

Atlantis BEH C₁₈ AX固定相的特性汇总于表1中，并与BEH C₁₈、CSH C₁₈和HSS T3的特性进行了比较。Atlantis BEH C₁₈ AX固定相基于95 Å亚乙基桥杂化(BEH)颗粒，其孔径小于BEH和CSH固定相中所用的130 Å颗粒。孔径较小的颗粒具有增加50%的表面积，因此保留性能更出色。中性物质采用Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱得到的保留因子与采用HSS T3色谱柱得到的保留因子非常相似。Atlantis BEH C₁₈ AX固定相不仅含有C₁₈基团，还含有叔烷基胺基团，在低于约pH 8的条件下形成携带正电荷的表面。与Atlantis BEH C₁₈ AX一样，CSH C₁₈也同时具有C₁₈和阴离子交换基团。但是，CSH C₁₈的阴离子交换基团包含吡啶部分，因此仅在低于约pH 5的条件下携带正电荷。Atlantis BEH C₁₈ AX经过封端，可降低残留硅醇的浓度并改善固定相的碱稳定性。

固定相	颗粒性质				键合相性质		
	材料	孔径 (Å)	孔体积 (cm ³ /g)	表面积 (m ² /g)	C ₁₈ 表面浓度 (μmol/m ²)	是否封端	是否使用电荷改性剂
Atlantis BEH C ₁₈ AX	BEH	95	0.7	270	1.6	是	烷基胺
CSH C ₁₈	BEH	130	0.7	185	2.3	是	吡啶基
BEH C ₁₈	BEH	130	0.7	185	3.1	是	无
HSS T3	硅胶	100	0.7	230	1.6	是	无

表1.四种固定相的理化特性比较

兼容100%的水性流动相

为使强极性分析物在RP分离中获得充分保留，通常需要采用高比例水性流动相。由于液流停止和重新开始时会发生保留损失，因此并非所有RP色谱柱都与这些流动相兼容^{5,6}。高覆盖率C₁₈和C₈键合相的颗粒平均孔径小于约100

Å，因此特别容易出现这一现象，保留损失接近100%。Atlantis BEH C₁₈ AX将中等C₁₈表面浓度(1.6 μmol/m²)与AX基团结合使用，能够与高比例水性流动相兼容。对于Atlantis Premier BEH C₁₈ AX, 1.7 μm, 2.1 × 50 mm色谱柱，在停止并重新开始100%水性流动相（在30 °C下）液流的实验中，发现胸腺嘧啶的保留仅降低了3.7%。这一结果低于在HSS T3中观察到的保留损失（约10%）。

保留性和选择性

Atlantis BEH C₁₈ AX固定相在低于约pH 8的条件下携带正表面电荷。相对于常规的反相材料，该携带正电荷的表面可增加阴离子（如离子化酸）的保留，减少阳离子（如质子化碱）的保留。在图1所示的色谱图中可以明显看出这些差异。本研究使用的样品包含六种极性分析物的混合物，其中一种在pH 3流动相中带负电荷（5'-单磷酸腺苷，AMP），两种带正电荷（烟酰胺和普鲁卡因胺），三种呈中性（硫脲、5-氟尿嘧啶和间苯二酚）。相对于HSS T3和CSH C₁₈色谱柱，Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱对AMP具有最高的保留性。中性化合物在Atlantis Premier BEH C₁₈ AX和HSS T3色谱柱上具有相似的保留性，而CSH C₁₈色谱柱对这些分析物的保留性最低，因为该色谱柱所用的130 Å颗粒的表面积较低。带正电荷的分析物烟酰胺和普鲁卡因胺在HSS T3色谱柱上的保留性最高，在Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱上的保留性最低。

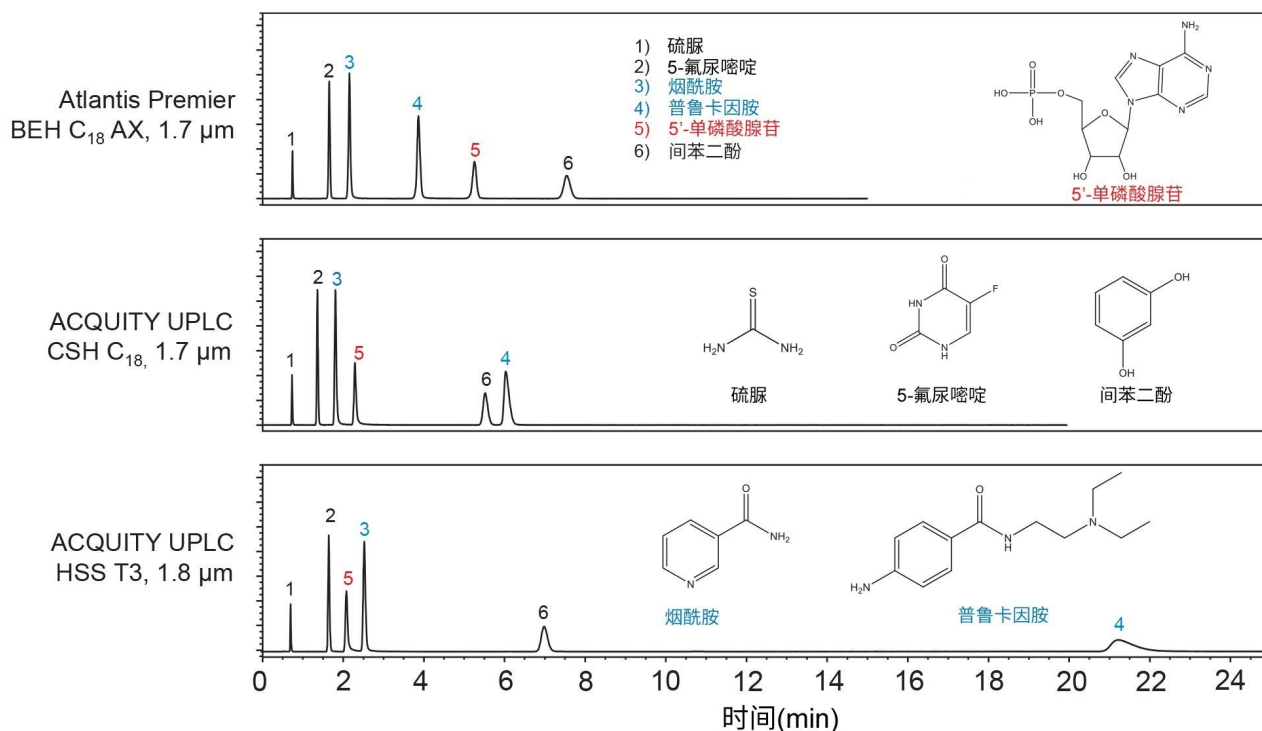


图1.极性分析物混合物的等度分离。蓝色表示在pH 3.00流动相中带正电荷的化合物，红色表示带负电荷的化合物，黑色表示中性化合物。

在更大的分析物组研究中也观察到这些趋势。例如，使用水性流动相（包含pH 3甲酸铵缓冲液）的乙腈梯度，分离一组涵盖各种极性和酸/碱特性的18种化合物。结果见图2，显示为Atlantis BEH C₁₈ AX得到的梯度保留因子(kg)与BEH C₁₈和CSH C₁₈得到的梯度保留因子的关系图。在pH 3的条件下，带负电荷的分析物的数据点显示为红色圆圈，带正电荷的分析物的数据点显示为蓝色菱形，中性分析物的数据点显示为黑色三角形。Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱为带负电荷的化合物提供了最高的梯度保留因子值，为带正电荷的分析物提供了最低的梯度保留因子值。为了量化这些色谱柱之间的选择性差异，按照下式计算s²值：

$$s^2 = 1 - r^2$$

其中r是梯度保留因子关系图的相关系数⁷。相关系数越低，s²值越大，表明色谱柱之间的选择性差异越大。s²值在0~1的范围内。结果表明，Atlantis BEH C₁₈ AX相对于BEH C₁₈的s²值为0.58，且Atlantis BEH C₁₈ AX相对于CSH C₁₈的结果为0.47。这些值较大，比见诸报道的一组其他RP键合相的最大值高出约四倍⁷。Atlantis BEH C₁₈ AX在分离包含离子化分析物的混合物时大大扩展了反相色谱柱的固定相选择性范围。

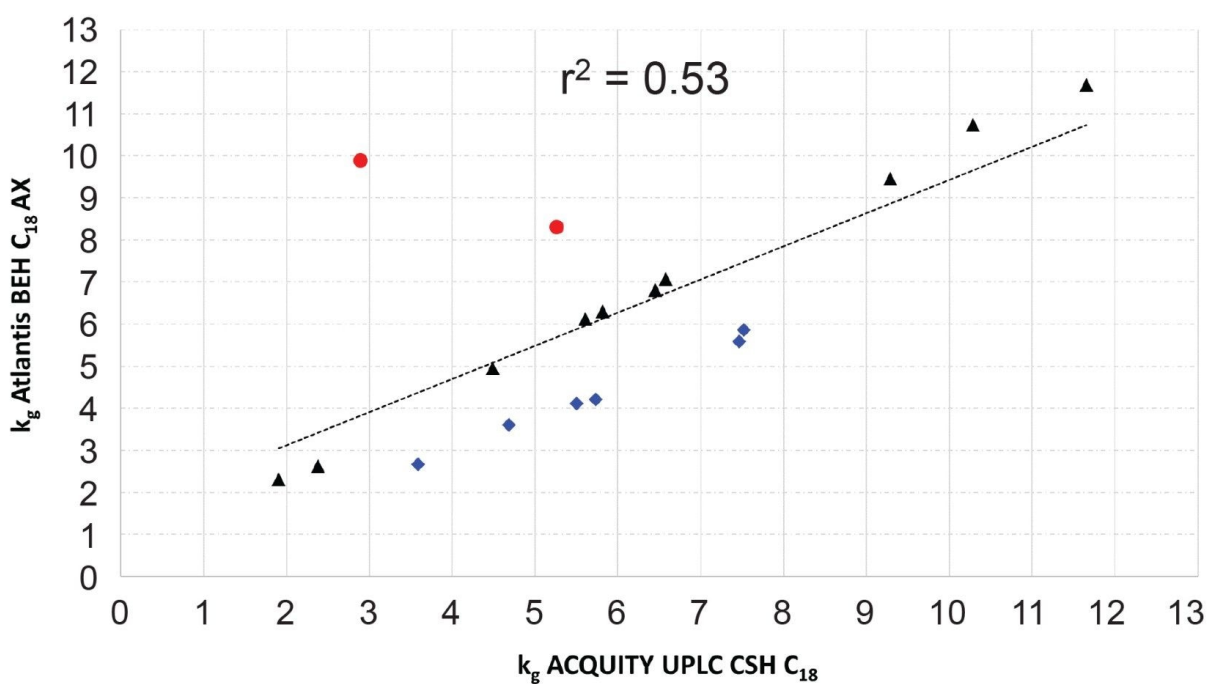
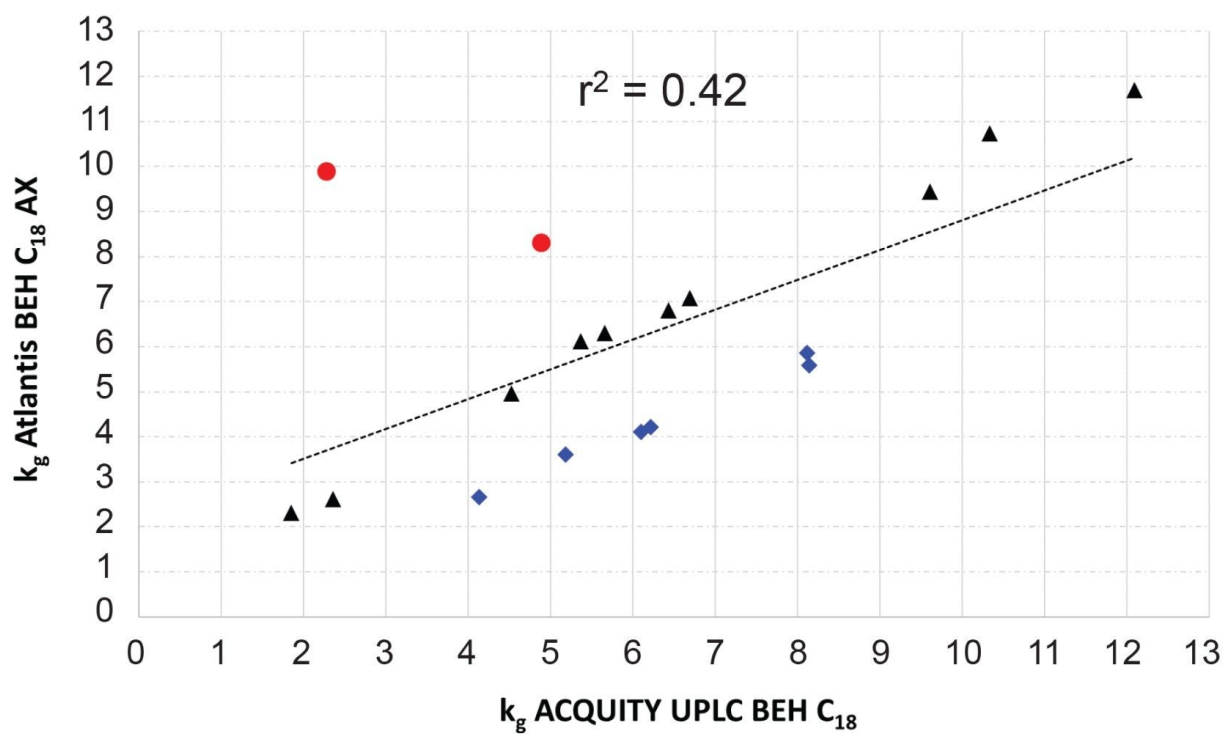


图2. Atlantis BEH C₁₈ AX 相对于 BEH C₁₈ (左图) 以及相对于 CSH C₁₈ (右图) 的梯度保留因子关系。颜色具有与图

1相同的含义。虚线显示最小二乘拟合结果，并提供了相关系数的平方(r^2)。

批次间重现性和粒径可扩展性

关于CSH C₁₈色谱柱⁸，Atlantis BEH C₁₈ AX的表面改性涉及在单独的步骤中纳入电荷改性剂、C₁₈基团和封端。此方法能够有力控制表面填料，获得出色的批次间重现性。使用图1所示的极性混合物分离测试27个不同批次的1.7、2.5和5 μm材料，评估Atlantis BEH C₁₈ AX的色谱重现性。对于相对保留，结果显示相对标准偏差(RSD)在1~3%的范围内（图3），表明其重现性优异，与一些重现性最高的常规C₁₈键合相相媲美⁹。发现采用不同粒径填料所得到的相对保留无统计学显著性差异，因此有利于在填充不同粒径填料的色谱柱之间进行扩展。

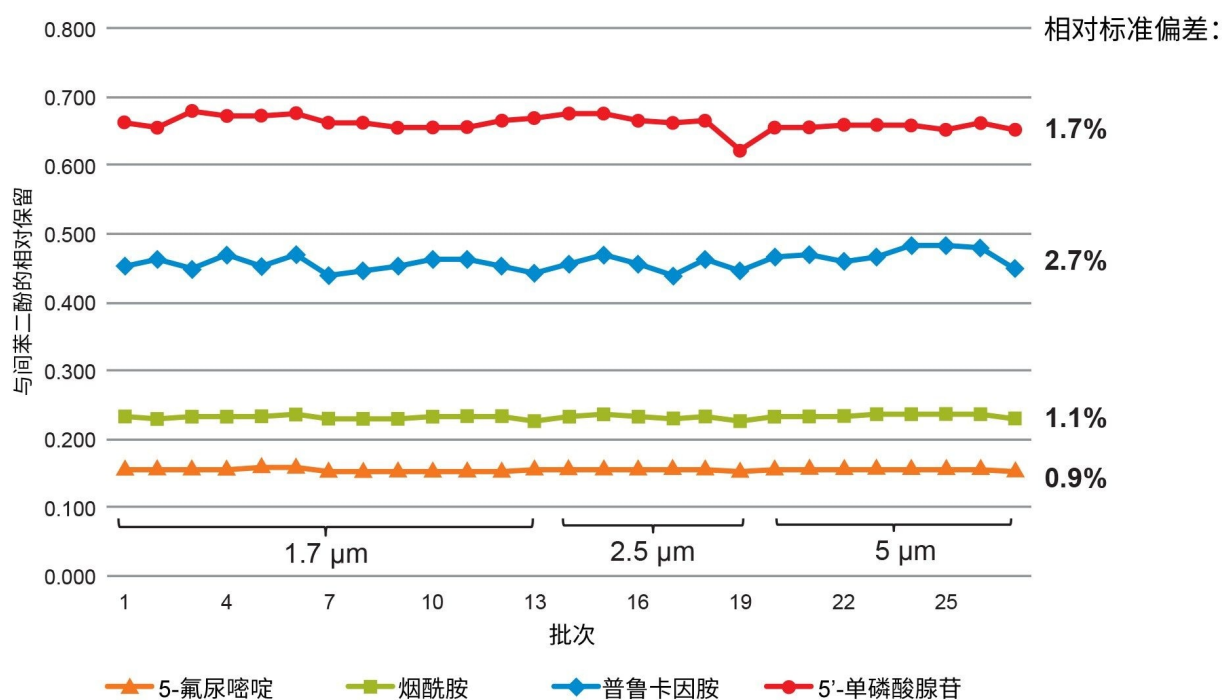


图3.在图1所示的极性混合物分离中，由27批Atlantis BEH C₁₈ AX得到的相对保留的结果。

pH稳定性

Atlantis BEH C₁₈ AX色谱柱将具有碱稳定性的BEH颗粒¹⁰与稳定的键合填料结合，对混合模式固定相的酸性和碱性流动相均表现出优良的耐受性。我们比较了推荐用于Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱的pH范围与表2中两

种主要的混合模式RP/AX色谱柱的pH范围。

固定相	推荐的pH范围
Atlantis BEH C ₁₈ AX	2~10
SiELC Primesep® B	1.5~4.5
Thermo Acclaim™混合模式WAX-1	2.5~7.5

表2.三种混合模式RP/AX固定相的推荐pH范围

最显著的差异在于上限，Atlantis BEH C₁₈ AX推荐用于最高 pH 10的条件下，而基于硅胶颗粒的其他色谱柱的推荐pH上限为4.5或7.5。Atlantis BEH C₁₈ AX的pH范围根据与之前介绍过类似的加速测试结果确定^{10,11}。为验证pH上限，使用pH 10的流动相在30 °C的温度下进行稳定性研究。将三组分样品混合物连续进样340次，每次进样的运行时间为1 h。

发现间苯二酚、5'-单磷酸鸟苷和烟酰胺的保留时间变化分别为+0.1%、-14.5%和-8.5%（图4）。Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱扩展后的高pH稳定性允许使用pH值范围更宽的流动相。对于包含可电离分析物的样品，流动相pH已被证明是调节选择性的最有效的变量¹²。

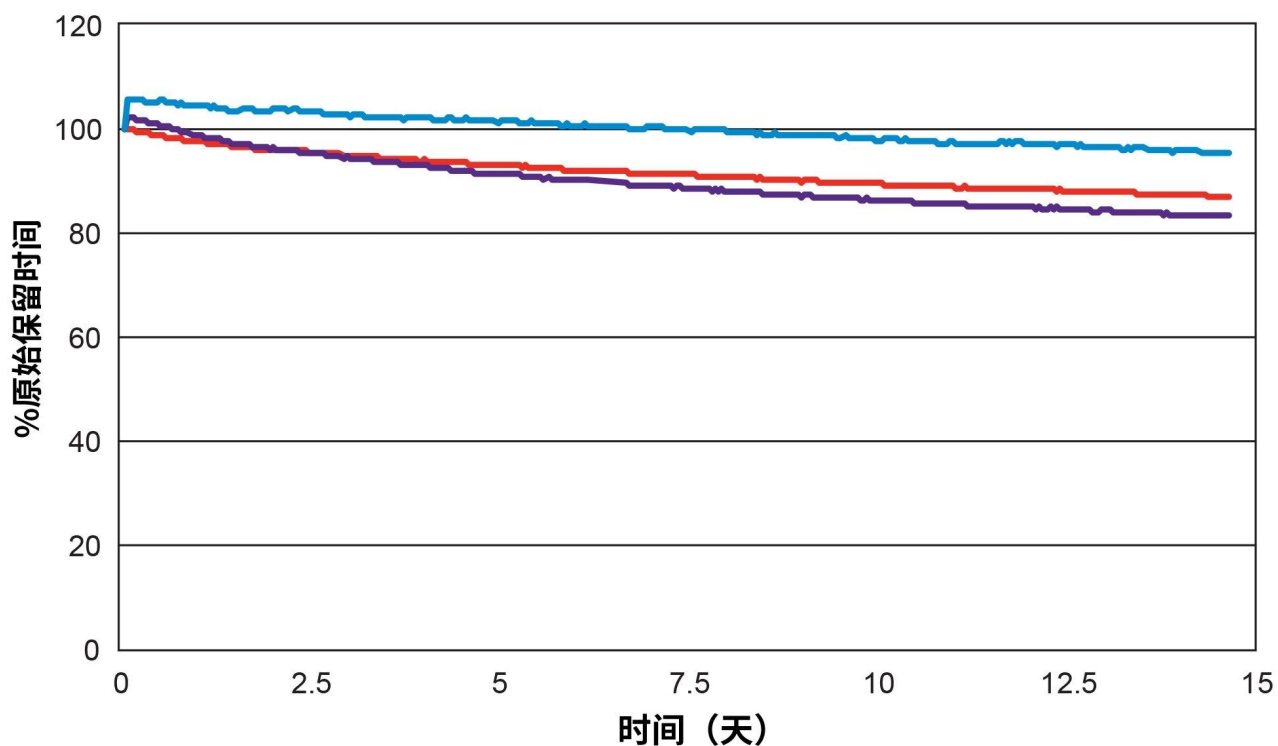


图4.间苯二酚（黑色）、烟酰胺（绿色）和5'-单磷酸鸟苷（红色）在整个pH 10稳定性研究中的原始保留时间百分比图。

流动相pH和缓冲液浓度对保留性和选择性的影响

为考察Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱的保留性对pH的依赖性，使用一系列pH值不同但缓冲液浓度恒定的流动相分离图1所示的混合物。100%水性流动相由甲酸铵制备，并添加不同量的甲酸或氢氧化铵以调节pH。实验结果如图5所示。三种分析物（AMP、烟酰胺和普鲁卡因胺）的保留因子显示出对pH的显著依赖性，而其他两种分析物（5-氟尿嘧啶和间苯二酚）的保留因子仅略有不同。

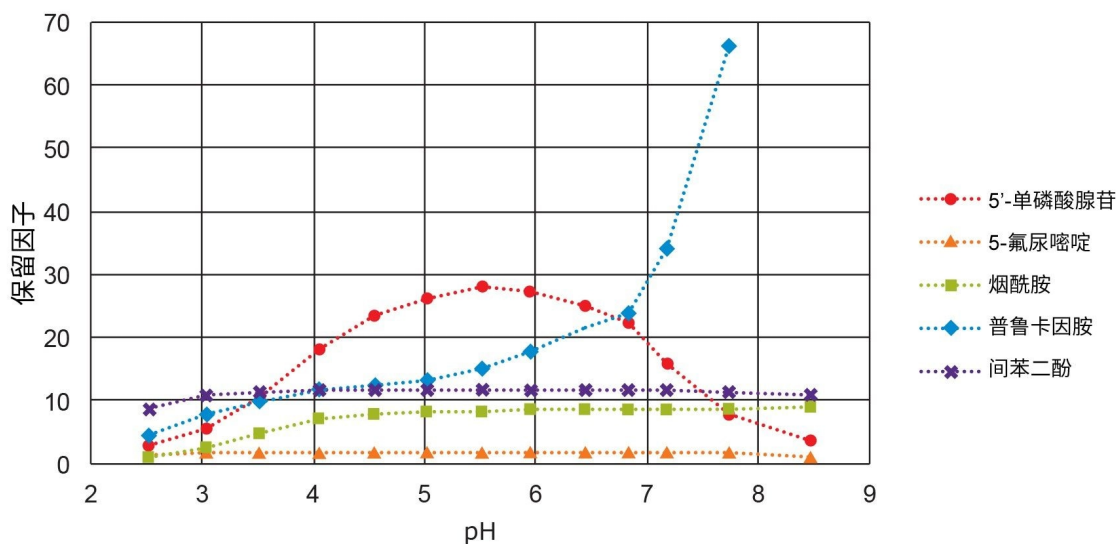


图5.使用Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱时，保留因子与流动相pH的关系。所有缓冲液浓度均为20.0 mM。

烟酰胺($pK_a = 3.4$)和普鲁卡因酰胺($pK_a = 4.6, 9.3$)的行为与RP色谱中的其他碱性化合物相似：保留因子低于 pK_a 值，此时化合物发生质子化；然后增加至高于 pK_a 值，此时化合物处于未质子化状态¹³。质子化形式与未质子化形式之间的保留因子差异很大：烟酰胺的因子为9，普鲁卡因胺的因子为14以上。

在该pH范围内，固定相的表面电荷也会由正转变为中性，这可能会增大保留因子的差异，因为离子排斥导致质子化形式的分析物被部分排除在带正电荷的表面之外。AMP的保留因子表现出对不同pH的依赖性。AMP具有三个可电离基团：两个酸性P-OH基团 ($pK_a = 0.9$ 和 6.2) 和一个碱性腺嘌呤部分($pK_a = 3.8$)。

AMP的离子电荷在约pH 2.5的条件下为0，在pH 7的条件下则变为-2。AMP增加的负电荷解释了它在pH 2.5与5.5之间的条件下保留因子增加的原因；它的保留因子在高于pH 5.5的条件下会降低，这是由于固定相上的正电荷减少所致。

第二个重要的流动相变量是缓冲液的浓度，会显著影响离子交换保留。为考察该变量，使用一系列包含pH 3.00甲酸铵（浓度范围为5~50 mM）的流动相分离相同的极性混合物。实验结果如图6所示。其中两种分析物（AMP和普鲁卡因胺）的保留对缓冲液浓度显示出强烈的依赖性，具有相反趋势。带负电荷的AMP的保留因子随缓冲液浓度的增加而降低，这是由于甲酸根阴离子将AMP从固定相上的AX位点置换出来。相比之下，带正电荷的普鲁卡因胺的保留因子随缓冲液浓度的增加而增加。这可以归因于随着缓冲液浓度的增加，质子化普鲁卡因胺与带正电荷的表面之间的离子排斥作用减弱。

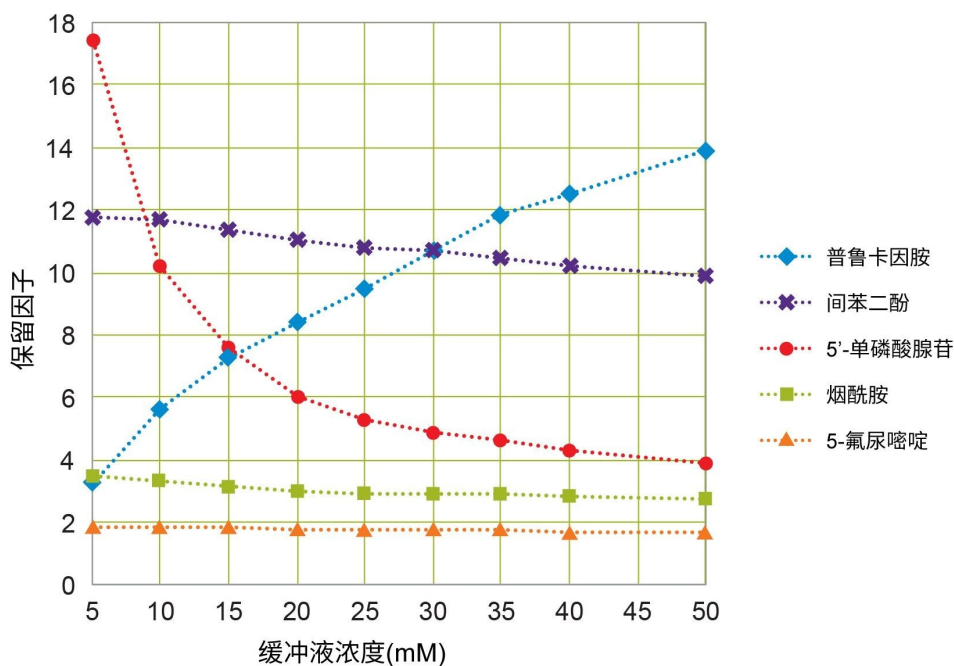


图6.使用Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱时，保留因子与流动相缓冲液浓度的关系。所有流动相的pH均为3.00。

使用0.1%甲酸改善了碱性分析物的峰形

已经证明，当使用低离子强度的流动相（例如包含甲酸的流动相）时，CSH C₁₈色谱柱可以显著改善阳离子分析物（例如质子化碱）的峰锐度和对称性⁸。Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱也表现出这种效应，但程度更高。图7所示为使用乙腈梯度和包含0.1%甲酸的水性流动相在三种不同色谱柱上分离三种碱性分析物所得到的色谱图。结果表明，从BEH C₁₈到CSH C₁₈，再到Atlantis BEH C₁₈ AX，美托洛尔和阿米替林峰变得更窄、更对称。

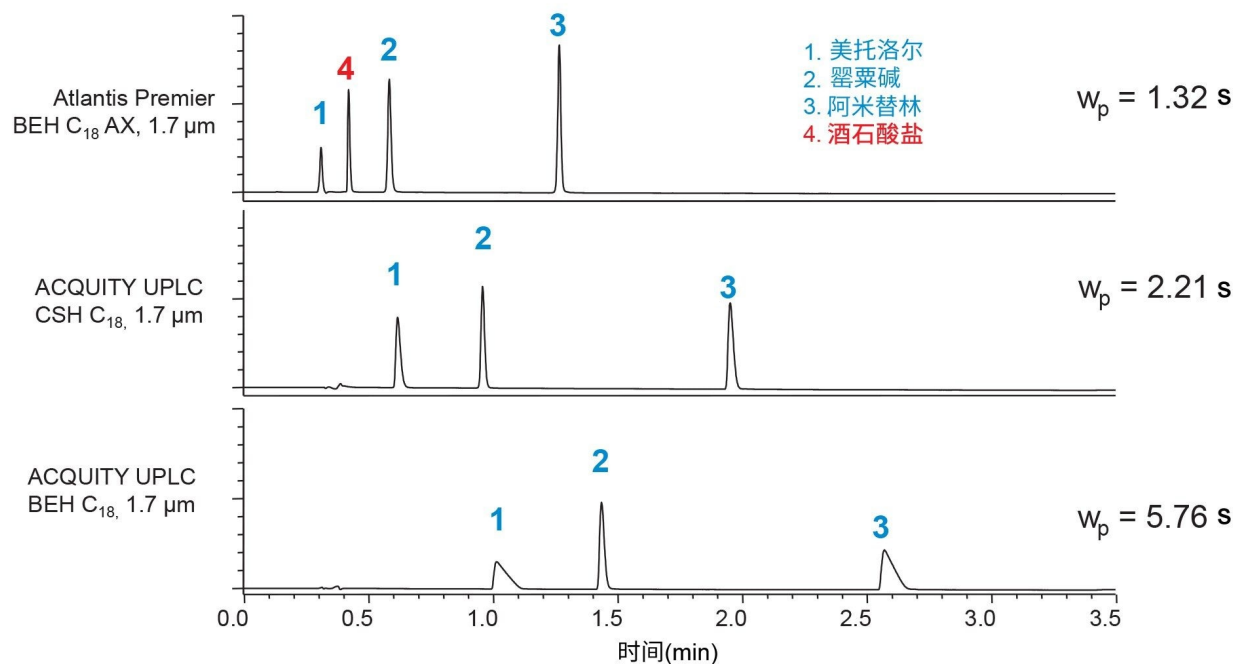


图7.使用包含0.1%甲酸的流动相对三种碱性分析物进行梯度分离。13.4%峰高处的平均峰宽(w_p)根据美托洛尔和阿米替林峰计算得出。

质子化分析物与CSH C₁₈和Atlantis BEH C₁₈ AX固定相表面的离子排斥也导致保留时间缩短。值得注意的是，美托洛尔的酒石酸盐抗衡离子在Atlantis Premier BEH C₁₈色谱柱上得到保留，但在其他两种色谱柱上未保留。为量化Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱所改善的峰锐度，我们测定了美托洛尔和阿米替林峰的平均峰宽。结果显示，从CSH C₁₈转换为Atlantis BEH C₁₈ AX后，平均峰宽减小40%。这一显著改善为使用低离子强度流动相使碱性分析物获得更高分离度的分离提供了可能性。但是，当使用此类流动相时，离子化酸的峰形可能不佳。在使用Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱分析离子化酸性分析物时，建议缓冲液浓度至少为10 mM。

结论

本应用纪要重点介绍了新型混合模式RP/AX固定相的特性，该固定相具有与传统反相固定相截然不同的选择性。与现有的混合模式RP/AX产品相比，Atlantis BEH C₁₈ AX具有优异的批次间重现性和出色的高pH稳定性。与常规RP固定相相比，当使用pH小于约8的流动相时，Atlantis BEH C₁₈ AX显示阴离子（例如离子化酸）保留增加，而阳离子（例如质子化碱）保留减少。通过调节流动相的pH和缓冲液浓度，对可电离分析物的选择性可以在很宽的范

围内变化。当使用低离子强度流动相（例如，包含0.1%甲酸）时，Atlantis BEH C₁₈ AX使质子化碱获得了异常尖锐和对称的峰。这款新型固定相与现有RP固定相互为补充，可用于方法开发过程中的色谱柱筛选。

参考资料

1. Nawrocki, J.; Buszewski, B. Influence of Silica Surface Chemistry and Structure on the Properties, Structure and Coverage of Alkyl-Bonded Phases for High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 1988, 449, 1-24.
2. Bidlingmeyer, B. A.; Deming, S. N.; Price, W. P.; Sachok, B.; Petrussek, M. J. Retention Mechanism for Reversed-Phase Ion-Pair Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 1979, 186, 419-434.
3. Imai, K. Derivatization in Liquid Chromatography. *Adv. Chromatogr.* 1987, 27, 215.
4. Zhang, K.; Liu, X. Mixed-Mode Chromatography in Pharmaceutical and Biopharmaceutical Applications. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016, 130, 19-34.
5. Walter, T. H.; Iraneta, P.; Capparella, M. Mechanism of Retention Loss When C₈ and C₁₈ HPLC Columns Are Used with Highly Aqueous Mobile Phases. *J. Chromatogr. A.* 2005, 1075, 177-183.
6. Gritti, F.; Brousmiche, D.; Gilar, M.; Walter, T. H.; Wyndham, K. Kinetic Mechanism of Water Dewetting from Hydrophobic Stationary Phases Utilized in Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2019, 1596, 41-53.
7. Neue, U. D.; O' Gara, J. E.; Mendez, A. Selectivity in Reversed-Phase Separations. Influence of the Stationary Phase. *J. Chromatogr. A.* 2006, 1127, 161-174.
8. Iraneta, P. C.; Wyndham, K. D.; McCabe, D. R.; Walter, T. H. A Review of Waters Hybrid Particle Technology. Part 3. Charged Surface Hybrid (CSH) Technology and Its Use in Liquid Chromatography. White Paper – Waters Corporation, 720003929EN, 2011.
9. Neue, U. D.; Serowik, E.; Iraneta, P.; Alden, B. A.; Walter, T. H. A Universal Procedure for the Assessment of the Reproducibility and the Classification of Silica-Based Reversed-Phase Packings; 1. Assessment of the Reproducibility of Reversed-Phase Packings. *J. Chromatogr. A.* 1999, 849, 87-100.

10. Wyndham, K. D.; O' Gara, J. E.; Walter, T. H.; Glose, K. H.; Lawrence, N. L.; Alden, B. A.; Izzo, G. S.; Hudalla, C. J.; Iraneta, P. C. Characterization and Evaluation of C₁₈ HPLC Stationary Phases Based on Ethyl-Bridged Hybrid Organic/Inorganic Particles. *Anal. Chem.* 2003, 75, 6781-6788.
11. Trammell, B. C.; Boissel, C. A.; Carignan, C.; O' Shea, D. J.; Hudalla, C. J.; Neue, U. D.; Iraneta, P. C. Development of an Accelerated Low-pH Reversed- Phase Liquid Chromatography Column Stability Test. *J. Chromatogr.A.* 2004, 1060, 153-163.
12. Neue, U. D.; Mendez, A. Selectivity in Reversed- Phase Separations: General Influence of Solvent Type and Mobile Phase pH. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 949-963.
13. Neue, U. D.; Phoebe, C. H.; Tran, K.; Cheng, Y.-F.; Lu, Z. Dependence of Reversed-Phase Retention of Ionizable Analytes on pH, Concentration of Organic Solvent and Silanol Activity. *J. Chromatogr.A.* 2001, 925, 49-67.

特色产品

ACQUITY UPLC系统 <<https://www.waters.com/514207>>

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/10138533>>

ACQUITY UPLC可变波长紫外检测器 <<https://www.waters.com/514228>>

ACQUITY UPLC PDA检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

Empower 3色谱数据软件 <<https://www.waters.com/10190669>>

720006742ZH, 2020年1月

©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号