

紫薯花青苷抗疲劳效应研究

熊 斌¹, 王杨科¹, 解 雷¹, 乔艳明¹,
虞小燕¹, 王洪艳², 覃子秋²

(1. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000; 2. 汉中中学, 陕西 汉中 723000)

摘 要:以电刺激蛙腓肠肌收缩模拟外周疲劳,探究紫薯花青苷的抗疲劳效应,分析不同品种紫薯花青苷的抗疲劳效应。设置3个紫薯花青苷浓度组(0.03、0.06、0.12 mg/mL),并设置4个处理时间(5、10、15、20 min),对照组用任氏液处理,电刺激神经干,记录肌肉收缩曲线。同时,在花青苷浓度为0.06 mg/mL、处理时间为10 min的条件下,比较不同品种花青苷的抗疲劳效应。结果表明,紫薯花青苷能显著延缓腓肠肌的疲劳($P < 0.05$),且在同一浓度下,作用时间越长,延缓腓肠肌疲劳的效果越显著($P < 0.05$)。在5 min处理下,0.12、0.06 mg/mL处理组的延长时间是0.03 mg/mL组的2.6、1.7倍,0.03 mg/mL浓度组的抗疲劳效应为18.19%,0.06 mg/mL组达到38.01%,0.12 mg/mL组达到63.23%。紫薯花青苷具有显著抗疲劳效应,不同品种紫薯花青苷的抗疲劳效应存在差异。

关键词:紫薯花青苷; 抗疲劳; 抗氧化; 蛙腓肠肌

中图分类号:TS 218 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)06-0052-05

Effect of purple sweet potato anthocyanins on anti-fatigue

XIONG Bin¹, WANG Yang-ke¹, XIE Lei¹, QIAO Yan-ming¹,
YU Xiao-yan¹, WANG Hong-yan², QIN Zi-qiu²

(1. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong Shaanxi 723000;
2. Hanzhong Middle School, Hanzhong Shaanxi 723000)

Abstract: The electrical stimulation on frog gastrocnemius to simulate peripheral fatigue was established. The antifatigue effect of purple sweet potato anthocyanins (PSPA) was studied, as well as the difference of anti-fatigue effect among different varieties of PSPA. Three groups with different concentrations (0.03、0.06、0.12 mg/mL) of PSPA were set, so did treatment time (5、10、15、20 min). The control group was exposed to solutions containing Ringer's solution. The peripheral fatigue by electrical stimulation was recorded as skeletal muscle contraction curve. The anti-fatigue effects were compared among different varieties of PSPA with mass concentrations of 0.06 mg/mL for 10 min. The results showed that PSPA significantly delay the fatigue of the gastrocnemius ($P < 0.05$), and at the same concentration, the longer the processed time, the more significant the delay of gastrocnemius fatigue ($P < 0.05$). In the 5 min, extensions of time of the groups with concentration of 0.12 mg/mL and 0.06 mg/mL were 2.6 and 1.7 times longer than that with 0.03 mg/mL. The antifatigue effect of the group with concentration of 0.03 mg/mL was 18.19%, while that of 0.06 mg/mL was 38.01%, that of 0.12 mg/mL was 63.23%. PSPA had significant antifatigue effect. Different varieties of PSPA had different antifatigue effect.

Key words: purple sweet potato anthocyanins; anti-fatigue; anti-oxidation; frog nerve gastrocnemius

收稿日期:2015-07-01

基金项目:陕西省重点实验项目(13JS022);陕西理工学院研究生创新基金项目(SLGYCX1417);陕西省“春笋计划”课题研究项目2014-2015年度(SXCS2015-32)

作者简介:熊斌,1988年出生,男,在读研究生。

通讯作者:王杨科,1961年出生,男,教授。

紫薯(*Solanum tuberosum*)又叫黑薯,薯肉呈紫色至深紫色,属旋花科一年生草本植物。紫薯富含蛋白质、淀粉、果胶、纤维素、氨基酸、维生素等,同时还富含硒元素、铁元素和花青素^[1]。紫薯从茎尖嫩叶到薯块,均具有一定保健功能,是当前无公害、绿色、

有机食品中的食品。紫薯花青苷是一种天然色素添加剂,稳定性较好,安全无毒副作用^[2]。研究发现,紫薯花青苷抗氧化能力是 V_C 的20倍、 V_E 的50倍,在体内外都能清除多种氧自由基,包括超氧阴离子、羟自由基,对体内各种抗氧化酶具有促进和激活作用,是天然的抗氧化剂^[3]。此外,还具有抗菌、抗癌、抗衰老、保护内脏等多种生物学作用^[4-5],对人体具有较高的保健作用。因此,除了作为天然色素使用外,还可以用于预防某些疾病的产生。紫薯具有易种植、产量高、花青苷含量高等特点,紫薯花青苷具有很大开发空间。

运动性疲劳是一种复杂的生理现象,可引起运动员运动能力下降,战士体能减退,对一般人群可导致工作效率降低,差错事故增多,严重影响着人们的生产生活^[6]。过度的疲劳可能导致“过劳”、“过度训练综合症”、“慢性疲劳综合症”等^[7]。因此,研究抗疲劳措施一直是热点。目前,由于各种消除疲劳的措施效果不尽人意,开发天然无副作用的抗疲劳物质具有重要意义。目前,对紫薯花青苷的研究相当多^[8],但未涉及紫薯花青苷的抗疲劳效应探讨。因此,本文结合紫薯花青苷的抗氧化效应,探讨其抗疲劳效应。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂

生理信号采集系统:成都仪器厂;张力换能器JZ300型:北京新航兴业有限公司;UV-2550紫外可见分光光度计:日本岛津仪器公司;旋转蒸发仪:上海亚荣生物有限公司。常规分析纯试剂。

1.2 实验材料

购买市售牛蛙,挑选健壮个体,称重(272 ± 25 g)。常规方法制备神经腓肠肌标本,以牛蛙坐骨神经腓肠肌标本为研究对象。

1.3 花青苷提取与测定

购买新鲜紫薯,45℃烘干,粉碎,低温保存。用75%的酒精,料液比1:20,超声提取(45℃,功率80%),浓缩,紫外分光光度计测定浓度,避光低温保存备用。

1.4 抗疲劳实验

实验设置3个浓度组(0.03、0.06、0.12 mg/mL),每个浓度组设置4个时间(5、10、15、20 min)。将一只牛蛙的两条腿的神经—腓肠肌标本随机分为两组,随机选取一只作为实验组,另一只用任氏液处理作为空白对照组。将蛙神经—腓肠肌标本连接到

张力换能器,刺激神经干(连续正电刺激,强度1 V,波宽0.2 ms,频率30 Hz),用生理信号采集系统记录相应的曲线^[9]。

$$\text{抗疲劳效应}/\% = \frac{T_2 - T_1}{T_1} \times 100$$

式中: T_2 ,实验组的曲线下降到最高幅度的一半时的时间; T_1 ,对照组的曲线下降到最高幅度的一半时的时间。

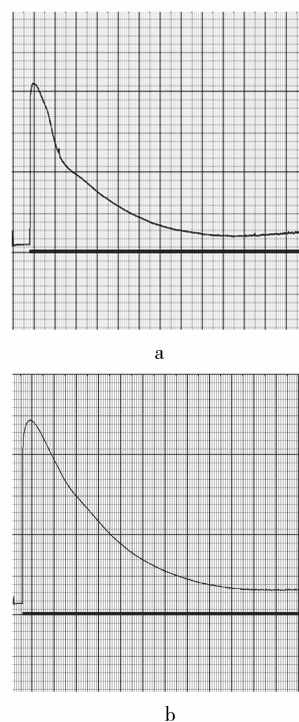
1.5 统计分析

数据均采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用SPSS 19.0软件作统计学分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 花青苷对腓肠肌收缩的影响

图1为正电连续刺激蛙腓肠肌的收缩曲线,收缩曲线呈现单峰,随后会连续下降达到一个相对平稳期。通过对比实验组与空白组的收缩曲线,发现实验组的收缩曲线的幅度明显高于对照组。对照组在连续刺激后肌肉会发生剧烈的抽搐,实验组抽搐的幅度明显低于对照组。



a 空白对照组的腓肠肌收缩曲线;b 在花青苷处理下腓肠肌的收缩曲线

图1 花青苷对蛙腓肠肌收缩曲线的影响

2.2 花青苷的抗疲劳效应

紫薯花青苷对蛙腓肠肌收缩的绝对延长时间见

表1,在同一处理时间下,花青苷明显延缓疲劳产生的时间,并且在同一浓度下,作用时间越长,越能延缓疲劳发生的时间。在三个作用时间5、10、15 min下,T检验发现0.06 mg/mL处理组与0.03 mg/mL处理组有显著性差异($P < 0.05$),0.12 mg/mL处理组与0.03 mg/mL处理组达到极显著差异($P < 0.01$)。在5 min作用时间下,0.12 mg/mL处理组和0.06 mg/mL处理组的延长时间分别是0.03 mg/mL处理组的2.6、1.7倍。

表1 紫薯花青苷对蛙腓肠肌收缩的绝对延长时间

浓度/(mg/mL)	作用时间			
	5 min	10 min	15 min	20 min
0.03	3.6±3.0	6.4±3.6	7±3.1	9.1±4.6
0.06	6.1±2.2*	9.7±2.7*	10±1.4*	9.8±4.1
0.12	9.3±5.0**	9.5±3.4**	9.6±2.8**	9.4±2.0

注:*指在同一处理时间下与0.03 mg/mL组差异显著($P < 0.05$,T检验),**指差异极显著($P < 0.01$,T检验)。

紫薯花青苷对蛙腓肠肌抗疲劳效应见图2,在作用时间为5 min时,0.03 mg/mL处理组其相对抗疲劳效应为18.19%,0.06 mg/mL组达到38.01%,0.12 mg/mL组达到63.23%。在作用时间分别为10、15 min时,随着浓度的增加,抗疲劳效应亦相应增强($P < 0.05$)。但在处理时间为20 min时,各浓度组间差异不显著($P > 0.05$)。提示紫薯花青苷具有延缓疲劳发生,增强肌肉耐力的作用。

紫薯花青苷对蛙腓肠肌抗疲劳效果方差分析结果发现,花青苷的浓度和处理时间对蛙腓肠肌抗疲劳效果均达到极显著水平($P < 0.01$)。LSD法多重比较结果发现,紫薯花青苷在0.03、0.06、0.12 mg/mL各组之间的抗疲劳效果均达到极显著差异($P < 0.01$),处理时间5 min与15 min、5 min与20 min均达到了极显著差异($P < 0.01$),其他处理时间之间均未达到显著性差异($P > 0.05$)。

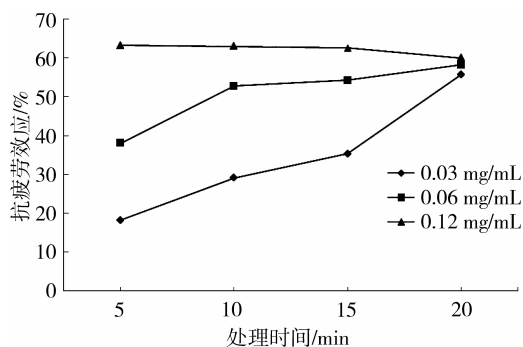


图2 紫薯花青苷对蛙腓肠肌的抗疲劳效应

2.3 不同品种紫薯花青苷抗疲劳效应

如图3所示,花青苷浓度为0.06 mg/mL、处理

时间为10 min时,紫薯1号、黑薯1号、浙紫1号、京薯5号的抗疲劳效应分别为52.77%、62.93%、15.95%、35.44%。方差分析表明不同品种的紫薯抗疲劳效应有显著性差异($P < 0.05$),这可能是花青苷组分差异造成的。红薯和西蒙1号不含花青苷,不具有抗疲劳效应。

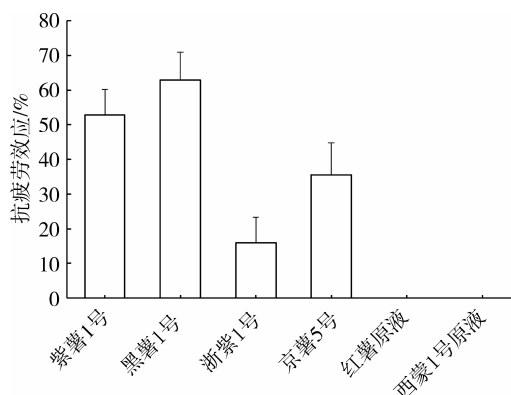


图3 不同品种紫薯花青苷抗疲劳效应比较

2.4 讨论

运动性疲劳(sports fatigue)是指运动引起的肌肉最大收缩或者最大输出功率暂时性下降的生理现象,日常生活和竞技体育运动中普遍存在,是当前研究的热点^[10]。在运动疲劳发生时,机体内离子代谢发生紊乱,自由基增多,血氨大量生成,高能磷酸盐和脂肪酸的浓度改变,内分泌、神经、免疫系统的协调平衡被打破等诸多变化,导致机体疲劳^[11]。近年来,已经从不同学科、不同生命层次,对运动性疲劳的分子生物学机制作了较为详尽和细微的研究及探讨^[12-15]。氧自由基—脂质过氧化学说认为,在运动中机体的肌细胞中产生大量氧自由基和脂质过氧化(LPO),是导致运动疲劳产生的重要原因^[16]。大量的自由基使线粒体呼吸链产生ATP的过程受到损害,打破了自由基生成与清除的平衡。而且大量LPO可直接损伤肌细胞膜的正常结构,导致细胞器处于应激状态,降低了动作电位的峰高度和传导速度,甚至可能引起动作电位的完全灭活,影响肌肉收缩,诱发疲劳^[17-19]。同时,随着运动强度的增加,血浆脂质过氧化(LPO)水平持续升高,进而抑制 Ca^{2+} -ATP酶的活性,造成胞浆中 Ca^{2+} 的堆积,影响了肌纤维的兴奋收缩耦联。LPO显著升高还能造成肌肉等组织的损伤,妨碍了正常的细胞代谢与功能^[20-21]。电刺激蛙腓肠肌标本导致肌细胞内氧自由基增加、LPO水平升高,胞浆内离子紊乱,兴奋—收缩耦联受损,导致蛙腓肠肌疲劳^[22]。

大量实验表明,花青苷具有较好的清除机体自

由基和降低 LPO 的作用,并且表现出多种生理学作用^[23-25]。Mi J C^[26]等研究发现矢车菊青花青苷能有效提高细胞活力,抑制脂质过氧化,增加细胞培养各个时期的时间,降低核因子 - kB (Nuclear Factor KappaB, NF - kB)、环氧合酶 2、一氧化氮合酶的表达,推断矢车菊青花青苷通过减轻氧化应激损伤延缓老化过程。Kazunori S^[6]等研究发现紫薯花青苷协助咖啡酰奎宁酸提高老年大鼠的学习能力和记忆能力,主要表现在降低神经细胞内活性氧水平,提高 ATP 水平,促进能量代谢,抑制神经细胞毒性,提高神经细胞的可塑性。薛红玮^[27]研究发现紫甘薯花青苷对 DPPH· 自由基清除率平均为 91.76%,且作用强于葡萄皮花青苷和 Vc^[28]。同时,紫薯花青苷能显著提高小鼠骨骼肌中 SOD、GSH - Px 活性,降低 MDA 含量^[29]。Yong P H^[30]等通过体外实验发现紫薯花青苷能缓解叔丁基过氧化氢造成的肝损伤,作用机制是紫薯花青苷通过降低细胞内谷胱甘肽、LPO 和活性氧的水平,阻止蛋白酶 Capase 激活,防止细胞凋亡。体内实验发现紫薯花青苷可清除活性氧,调节血红素氧合酶 - 1 (heme oxygenase - 1, HO - 1),并通过蛋白激酶 B (Akt) 和 ERK1/2 - Raf2 信号通路解除叔丁基过氧化氢造成的肝毒性。可见,紫薯花青苷通过抗氧化作用提高体内的抗氧化系统,清除代谢产物,切断脂类氧化链式反应防止 LPO,保证肌细胞正常工作^[3]。外周疲劳可能发生的部位有连接骨骼肌的神经干、神经—肌肉接头、肌细胞,本实验通过蛙神经—腓肠肌标本模拟外周疲劳,发现紫薯花青苷具有很好的抗疲劳效应,并且具有浓度—时间—效应。紫薯花青苷的这种抗疲劳效应可能与其抗氧化作用有关。紫薯花青苷可能通过清除自由基和抑制 LPO 来提高抗氧化酶系,维持细胞内离子水平的稳定,保证肌细胞正常工作。

紫薯花青苷属于黄酮类化合物,具有其典型结构(2 - 苯基 - 苯并吡喃阳离子),但其具体结构是由其母核苯环中的取代基、羟基和甲氧基的数量及位置决定的^[31-32]。紫薯花青苷主要成分为酰基化的矢车菊素和芍药素。矢车菊素或芍药素与香豆酸、阿魏酸、咖啡酸、对羟基苯甲酸等和有机酸脱水缩合形成不同的酰化基团,从而形成大量不同种类的花色苷。根据目前的相关研究,在紫甘薯及其叶中已经分离鉴定出二十余种花色苷的结构,不同紫薯品种花色苷的种类存在很大的差异^[33]。花青苷组分中矢车菊素与芍药素的比例不同造成紫薯的色彩值有着较大差异,芍药素比例大,则紫甘薯的红色色调较深。本实验中不同品种的紫薯花青苷的红色

色调:黑薯 1 号 > 紫薯 1 号 > 京薯 5 号 > 浙紫 1 号。普通红薯和西蒙一号为白薯,不含花青苷。实验结果表明黑薯 1 号、紫薯 1 号、京薯 5 号、浙紫 1 号的抗疲劳效应分别为 62.93%、52.77%、35.44%、15.95%。可见不同品种紫薯花青苷抗疲劳效应的差异与其花青苷组分有较大关系。

3 结论

本文以蛙坐骨神经腓肠肌标本为研究对象,探讨了紫薯花青苷的抗疲劳作用。研究表明,紫薯花青苷具有提高蛙腓肠肌肌肉的收缩力,增强肌肉收缩持久力的作用。同时,实验还发现黑薯 1 号、紫薯 1 号、京薯 5 号、浙紫 1 号的抗疲劳效应存在显著性差异,其中黑薯 1 号、紫薯 1 号的抗疲劳效应较好。后续研究应进一步探讨紫薯花青苷在体内的抗疲劳效应,及其作用机制。

参考文献:

- [1] 王意宏,李洪明,钮福祥. 甘薯的基本化学物质及化学组成的再认识[J]. 中国甘薯,1994,(7):214-218.
- [2] 杨洋,韦小英,阮征. 国内外天然食品抗氧化剂的研究进展[J]. 食品科学,2002,23(10):137-140.
- [3] 姜平平,吕晓玲,姚秀玲,等. 紫心甘薯花色苷抗氧化活性体外实验研究[J]. 中国食品添加剂,2002(6):8-11.
- [4] 李丹丹,王涛涛,彭业芳,等. 紫薯色素与防腐剂复配抑菌作用研究[J]. 中国食品添加剂,2012(6):174-180.
- [5] Kazunori S, Junkyu H, Hidetoshi S, et al. Caffeoylquinic Acid - Rich Purple Sweet Potato Extract, with or without Anthocyanin, Imparts Neuroprotection and Contributes to the Improvement of Spatial Learning and Memory of SAMP8 Mouse[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61, 5037-5045.
- [6] Knuttgen H G. Biochemistry of exercise[M]. Human kinetics Publishers. Glossary of Exercise Terminology, 1983.
- [7] Angeli A, minetto M, Dovio A, et al. The overtraining syndrome in athletes: a stress - related disorder[J]. J Endocrinol invest, 2004, 27(6):603-612.
- [8] 吕昱,严敏. 紫薯花色苷的生理功能及分离纯化研究进展[J]. 食品和机械, 2013, 29(4):250-253.
- [9] 邹海峰,陈燕,蔺艳. 黄芪参附对低位中枢神经 - 肌接头和骨骼肌疲劳的影响[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(16):2375-2377.
- [10] 欧阳萍. 运动性疲劳发生机制及其防治对策[J]. 沈阳体育学院学报, 2004, 23(3):324-326.
- [11] 章小菊,韩慧婉,姚鸿恩. 疲劳性运动对血浆游离氨基酸和中枢神经递质影响的研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 1999, 18(2):151-152.
- [12] 温晓利,王健. 运动性肌肉疲劳生化机制的研究进展[J]. 人类工效学, 2005, 11(2):6-8.
- [13] 金再活. 运动疲劳研究综述[J]. 辽宁师专学报, 2006, 8(3):56-60.

- [14] 徐明, 蔡国梁, 李若愚. 运动性疲劳分子生物学机制的研究进展[J]. 成都体育学院学报, 2005, 31(4): 91-94.
- [15] 徐礼哲, 邓树勋, 徐晓阳. 运动性中枢疲劳的生化基础[J]. 浙江体育科学, 2000, 22(2): 58-60.
- [16] 付克翠, 陈菊平, 陈元武. 运动性疲劳概述[J]. 四川体育科学, 2004(2): 30-32.
- [17] 万利. 自由基的产生对运动疲劳的影响及其恢复机制[J]. 河北体育学院学报, 2004, 18(1): 21-22.
- [18] 由文华, 刘青云, 熊正英. 自由基与运动性疲劳关系的研究进展[J]. 陕西师范大学继续教育学报, 2007, 24(2): 125-128.
- [19] Lamb G D, Stephenson D G. Effects of intracellular PH and $[Ca^{2+}]$ on excitation-contraction coupling in skeletal muscle fibers of the rat[J]. the Journal of Physiology, 1994, 478(2): 331-339.
- [20] 杨波, 张钧. 氧自由基脂质过氧化反应致运动性疲劳产生的机制研究[J]. 中国临床康复, 2005, 9(4): 188-190.
- [21] 张陵, 万宁. 氧自由基脂质过氧化反应所致运动性疲劳产生机制研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2006, 10(9): 1104-1105.
- [22] 张希. 神经肌肉电刺激诱发的双相运动疲劳信息检测与处理技术研究[D]. 天津: 天津大学, 2010.
- [23] 卢立真, 张雨青, 马永雷, 等. 紫甘薯花青素苷对老龄小鼠的抗氧化作用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(13): 6916-6917.
- [24] 蔡花真, 王霞. 紫甘薯花色苷组分抑制小鼠肝、肾、心、脾脂质过氧化的研究[J]. 食品工业, 2009(4): 6-8.
- [25] Sun H L, Hoon J J, Dae W K, et al. Enhancement of HIV-1 Tat fusion protein transduction efficiency by bog blueberry anthocyanins[J]. BMB REPORTS, 2010, 43(8): 561-566.
- [26] Mi J C, Boh K K, Kun Y P, et al. Anti-aging Effects of Cyanidin under a Stress-Induced Premature Senescence Cellular System[J]. Biological and pharmaceutical bulletin, 2010, 33(3): 421.
- [27] 薛红玮, 牟德华. 不同品种紫甘薯体外抗氧化活性的比较[J]. 食品和机械, 2011, 27(1): 36-39.
- [28] 孙健, 王洪云, 钮福祥, 等. 不同品种紫甘薯花青素含量及抗氧化活性差异[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 323-324.
- [29] 刘志国, 谢旭东, 徐德刚, 等. 花色苷对小鼠生长、运动能力和骨骼肌抗氧化的影响[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(11): 109-111.
- [30] Yong P H, Jae H C, Jun M C, et al. Protective mechanisms of anthocyanins from purple sweet potato against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatotoxicity[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(9): 2081-2089.
- [31] 高彦祥, 许正红. 紫甘薯色素研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2005, 1: 1-6.
- [32] 韩文斌. 紫甘薯花色苷提取工艺与组分分析及其稳定性和氧化性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [33] 周岩. 两种紫甘薯酒品质指标及花青苷组分的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013. 完

欢迎订阅2016年 中国酿造杂志

《中国酿造》创刊于1982年, 是由中国商业联合会主管, 中国调味品协会及北京食品科学研究院主办的综合性科技期刊。《中国酿造》历次被评为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、《中国知网》重点收录期刊、《万方数据库》全文收录期刊、《中文科技期刊数据库》来源期刊、中国学术期刊网络出版总库收录期刊、美国《乌利希期刊指南》(UPD)收录期刊、英国《食品科学文摘》(FSTA)收录期刊、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI)收录期刊、美国《化学文摘》(CA)收录期刊、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)收录期刊、中国科学评价研究中心(RCCSE)数据库收录期刊, 也是学位与研究生教育的中文重要期刊。

《中国酿造》重点刊登调味品、酿酒、生物工程技术、生物化工、食品生物技术等研究方向的新工艺、新技术、新设备以及分析检测、安全法律法规及标准、综合利用、质量保障体系等方面的基础理论、应用研究及综述文章。主要栏目有: 研究报告、专论综述、创新与借鉴、经验交流、分析与检测、产品开发、酿造文化、海外文摘等。

《中国酿造》为月刊, 大16开, 每期200页, 25元/期, 全年300元(免邮费)。

订阅方式:

直接联系本社订阅: 电话: 010-83152308/83152738、010-63026114 邮箱: zgnzzz@163.com

网上订阅: 登陆中国酿造主页 www.chinabrewing.net.cn

全国各地邮政局(所)均可订阅: 邮发代号2-124 国内统一连续出版物号CN 11-1818/TS 国际标准连续出版物号ISSN 0254-5071

汇款方式:

银行转账: 建行陶然亭支行 账户: 北京中酿杂志社 账号: 1100 1189 5000 5250 0191

邮局汇款: 北京市西城区禄长街头条4号《中国酿造》编辑部 邮编: 100050

欢迎订阅、投稿、刊登广告!