

新型氨基甲酸乙酯人工抗原的制备与表征

马晓驰, 孙玉凤*, 陈卫华*

(中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100091)

摘 要: **目的** 合成新型氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC)人工抗原并对其效果进行表征分析。**方法** 用 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸对 EC 衍生化合成半抗原, 用核磁氢谱(proton nuclear magnetic resonance, NMR)、核磁共振谱和质谱法(mass spectrometry, MS)对其结构进行表征; 用活化酯法将 EC 半抗原与牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)偶联得到 EC 人工抗原。用紫外光谱和荧光光谱法对人工抗原进行表征并计算偶联比, 用考马斯亮蓝法测定蛋白含量, 间接竞争酶联免疫法鉴定其免疫活性。**结果** EC 半抗原结构与理论结构一致, 半抗原与 BSA 成功偶联, 偶联比为 13:1, 冻干粉的蛋白含量为 0.695 mg/mg, 用该新型人工抗原免疫小鼠, 得到的抗血清效价为 1:10000, 且特异性较好。**结论** 该新型氨基甲酸乙酯半抗原具有较好的免疫活性。

关键词: 氨基甲酸乙酯; 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸; 人工抗原

Synthesis and identification of a novel ethyl carbamate artificial antigen

MA Xiao-Chi, SUN Yu-Feng*, CHEN Wei-Hua*

(Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100091, China)

ABSTRACT: Objective To synthesis and characterize a new ethyl carbamate (EC) artificial antigen. **Methods** EC was derivatized with 4- (diphenylhydroxymethyl) benzoic acid to synthesize hapten, and its structure was characterized by proton nuclear magnetic resonance (NMR), NMR carbon spectrum and mass spectrometry (MS). EC was coupled with bovine serum albumin (BSA) by activated ester method to obtain EC artificial antigen. The artificial antigen was characterized by ultraviolet and fluorescence spectroscopy and the coupling ratio was calculated. The protein content was determined by the Coomassie Brilliant Blue method, and its immunological activity was identified by indirect competitive ELISA. **Results** The structure of the EC hapten was consistent with the theoretical structure. The hapten was successfully coupled with BSA, and the coupling ratio was 13:1, and the protein content of the lyophilized powder was 0.695 mg/mg. The mice were immunized with the new artificial antigen, and the antiserum was obtained. The titer was 1:10000 and the specificity was good. **Conclusion** The novel urethane hapten has good immune activity.

KEY WORDS: ethyl carbamate; 4-(diphenylhydroxymethyl) benzoic acid; artificial antigen

1 引 言

氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC), 分子式为 $\text{H}_2\text{NCOOC}_2\text{H}_5$ 是食品发酵过程中自然形成的一种有害物

质, 常见于各类发酵食品如面包、黄酒和酱油等^[1]。早在 1943 年, 有研究表明 EC 具有动物致癌性^[2], 2007 年, 世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Cancer Research, IARC)将 EC 列为 2A 类致癌物^[3]。传统的

*通讯作者: 孙玉凤, 副研究员, 主要研究方向为农产品功能因子研究与利用。E-mail: yufengsuncaas@163.com

陈卫华, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: chenweihua_foods@163.com

*Corresponding author: SUN Yu-Feng, Associate Research Fellow, Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100090, China. E-mail: yufengsuncaas@163.com

CHEN Wei-Hua, Research Fellow, Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100090, China. E-mail: chenweihua_foods@163.com

EC 检测方法有气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法、液相色谱-荧光法和高效液相色谱-荧光法等^[4-7], 这些方法应用成熟, 灵敏度高, 但是样品前处理复杂, 设备昂贵, 无法满足现场快速检验, 因此近年来基于特异性免疫的方法: 如酶联免疫吸附法、免疫层析法^[8]迅速发展。

由于 EC 是一种小分子化合物, 不含有能够诱导免疫反应的结构, 因此不能引发免疫应答^[9], 只有将 EC 的结构进行修饰得到 EC 半抗原后, 半抗原作为抗原决定簇与载体蛋白偶联得到 EC 人工抗原, 才能引发免疫应答, 即可以借助 T 细胞表位来间接诱导 B 细胞的增殖和分化, 产生特异性抗体^[10]。国内外对 EC 人工抗原的研究较少, 最常用的方法是 EC 直接偶联载体蛋白, 如郭明等^[11]采用碳二亚胺法将氨基甲酸乙酯直接与载体蛋白偶联, 运用光谱、电泳、红外衰减全反射和基质辅助激光解析飞行时间质谱等证明偶联成功。任勃儒^[12]采用戊二醛法将 EC 直接与牛血清蛋白偶联得到人工抗原, 制备的抗血清效价为 1:2000。

为了增加人工抗原的特异性, 本研究首次用 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸对 EC 进行衍生化, 通过引如苯环结构增强抗原性, 同时用 β -丙氨酸叔丁酯盐酸盐向 EC 分子上引入带有羧基的间隔臂以便与载体蛋白相连, 同时又能减小载体蛋白大分子对半抗原的屏蔽作用。最终合成如图 1 所示的人工抗原, 并投入动物免疫实验, 得到效价较高的氨基甲酸乙酯抗血清。

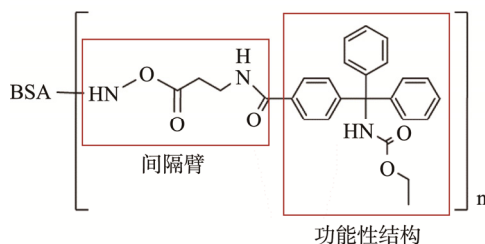


图1 氨基甲酸乙酯人工抗原结构

Fig.1 Structure of ethyl carbamate artificial antigen

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

氨基甲酸乙酯(EC, $\geq 99\%$, 美国 Sigma 公司); 牛血清白蛋白(BSA, $\geq 96\%$)、1-羟基苯并三唑(HOBt, $\geq 99\%$)、 β -丙氨酸叔丁酯盐酸盐、N,N-二甲基甲酰胺($\geq 98\%$, 美国麦克林公司); 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸($\geq 95\%$, 德国 Sigma-Aldrich 公司); 对甲苯磺酸($\geq 98.5\%$)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS, $\geq 98\%$)(日本 Sigma-Aldrich 公司); 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、二氯甲烷(EDCI, $\geq 99\%$, 中国国药试剂集团); 氨基甲酸丁酯(MC, $\geq 99\%$, 分

析纯)、氨基甲酸甲酯($\geq 99\%$, 分析纯, 中国源叶公司)。

2.2 仪器与设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限公司); DPX300MHz 型核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司); Technologies 6495 型高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪(北京安捷伦科技有限公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水仪(美国 Millipore 公司); UV-8000S 型紫外可见分光光度计(上海元析有限公司); FS5 型荧光分光光度计(英国爱丁堡公司); M200 PRO 多功能酶标仪(瑞士帝肯公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 氨基甲酸乙酯半抗原的合成与结构分析

称取 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸 304 mg、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 191 mg、1-羟基苯并三唑 135.2 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷, 冰浴搅拌 30 min 后, 向反应体系中加入 145 mg β -丙氨酸叔丁酯盐酸盐、84 mg 碳酸氢钠, 室温搅拌反应 30 h, 结束反应后, 分别用 25 mL 水和盐水洗反应体系 3 次, 收集二氯甲烷层, 柱层析分离得到中间体; 取 110 mg 中间体、134 mg 氨基甲酸乙酯、85 mg 对甲苯磺酸, 溶于 15 mL 甲苯, 120 °C 回流反应 10 h, 冷却至室温后用 15 mL 水和盐水洗反应体系 3 次, 收集有机相, 柱纯化分离^[13,14]得到 EC 半抗原。运用核磁共振谱、核磁共振谱和质谱等对合成的 EC 半抗原进行结构分析, 将分析结果与 ChemDraw 软件模拟结果比较, 以判断 EC 半抗原合成是否成功。

2.3.2 人工抗原 EC-BSA 的合成

称取 12 mg 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、7 mg N-羟基琥珀酰亚胺(N-hydroxysuccinimide, NHS)和 22 mg EC 半抗原溶于 500 μ L N,N-二甲基甲酰胺, 避光室温搅拌 4 h 得到 A 液; 取 33 mg 牛血清蛋白 BSA 溶于 5 mL 0.05 mol/L 碳酸盐缓冲液(pH=9.6)中制成 B 液。将 A 液缓慢逐滴加入 B 液, 室温避光搅拌 6 h 后将反应液转移至透析袋内, 在 0.01 mol/L 的 PBS 缓冲液(pH=7.4)中 4 °C 透析 3 d, 每 8 h 换一次透析液, 收集袋内溶液冻干成粉得到人工抗原 EC-BSA。

2.3.3 人工抗原的鉴定与偶联比的计算

将 EC 半抗原、载体蛋白 BSA 和人工抗原分别溶于 PBS 缓冲液进行 200~300 nm 紫外光谱和 250~500 nm 荧光光谱扫描, 分析扫描图谱判断 EC 人工抗原是否偶联成功。以 PBS 为溶液, 分别配置浓度为 1 mg/mL 的 BSA、人工抗原和 EC 半抗原, 分别测定三者在 278、243 nm 处的吸光度, 按照以下公式^[15]计算偶联比:

$$\frac{C_a}{C_b} = \frac{D_{\text{抗原},243} \times K_{\text{BSA},278} - D_{\text{抗原},278} \times K_{\text{BSA},243}}{D_{\text{抗原},278} \times K_{\text{半抗原},243} - D_{\text{抗原},143} \times K_{\text{半抗原},278}}$$

$$K = \frac{D}{\rho} \times M$$

其中, D 为吸光度, K 为消光系数, M 为相对分子质量, ρ 为质量浓度。

2.3.4 人工抗原的蛋白浓度的测定

用考马斯亮蓝法^[16]测定人工抗原的蛋白浓度。分别配置浓度为 0.056、0.112、0.168、0.224 和 0.280 mg/mL 的 BSA 标准溶液, 取 1 mL 标准溶液与考马斯亮蓝溶液混合后, 测定 595 nm 处的吸光度并绘制标准曲线; 取 1 mg 人工抗原冻干粉溶于 5 mL PBS 缓冲液制得待测液, 取 1 mL 待测液与考马斯亮蓝混合, 测定 595 nm 处吸光度, 带入标准曲线可得待测液的蛋白浓度, 换算得人工抗原的蛋白含量。

2.3.5 抗血清的制备

选用 5 只 6~8 周雌性小鼠进行腹腔注射^[17]。初次免疫: 用生理盐水配制 1 mg/mL (以蛋白质的量为计算) 的免疫原 EC-BSA 溶液, 免疫剂量为 0.2 mL/只, 初次免疫使用弗氏完全佐剂与免疫原 1:1 充分混匀乳化。加强免疫使用弗氏不完全佐剂与免疫原混匀乳化, 免疫剂量为 0.5 mL/只, 于初次免疫 2 周后加强免疫, 后每隔 2 周加强免疫 1 次, 第 5 次加强免疫 1 周后断尾取血, 4 °C 静置 12 h, 5000 r/min 离心 10 min 分离血清, -20 °C 冻存。

2.3.6 抗血清免疫活性鉴定

将 2 只小鼠的抗血清分别稀释 2000、4000、6000、8000、10000、12000、14000、16000、18000、20000 倍, 设置阴性对照和空白对照, 采用间接 ELISA 法^[17]测定血清效价 (450 nm 处的紫外吸光度为 1 时所对应的抗血清稀释倍数)。分别配制相同系列浓度为 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625 mg/L 的 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸及其氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC)、氨基甲酸甲酯(carbamate, MC)和氨基甲酸丁酯(butyl carbamate, BC)的衍生物, 选取效价较高的抗血清稀释 10000 倍, 进行间接竞争 ELISA 法测定其灵敏度和特异性^[18], 拟合出抗血清对半抗原和结构类似物的工作曲线并算出半数抑制浓度(IC_{50})。绘制抗血清的竞争抑制曲线, 按照如下公式计算交叉反应率 S :

$$S = \frac{IC_{50} - \text{半抗原}}{IC_{50} - \text{类似物}} \times 100\%$$

3 结果与分析

3.1 半抗原的合成与表征

EC 分子量小, 结构简单, 为了增加特异性, 引入环状结构的 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸对 EC 衍生化是必要的。由于衍生分子与载体蛋白连接的部位很容易受到屏蔽, 使生成的抗体特异性减弱, 因此在衍生分子和载体蛋白间联入间隔臂能够有效的减少屏蔽作用。半抗原合成路线如图 2 所示, 首先 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸与 β 丙氨酸叔丁酯盐酸盐发生酰胺反应, 纯化得到中间体, 将中间体与氨基甲酸乙酯在对甲苯磺酸的酸性环境下 120 °C 回流, 使中间体在接上氨基甲酸乙酯的同时脱去叔丁酯盐酸盐。最终得到的 EC 半抗原为淡黄色粉状固体 (75.7 mg, 产率 68%)。

采用核磁氢谱、核磁碳谱、质谱及变换红外光谱对 EC 半抗原进行结构鉴定, 结果如下: 1H NMR (300 MHz, chloroform- d) δ 7.71 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.36 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.32 – 7.21 (m, 10H), 6.91 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 4.18 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.72 (q, J = 5.9 Hz, 2H), 2.64 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, Chloroform- d) δ 172.77, 166.96, 154.92, 147.85, 144.61, 132.93, 128.96, 128.39, 128.03, 127.19, 126.44, 69.56, 60.74, 35.26, 33.91, 14.13. MS (ESI) m/z : Calcd for $C_{26}H_{26}N_2O_5$ $[M-H]^-$ 445.1; found 445.0。以上结果与 ChemDraw 软件对 EC 半抗原模拟的理论结构相符, 证明 EC 半抗原合成成功。

3.2 人工抗原的合成与鉴定

采用活化酯法合成人工抗原, 合成路线如图 3 所示, NHS 和 EDCI 用于活化半抗原上的羧基, 使其形成活性酯后, 再与载体蛋白 BSA 上的氨基以酰胺键连接, 最终得到呈白色粉末状的人工抗原约 20 mg。

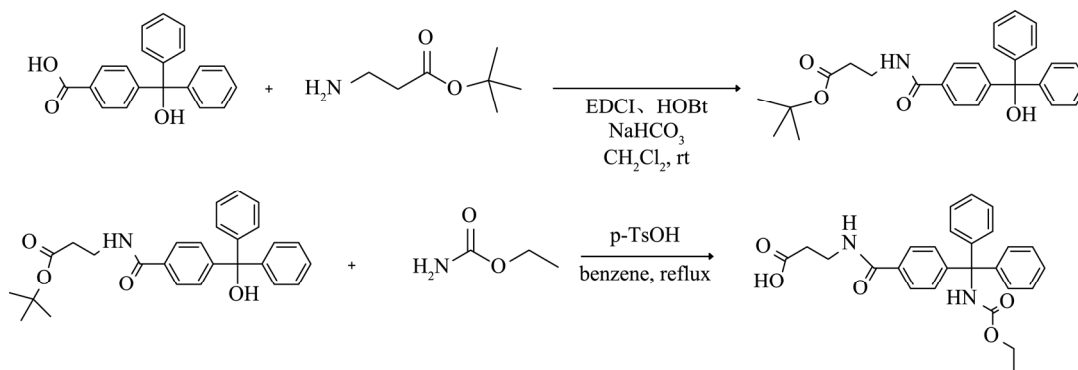


图 2 EC 半抗原的合成路线
Fig.2 Synthetic route of EC hapten

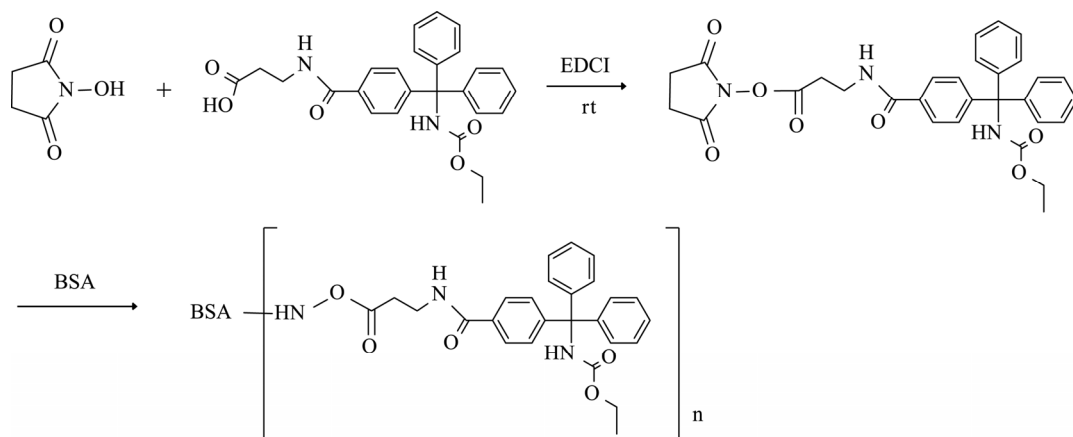


图3 EC人工抗原的合成路线

Fig.3 Synthetic route of EC artificial antigen

通过对EC半抗原、载体蛋白BSA、人工抗原的紫外光谱分析可以看出(图4), 200~300 nm之间BSA的吸收峰为279 nm, 半抗原的吸收峰为243 nm, 而人工抗原的吸收峰为254 nm, 偏移至半抗原处有和BSA的吸收峰之间, 同时吸光度降低, 这说明半抗原与载体蛋白BSA发生了反应。通过对荧光发射光谱分析可以看出(图5), 半抗原在353 nm处有荧光, 载体蛋白BSA在340 nm处有荧光, 这是由于色氨酸残基与酪氨酸残基使蛋白质产生内源荧光, 而人工抗原在336 nm处的荧光强度明显降低, 表明半抗原通过与载体蛋白BSA中氨基反应得到人工抗原, 这对BSA上氨基酸残基产生影响, 表现为使BSA的荧光猝灭。根据偶联比公式计算可得EC半抗原与BSA的偶联比约为13:1。

3.3 人工抗原蛋白浓度的测定

载体蛋白BSA的蛋白浓度标准曲线如图6所示, 线性方程为 $Y=0.7399X+0.0029$, $r^2=0.9992$, 根据标准曲线, 测得人工抗原的蛋白浓度为0.139 mg/mL, 换算可得人工抗原冻干粉的蛋白含量为0.695 mg/mg。

3.4 抗血清的免疫活性

通过图7可以看出经过对小鼠少量多次的长期免疫后, 2只小鼠的抗血清效价均能达到1:10000, 说明抗血清效价较高, 其中鼠b的效价高于鼠a; 鼠b抗血清的抑制曲线如图8所示, 标准抑制曲线的线性回归方程为 $Y=-0.4243X+1.0744$, $r^2=0.9954$, 计算可得抗血清的 IC_{50} 为22.91 mg/L。由表1可以看出, 抗血清对于4-(二苯基羟甲基)苯甲酸的交叉反应率小于0.01%, 对其MC衍生物和BC衍生物的交叉反应率分别为2.93%和3.80%, 说明抗血清的特异性良好。结果表明, 制备的人工抗原成功刺激小鼠产生免疫应答, 并产生了能够特异性识别氨基甲酸酯的抗体, 证明人工抗原制备成功。

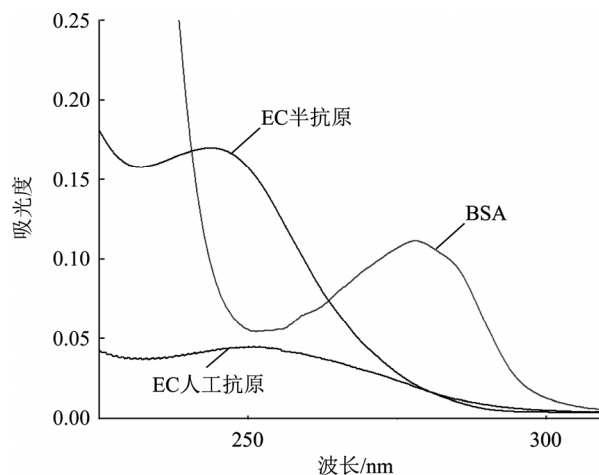


图4 半抗原、载体蛋白BSA和人工抗原的紫外光谱

Fig.4 UV scanning spectra of Hapten, BSA and artificial antigen

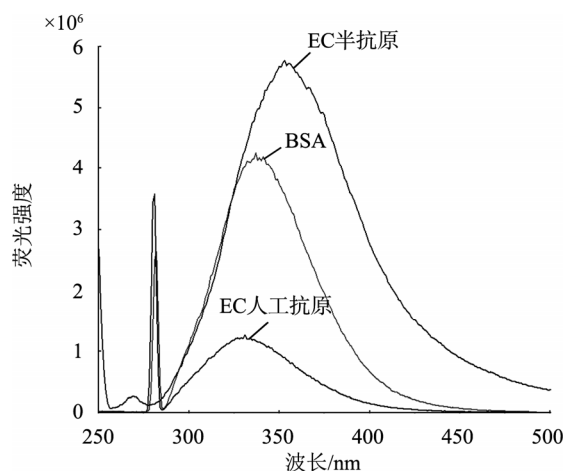


图5 半抗原、载体蛋白BSA和人工抗原的荧光光谱

Fig.5 Fluorescence emission spectra of hapten, BSA and artificial antigen

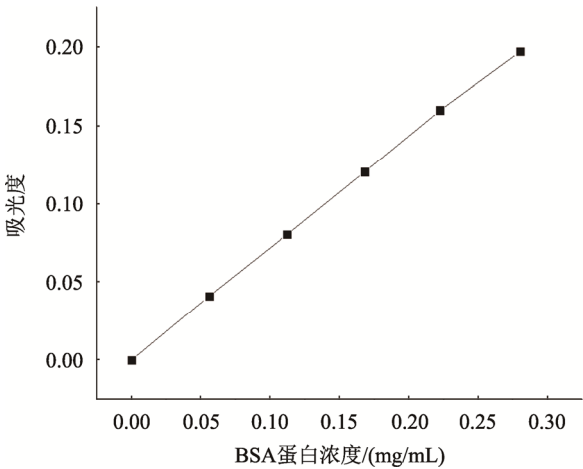


图 6 BSA 蛋白浓度标准曲线
Fig.6 Standard curve of protein concentration of BSA

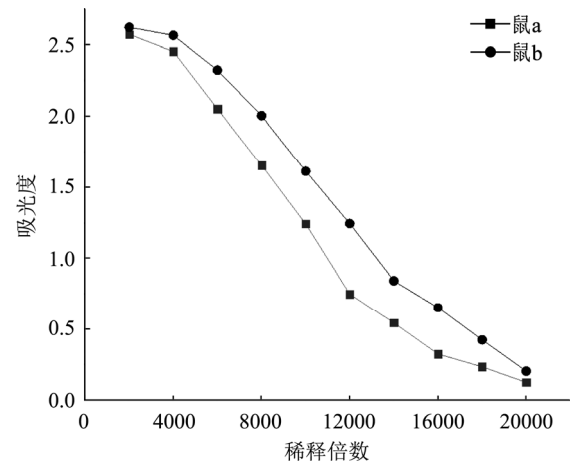


图 7 EC 抗血清的效价
Fig.7 EC Antiserum titer

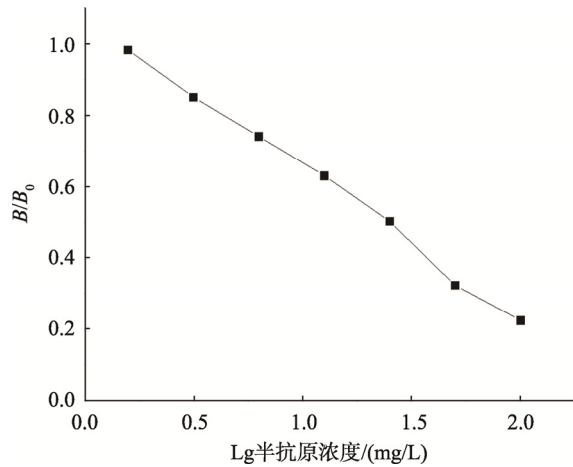


图 8 EC 抗血清的标准抑制曲线
Fig.8 Standard inhibition curve of EC antiserum

表 1 交叉反应实验结果
Table 1 Results of cross-reaction experiments

类似物	IC ₅₀ /(mg/mL)	交叉反应率 S/%
EC 衍生物	22.91	100
4-(二苯基羟甲基)苯甲酸	> 10 ⁵	<0.01
MC 衍生物	779.83	2.93
BC 衍生物	602.56	3.80

4 结论与讨论

本研究合成了一种新型氨基甲酸酯半抗原并成功制备了人工抗原, 该人工抗原具有较好的免疫活性。与已报道的文献相比, 首次使用 4-(二苯基羟甲基)苯甲酸对氨基甲酸酯进行衍生化, 而非直接将氨基甲酸酯和载体蛋白偶联, 这样既可以避免载体蛋白对特征结构的掩蔽, 又能增强人工抗原的免疫原性。在本研究的基础上, 未来可以继续制备灵敏度和特异性更高的氨基甲酸酯单克隆抗体, 用于酶联免疫和免疫层析的方法建立, 为氨基甲酸酯的快速检测提供可行的途径。

参考文献

[1] Wu PG, Cai CG, Shen XH, *et al.* Formation of ethyl carbamate and changes during fermentation and storage of yellow rice wine [J]. Food Chem, 2014, (152): 1–6.

[2] Nettleship A, Henshaw PS, Meyer HL. Induction of pulmonary tumors in mice with ethyl carbamate (Urethane) [J]. J Natl Cancer I., 1943, 4(3): 309–319

[3] Allen N, Anderson LM, Beland FA, *et al.* IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. alcohol consumption and ethyl carbamate [J]. Iarc Monogr Eval Carcinog Risk Hum, 2010, 96(6): 1383–1383

[4] Liao QG, Li WH, Lin GH. Ultrasound-assisted emulsification–microextraction for the sensitive determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages [J]. Anal Bioanal Chem, 2013, 405(21): 6791–6797

[5] D’avila GB, Cardoso MG, Santiago WD, *et al.* Quantification of ethyl carbamate in cachaca produced in different agro-industrial production systems [J]. J IBrew, 2016, 122(2): 299–303

[6] Li GH, Zhong QD, Wang DB, *et al.* Determination and formation of ethyl carbamate in Chinese spirits [J]. Food Control, 2015, (56): 56–59.

[7] Stepan H, Pani J, Pummer S, *et al.* Sensitive determination of ethyl carbamate in smokeless tobacco products and cigarette smoke using SPE and HPLC–APCI–MS/MS [J]. Chromatographia, 2015, 78(9–10): 675–681.

[8] Xia Q, Yang CJ, Wu CD, *et al.* Quantitative strategies for detecting different levels of ethyl carbamate (EC) in various fermented food matrices: An overview [J]. Food Control, 2018, (84): 53–60.

[9] Song J, Wang RM, Wang YQ, *et al.* Hapten design, modification and preparation of artificial antigens [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 38(8): 1383–1383

- 98–105.
- [10] 徐顺清, 刘衡川. 免疫学检验 第2版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- Xu SQ, Liu HC. Immunological test (2nd ed). [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015.
- [11] 郭明, 周伟, 周珊, 等. 新型氨基甲酸酯人工抗原的分析表征方法研究[J]. 分析化学, 2013, 41(2): 193–198.
- Guo M, Zhou W, Zhou S, *et al.* Analysis and characterization of novel urethane artificial antigens [J]. Chin J Anal Chem, 2013, 41(2): 193–198.
- [12] 任勃儒. 发酵醋液中氨基甲酸酯免疫快速检测技术研究[D]. 保定: 河北大学, 2016.
- Ren BR. Research on rapid immunoassay detection of ethyl carbamate in fermented vinegar [D]. Baoding: Hebei University, 2016.
- [13] Baba AR, Gowda DC. Utilization of 3-ethyl-1-(N,N-dimethyl) aminopropylcarbodiimide (EDCI)/1-hydroxybenzotriazole (HOBt) as a polymerizing agent [J]. Lett Peptid Sci, 2001, 8(6): 309–318.
- [14] Dandu RR, Mohamed AI, Robert LH, *et al.* A simple synthetic protocol for the protection of amides, lactams, ureas, and carbamates [J]. Tetrahedron Lett, 2002, 43(45): 8063–8066.
- [15] 蔡敏, 周常义, 李健, 等. 黄曲霉毒素B₁人工抗原的制备及鉴定[J]. 湖南农业科学, 2013, (23): 10–13.
- Cai M, Zhou CY, Li J, *et al.* Preparation and identification of aflatoxin B₁ artificial antigen [J]. Hunan Agric Sci, 2013, (23): 10–13.
- [16] 焦洁. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定苜蓿中可溶性蛋白含量[J]. 农业工程技术, 2016, 36(17): 33–34.
- Jiao J. Determination of soluble protein content in sputum by coomassie brilliant blue G-250 staining method [J]. Agric Eng Technol, 2016, 36(17): 33–34.
- [17] 张岩蔚, 金艳丹, 栗慧, 等. 氨基西林人工抗原的合成及鼠源多克隆抗体的制备[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018, (1): 227–229.
- Zhang YW, Jin YD, Li H, *et al.* Synthesis of ampicillin artificial antigen and preparation of mouse polyclonal antibody [J]. Heilongjiang Anim Husbandr Veter Med, 2018, (1): 227–229.
- [18] 邢云瑞, 姚静静, 邢广旭, 等. 环丙氨嗪完全抗原的合成及免疫原性鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 68–73.
- Xing YR, Yao JJ, Xing GX, *et al.* Synthesis and immunogenicity identification of cyromazine complete antigen [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(1): 68–73.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



马晓驰, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: tiaotiao@outlook.com

孙玉凤, 副研究员, 主演研究方向为农产品功能因子研究与利用。

E-mail: yufengsuncaas@163.com



陈卫华, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: chenweihua_foods@163.com