

飞行时间质谱即用型金黄色葡萄球菌 质控样品研究

张涛¹, 张雅伦¹, 刘广鹏¹, 陈晨¹, 郭楠楠¹, 李献¹, 周巍^{1,2*}

(1. 河北省食品检验研究院, 河北省食品安全重点实验室, 石家庄 050000;

2. 河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050000)

摘要: **目的** 评估即用型金黄色葡萄球菌质控样品在飞行时间质谱技术中的应用价值。**方法** 将金黄色葡萄球菌质控样品分别在 37 °C 和室温环境 25 °C 进行运输稳定性实验, 在 4 及 -20 °C 条件下进行储藏稳定性实验, 并评价其稳定性。对保存在 -20 °C 条件下不同时间的金黄色葡萄球菌质控样品进行质谱鉴定, 并做 VITEK 全自动微生物分析系统鉴定及血浆凝固酶试验鉴定。**结果** 即用型金黄色葡萄球菌质控样品稳定, 质谱图相近, 所得蛋白峰信息仅存微小差异, 匹配度良好。VITEK 全自动微生物分析系统及血浆凝固酶实验结果均为金黄色葡萄球菌, 满足飞行时间质谱技术所需质控样品条件。**结论** 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术直接检测金黄色葡萄球菌具有简单快速、准确性高等优点, 相较传统方法操作简单, 检验结果更加直观, 为飞行时间质谱技术鉴定金黄色葡萄球菌提供及时、准确的依据。

关键词: 金黄色葡萄球菌; 质控样品; 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱

Study on quality control samples of ready-to-use *Staphylococcus aureus* by time-of-flight mass spectrometry

ZHANG Tao¹, ZHANG Ya-Lun¹, LIU Guang-Peng¹, CHEN Chen¹, GUO Nan-Nan¹,
LI Xian¹, ZHOU Wei^{1,2*}

(1. Hebei Food Inspection and Research Institute, Hebei Food Safety Key Laboratory, Shijiazhuang 050000, China;

2. College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050000, China)

ABSTRACT: **Objective** To evaluate the application value of ready-to-use *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) quality control samples in time-of-flight mass spectrometry. **Methods** The stability of *S. aureus* quality control samples was tested at 37 °C and room temperature 25 °C respectively, and the storage stability was test at 4 and -20 °C, and the stability was evaluated. The quality control samples of *Staphylococcus aureus* stored at -20 °C for different periods were identified by mass spectrometry, VITEK automatic microbial analysis system and plasma coagulase test. **Results** The ready-to-use *Staphylococcus aureus* quality control samples were stable and the mass

基金项目: 科技部“食品安全关键技术研发”重点专项项目(2017FYC1601400)、河北省高层次人才资助项目(A201905002)、河北省市场监管局科技计划(2020ZD11)

Fund: Supported by the Special Program for Key Technology in Food Safety of the Ministry of Science and Technology of China (2017FYC1601400), Hebei High-level Talent Funding Project (A201905002), Science and Technology Plan of Hebei Market Supervision Bureau(2020ZD11)

***通讯作者:** 周巍, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: zhouwei0311@163.com

***Corresponding author:** ZHOU Wei, Professor, Hebei Food Inspection and Research Institute, Hebei Food Safety Key Laboratory, Shijiazhuang 050000, China. E-mail: zhouwei0311@163.com

spectra were similar. The protein peak information obtained has only slight differences and good matching. The results of the VITEK automatic microbiological analysis system and the plasma coagulase experiment were both *Staphylococcus aureus*, which meet the quality control sample conditions required by time-of-flight mass spectrometry. **Conclusion** MALDI-TOF MS technology for direct detection of *Staphylococcus aureus* has the advantages of simple, rapid and high accuracy. Compared with traditional methods, the operation is simple and the test results are more intuitive, so as to provide a timely and accurate basis for the identification of *Staphylococcus aureus* by time-of-flight mass spectrometry.

KEY WORDS: *Staphylococcus aureus*; standard sample; matrix-assisted laser analytical ionization time-of-flight mass spectrometry

1 引言

近年来,食品安全问题日益凸显。金黄色葡萄球菌引发多起食物中毒事件,已位居由食源性致病菌引发食品安全事故第4位。国际食品微生物规格委员会(The International Food Microbiological Specifications Committee, ICMSF)把金黄色葡萄球菌列为中度直接局部传播性病原菌^[1]。金黄色葡萄球菌生命力强,分布广泛,可存在于空气、水、灰尘以及人类和动物排泄物中,因此很容易污染食品^[2]。金黄色葡萄球菌是常见的食源性致病菌,可引起皮肤软组织感染、肺炎、心内膜炎、脑膜炎、骨髓炎、败血症、肠炎、中毒性休克综合征等^[3]。美国疾病控制中心报告显示,在美国金黄色葡萄球菌肠毒素引起的食物中毒事件占有细菌性食物中毒事件的33%,加拿大有更多,占45%^[4],中国也时常发生此类事件^[5,6]。2017年6月1日,钦州市康熙岭镇高沙村某幼儿园儿童食物中毒。钦州市疾病预防控制中心采集27份肛拭子等样品做常规检测。结果显示,所有样品均未检出沙门菌、志贺菌、蜡样芽胞杆菌和单增李斯特菌,有14份样品检出金黄色葡萄球菌。进一步对金黄色葡萄球菌做肠毒素鉴定,结果全部检出A型金黄色葡萄球菌肠毒素^[7]。可见,金黄色葡萄球菌致病性强、分布广泛,是引起食源性疾病的重要致病菌。

我国逐渐加强对食品微生物的监控力度,金黄色葡萄球菌是被监控的主要对象。目前,检验金黄色葡萄球菌的方法主要有传统血清分型检验,计算机视觉技术^[8],PCR技术检测^[9],基因检测^[10],纳米技术^[11]等。

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是近年发展起来用于病原微生物快速鉴定的一种方法^[12]。可以实现对未知微生物的快速鉴定、分型、溯源等^[13]。目前,飞行时间质谱技术可以鉴定金黄色葡萄球菌、沙门菌、宋内志贺菌、单增李斯特菌、大肠杆菌以及厌氧菌,并取得了较好的分析结果^[14-18]。由于较为缺少阳性参考物质,本实验室自制金黄色葡萄球菌质控样品,通过以下实验将验证金黄色葡萄球菌质控样品在飞行

时间质谱技术上的应用价值,为相关研究提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

3K15台式高速离心机(德国Sigma公司);MIR-254低温恒温培养箱(日本Sanyo公司);ME204电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);MALDI 7090质谱仪(日本岛津公司)。

胰酪胨大豆琼脂培养基(北京陆桥技术有限责任公司);无水乙醇、甲酸、乙腈(质谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司);CCA基质液(法国LaserBioLabs公司)。

金黄色葡萄球菌标准菌株(CMCC 26301,中国食品药品检定研究院)。

2.2 实验方法

2.2.1 金黄色葡萄球菌质控样品制备及检测

(1)制备过程

将金黄色葡萄球菌标准菌株接种于胰酪胨大豆琼脂培养基。配制浓度为15%蔗糖(分子量342)、8%葡聚糖(分子量40000)、5%BSA的保护剂。将活化的金黄色葡萄球菌标准菌株加入保护剂中,振荡混匀,制作OD值为2.5的菌悬液,分为100 μL滴入盛有液氮的西林瓶中,放入真空冷冻干燥机,设置程序预冻-20℃ 200 min, -40℃ 200 min;冷冻干燥-30℃ 360 min,真空度(Vac)150 mTorr, -20℃ 480 min, Vac 150 mTorr;最终维持在-20℃, Vac 100 mTorr状态,制得冻干菌球。

(2)计数方法

将未开启的冻干菌球瓶取出,温度恢复至室温后,用酒精擦拭铝塑盖和胶塞并开启。放入10 mL无菌生理盐水,振荡均匀,稀释,倾注适量TSA培养基,于36℃恒温培养箱中培养24 h,计数。

(3)飞行质谱检验

a.把菌球转移至2 mL离心管中,加入100 μL灭菌的生理盐水,充分振荡均匀。放入离心机,设置转速为12500 r/min,离心时间5 min。离心后,取沉淀。再加100 μL灭菌的生理盐水重复离心3次。加入1 mL 75%乙醇振荡均

匀, 12500 r/min 离心 2 min 倒掉上清保留沉淀。加入 50 μ L 70%甲酸振荡 2 min, 加入 50 μ L 乙腈振荡 2 min。放入离心机, 设置转速为 12500 r/min, 离心时间 2 min, 保留上清。取 1 μ L 加到飞行质谱靶板上, 待溶液挥发干后, 加 1 μ L 基质。当质谱靶板完全干燥后, 放入基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪中,

b. 设置质荷比(m/z)2000~20000 Da 范围内进行检测。根据 MALDI-TOF 分析得出的特征性的质谱图分析特异性的蛋白质或多肽离子峰, 实现区分和鉴定的目的。

2.2.2 质控样品稳定性研究

(1) 运输条件模拟试验

将金黄色葡萄球菌质控样品放置于 37 $^{\circ}$ C 和室温环境 25 $^{\circ}$ C。模拟实验周期为 2 周, 分别在第 0、1、3、5、7、14 d 测试观察, 每个质控样品做 3 个平行。以验证此温度下金黄色葡萄球菌质控样品的稳定性。

(2) 储存条件模拟试验

将金黄色葡萄球菌质控样品放置于 4 及 -20 $^{\circ}$ C 条件下, 模拟实验周期为 4 周, 分别在第 0、1、3、5、7、14、28 d 测试观察, 每个质控样品做 3 个平行。以验证此温度下金黄色葡萄球菌质控样品的稳定性。

2.2.3 金黄色葡萄球菌质控样品鉴定

将菌球活化, 挑取单菌落用 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统鉴定, 并做血浆凝固酶试验。

3 结果与分析

3.1 金黄色葡萄球菌质控样品

本方法制得金黄色葡萄球菌质控样品为白色菌球, 形态规则; 干燥剂未变色, 除水彻底。满足实验要求, 可以作为后续实验样品, 如图 1。



图 1 金黄色葡萄球菌质控样品

Fig.1 *Staphylococcus aureus* quality control samples

3.2 金黄色葡萄球菌质控样品的温度稳定性

根据实验结果(图 2)可知, 于 37 $^{\circ}$ C 环境下保存 14 d 内, 金黄色葡萄球菌质控样品活菌数量仍能保存在平稳水平, 数量在 14 d 内波动较小, 而在 25 $^{\circ}$ C 保存环境下, 14 d 内活菌含量非常稳定, 含量没有下降, 可以满足定性样品的要求。由上述实验数据可知, 金黄色葡萄球菌质控样品在非高温天气, 可以常温运输; 在高温天气, 可以在泡沫箱里加冰袋运输。

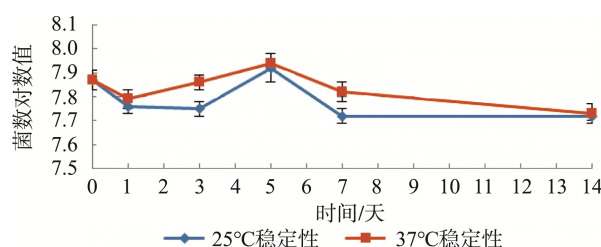


图 2 金黄色葡萄球菌质控样品运输条件模拟实验稳定性趋势图

Fig.2 Stability trend of simulation experiment of transport conditions of *Staphylococcus aureus* quality control samples

对本批次生产的金黄色葡萄球菌质控样品进行为期 28 d 的保藏稳定性监测, 如表 1, -20 $^{\circ}$ C 保藏 28 d 复苏率为 86.67%, 表明 -20 $^{\circ}$ C 条件下, 金黄色葡萄球菌质控样品稳定性良好, 根据以往对金黄色葡萄球菌质控样品的制备经验, 在 -20 $^{\circ}$ C 条件下可以保存长达 18 个月; 4 $^{\circ}$ C 条件下, 保藏 28 d 复苏率为 96.00%, 可以作为短期储存条件。

稳定性是检验金黄色葡萄球菌质控样品重要指标, 本研究通过对金黄色葡萄球菌质控样品模拟运输条件试验和模拟储存条件试验证明了金黄色葡萄球菌质控样品的稳定, 可以满足飞行时间质谱技术质控样品的要求。

3.3 金黄色葡萄球菌质控样品飞行质谱检测结果

通过 3 次测得质控样品质谱图(图 3)可见, 图像的基线均平稳, 没有合峰和其他杂峰的干扰。峰信号强度适宜, 两次所得结果主要峰值出现位置相同, 信号强度相近。所得蛋白峰信息仅存微小差异, 匹配度良好。

综上所述, 本研究证明即用型金黄色葡萄球菌质控样品可以满足飞行时间质谱质控样品的要求。

3.4 金黄色葡萄球菌质控样品生化反应鉴定结果

VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统测定结果为金黄色葡萄球菌, 可信度为 98%。血浆凝固酶结果显示为阳性, 如表 2。综合以上结果, 本菌株为血浆凝固酶阳性的金黄色葡萄球菌。

表 1 金黄色葡萄球菌质控样品模拟储存条件试验结果(n=3)
Table 1 Test results of simulated storage conditions of *Staphylococcus aureus* standard substance(n=3)

时间/d	4 ℃下的菌数(×10 ⁷ CFU/样品)	4 ℃下的菌株复苏率/%	-20℃下的菌数(×10 ⁷ CFU/样品)	-20 ℃下的菌株复苏率/%
0	7.50±0.61	/	7.50±0.61	/
1	6.50±0.36	86.67±4.81	6.80±0.46	90.67±6.11
3	7.20±0.89	96.00±11.85	7.90±0.62	105.33±8.33
5	7.30±0.62	97.33±8.33	8.40±0.70	112.00±9.33
7	6.80±0.50	90.67±6.67	7.30±0.92	97.33±12.22
14	5.80±0.44	77.33±5.81	7.50±0.46	100.00±6.11
28	7.20±0.26	96.00±3.53	6.50±0.62	86.67±8.33

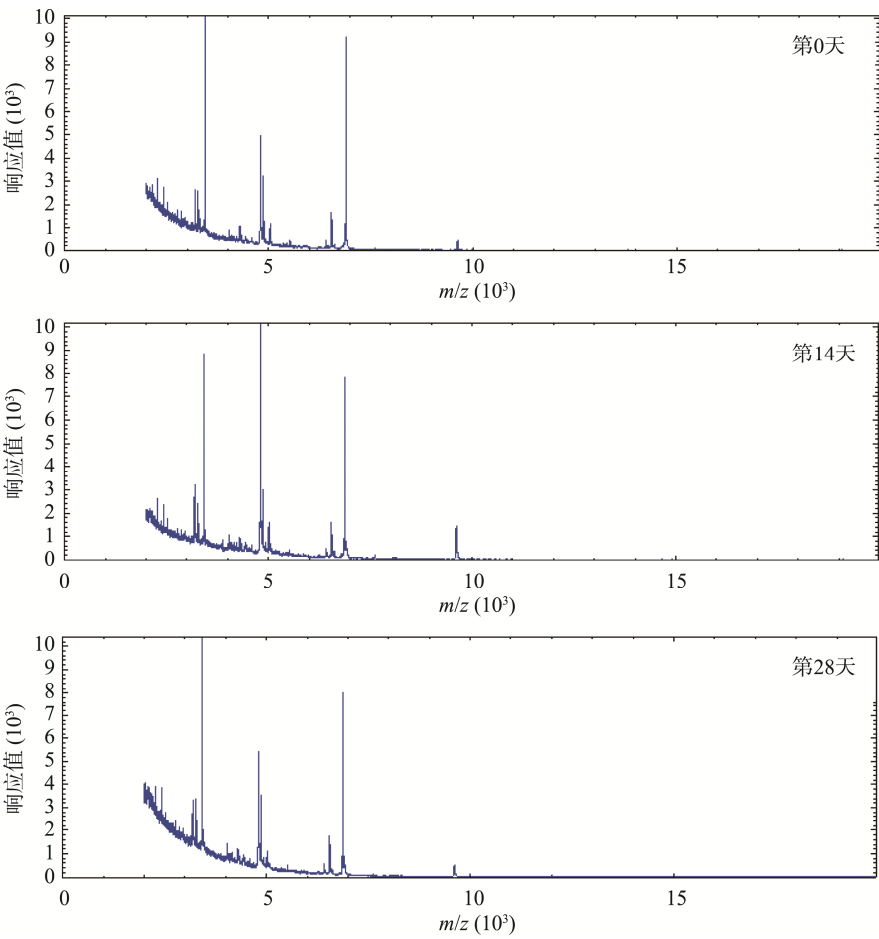


图 3 不同时间金黄色葡萄球菌质控样品质谱图
Fig.3 Mass spectrum of quality control samples of *Staphylococcus aureus* at different times

表 2 金黄色葡萄球菌质控样品生化反应鉴定结果

Table 2 Identification results of biochemical reactions of quality control samples of *Staphylococcus aureus*

生化反应	结果	生化反应	结果	生化反应	结果	生化反应	结果	生化反应	结果	生化反应	结果
AMY	-	PIPLC	-	dXYL	-	ADH1	+	BGAL	-	AGLU	-
APPA	-	CDEX	-	AspA	-	BGAR	-	AMAN	-	PHOS	+
LeuA	-	ProA	-	BGURr	-	AGAL	-	PyrA	+	BGUR	-
AlaA	-	TyrA	-	dSOR	-	URE	-	POLYB	-	dGAL	+
dRIB	+	ILATk	-	LAC	-	NAG	(-)	dMAL	+	BACI	+
NOVO	(+)	NC6.5	+	dMAN	+	dMNE	+	MBdG	+	PUL	-
dRAF	-	O129R	+	SAL	-	SAC	+	dTRE	+	ADH2s	-
OPTO	+	血浆凝固酶试验	+								

4 结 论

MALDI-TOF MS 鉴定是近年来发展起来的一种病原微生物鉴定方法,是对传统和基因型鉴定方法的补充,通过细菌特异性蛋白图谱与标准参考菌株的MALDI-TOF MS 图谱进行比较而得出鉴定结果,因而更为准确与直接^[19,20]。

即用型金黄色葡萄球菌质控样品在 4 和-20℃条件下均保持了良好的复苏率,说明可以在一定时间内保存,能提供较长的有效期。且在 37 和 25℃环境中质控样品活菌量波动较小,满足日常运输条件,具有良好稳定性。在-20℃储存条件下进行的质谱实验,实验结果显示质谱图差异性较小,并未出现其他杂峰,表明在不同时间质控样品活性仍然很强,没有被污染,实际应用中可以作为实验对照。并且具有操作过程简便,即取即用等优点。即用型金黄色葡萄球菌质控样品促进我国对金黄色葡萄球菌质谱方法检验的标准化、规范化,提高食品中金黄色葡萄球菌鉴定的准确性。基于飞行质谱技术所需的参考物质主要由国外垄断,尚无此类产品,即用型金黄色葡萄球菌质控样品能减少我国各研究机构对国外参考物质的依赖,增加我国自主知识产权的权重,提升食品安全突发事件的处置能力和风险监测预警能力。

参考文献

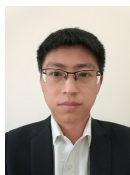
[1] 谭静, 平洋, 朱海华. 金黄色葡萄球菌两种检测方法的比较研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(6): 2277-2280.
Tan J, Ping Y, Zhu HH. Comparative study of two detection methods for *Staphylococcus aureus* [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(6): 2277-2280.
[2] 宋晓红, 刘晔, 乔玫, 等. 山西省 2010—2016 年九类食品中金黄色葡萄球菌污染监测[J]. 中国公共卫生管理, 2019, 35(2): 241-244.
Song XH, Liu Y, Qiao M, et al. Surveillance of *Staphylococcus aureus* in

nine types of food in Shanxi province from 2010 to 2016 [J]. Chin Publ Health Manag, 2019, 35(2): 241-244.
[3] 魏伯筠. 金黄色葡萄球菌所致的感染[J]. 成都大学学报(自然科学版), 1994, (2): 59-62.
Wei BY. Infection caused by *Staphylococcus aureus* [J]. J Chengdu Univ (Nat Sci Ed), 1994, (2): 59-62.
[4] 高朋, 王毅, 钱瑞昱. 一起金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件检测结果分析[J]. 安徽预防医学杂志, 2017, 23(4): 271-274.
Gao P, Wang Y, Qian RG. Analysis of the results of a food poisoning event caused by *Staphylococcus aureus* [J]. Anhui J Prev Med, 2017, 23(4): 271-274.
[5] 金亮, 李达, 王勇雁, 等. 2012~2016 金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌分布及耐药趋势分析[J]. 临床输血与检验, 2018, 20(1): 68-72.
Jin L, Li D, Wang YY, et al. Analysis of distribution and drug resistance trend of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* from 2012 to 2016 [J]. Clin Blood Transfus Test, 2018, 20(1): 68-72.
[6] 王小龙, 崔家瑞, 朱莉勤, 等. 苏州市 154 株金黄色葡萄球菌耐药监测及脉冲场凝胶电泳分型[J]. 现代预防医学, 2019, 46(8): 1473-1477.
Wang XL, Cui JR, Zhu LQ, et al. Resistance monitoring of 154 strains of *Staphylococcus aureus* and typing of pulsed field gel electrophoresis in Suzhou [J]. Mod Prev Med, 2019, 46(8): 1473-1477.
[7] 陈永正, 黄晓霞, 劳其平, 等. 1 起金黄色葡萄球菌引起某幼儿园儿童食物中毒调查[J]. 中国校医, 2018, 32(7): 500-502.
Chen YZ, Huang XX, Lao QP, et al. Investigation of a food poisoning caused by *Staphylococcus aureus* in a kindergarten child [J]. Chin Sch Doc, 2018, 32(7): 500-502.
[8] 张超楠. 食品中金黄色葡萄球菌的快速检测方法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
Zhang CN. Study on rapid detection method of *Staphylococcus aureus* in food [D]. Changchun: Jilin University, 2012.
[9] 邓凯伟, 马德青, 赵云焕. 引起奶牛隐性乳房炎的金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙雷氏菌的多重 PCR 检测[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, (8): 90-92.
Deng KW, Ma DQ, Zhao YH. Multiple PCR detection of *Staphylococcus*

- Aureus*, *Escherichia coli* and *Serratia* induced by recessive mastitis in cows [J]. *Heilongjiang Anim Sci Vet Med*, 2019, (8): 90–92.
- [10] 范继荣, 杨昊, 董传江, 等. 金黄色葡萄球菌 *pvl* 基因检测与分布研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(8): 1142–1145.
- Fan JR, Yang H, Dong CJ, *et al.* Study on detection and distribution of *pvl* gene of *Staphylococcus aureus* [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2019, 29(8): 1142–1145.
- [11] 冯晓晨. 纳米有机框架材料的构建及其在治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌方面的研究[D]. 保定: 河北大学, 2018.
- Feng XC. Construction of nano-organic framework materials and its research on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [D]. Baoding: Hebei University, 2018.
- [12] Oliver B. MALDI-TOF-MS-based species identification and typing approaches in medical mycology [J]. *Proteomics*, 2013, 13(5): 788–798.
- [13] 赵剑虹, 高艳, 李书明, 等. 沙门菌基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱方法研究[J]. *中国人兽共患病学报*, 2017, 33(8): 705–709.
- Zhao JH, Gao Y, Li SM, *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry of *Salmonella* [J]. *Chin J Zoonoses*, 2017, 3(8): 705–709.
- [14] 鲍春梅, 崔恩博, 陈鹏, 等. MALDI-TOF-MS 鉴定宋内志贺菌的初步应用研究[J]. *传染病信息*, 2012, 25(1): 10–13.
- Bao CM, Cui EB, Chen P, *et al.* Preliminary application of MALDI-TOF-MS to identify *Shigella* spp. [J]. *Infect Dis Inf*, 2012, 25(1): 10–13.
- [15] 王耀, 曹际娟, 赵昕, 等. 单增李斯特氏菌 MALDI-TOF-MS 鉴定与分型研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(3): 194–198.
- Wang Y, Cao JJ, Zhao X, *et al.* Identification and typing of *Listeria monocytogenes* MALDI-TOF-MS [J]. *Food Sci*, 2012, 33(3): 194–198.
- [16] 李滨洲, 陈飞, 郭珍珍, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术分离鉴定生鲜猪肉中沙门氏菌/大肠杆菌类似菌[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(04): 717–722.
- Li BZ, Chen F, Guo ZZ, *et al.* Isolation and identification of *Salmonella/Escherichia coli*-like bacteria in fresh pork by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(4): 717–722.
- [17] Yamamoto S, Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61(3): 1104.
- [18] 董青, 史静柯, 王海花, 等. 郑州地区 7 株鸭源鸡杆菌的 MALDI-TOFMS 鉴定及其生物学特性分析[J]. *河南农业科学*, 2017, 46(10): 143–147.
- Dong Q, Shi JK, Wang HH, *et al.* MALDI-TOFMS identification and analysis of biological characteristics of 7 duck-derived chicken bacilli in Zhengzhou [J]. *Henan Agric Sci*, 2017, 46(10): 143–147.
- [19] 李闽真, 郑盈翔, 叶玲清, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法对金黄色葡萄球菌的鉴定效果[J]. *海峡预防医学杂志*, 2018, 24(6): 58–60.
- Li MZ, Zheng YX, Ye LQ, *et al.* Identification of *Staphylococcus aureus* by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry [J]. *J Strait Prev Med*, 2018, 24(6): 58–60.
- [20] 王晔茹, 崔生辉, 李凤琴. 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱在沙门菌检测和鉴定分型中的应用研究[J]. *卫生研究*, 2008, (6): 685–689.
- Wang YR, Cui SH, Li FQ. Application of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in detection and identification of *Salmonella* [J]. *Health Res*, 2008, (6): 685–689.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



张涛, 主要研究方向为微生物, 分子生物学。

E-mail: zhangtao9106@sina.com



周巍, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: zhouwei0311@163.com