

壳聚糖生姜精油涂膜对鲜银耳活性氧代谢和组织超微结构的影响

罗 杨^{1,3},李 娟¹,陈 岗^{1,2},吴 振^{1,3},詹 永^{1,2},廖 霞¹,杨 勇^{1,2*}

¹重庆市中药研究院; ²重庆市中药大健康工程技术研究中心; ³中药健康学重庆市重点实验室,重庆 400065

摘要:为探讨壳聚糖生姜精油涂膜保鲜处理对采后鲜银耳活性氧代谢的影响,用浓度为1.0%壳聚糖-生姜精油处理新鲜银耳,测定其对鲜银耳抗病性及活性氧代谢的影响。结果表明,壳聚糖生姜精油处理显著降低鲜银耳发病率及病情指数($P < 0.05$);涂膜处理可在贮藏前期促进 O_2^- 含量升高,并提高PPO、CAT和SOD活性,抑制POD活性。说明壳聚糖-生姜精油涂膜处理可以诱导银耳体内活性氧爆发,加速银耳体内活性氧清除反应,增强银耳抗病性,延缓鲜银耳采后成熟衰老。超微结构观察表明,壳聚糖-生姜精油成膜液形成致密的网状结构,附着在银耳表面,填充了银耳菌丝细胞空隙,隔绝外界微生物的侵染,防止鲜银耳水分及营养成分流失。

关键词:壳聚糖;生姜精油;鲜银耳;涂膜保鲜;活性氧代谢

中图分类号:TS255.3

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)8-1405-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.8.017

Effect of chitosan ginger oil coating on ROS metabolism and microstructure of fresh tremella

LUO Yang^{1,3}, LI Juan¹, CHEN Gang^{1,2}, WU Zheng^{1,3}, ZHAN Yong^{1,2}, LIAO Xiao¹, YANG Yong^{1,2*}

¹Chongqing Academy of Chinese Materia Medica;

²Chongqing Engineering Technology Research Center of Materia Medica Health;

³Chongqing Key Laboratory of Chinese Medicine & Health Science, Chongqing 400065, China

Abstract: The effect of chitosan ginger essential oil coating preservation treatment on active oxygen metabolism of fresh tremella was investigated. The concentration of 1.0% chitosan ginger essential oil was used to treat fresh tremella, and the effects of chitosan ginger essential oil on disease resistance and active oxygen metabolism of fresh tremella were determined. The results showed that chitosan ginger essential oil coating treatment significantly reduced the disease incidence and index of fresh tremella ($P < 0.05$). In the early stage of storage, the contents of O_2^- , the activities of PPO, CAT and SOD were increased, and the POD activity was inhibited. The results showed that chitosan ginger oil coating treatment could induce reactive oxygen species (ROS) and accelerate ROS scavenging reaction in tremella, also enhance disease resistance, delay the maturity and senescence of fresh tremella. The ultrastructure observation showed that the chitosane-ginger essential oil membrane forming liquid formed a dense network structure, adhered to the surface of tremella, filled the space of tremella mycelium cells, isolated the infection of external microorganisms, and prevented the loss of water and nutrients of fresh tremella.

Key words: chitosan; ginger oils; fresh tremella; coating preservation; reactive oxygen species metabolism

银耳(*Tremella fuciformis*)是一种优质的药食两用菌。中医认为银耳具有滋阴润肺、养胃生津的功效^[1]。银耳含有多种多糖、黄酮类酚类、以及多种氨基

酸等活性成分,被称为“菌中之王”^[2]。鲜银耳虽营养丰富,但含水量极高,采后极易腐烂变质,故银耳一般以干制品形式出售,严重降低了银耳的营养品质及附加值。随着近年来各种绿色高效的保鲜技术的研究和发展,银耳有望摆脱传统干制产品的命运,实现安全鲜销。其中,包括壳聚糖、香辛料精油等天然保鲜剂因其高效、方便、安全、天然,越来越受到关

收稿日期:2020-02-28 接受日期:2020-07-09

基金项目:重庆市技术创新与应用示范(社会民生类)项目(cstc20

18jscx-mszdX0046, cstc2018jscx-msybX0209);重庆市科技局鲁渝科技协作项目(cstc2019jscx-lyzx0002)

*通信作者 E-mail:neimen@163.com

注^[3]。

壳聚糖是近年来备受人们关注的新型安全保鲜剂,在果蔬中应用较多,而在食用菌保鲜中的研究还不多。有研究表明,壳聚糖可明显降低双孢菇的失水率、硬度、腐烂度、开伞率和褐变度,提高子实体可溶性蛋白、总糖、还原糖的含量,SOD 和 CAT 的活性也得到诱导提高,并可维持细胞膜的完整性,避免 PPO 与酚类物质接触,从而抑制双孢菇的褐变发生^[4]。此外,本文作者在之前的研究中也发现,壳聚糖在常温贮藏条件下能够显著降低鲜银耳的发病率和病情指数、诱导提高鲜银耳抗病及活性氧代谢能力^[5]。壳聚糖能够延缓果蔬成熟并保持其品质,其作用机理主要是利用其成膜性和抗菌性^[6]。但是,单纯的壳聚糖涂膜因其抗菌性能不甚理想,壳聚糖基复合涂膜被认为是加强保鲜效能的良好手段^[7]。生姜精油等香辛料精油中含有抗氧化性强的邻羟甲基苯甲酸内酯、酚类及其衍生物、黄酮类、聚乙炔、香豆素等活性成分,能够有效延缓食品中过氧化物的形成^[8],同时还对绝大多数的细菌、真菌、霉菌有较强的抑制效果^[9]。目前,生姜精油已被广泛应用到禽肉保鲜领域^[10]。故本文利用成膜性良好的壳聚糖与抗菌性较好的生姜精油进行复配,以此进一步提升保鲜能效。同时,目前我国生鲜冷链物流产业得到大幅度发展,鲜银耳已有望实现全冷链鲜销,因此有必要在前期研究基础上进一步探讨冷藏条件下复配保鲜剂对鲜银耳活性氧代谢的影响,并结合鲜银耳组织微观形貌特征对壳聚糖-生姜精油涂膜保鲜机理进行讨论,为进一步提升鲜银耳冷藏保鲜能效提供理论和实践基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试银耳:由双福国际农贸城鲜银耳批发商提供。选取朵形饱满、表面干净、无病虫害、大小相对一致、无机械损伤的新鲜银耳。

1.2 主要试剂

生姜精油:经超临界 CO₂ 萃取获得,由重庆华萃生物科技股份有限公司提供;壳聚糖:食品级,脱乙酰度 50% ~ 60%,黏度 200 mps,山东潍坊海之源生物科技有限公司提供。其他化学试剂:均为分析纯。

1.3 壳聚糖-生姜精油保鲜剂制备方法

将 10 g 壳聚糖溶于 1 L 0.5% (V/V) 乙酸水溶液中,放于恒温水浴锅中,70 °C 恒温水浴 20 min,搅

拌使其完全溶解,冷却后,加入 10 g 的生姜精油及 3 g 单甘酯,补足余量的水,磁力搅拌 20 min,将乳液高压均质 3 次,均质压力 35 MPa,均质后即得壳聚糖-生姜精油保鲜剂。

1.4 保鲜处理

选取质量为 130 ~ 150 g/朵的鲜银耳,清除菌体表面的杂质,喷洒壳聚糖-生姜精油保鲜液 20 次(每次剂量 1 mL)。对照处理组以蒸馏水喷洒 20 次(每次剂量 1 mL)。待银耳表面液体自然吸收沥干后,将其放入带盖的 PE 材质塑料保鲜盒中(每个盒子装 1 朵银耳),置于 4 °C, 相对湿度 90% 的环境中贮藏,定期观察及取样测定。

1.5 测定指标及方法

贮藏后第 0、10、20、30、40 天随机取样测定各种指标。

1.5.1 发病率的测定

每隔一段时间观察统计银耳发病率,壳聚糖-生姜精油涂膜处理组与对照组各 20 朵银耳,重复三次。

$$\text{发病率} = \frac{\text{发病银耳朵数}}{\text{银耳总朵数}} \times 100\%$$

1.5.2 病情指数测定

病情指数 = 100 × Σ (各级银耳朵数 × 各级代表值)/(银耳总朵数 × 最高级代表值)

0 级:全朵无病;1 级:全朵 25% 以下的耳片有少数病斑;2 级:全朵 50% 以下的耳片有少量病斑或 25% 以下的耳片有较多的病斑数;3 级:全朵 75% 以下的耳片发病或全朵 25% 以下的耳片完全霉变腐烂;4 级:全朵 75% 以上的耳片发病或全朵 50% 以下的耳片完全霉变腐烂 ~ 整朵霉变腐烂。

1.5.3 失重率的测定

采用称重法,每隔 12 h 测定一次银耳失重率,壳聚糖-生姜精油涂膜处理组与对照组各 10 朵银耳。重复三次。计算方法如下:

$$\text{失重率} = \frac{\text{贮藏前银耳的原始重量} - \text{贮藏后银耳重量}}{\text{贮藏前银耳的原始重量}} \times 100\%$$

1.5.4 过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的提取及活力测定

参照 Zauberman^[11]的方法测定。

1.5.5 超氧阴离子(O₂⁻)产生速率的测定

参照 Wang^[12]的方法测定。

1.5.6 过氧化氢(H₂O₂)含量测定

参照 Patterson^[13]的方法测定。

1.5.7 过氧化氢酶(CAT)提取及活力测定

取1.0 g鲜银耳,加入3.0 mL经4℃预冷的50 mmol/L磷酸缓冲液(pH7.5)(含5 mmol/L二硫代苏糖醇和2%聚乙烯吡咯烷酮),在冰浴条件下研磨匀浆,于4℃、12 000 rpm离心30 min,收集上清液,用于CAT活性测定。

CAT活性参考Beers和Sizer^[14]的方法测定。

1.5.8 超氧化物歧化酶(SOD)的提取及活力测定

SOD活性参考Luo^[5]的方法测定。

1.5.9 涂膜银耳的微观结构表征观察

采用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)对壳聚糖-生姜精油保鲜液处理后的鲜银耳分别在低温(4℃)贮藏0天和30天进行微观形貌观察,并设立空白对照银耳。

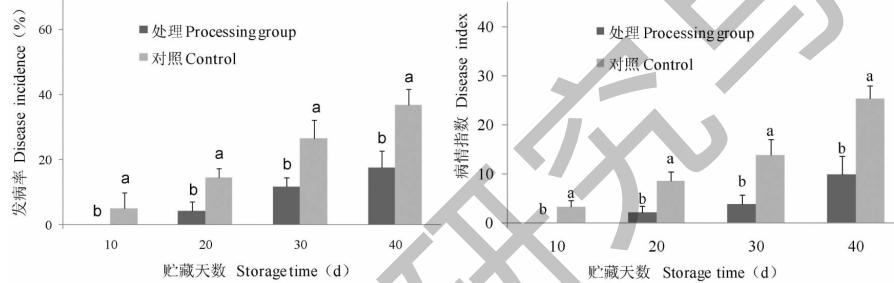


图1 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳自然发病率、病情指数的影响

Fig. 1 Effect of chitosan ginger oil coating treatment on disease incidence and disease index of fresh tremella

注:图中竖线代表标准误,下同;不同字母表示相同贮藏天数时与对照组差异显著。Note: Bars indicate the standard errors, the same below; Different letters indicated significant difference between the treatment group and the control group at the same storage days.

鲜银耳的壳聚糖-生姜精油涂膜处理组自然发病率和病情指数显著低于对照组($P < 0.05$)(图1)。处理组鲜银耳在4℃贮藏10天时发病率为0,而对照组发病率为5.0%;贮藏20天时处理组发病率为4.15%,对照组发病率为14.53%,对照组发病率约是处理组的3.5倍;贮藏40天后处理组发病率为17.6%,对照组发病率为36.7%,对照组比处理组高2.1倍。新鲜银耳在20℃贮藏10天时处理组病情指数为0,对照组为3.3;贮藏20天时处理组病情指数为2.13,对照组为8.56,对照组病情指数约是处理组的4倍;贮藏30天时处理组病情指数为3.86,对照组为13.75,对照组比处理组高3.56倍。整个贮藏期间,壳聚糖-生姜精油涂膜处理都显著降低了新鲜银耳的发病率和腐烂程度。

2.2 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳失重率的影响

壳聚糖有良好的成膜性,能在鲜银耳表面形成

具体方法是,取鲜银耳1 cm²左右,用双面胶粘于测试台,直接于离子溅射仪上喷镀金属铂,在SEM下观察其微观形貌。电镜测试条件为JEM-2000FX分析型扫描电子显微镜,加速电压为3.0 kV,不同倍数下比较观察保鲜液处理鲜银耳与对照样品表面微观形貌。

1.5.10 数据统计及图形分析

用Excel 2010统计分析所有数据,计算标准误、制图;并对数据进行方差分析,利用邓肯式多重比较对差异显著性进行分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳自然发病率、病情指数的影响

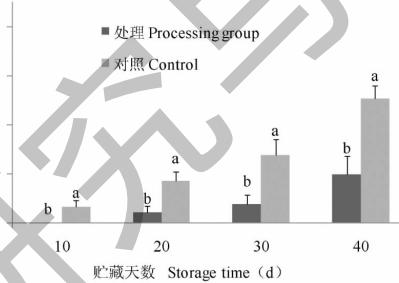


图2 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳失重率的影响

Fig. 2 Effect of chitosan ginger oil coating treatment on weight loss rate of fresh tremella

注: * 相同贮藏天数时与对照组差异显著,下同。Note: * There is significant difference between the treatment group and the control group at the same storage days, the same below.

组失重率为 6.75%, 失重率降低 53.3%, 二者差异显著($P < 0.05$)。整个贮藏期间, 壳聚糖-生姜精油涂膜处理都明显降低了鲜银耳失重率, 保持了银耳质量。

2.3 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳 POD、PPO 活性的影响

过氧化物酶(POD)是植物细胞中主要的氧化酶, 在许多果蔬上表现为一种衰老酶, 其活性提高是果蔬成熟衰老的体现^[18]。本研究结果表明, 鲜银耳的 POD 活性在贮藏期间呈先上升后下降趋势(图 3), 相比对照组在贮藏 10 天时 POD 活性急剧上升, 壳聚糖-生姜精油涂膜处理显著抑制了鲜银耳的

POD 活性, 活性比对照低 37.8%, 差异显著($P < 0.05$)。在整个贮藏期内, 处理组 POD 活性都低于对照组, 这表明壳聚糖-生姜精油涂膜有抑制鲜银耳 POD 活性上升的作用。

多酚氧化酶(PPO)是引起植物组织褐变的重要酶之一, 且与果蔬的抗病性有关^[19]。鲜银耳 PPO 活性在贮藏期间呈下降趋势(图 3)。但壳聚糖-生姜精油涂膜处理可延缓鲜银耳 PPO 活性下降, 在贮藏期间均高于对照, 且在第 10 天和 30 天时促进 PPO 活性上升。这表明壳聚糖-生姜精油涂膜处理提高了鲜银耳 PPO 活性, 从而延缓褐变、衰老, 延长鲜银耳的贮藏保鲜期。

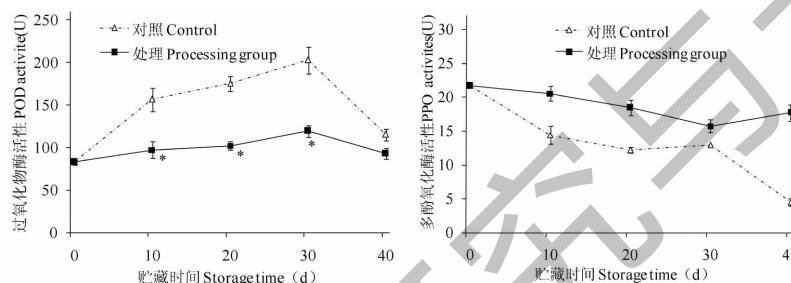


图 3 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳 POD、PPO 活性的影响

Fig. 3 Effect of chitosan ginger oil coating treatment on POD and PPOactivity of fresh tremella

2.4 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳 O_2^- 和 H_2O_2 含量的影响

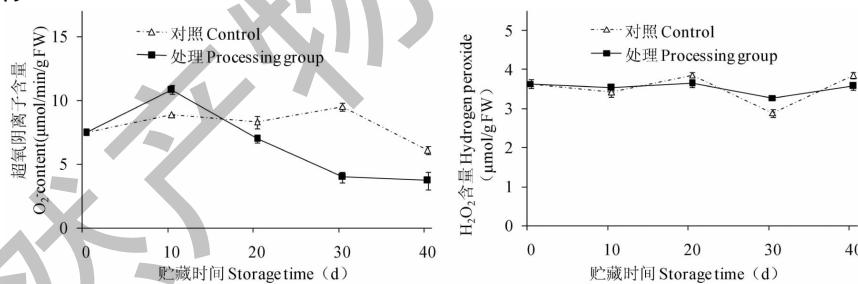


图 4 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳 O_2^- 及 H_2O_2 含量的影响

Fig. 4 Effect of chitosan ginger oil coating treatment on O_2^- and H_2O_2 contentof fresh tremella

超氧阴离子(superoxide anion, O_2^-)和过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)是生物体内重要的活性氧^[20]。鲜银耳 O_2^- 含量在贮藏期间呈现先上升后下降趋势(图 4), 处理组和对照组分别在第 10 天和第 30 天达到峰值, 处理组 O_2^- 含量在初期高于对照, 10 天以后逐渐下降, 在贮藏中后期都低于对照, 说明壳聚糖-生姜精油涂膜处理在贮藏初期促进了 O_2^- 的积累, 激活了银耳体内的活性氧爆发, 贮藏中后期活性氧代谢增强, 使 O_2^- 含量逐渐降低。

鲜银耳 H_2O_2 含量在贮藏期间变化不显著, 只是对照组银耳在第 20 天以后 H_2O_2 含量开始下降, 后又逐渐升高(图 4)。与鲜银耳经壳聚糖处理后在常温贮藏条件下 H_2O_2 含量逐渐下降^[5]这一试验结果不同, 整个贮藏过程 H_2O_2 含量趋于稳定, 这可能与银耳贮藏温度(4 °C)有关。有研究表明, 4 °C 条件下, 鲜切石榴中的 O_2^- 含量于 5 天和 7 天分别出现 2 个高峰, H_2O_2 含量则无明显变化^[21]。

2.5 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳 CAT、

SOD 活性的影响

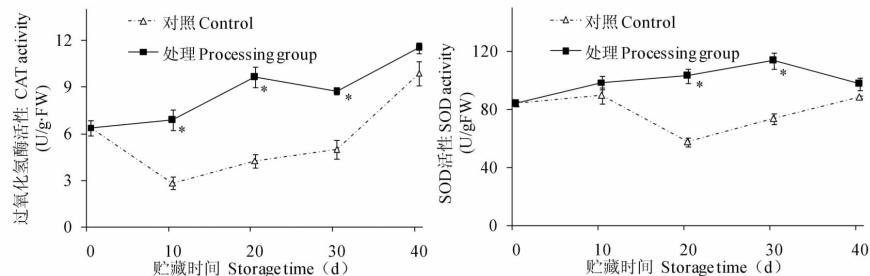


图 5 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳 CAT、SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of chitosan ginger oil coating treatment on CAT and SOD activity of fresh tremella

过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)在清除自由基、延缓衰老等方面有着重要的作用^[22]。鲜银耳CAT活性在贮藏期间呈先下降后逐渐上升趋势(图5),而壳聚糖-生姜精油涂膜处理可显著提高鲜银耳贮藏前期的CAT活性,第10天和第20天时其活性分别为对照组的2.4和2.5倍,差异显著($P<0.05$)。

SOD是活性氧清除反应中第一个发挥作用的抗氧化酶,它催化 O_2^- 发生歧化反应,生成 H_2O_2 和分子氧,从而清除了 O_2^- 。壳聚糖-生姜精油涂膜处理有促进鲜银耳SOD活性提高的作用(图5),贮藏第20天及30天时,处理组SOD活性为对照组的

1.79和1.54倍,差异显著($P<0.05$)。处理组SOD活性在贮藏期间呈上升趋势,与 O_2^- 含量在贮藏后期逐渐下降的结果一致。

2.6 壳聚糖-生姜精油涂膜处理对鲜银耳微观形貌特征的影响

从图6和图7的SEM扫描结果可看出,在贮藏初期(0天),对比A和B样品,保鲜液吸附在菌丝体上,并填充到子实体中,使得保鲜处理的鲜银耳的组织空隙被填满,菌丝细胞比对照变得更粗壮、饱满,而未经保鲜液处理的鲜银耳子实体表面则有很多充满水的空隙。低温贮藏30天后,涂膜保鲜液处理银耳(样品C)外观保持良好,微观形貌较贮藏初

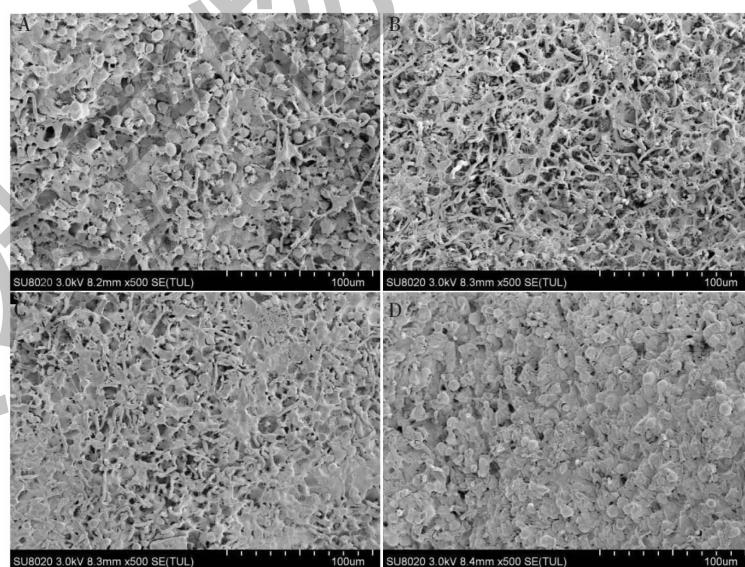


图 6 壳聚糖-生姜精油涂膜鲜银耳表面微观形貌($\times 500$)

Fig. 6 The surface microstructure of freshtremella with chitosan ginger oil coating($\times 500$)

注:A为壳聚糖-生姜精油涂膜处理银耳贮藏0天;B为对照银耳贮藏0天;C为壳聚糖-生姜精油涂膜处理银耳4℃贮藏30天;D为对照银耳4℃贮藏30天,下同。Note: A: Fresh tremella α with chitosan ginger oil coating for 0 days; B: Control tremella for 0 days; C: Fresh tremella with chitosan ginger oil coating stored at 4 °C for 30 days; D: Control tremella at 4 °C for 30 days, the same below.

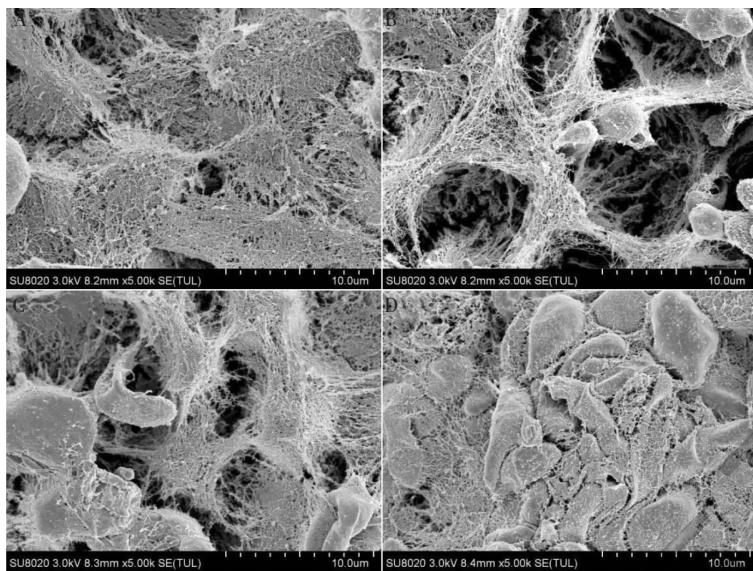


图 7 壳聚糖-生姜精油涂膜鲜银耳表面微观形貌($\times 2\,000$)

Fig. 7 The surface microstructure of fresh tremella with chitosan ginger oil coating ($\times 2\,000$)



图 8 壳聚糖-生姜精油涂膜鲜银耳照片

Fig. 8 Photo of fresh tremella with chitosan ginger oil coating

期(样品 A)有略微变化,菌丝体间开始出现少量空隙,但此时对照银耳(样品 D)外观已出现脱水变黄、萎焉,微观形貌则表现为脱水后菌丝细胞扁平的挤压在一起。从图 8 的银耳色泽来看,C 和 A 相比几乎无变化;但 D 相比 B 明显出现了黄色,且整朵银耳开始脱水、萎焉。

上述试验结果表明,壳聚糖-生姜精油成膜液形成致密的网状结构,附着在银耳表面,填充了银耳菌丝细胞空隙,其作用类似于气调包装,隔绝外界微生物的侵染,防止鲜银耳水分及营养成分流失,很好地保持了鲜银耳的品质。

3 讨论

由于生姜精油具有辛辣味、易挥发、易氧化等缺点,限制了其作为保鲜剂等食品添加剂在食品工业中的应用。而生姜精油通过与壳聚糖复配,形成了具有良好稳定性的保鲜剂^[24],能很好地解决精油中有效抑菌成分不稳定、易挥发、影响保鲜产品品质等问题,且较单独使用壳聚糖涂膜^[5]保鲜效果更好。

精油与成膜剂混合均匀,形成精油液滴与多糖结合的“疏水-亲水”半透膜,既保留了糖类物质的膜功能特性,且均匀分散的精油所形成的疏水性又使亲水性物质与鲜银耳表面和空气相隔绝,从而达到延长鲜银耳货架期的目的;半透膜能够覆盖在银耳表面的微孔上,并部分渗入到银耳组织中,减小表皮组织的孔隙,从而抑制食用菌的呼吸及蒸腾作用;成膜液是基于多糖分子因相互作用形成致密的网状结构(图6、图7),类似于气调包装,从而对鲜银耳起到隔绝环境的作用,避免受外界微生物侵染,减少机械损伤及腐烂,降低鲜银耳失重率(图2)。

POD一般被认为是果实成熟和衰老的标志性指标。PPO与果蔬抗病性和褐变发生密切相关,它们可催化木质素及其它酚类物质的氧化,并提高机体抗病能力。本研究结果表明,壳聚糖-生姜精油提高鲜银耳PPO活性(图3),对鲜银耳POD活性的上升则有抑制作用(图3),说明壳聚糖-生姜精油涂膜可诱导鲜银耳抗病性增强,显著降低腐烂发病率及发病程度(图1),延缓褐变、衰老,延长鲜银耳的贮藏保鲜期(图8)。

许多研究表明,在壳聚糖涂膜处理的前期,果蔬体内的活性氧水平会出现迅速升高的现象^[25],这是因为活性氧可作为第二信使参与和影响生理代谢,如增强植物抗病性、诱导气孔关闭、促进次生壁的分化等^[20]。本实验研究结果与上述结果相似,壳聚糖-生姜精油涂膜处理在贮藏初期即第10天时促进了鲜银耳O₂[·]的含量的积累(图4),表明壳聚糖-生姜精油涂膜处理诱导了鲜银耳体内的活性氧爆发,而O₂[·]可能是银耳抗病信号传递途径中的重要组分。SOD是活性氧清除反应中首先发挥作用的抗氧化酶,它催化O₂[·]生成H₂O₂和分子氧,从而清除了O₂[·],H₂O₂又经CAT、POD途径转化为水和分子氧。本研究结果表明,壳聚糖-生姜精油涂膜处理能显著提高新鲜银耳的CAT、SOD活性(图5),这与前人壳聚糖在双孢菇上的研究结果相一致。鲜银耳的SOD活性被壳聚糖-生姜精油诱导提高,而后O₂[·]在SOD作用下被歧化分解,所以贮藏后期O₂[·]含量下降。与壳聚糖涂膜常温贮藏的鲜银耳H₂O₂含量在达到高峰后逐渐下降^[5]不同,壳聚糖-生姜精油涂膜的鲜银耳在冷藏状态下H₂O₂含量趋于稳定,这可能是与低温状态下POD活性受抑制有关。

综上所述,壳聚糖-生姜精油一方面通过良好的成膜性,形成致密的类似气调包装网状结构,避免外

界微生物侵染,减少机械损伤,防止鲜银耳水分及营养成分流失;另一方面也能通过影响活性氧代谢,激发银耳体内包括SOD途径、CAT途径等一系列清除活性氧、增强抗病性的反应,但因银耳机体处于低温状态下,活性氧H₂O₂的产生和清除趋于平衡的状态,说明低温可延缓鲜银耳的活性氧代谢高峰的到来,有效抑制膜质过氧化作用的发生,这对保持鲜银耳组织的完整性和品质具有重要的意义。

目前,全国的冷链物流产业得到空前的发展和壮大,在此基础上,通过天然保鲜剂复配涂膜等技术手段增强冷链保鲜能效,可提升银耳产品附加值和产业发展空间,更能拉动冷链物流产业的发展和进步。因此笔者认为,利用壳聚糖、生姜精油等天然成分复配涂膜结合冷链物流等新兴高效安全的保鲜技术应对银耳采后贮藏难的问题,较常温贮运状态下使用单一保鲜剂保鲜能效提升不少,若能将其成功商业化应用于银耳乃至其他食用菌采后保鲜领域,是提高银耳贮藏安全性和商品附加值,满足当前消费者对鲜食农产品天然、绿色、安全、健康的需求的有效途径。

参考文献

- Wu Z, Li H, Luo Y, et al. Effect of different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Tremella fuciformis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2014, 26: 471-474.
- Liu B. Annals of Chinese fungi: Vol 2(中国真菌志:第二卷)[M]. Beijing: Science Press, 1992: 78-80.
- Zhao YM, Tian JM, Peng X G. Formula optimization of complex spice essential oil and effect on the quality of beef under the condition of vacuum packing and ice-temperature storage [J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2017, 38(12): 192-197.
- Li GX. Responses of *Agaricus bisporus* on chitosan antistaling agent and optimization of its refreshing technology [J]. J Northeast Agr Univ(东北农业大学学报), 2012, 43(5): 110-116.
- Luo Y, Yang Y, Wu Z, et al. Effect of chitosan on ROS metabolism and postharvest preservation in Fresh *Tremella fuciformis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2015, 27: 1753-1758.
- Tamer CE, Copur OU. Chitosan: an edible coating for fresh-cut fruits and vegetables [J]. Acta Hortic, 2010, 877: 619-625.
- Li XH, Guo XL, Li WX, et al. Research process on the effec-

- tiveness of keeping fresh and preparation of chitosan-based composite coating of keeping fresh materials for fruits and vegetables [J]. *J Xihua Univ: Nat Sci(西华大学学报: 自科版)*, 2018, 37(3): 1-10.
- 8 Banu P, Akash K, Prashant KM, et al. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities -potentials and challenges [J]. *Food Control*, 2015, 47: 381-391.
- 9 Lpoes-lutzo D, Alviano DS, Aleinol CS, et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69: 1732-1738.
- 10 Cai HZ, He L, Wang Q, et al. The preservative effect of several common spice essential oils on chilled chicken kebabs [J]. *Food Ferment Ind(食品与发酵工业)*, 2016(7): 236-241.
- 11 Zauberman G, Ronen R, Akerman M, et al. Postharvest retention of the red color of Litchi fruit pericarp [J]. *Sci Hortic*, 1991, 47: 89-97.
- 12 Wang AG, Luo GH. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants [J]. *Plant Physiol Comm(植物生理学通讯)*, 1990(6): 55-57.
- 13 Patterson BD, Mackae EA, Ferguson IB. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium(IV) [J]. *Anal Biochen*, 1984, 139: 487-492.
- 14 Beers RF, Sizer IW. A Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase [J]. *J Biol Chem*, 1952, 195: 133-140.
- 15 Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22: 867-880.
- 16 El Bulk RE, Babiker EFE, El Tinay AH. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening [J]. *Food Chem*, 1997, 59: 395-399.
- 17 Liu KH, Zhang YH, Xing SHJ. Effect of tea polyphenols in preservative coating on the storage quality of cucumber [J]. *Food Ind(食品工业)*, 2012, 33(2): 110.
- 18 Wang Z. *Food Enzymology(食品酶学)* [M]. Beijing: China Light Industry Press (中国轻工业出版社), 1994; 51-56.
- 19 Avdiushko SA, Ye XS, Kuc J. Detection of several enzymatic activities in leaf prints cucumber plant [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1993, 42: 441-454.
- 20 Małolepsza U. Induction of disease resistance by acibenzolar-Smethyl and o-hydroxyethylorutin against *Botrytis cinerea* in tomato plants [J]. *Crop Prot*, 2006, 25: 956-962.
- 21 Shen L, Wang Q, Chen HR, et al. Influence of low temperature on the quality of fresh-cutting pomegranate kernels [J]. *Sci Agr Sin(中国农业科学)*, 2008, 41: 4336-4340.
- 22 Huang RH, Xia RX, Hu LM, et al. Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation [J]. *Sci Hortic*, 2007, 113: 166-172.
- 23 Cuddigey SL, Parker A, Harwood DT, et al. Ascorbate interacts with reduced glutathione to scavenge phenoxyl radicals in HL60 cell [J]. *Free Rad Biol Med*, 2008, 44: 1637-1644.
- 24 Wang XG. Preparation of chitosan nanoparticle encapsulating essential oils and application in chilled meat [D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology (上海应用技术学院), 2015.
- 25 Sanchez-Casas P, K lessig DF. A salicylic acid binding activity and a salicylic acid inhibitable catalase activity are present in a variety of plant species [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106: 1675-1679.