

包装材料对樱桃番茄气调保鲜效果的影响

王羽，梁敏，齐小晶，刘林林，胡献泽，李见森，董同力嘎
(内蒙古农业大学，呼和浩特 010018)

摘要：目的 探究包装材料的阻隔性对樱桃番茄的气调保鲜效果。方法 选择 EHA/PE (乙烯-乙酸乙烯共聚物、聚酰胺/聚乙烯复合膜)、PA/PE (聚酰胺/聚乙烯复合膜)、PE (聚乙烯膜) 等 3 种薄膜气调包装樱桃番茄后于 (23 ± 2) °C 温度下贮藏，无包装的樱桃番茄在同样条件下作为空白对照。定期检测包装袋内气体组分变化及感官、硬度、可溶性固形物含量、维生素 C 的变化情况。结果 PE 组在整个贮藏过程中 CO_2 体积分数在 5% 左右， O_2 的体积分数在 6%~16% 范围内波动，樱桃番茄处于低 O_2 高 CO_2 环境中，呼吸受到抑制，具有 24 d 的保鲜期。PA/PE 膜、EHA/PE 膜包装的樱桃番茄呼吸产生的 CO_2 及空气中的 O_2 无法透过包装膜，包装中 O_2 含量在第 3 天时便已为 0， CO_2 在第 6 天时达到 30% 以上，樱桃番茄处于高浓度 CO_2 中加速了组织腐烂，同时空白组的樱桃番茄呼吸强度和水分流失不受抑制，因此，贮藏期只有 18 d。结论 适宜阻隔性的材料气调包装保鲜樱桃番茄，可明显延长其保鲜期。

关键词：气调包装；薄膜；阻隔性；樱桃番茄

中图分类号： TB485.2；TS255.3 **文献标识码：**A **文章编号：** 1001-3563(2016)19-0091-06

Effects of Packaging Materials on Modified Atmosphere Preservation of Cherry Tomato

WANG Yu, LIANG Min, QI Xiao-jing, LIU Lin-lin, HU Xian-ze, LI Jian-sen, DONG Tungalag
(Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

ABSTRACT: The work aims to explore the effect of barrier of different packaging materials on the flesh-keeping. Cherry tomatoes were encased in modified atmosphere packaging (MAP) with PA/PE, EHA/PE and PE films and stored at (23 ± 2) °C, while the tomatoes without packaging were used for comparison under the same conditions. The gas composition in packaging, sugar content, hardness, vitamin C, and sensory quality of Cherry Tomato were regularly measured during storage. The CO_2 content of PE group always remained about 5% and O_2 fluctuated range from 6% to 16%, in which cherry tomatoes stored at the low O_2 and high CO_2 atmosphere, postharvest respiration rate was inhibition, so the shelf life of cherry tomatoes could achieve 24 d. The CO_2 produced by cherry tomatoes breathe and O_2 in the air couldn't permeate the PA/PE film or EHA/PE film, in which O_2 decreased to 0 on the third day and CO_2 increase to 30% on the sixth day. The high CO_2 caused cherry tomatoes to spoil more rapidly, while its respiratory intensity and water loss were uncontrolled, thus all the shelf life only lasted for 18 d. In conclusion, suitable gas barrier material packing cherry tomatoes will significantly extend the shelf life.

KEY WORDS: modified atmosphere packaging; films; barrier property; Cherry Tomato

收稿日期：2015-10-31

基金项目：内蒙古草原英才基金（2011）；内蒙古农业大学博士启动基金（209-206035）

作者简介：王羽（1990—），男，内蒙古人，内蒙古农业大学硕士生，主攻食品包装与储运。

通讯作者：董同力嘎（1972—），男，蒙古族，内蒙古人，博士，内蒙古农业大学教授、博导，主要研究方向为高分子材料、食品包装与储运。

樱桃番茄又名圣女果，味道可口、营养丰富，VC含量为普通番茄的1.7倍左右，深受人们的喜欢^[1]。樱桃番茄中的一些功能性成分还具有促进生长发育、增强免疫力、延缓衰老、防癌、抗癌的功效^[2]。番茄属于呼吸跃变型果蔬，在成熟衰老过程中，乙烯的合成加速采后成熟，不耐贮运，极容易腐烂变质^[3]，对樱桃番茄的营运销售十分不利。目前，应用于樱桃番茄的保鲜方法主要有低温贮藏、防腐保鲜剂处理、辐照保鲜及气调保鲜^[4]。由于樱桃番茄易受冷害，低温贮藏无法较长时间保藏^[5]；采用防腐保鲜剂处理不利于人体健康和环境保护^[6]；从动植物中提取的天然食品保鲜剂虽安全性较高，但提取工艺复杂，推广应用较为困难^[7~8]。气调保鲜通过改变包装内气体成分，使食品处于不同于空气组分的气体环境中而延长保藏期。利用包装材料适宜的透气特性和果蔬的呼吸作用平衡，使包装内环境气氛维持高CO₂低O₂的状态，可减缓果蔬的呼吸作用，延长果蔬的保鲜期。EHA/PE复合膜是由EVOH（乙烯-乙稀醇共聚物）与PA（聚酰胺）共混挤出成膜后，再与PE（聚乙烯）复合而成的一种新型高阻隔薄膜。EHA/PE复合膜的气体阻隔性要高于由尼龙66挤出成膜后与PE复合而成的PA/PE复合膜，而PE膜的阻隔性更是低于前2种。故实验选择不同阻隔性的EHA/PE、PA/PE、PE3种

薄膜进行气调保鲜包装樱桃番茄，研究材料阻隔性对其保鲜效果的影响，为制备适宜果蔬气调包装的膜材料提供参考。

1 实验

1.1 材料与仪器

1) 材料。樱桃番茄(*Lycopersicum esculentum* Mill, 千禧)购于呼和浩特百岁果蔬种植专业合作社，挑选果形、大小、色泽一致的八成熟无机械损伤的鲜果作为试材，于采摘当日运回实验室；EHA/PE复合膜、PA/PE复合膜、PE单膜(阻隔性参数见表1)，厦门长塑实业有限公司提供；化学试剂均为分析纯。

2) 仪器。电子天平，JA-5003B，上海精天电子仪器有限公司；透湿仪，Permatran-w3/61，美国MOCON公司；透氧仪，型号8001，美国Illinois公司；紫外分光光度计，型号UV-2450，日本岛津；复合气调包装机，型号map-d600，苏州森瑞保鲜设备有限公司；果实硬度计，型号GY-1，常州市上哈工具有限公司；折光仪，型号TD-45，浙江托普仪器有限公司；气体分析仪，型号6600，英国Systech Instruments公司。

表1 包装材料阻隔性参数

Tab.1 Barrier property parameters of packaging material

材料	厚度/μm	水蒸气透过量/ (g·m ⁻² ·d ⁻¹)	水蒸气透过系数/ (10 ⁻⁷ g·m·m ⁻² ·d ⁻¹ ·Pa ⁻²)	氧气透过量/ (cm ³ ·m ⁻² ·d ⁻¹)	氧气透过系数/ (10 ⁻⁹ cm ³ ·m·m ⁻² ·d ⁻¹ ·Pa ⁻¹)
EHA/PE	73.9	3.1	1.2	1.5	1.1
PA/PE	79.9	2.2	0.9	24.5	19.4
PE	31.8	5.8	1	6052.2	1907.4

1.2 方法

1) 樱桃番茄的处理。新鲜樱桃番茄分装于准备好的包装袋(规格15.5 cm×10 cm)，充入混合气体(O₂体积分数为6%，CO₂体积分数为4%，N₂体积分数为90%)^[9]。不经气调包装的樱桃番茄作为对照，标记为CK。于室温(23±2)℃下贮藏。每隔2 d进行指标测定，每次3个平行样，重复6次。

2) 气体组分测定。使用自动取气式气体分析仪定期检测包装袋中O₂和CO₂的体积分数。

3) 感官评定。感官评分参照文献[9]修改使用，男女比例相等的10名食品专业研究生依据果实的

品质变化情况对贮藏期间的樱桃番茄进行感官评分。果实呈橙红色，果肉组织正常(8.1~10.0分)；果实颜色少量变浅，果肉组织稍有变软(6.1~8.0分)；果实颜色明显变浅，果肉变软，软化宽度小于1/5果肉厚度(4.1~6.0分)；果实颜色明显变浅果肉变软软化宽度小于1/3果肉厚度(2.1~4.0分)；果实表面明显有褐色斑点果肉变软软化宽度大于1/3果肉厚度(0~2.0分)。感官评分低于6分则认为失去商品价值，低于3分则失去食用价值。

4) VC含量测定。紫外分光光度法，参照文献[10]。

5) 可溶性固形物含量测定。将樱桃番茄于研

钵中研碎, 用纱布过滤, 使用可溶性固形物含量计测定含量。

6) 硬度测定。采用果实硬度计($\phi 3.5\text{ mm}$)均匀测定樱桃番茄底部和腰部的硬度, 将硬度计垂直于未去皮的果体表面, 缓慢插入约 5 mm , 读取数值, 取平均值作为硬度参考值。

7) 统计方法。采用 SAS9.0 软件进行数据的统计与分析。

2 结果与分析

2.1 贮藏期间包装袋内气体变化

由图 1 可知, EHA/PE 和 PA/PE 包装袋中的 O_2 在第 3 天时就消耗殆尽, 此后樱桃番茄一直处于无氧状态。PE 包装袋中的 O_2 呈上下波动的趋势, 虽然由于透氧性太大而造成包装内浓度较高, 但始终保持在 $6\% \sim 16\%$ 之间, 低于空气中氧气浓度。从第 3 天开始 PE 袋中 O_2 含量与其他 2 种包装相比出现差异显著($P<0.01$)。如图 2 所示, PE 包装中的 CO_2 含量始终维持在 4% 左右, 而 EHA/PE 和 PA/PE 袋中的 CO_2 含量在第 3 天时已达到 24% , 与 PE 组差异极显著($P<0.01$)。EHA/PE 和 PA/PE 包装中的 O_2 的消耗和 CO_2 含量的上升主要缘于樱桃番茄呼吸作用, 以及这 2 种膜较高的阻隔性。果蔬进行有氧呼吸消耗 O_2 产生 CO_2 , 且包装袋内外的气体无法交换, 造成了无 O_2 高 CO_2 的环境。PE 包装袋中的 CO_2 维持在一个较稳定的水平, 是因其阻隔性较低, 樱桃番茄呼吸产生的 CO_2 与空气进行交换达到了一个动态平衡。但由于 PE 膜的透氧性较高, 在贮藏过程中呼吸耗氧和氧气渗入之间的动态平衡性较差, 故其浓度在整个贮藏过程中呈现较大幅度的波动。适宜的气体环境可以抑制果蔬的呼吸作用, 延缓组织衰老, 控制微生物的繁殖, 降低水分和营养的流失。但 O_2 浓度太低会引发果蔬无氧呼吸, 使品质下降。 CO_2 体积分数为 $3\% \sim 5\%$ 、 O_2 体积分数为 $2\% \sim 5\%$ 是樱桃番茄较为适宜的气体组分^[11], PE 包装组的氧气浓度低于空气, 且后期平均体积分数为 11% 左右, CO_2 体积分数则稳定处于 $3\% \sim 5\%$ 之间, 相对适宜于樱桃番茄的贮藏。EHA/PE 和 PA/PE 包装组因氧气耗尽, 果实完全进入无氧呼吸的状态, 品质下降; 对照组由于处于空气中, 虽进行有氧呼吸, 但呼吸强度不受抑制, 品质也很快下降。

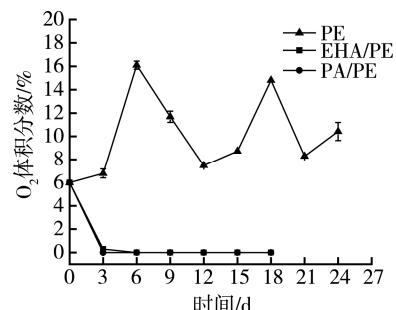


图 1 贮藏期间 O_2 体积分数的变化
Fig.1 The change of O_2 concentration during storage

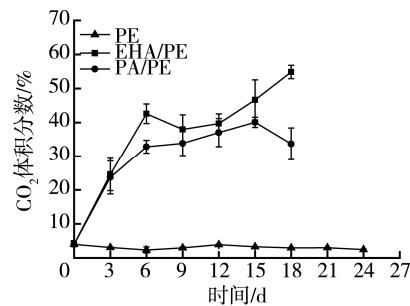


图 2 贮藏期间 CO_2 体积分数的变化
Fig.2 The change of CO_2 concentration during storage

2.2 贮藏期间樱桃番茄感官的变化

从图 3 中可以看出, PE 包装的樱桃番茄感官状态一直良好, 而其他 3 组的感官状态始终呈下降趋势。其中 CK 组由于未加包装长期暴露于空气中, 在蒸腾作用下水分迅速丢失, 番茄表面褶皱, 失去新鲜状态时光滑圆润的良好感官品相, 且随着贮藏时间的推移以, 感官状态持续下降, 在第 6 天时与其他组形成差异($P<0.01$)。由 PA/PE, EHA/PE 复合膜包装的番茄因呼吸作用将初期包装袋中的 O_2 迅速消耗尽, 且由于薄膜的高阻隔性外界氧气进入量甚微, 番茄进入无氧呼吸状态。对于果蔬, 在缺氧情况下会进行无氧呼吸, 而无氧呼吸产生酒精、乙酸等物质, 加速腐败^[12], 因此, 樱桃番茄感官品相因组织腐烂而迅速下降。由 PE 单膜包装的番茄感官状态一直保持良好, 到 24 天时由于出现轻微霉变而失去商品价值, 但仍具备可食性。这是因为 PE 的气体透过性较大, 包装袋内外气体可进行交换, 且交换达到平衡时 O_2 和 CO_2 的含量维持在比较利于番茄贮藏的浓度范围内, 番茄保持着微弱的有氧呼吸, 且未发生无氧呼吸, 无酒精、乙酸等有害物质产生, 延缓其腐烂速度。同时由于包装膜的屏蔽作用, 番茄水分流失较缓, 也未迅速出现对照组的褶皱现象, 进一步保持了番茄的感官品相。

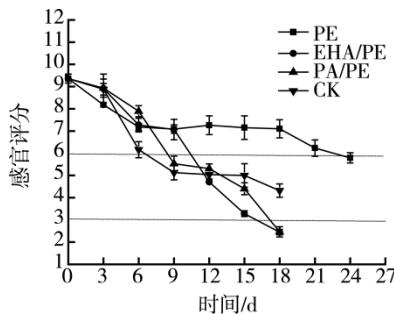


图3 樱桃番茄感官评分
Fig.3 Sensory evaluation of Cherry Tomato

2.3 贮藏期间樱桃番茄VC的变化

由图4中实验数据可知，VC含量呈先上升后下降的趋势。VC在开始阶段上升是由于果蔬的后熟作用，果蔬采摘后呼吸作用持续进行，产生热量使周围温度升高。乙烯因温度的升高而大量生成，乙烯对果蔬有催熟的作用，随着果蔬进一步成熟VC含量上升。到果蔬完全成熟时VC含量达到最高值，后期由于具有生理活性的还原性VC被氧化而含量下降^[13]。由于空白对照组和PE膜包装组与O₂接触较其他2组充分，后熟作用明显，VC含量在第3天时与其他2组形成显著差异($P<0.01$)。同样由于氧气的氧化作用，空白对照组和PE组在后期VC含量下降速度也较快，最终VC保留量最低。在第18天时，EHA/PE、PA/PE、CK组的樱桃番茄组织均发生溃烂，但最终的VC保留量差异显著。VC保留量的大小取决于氧气氧化的程度，EHA/PE膜的氧气阻隔性最高，其包装的樱桃番茄组织虽已经因高浓度CO₂毒害腐烂，但VC含量氧化程度较小，故最终的保留量较大。PA/PE膜包装的樱桃番茄VC含量略低于CK组，这是由于其包装的樱桃番茄组织在高浓度CO₂的作用下腐烂比较严重，VC被氧化更为充分。由此可见，保持樱桃番茄组织状态和阻隔氧气可很好地抑制其VC因氧化而含量下降。

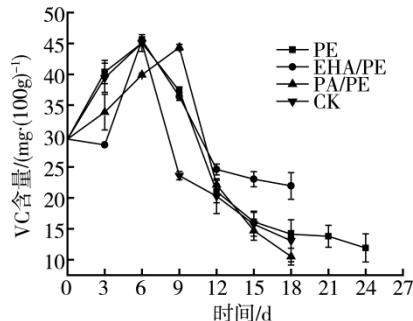


图4 樱桃番茄贮藏期间VC含量
Fig.4 The VC content of Cherry Tomato

2.4 贮藏期间樱桃番茄可溶性固体物含量的变化

樱桃番茄可溶性固体物含量的大小是衡量果实食用品质的指标之一^[14]。由图5中实验数据可知，在整个贮藏期间樱桃番茄可溶性固体物含量呈先上升后下降的趋势。可溶性固体物含量上升是因为新鲜番茄采摘存在后熟现象，淀粉逐渐转化为可溶性糖，可溶性固体物浓度增大，故可溶性固体物含量增大。随着贮藏时间的延长，一部分糖经呼吸作用分解提供自身生理活动所必须的能量，可溶性固体物含量下降。由数据可知，空白组的可溶性固体物含量升高的峰值较大，这是因为其呼吸不受抑制，淀粉转化的速度较快，因此，空白组的可溶性固体物含量下降也较快，不利于贮藏。而PE包装组的可溶性固体物含量下降趋势最为缓慢，显著($P<0.01$)不同于其他3组，说明PE包装的樱桃番茄呼吸强度在整个贮藏过程中都较弱，较长时间保持了樱桃番茄的营养，利于樱桃番茄的贮藏。

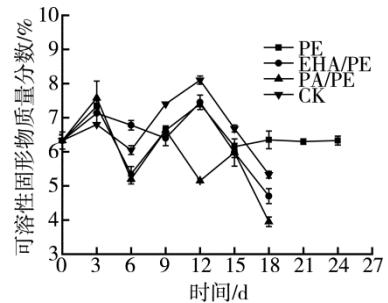


图5 樱桃番茄贮藏期间可溶性固体物质量分数变化
Fig.5 The soluble solids content of Cherry Tomato

2.5 贮藏期间樱桃番茄硬度的变化

果实的硬度是评价其成熟和品质的重要指标^[15]，贮藏期果胶含量的变化是决定果实和果肉硬度的重要因素，与不溶性果胶的含量呈正相关，与可溶性果胶呈负相关^[16]。在贮藏期间果胶发生变化，果胶物质由原果胶转化为果胶和果胶酸^[17]，果实细胞的完整性被破坏，果实硬度下降，品质劣变^[18]。由图6可知，随着贮藏时间的推移，樱桃番茄硬度逐渐下降，这与樱桃番茄在贮藏期间的一系列生理活动有关。PE组硬度下降最为缓慢，这是由于此组樱桃番茄的呼吸始终受到抑制，生理活动较慢，果胶转化速度较慢。PA/PE和EHA/PE组的樱桃番茄下降最快，这是由于在后期包装袋内的CO₂含量升高，O₂耗尽，果实完全进行无氧呼吸，产生酒精，果实组织破坏，硬度下降。CK组的樱桃番茄硬度

下降主要是因为细胞失水较严重, 细胞液中 NH_4^+ 和 H^+ 离子浓度增大引起细胞中毒, 使得细胞结构被破坏的缘故^[19]。

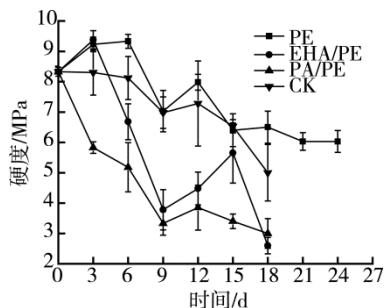


图 6 樱桃番茄贮藏期间硬度变化
Fig.6 The hardness of Cherry Tomato

3 结语

通过选用不同气体阻隔性能的包装材料气调包装樱桃番茄的保鲜实验结果得知, 适宜阻隔性的包装材料可以明显延长樱桃番茄的贮藏期。透气性略低于 PE 的包装材料可更好的气调保藏樱桃番茄, 可通过改性的手段降低 PE 的透氧性能, 增大透湿性能。减小气调贮藏期间结露和霉变的程度, 进一步延长樱桃番茄的保藏期。

参考文献:

- [1] TIAN Jun, BAN Xiao-quan, ZENG Hong, et al. In Vitro and In Vivo Activity of Essential Oil from Dill(*Anethum Graveolens L.*) Against Fungal Spoilage of Cherry Tomatoes[J]. *Food Control*, 2011, 22(12): 1992—1999.
- [2] 杨绍兰, 张新富, 郭春丽, 等. 1-MCP 对樱桃番茄采后贮藏特性的影响[J]. 北方园艺, 2009, 198(3): 219—221. YANG Shao-lan, ZHANG Xin-fu, GUO Chun-li, et al. Effects of 1-MCP on Cherry Tomato Postharvest Storage Characteristic[J]. *Northern Horticulture*, 2009, 198(3): 219—221.
- [3] ADAMS D O, YANG S F. Ethylene Biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic Acid as an Intermediate in the Conversion of Methionine to Ethylene[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1979, 76(1): 170—174.
- [4] 魏岩梅, 陈晓燕. 樱桃番茄气调保鲜包装技术研究 [J]. 中国包装工业, 2005(12): 58—60. WEI Yan-mei, CHEN Xiao-yan. Research of Modified Atmosphere Packaging Technology on Cherry Tomatoes[J]. *China Packaging Industry*, 2005(12): 58—60.
- [5] 胡晓亮, 周国燕. 四种天然保鲜剂对樱桃番茄贮藏的保鲜效果[J]. 食品科学, 2012(10): 287—292. HU Xiao-liang, ZHOU Guo-yan. Preservation Effect of Four Natural Preservatives on Cherry Tomatoes[J]. *Food Science*, 2012(10): 287—292.
- [6] 沈奇, 金春雁, 缪月秋, 等. 丹皮酚磺酸钠对樱桃番茄的保鲜作用的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 256—259. SHEN Qi, JIN Chun-yan, MIAO Yue-qiu, et al. Preservation Study on the Effects of Sodium Paeonol Sulfonate(SPS) on Cherry Tomatoes Fruits[J]. *Food Science*, 2005, 26(4): 256—259.
- [7] TANGWONGCHAI R, LEDWARD D A, AMES J M. Effect of High-pressure Treatment on The Texture of Cherry Tomato[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(5): 1434—1441.
- [8] ALI A, MAQBOOL M, RAMACHANDRAN S, et al. Gum Arabic as A Novel Edible Coating for Enhancing Shelf-life and Improving Postharvest Quality of Tomato(*Solanum lycopersicum L.*) Fruit[J]. *Postharvest Biology Technology*, 2010, 58(1): 42—47.
- [9] 于振菲, 王立立, 呼和, 等. 不同纵向拉伸度的聚乳酸薄膜在樱桃番茄保鲜中的应用[J]. 食品工业, 2015(6): 85—88. YU Zhen-fei, WANG Li-li, HU He, et al. Application of the Longitudinally Stretched Poly(L-lactic Acid) Films on the Preservation of Cherry Tomatoes[J]. *Food Industry*, 2015(6): 85—88.
- [10] 马宏飞, 卢生有, 韩秋菊, 等. 紫外分光光度法测定五种果蔬中维生素 C 的含量[J]. 化学与生物工程, 2012, 29(8): 92—94. MA Hong-fei, LU Sheng-you, HAN Qiu-ju, et al. Determine the Content of Vitamin C in Five Kinds of Fruits and Vegetables by the Ultraviolet Spectrophotometric Method[J]. *Chemistry and Bioengineering*, 2012, 29(8): 92—94.
- [11] GIRARDI C L, CORRENT A R, LUCCHETTA L, et al. Effect of Ethylene, Intermittent Warming and Controlled Atmosphere on Postharvest Quality and the Occurrence of Woolliness in Peach(*Prunus persica cv. Chiripá*) during Cold Storage[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2005, 38(1): 25—33.
- [12] 郑永华. 食品贮藏保鲜[M]. 北京: 中国计量出版社, 2013. ZHENG Yong-hua. *Food Storage and Fresh-keeping* [M]. Beijing: Chinese Metrology Press, 2013.
- [13] 庞凌云, 李瑜, 祝美云, 等. 壳聚糖大豆分离蛋白复合膜对樱桃番茄涂膜保鲜效果研究[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 426—429. PANG Ling-yun, LI Yu, ZHU Mei-yun, et al. Preservation Effects of Soy Protein Isolate (SPI)-Chitosan Composite Film on Cherry Tomatoes[J]. *Food Science*, 2009, 30(20): 426—429.

- [14] 郑铁松, 李雪枝. 不同浓度 1-MCP 对番茄保鲜效果的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 552—555.
ZHENG Tie-song, LI Xue-zhi. Research on Effects of 1-MCP of Different Concentrations in Fresh-keeping of Tomatoes[J]. Food Science, 2006, 27(10): 552—555.
- [15] 袁莉, 姜波. 加工反复且可溶性固形物含量与相关性状的关联研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2011, 42(4): 504—507.
YUAN Li, JIANG Bo. Processing Tomato Soluble Solids Content and Related Traits[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2011, 42(4): 504—507.
- [16] 魏宝东, 姜炳义, 冯辉. 番茄果实货架期硬度变化及其影响因素的研究[J]. 食品科学, 2005, 25(3): 249—252.
WEI Bao-dong, JIANG Bing-yi, FENG Hui. Studies on Changes of Hardness Degree of Tomato Fruit and Factors Affected Shelf-life[J]. Food Science, 2005, 25(3): 249—252.
- [17] 林永艳, 谢晶, 余江涛, 等. 1-MCP 及壳聚糖对番茄贮藏品质的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 169—171.
LIN Yong-yan, XIE Jing, YU Jiang-tao, et al. Effect of 1-MCP and Chitosan on Tomato Quality during Storage[J]. Food and Machinery, 2014, 30(1): 169—171.
- [18] CONWAY W S, SAMS C E, WANG C Y, et al. Additive Effects of Postharvest Calcium and Heat Treatment on Reducing Decay and Maintaining Quality in Apples[J]. American Society for Horticultural Science, 1994, 119(1): 49—53.
- [19] 连玉晶. N,O-羧甲基壳聚糖涂膜保鲜剂在油豆角上的应用研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.
LIAN Yu-jing. Study on Making Preservative of Snap Beans by Using N,O-Carboxymethyl Chitosan[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2003.