Genipin 交联明胶/溶菌酶缓释抗菌膜材料的微结构与性能研究

张首玉[1]，胡二坤[1]，尹寿伟[2]
（1.河南职业技术学院烹饪食品系，河南郑州 450046）
（2.华南理工大学轻工与食品学院食物蛋白工程研究中心，广东广州 510640）

摘要：针对亲水明胶膜材料对抗菌剂缓释能力较差的问题，采用生物交联剂(genipin)调节膜材料微结构，制备出新型控释明胶/溶菌酶复合膜材料。系统研究了复合膜材料的力学性能、水汽阻隔性能、膨胀性和热性质等物理性能，并用 AFM 研究了膜材料的表面微结构，探讨了其结构-性能之间的关系。结果表明：genipin 交联显著改善复合膜材料的力学性能，TS 值从 9.72 MPa 逐渐增加至 18.80 MPa；复合膜材料的膨胀度(swelling)随 genipin 浓度增加急剧下降，从 1316%降至~200%；genipin 交联提升复合膜材料的热稳定性。复合膜材的表面粗糙度依赖于 genipin 浓度，在低浓度段(0~1.0%)，膜材料呈现平整表面微结构；高浓度(2.0%)时，膜表面出现不规则的突起，变得粗糙。适度的 genipin 交联有助于形成有序的三维网络结构，改善复合膜材料的物理性能；高浓度的 genipin 过度交联明胶基质，形成团聚状聚集物，及弱化明胶分子间相互作用，进而弱化膜材料的水汽阻隔能力。

关键词：抗菌膜材料；明胶；微结构；genipin 交联；物理性能
文章篇号：1673-9078(2015)9-26-30 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.005

Microstructure and Physical Performance of Genipin Crosslinked Gelatin/Lysozyme Films with Controlled-release Behavior

ZHANG Shou-yu[1], HU Er-kun[1], YIN Shou-wei[2]
(1.College of Cooking and Food, Henan Polytechnic, Zhengzhou 450046, China)
(2.Research and Development Center of Food Proteins, Department of Food Science and Technology, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Hydrophilic gelatin films are of weak controlled release behavior for antimicrobials, especially at high humidity. In order to solve this problem, novel gelatin films with controlled release of lysozyme were fabricated via the crosslink by a naturally biochemical crosslinker (genipin). Tensile property, water vapor permeability (WVP), swelling and thermal properties of composite antimicrobial films were evaluated, and their surface morphologies were visualized by AFM. The possible structure-function relationship of the films was discussed. Upon increasing genipin concentrations, mechanical resistance and stiffness of the films were enhanced, and the tensile strength (TS) gradually increased from 9.72 to 18.80 MPa. Both water stability and thermal stability were improved by genipin crosslinking, and the swelling decreased from 1316% (control) to ~ 200%. Surface roughness of the films depended on the genipin concentrations used, the surface of composite films were smooth at concentrations of 0~1.0%, with low Rq and Ra. In contrast, irregular projections were clearly visualized on the surface of the films crosslinked by 2.0% genipin. In brief, mild genipin crosslink facilitated to form ordered three-dimensional network structure in film matrix while agglomerate structure was observed in the case of high genipin concentrations (2.0%). Furthermore, the presence of genipin, especially at high concentrations may weaken the interaction between gelatin molecules, impairing the water vapor barrier capability of the films.

Key words: Antimicrobial films; gelatin; microstructure; gelatin; genipin crosslinking; physical performances

收稿日期：2014-03-25
基金项目：国家自然科学基金（31471628）；广东省自然基金项目资助项目（S2013010012097）；华南理工大学中央高校基本科研业务费滚动项目（2014ZG0021）
作者简介：张首玉（1972-）女，副教授，研究方向：食品营养及食品安全
通讯作者：尹寿伟（1980-）男，博士，主要从事新型食品包装材料研究

食品加工、运输和储藏环节中致病菌污染是造成食源性疾病的主要因素。在食品配方中添加抗菌剂等传统方法具有局限性，如植物精油类抗菌剂影响食品的风味及蛋白（肽）类抗菌剂与食品组分反应而快速失效[1]。构建食品级的抗菌剂输送载体为解决食品货架期内中有害微生物污染引起食品安全问题提供新技

术途径。蛋白膜材料就是一类 GRAS 的抗菌剂包埋载体，其作用机制是使抗菌剂包埋在蛋白网络基质中，从而起到一定缓释效果。操控抗菌剂在膜材料中的扩散动力学是解决包装食品中有害微生物污染的问题关键。

共价交联是一种行之有效的调控膜材料微观结构，调节抗菌剂在膜材料中扩散和迁移速率的途径。醛类交联能够调控蛋白基和多糖基膜材料的缓释性能，如 Fajardo et al. (2014)报道肉桂醛交联小麦醇溶蛋白膜材料作为溶菌酶的缓释载体，但有毒的醛类交联剂在食品包装材料应用方面受到限制[2]。天然交联剂是发展趋势，de Souza et al. (2010)采用转谷氨酰胺酶（TG 酶）交联酪蛋白酸钠膜材料，发现这种交联方式完全封堵了溶菌酶的释放路径[3]。

Genipin（京尼平）是一种栀子苷水解制备得到的优良生物交联剂，较 GTA（戊二醛）的毒性要小 1000 倍[4~5]。最近，我们小组报道利用生物交联剂 genipin 交联调控明胶膜材料网络基质的微结构，有效地操控溶菌酶的释放动力学规律，得了具有良好控释性能的抗菌膜材料[6]。但是 genipin 交联明胶膜材料的物理性能、微观结构及构效关系尚不清楚。

本研究系统探讨 genipin 交联明胶膜材料的物理性能，包括力学性能、水汽阻隔性能、热学特性、膨胀度和透光性，及微观结构的影响规律，并揭示其结构-功能之间的关系。本文为可食性缓释抗菌膜材料的研发提供新的技术解决途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设备

1.1.1 材料

明胶，Genipin 和甘油：Sigma 公司；橄榄油：上海嘉里食品工业有限公司。溶菌酶：Genview 公司；其他化学试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器设备

TA XTplus 型质构仪，英国 SMS 公司；Q100 DSC，美国 TA 公司；LHS-恒温恒湿箱，上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 Genipin 交联抗菌膜材料的制备

称取 5 g 明胶分散在 100 mL 去离子水中，在 50 ℃充分水化后调节溶液 pH 值为 6.5，加入甘油（40% *m/m* 明胶），充分搅拌加入溶菌酶（50 mg/100 mL），搅拌至溶解。在溶液中加入 genipin，含量分别为 0.25、0.5、1.0、2.0 和 4.0%（*m/m* 明胶）。在 50 ℃水浴条件下搅拌 30 min，超声脱气（40 kHz, 120 W）1 min 后，量取 45 mL 成膜液（固形物含量为 2.8 g）平铺到有机玻璃盒（18×20 cm）内，后置于恒温恒湿箱中干燥 36 h 成膜（25 ℃，40% RH）。最后，干燥的膜材料放置在干燥器（盛有硝酸镁饱和溶液）中平衡 48 h、备用。

1.2.2 膜材料的溶胀率（Swelling）

称得量杯质量 m；取 3×3 cm 大小的膜材料放入称量杯中，两者的质量和为 m_0；在称量杯中倒入 30 mL 去离子水浸泡膜材料 2 h 后，将称量杯中的水倒掉，并用滤纸吸干膜片表面的水，称量膜材料和量杯的质量和 m_1。按照下列公式计算膜材料的溶胀率：

$$溶胀率 = \frac{m_1 - m_0}{m_0 - m} \times 100\%$$

注：*m*-称量杯的质量；m_0-膜材料和量杯的初始质量；m_1-膜材料和量杯的最终质量。

1.2.3 膜材料的热学特性

采用示差扫描量热法（DSC）测定 genipin 交联明胶膜材料的热学特性。精确称量 6~8 mg 样品放入直径为 4 mm 铝盘中，用铝盖盖好，使样品与铝盘保持良好传热接触，将装有样品的铝盘小心放入 DSC 加热炉热天平的样品端，相同的带盖铝盘作为参照放在热炉热天平的另一端。以氮气为保护气体，升温速率为 10 ℃/min，升温范围为 25~150 ℃。用设备自带的 Universal Analysis 2000 软件分析 DSC 数据。

1.2.4 膜材料透光率测定

将膜材料剪裁成 1×4 cm 的膜片，小心紧贴于石英比色皿内表面，利用波长扫描模式测定膜材料于 280-500 nm 下吸光度值。膜材料的不透明度用下列式子计算：

$$膜材料不透明度 = -\log T / x$$

其中，*T* 是某一波长下的透光率（%），*X* 是膜材料的厚度（mm）。

1.2.5 原子力显微镜(AFM)图像

膜材料表面的微观形貌采用原子力显微镜观测，膜材料制备成边长 4×4 mm 的正方形，用双面胶固定于载物台上，选用轻敲模式(Tapping Mode)成像。图像的扫描范围为 10×10 μm，利用分析软件观察膜材料的表面形态及 3D 图像，计算膜材料的表面粗糙度，研究 genipin 交联对明胶膜材料表面微观形态的影响。

1.2.6 数据分析

实验数据均用“平均值±标准偏差”表示，不同实验数据间的差异范围取 $P<0.05$ 或 $P<0.01$。

2 结果与讨论

2.1 机械性能

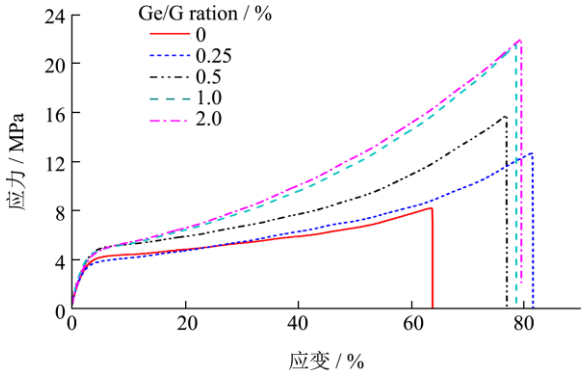


图 1 Genipin 交联明胶膜材料的应力-应变曲线

Fig.1 Typical stress–strain curves of genipin crosslinked-gelatin films

图 1 为 genipin 交联明胶膜材料的应力-应变曲线，并计算得到膜材料的力学参数，如抗拉强度（TS）、断裂伸长率（EAB）、弹性模量（EM）（见表 1）。随着 genipin 浓度增加，明胶膜材料的力学参数呈现不同的变化规律。当 genipin 浓度从 0 增加至 2.0%时，膜材料的 TS 值从 9.72±1.44 MPa 逐渐增加至 19.41±1.75 MPa，膜材料的弹性模量也呈现增加的趋势；而断裂伸长率变化不明显。因此，genipin 交联能够有效地改善明胶膜材料的力学性能，这主要归结为 genipin 分子与明胶分子中的侧链氨基之间的反应，进而形成分子间及分子内共价交联。以前有研究表明 genipin 交联胶原蛋白形成分子间及分子内共价键，改善胶原蛋白亲水凝胶的力学性能[7]。

意大利的 Bigi 研究小组报道出 genipin 交联对明胶膜材料的抗拉强度（TS）和弹性模量（EM）没有显著性影响，而膜材料的断裂伸长率急剧下降[8]。与我们研究结果不一致，推测与两者的交联方式有关系。本试验中，交联发生在成膜过程中，使膜材料基质中的蛋白网络更为有序；而 Bigi 小组用 genipin 交联干燥后的明胶膜材料；此外，明胶种类也可能影响交联效果，本实验中是 B 型明胶，而 Bigi 研究对象为 A 型明胶。

在成膜过程中，蛋白分子间通过次级键（如氢键、疏水相互作用力和静电相互作用力等）形成三维网络结构，在成膜过程引入共价交联在一定程度上有助于形成更为牢固的三维网络结构。成膜液干燥后，在膜材料基质已经形成完整的三维结构，交联干燥后的膜材料势必在引入共价键的同时破坏原有的蛋白分子键作用力，弱化已形成的三维网络结构。因此，成膜液原位交联发生在膜材料三位网络结构形成过程中，能更为有序地强化膜材料的结构，进而提升膜材料的 TS 和 EM。

表 1 Genipin 交联明胶膜材料的弹性模量(EM)、抗拉强度(TS)和断裂伸长率(EAB)

Table 1 EM, TS, and EAB of crosslinked gelatin films as a function of genipin concentrations.

GE/G /%	TS/MPa	EB/%	EM/MPa
0	9.72±1.44^{c}	75.79±11.99^{a}	94.21±10.85^{c}
0.25	13.95±0.87^{b}	71.63±13.35^{a}	110.20±12.96^{b}
0.5	15.00±0.96^{b}	62.24±18.94^{a}	115.68±9.56^{b}
1.0	19.11±1.75^{a}	67.54±10.28^{a}	149.92±15.49^{a}
2.0	19.41±1.75^{a}	69.02±9.34^{a}	117.31±10.99^{b}

注：GE/G 代表 genipin 与明胶质量比；各列中不同上标字母（a-c）表示差异显著($p<0.05$)。

2.2 Genipin 交联明胶膜材料的透光率及不透明度值

表 2 Genipin 交联明胶膜材料的透光率及不透明度值

Table 2 Light transmittance and opacity of gelatin films crosslinked by genipin

GE/G /%[2]	280 nm	400 nm	500 nm	600 nm	Film opacity
0	31.93±1.03^{a}	95.72±0.67^{a}	98.14±1.36^{a}	97.80±0.79^{a}	0.10±0.002^{e}
0.25	3.01±0.28^{b}	62.95±0.88^{b}	72.45±1.34^{b}	65.58±1.24^{b}	1.82±0.13^{d}
0.5	0.26±0.11^{c}	49.14±2.62^{c}	63.44±3.04^{c}	50.59±4.28^{c}	2.53±0.22^{c}
1.0	1E-08±2E-24^{c}	36.68±1.95^{d}	55.32±1.94^{d}	39.61±2.38^{d}	3.21±0.38^{b}
2.0	1E-08±2E-24^{c}	14.47±1.91^{e}	28.50±2.94^{e}	10.01±2.93^{e}	6.99±0.81^{a}
LDPE[3]	27.65	39.98	45.53	49.81	4.26

注：LDPE, low-density polyethylene[9]各列中不同上标字母（*a*~*e*）表示差异显著($p<0.05$)。

透明度是包装材料的一个重要的性质，它直接影响包装产品的外观。表 2 是 genipin 交联明胶膜材料在 280~600 nm 波长下的透光率，及其不透明度值(film opacity)。在测试波长下，膜材料的透光率均随着 genipin 浓度增加而下降；不透明度值逐渐从 0.10±0.002 增加至 6.99±0.81（表 2）。Genipin 与明胶分子中的脯氨酸、羟脯氨酸等氨基酸残基作用，生成深蓝色物质[10~11]。膜材料的不透明度随着 genipin 浓度增加

而上升的趋势与反应生成的蓝色物质颜色逐渐加深一致。Genipin 浓度在 0.25~1.0%，交联膜材料的不透明度值与商业用聚乙烯包装材料相似。值得注意的是，与聚乙烯包装膜相比，genipin 交联膜材料在紫外区域具有强烈吸收峰。因此，膜材料在紫外光敏感类食品包装方面也有较好的应用前景。

2.3 膜材料的水汽透过系数

表 3 Genipin 交联明胶膜材料的水汽透过系数(WVP)

Table 3 Water vapor permeability (WVP) of gelatin films crosslinked by genipin

GE/G /%	Film thickness/μm	WVP×10^{-10}/[g/(s m Pa)]
0	84.0±1.2^{a}	4.09±0.20^{b}
0.25	76.9±1.6^{a}	3.78±0.16^{c}
0.5	77.9±2.2^{a}	3.82±0.10^{c}
1.0	80.0±4.0^{a}	3.97±0.17^{bc}
2.0	78.2±2.4^{a}	4.56±0.30^{a}

注：GE/G 代表 genipin 与明胶质量比；各列中不同上标字母（a~c）表示差异显著($p<0.05$)。

表 3 为 genipin 交联明胶膜材料的水汽透过系数随着浓度的变化。Genipin 浓度较低时，膜材料的水汽透过系数从 4.09×10^{-10} g/(s m Pa)(对照)下降到 3.8×10^{-10} g/(s m Pa) (0.25 或 0.5%)，genipin 浓度为 2.0%时提高到 4.56 ×10^{-10} g/(s m Pa)。在 genipin 浓度较低时，可以通过共价交联强化明胶三维网络结构，形成更为致密的三维结构；而当浓度进一步增加时，介于明胶分子间的过量 genipin 分子会增大蛋白分子的间距，弱化分子间的相互作用力，进而增加膜材料基质中的游离体积，有助于水汽分子的扩散和迁移。因此，过量 genipin 使得膜材料网络结构中有很多空缺位置，水分子能够在基质中快速迁移，水汽透过系数增大，甚至高于未交联明胶膜材料。

2.4 Ggenipin 交联膜材料的热学性质

图 2 为 Genipin 交联膜材料的 DSC 曲线。明胶膜材料的热流曲线呈现明显的吸热峰，源于明胶蛋白的三螺旋晶体结构[12]，其热变性温度为 62.4 ℃。随着 genipin 浓度增加，吸热峰向右迁移，即 genipin 交联提升明胶膜材料的热稳定性。采用 Universal Analysis 2000 软件计算出膜材料的热学参数（表 4）。变性温度(T_d)和热焓值(ΔH)分别表示膜材料的热稳定性和蛋白结构的有序性[13]。随着 Genipin 浓度增加，明胶膜材料的 Td 从 62.4 ℃上升为 65.3 ℃，进一步证实 Genipin 交联可以有效提高复合膜材料的热稳定性。同样地，有文献指出，Genipin 可以显著提高静电纺明胶纤维的热稳定性[7]。另外，焓变(ΔH)表示膜材料中明胶的结晶度，随着交联程度增加而下降，其中氢键的断裂（吸热过程）伴随共价键的形成（放热过程）[14]。

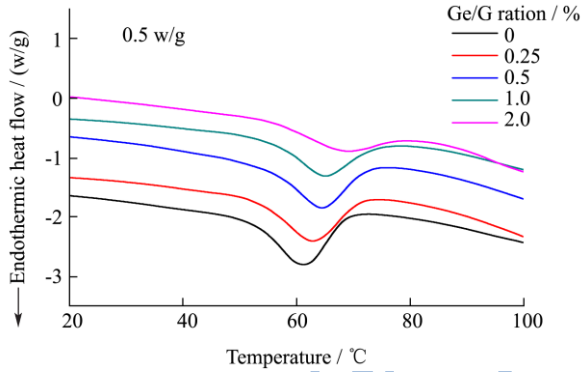


图 2 Genipin 交联明胶膜材料的 DSC 图谱

Fig.2 DSC profiles of gelatin films crosslinked by genipin.

表 4 genipin 交联明胶膜材料的热学特性

Table 4 Thermal properties of gelatin films crosslinked by genipin

Ge/G/%	T_d/℃	ΔH/(w/g)
0	62.4±0.6^{a}	15.7±0.5^{a}
0.25	63.3±0.4^{b}	13.4±0.7^{b}
0.5	64.3±0.5^{c}	12.9±0.4^{b}
1.0	65.3±0.3^{d}	11.0±1.5^{b}
2.0	68.3±0.5^{e}	7.0±0.4^{c}

注：GE/G 代表 genipin 与明胶质量比；各列中不同上标字母（a-e）表示差异显著($p<0.05$)。

2.5 Genipin 交联明胶膜材料的溶胀率

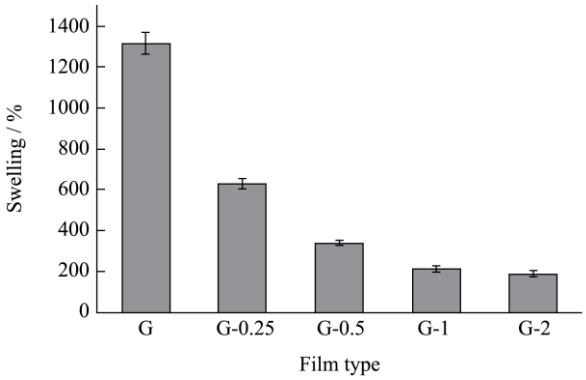


图 3 Genipin 交联明胶膜材料的溶胀率

Fig. 3 Swelling of gelatin films crosslinked by genipin

图 3 显示 genipin 浓度对明胶膜材料溶胀率的影响规律。Genipin 交联显著降低膜材料的溶胀率。Genipin 浓度提高，溶胀率逐渐从 1316%（对照样）下降到 629%（0.25%）、213.7%(1.0%)，之后变化较小。Bigi 研究小组用 genipin 溶液交联干燥的 A-型明胶膜材料，发现膜材料溶胀率随 genipin 浓度增加呈现显著下降趋势。明胶是亲水性蛋白，分子富含极性氨

基酸残基，能够与水分子相互作用形成氢键，促使水分子由外向内扩散迁移进入膜材料内部，引起膜材料溶胀。膜材料的溶胀和松弛是包埋其中的抑菌剂向周围介质迁移的机制。Genipin 交联能够显著降低膜材料的溶胀率，是一种行之有效的操控模型抗菌剂（溶菌酶）释放的规律的途径[6]。

2.5 Genipin 交联明胶膜材料微结构

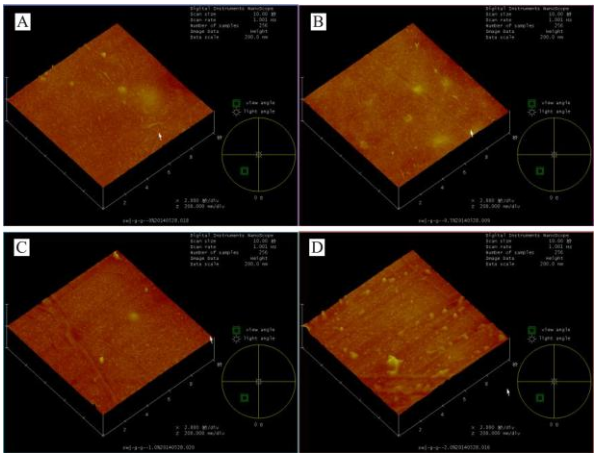


图 4 Genipin 交联明胶膜材料的 3D 原子力显微镜图

Fig.4 3D AFM images of genipin-crosslinked gelatin films

通过原子力显微镜(AFM)表征不同 genipin 添加量的明胶膜表面形貌学特征，3D AFM 图如图 4 所示。在 genipin 浓度在 0~1.0%时，交联膜材料表面较为平整；当其浓度增加至 2.0%时，膜材料表面出现不规则的突起，表面变得粗糙。进一步衍生 3D AFM 图像得到粗糙度参数，均方根粗糙度(Rq)和平均粗糙度(Ra)(见表 5)。粗糙度参数随 genipin 浓度变化与 3D 图的直接表象是一致的。Genipin 浓度较低时，膜材料的 Rq 和 Ra 较低；浓度达到 2.0%时，Rq 和 Ra 值增加了 1~2 倍（见表 5）。

表 5 Genipin 交联明胶膜材料的表面粗糙度

Table 5 Roughness parameters of genipin-crosslinked gelatin films deriving from AFM images

Film type	Genipin concentrations	Rq	Ra
A	Control	4.19±0.25	2.70±0.06
B	0.5	2.70±0.25	1.94±0.33
C	1.0	3.82±1.94	2.45±1.05
D	2.0	8.50±3.81	5.12±1.81

Genipin 交联膜材料的微观结构演变与其物理性能的变化是一致。在低 genipin 浓度时，适度的 genipin 交联有助于形成有序的三维网络结构，改善复合膜材料的物理性能，如力学性能、水汽阻隔性能、热稳定性；成膜液中存在高浓度 genipin 时，容易在局部因过度交联而形成团聚状聚集物 (如表面凸起)，进而影响膜材料的三维网络结构的完整性；另一方面，过量的 genipin 介于明胶分子间势必会弱化其分子间相互作用，增加游离体积。因此，高浓度的 genipin 反而弱化膜材料的水汽阻隔能力（见表 2）。

3 结论

利用生物交联剂 Genipin 共价交联修饰明胶/溶菌酶复合膜材料，成功构建了蛋白基缓释抗菌膜材。系统研究了复合膜材料的物理性能、微观结构及构效关系：

3.1 Genipin 交联显著改善明胶/溶菌酶复合膜材料的力学性能、热稳定性及耐水性。复合膜材料的 TS、EM、Td 显著提高，而溶胀率从 1316%下降至~200%。

3.2 复合膜材的表面粗糙度依赖于 genipin 浓度；低浓度阶段(0~1.0%)，膜材料呈现平整表面微结构；高浓度时(2.0%)，其表面出现不规则的突起，变得粗糙。

3.3 适度的 genipin 交联形成有序的三维网络结构，改善复合膜材料的物理性能；高浓度的 genipin 造成过度交联形成团聚状聚集物，及弱化明胶分子间的相互作用，进而弱化其水汽阻隔能力。

参考文献

[1] Kerry JP, O'Grady MN, Hogan SA. Past, current and potential utilization of active and passive packaging systems for meat and muscle-based products: A review [J]. Meat Secience, 2006, 74: 113-130

[2] Fajardo P, Balaguer MP, Gomez-Estaca, J. Chemically modified gliadins as sustained release systems for lysozyme [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 41: 53-59

[3] de Souza P M, Fernández A, López-Carballo G, et al. Modified sodium caseinate films as releasing carriers of lysozyme[J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24: 300-306

[4] Nickerson MT, Patel J, Heyd DV, et al. Kinetic and mechanistic considerations in the gelation of genipin-crosslinked gelatin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2006, 39(4): 298-302

[5] Liang HC, Chang WH, Lin KJ, et al. Genipin-crosslinked gelatin microspheres as a drug carrier for intramuscular administration: *In vitro* and *in vivo* studies [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2003, 65(2): 271-282

[6] Ma W, Tang CH, Yin SW, et al. Genipin-crosslinked gelatin films as controlled releasing carriers of lysozyme [J]. Food Research International, 2003, 51: 321-324

[7] Su Y, Mo, XM. Genipin crosslinked gelatin nanofibers for tissue engineering [J]. Journal of Controlled Release, 2011,

152, e192−e269

[8] Bigi A, Cojazzi G, Panzavolta S, et al. Stabilization of gelatin films by cross-linking with genipin [J]. Biomaterials, 2002, 23, 4827−4832

[9] Guerrero P, Nur Hanani ZA, Kerry JP, et al. Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 107, 41-49

[10] Aramwit P, Siritientong T, Kanokpanont S, et al. Formulation and characterization of silk sericin-PVA scaffold crosslinked with genipin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 47(5): 668-675

[11] Sung HW, Chang Y, Liang IL, et al. Fixation of biological tissues with a naturally occurring crosslinking agent: fixation rate and effects of pH, temperature, and initial fixative concentration [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2000, 52: 77-87

[12] Sobral PJA, Habitane AMQB. Phase transition of pigskin gelatin [J]. Food Hydrocolloids, 2001, 15: 377-382

[13] Arntfield S D, Murray E D. The influence of processing parameters on food protein functionality. I. Differential scanning calorimetry as an indicator of protein denaturation [J]. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, 1981, 14: 289-294

[14] Bigi A, Cojazzi G, Panzavolta S, et al. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking [J]. Biomaterials, 2001, 22, 763-768

现代食品科技