

明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的制备与表征

李晨辉,于晓倩,董汝月,刘尊英*

(中国海洋大学食品科学与工程学院,青岛 266003)

摘要:为开发新型具有抗氧化活性的包装材料,以壳聚糖、鱼皮明胶为复合膜基质材料,研究添加迷迭香提取物对复合膜物理性质、微观结构及抗氧化性能的影响。结果表明,添加0.1%迷迭香提取物显著($p < 0.05$)提高了复合膜的抗氧化性能,将膜的DPPH自由基清除率由15%以下提高到60%以上。迷迭香提取物的添加影响了膜的结构与理化性质。其中,膜的热变性温度由130.97℃升至167.52℃,同时水溶性下降了12.62%,但对膜的力学性质没有显著影响。红外光谱显示添加迷迭香提取物影响了O-H键的弯曲和伸缩振动,干扰了复合膜体间的氢键相互作用。研究结果表明,添加0.1%迷迭香提取物既能提高明胶/壳聚糖复合膜的抗氧化能力,又可使复合膜的热稳定性提高,明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜活性包装材料具有良好的应用前景。

关键词:迷迭香提取物,明胶,壳聚糖,抗氧化活性,复合膜,表征

Preparation and Characterization of Composite Films Incorporated with Chitosan, Gelatin and Rosemary

LI Chen-hui, YU Xiao-qian, DONG Ru-yue, LIU Zun-ying*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: In order to obtain antioxidant activity packaging materials, chitosan-gelatin composite films incorporated with rosemary extract were developed, and the microstructure, physical properties and antioxidant activities of the film were also characterized. The results indicated that the antioxidant activity of the film was significantly ($p < 0.05$) increased after adding 0.1% rosemary extract, and the DPPH free radical scavenging rate of the gelatin-chitosan film was increased from lower than 15% to more than 60%. The microstructure and physicochemical properties of the film were also affected by adding rosemary extract. The thermal denaturation temperature of the film was increased from 130.97℃ to 167.52℃, and the water solubility of the film was lower 12.62%. However, the mechanical properties of the film were not significantly affected. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) showed that the incorporation of rosemary extract brought about the changes of hydroxyl groups. The results indicated that incorporating 0.1% rosemary extracts could enhance the antioxidant activity and thermal stability of the film, which would be a feasible way to develop new composite film for active packaging.

Key words: rosemary extract; gelatin; chitosan; antioxidant activity; composite film; characterization

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)10-0057-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.10.010

引文格式: 李晨辉,于晓倩,董汝月,等.明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的制备与表征[J].食品工业科技,2019,40(10): 57-61,67.

食品包装材料造成的“白色污染”已成为全球性的环保难题,因此,研究开发可降解、多功能的可食性包装材料已引起人们的广泛关注。明胶是胶原的变性产物,因其无毒无害、可以食用、价廉易得和优异的生物相容性在保鲜膜中的应用日益引起关注^[1]。但单一明胶膜机械强度低,热稳定性差,工业应用受到限制。壳聚糖是自然界中唯一带正电的碱性多

糖,采用壳聚糖与明胶复合成膜可增加膜的机械性能,提高热稳定性,但其抗氧化性较低^[2-3],在食品保鲜过程中的作用效果有限。迷迭香提取物中的活性成分鼠尾草酸、鼠尾草酚和迷迭香酸具有较高的抗氧化活性^[4],为进一步改善明胶/壳聚糖复合膜的抗氧化性能,本研究通过添加迷迭香提取物,制备明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜,以期提高膜的抗氧化性

收稿日期:2018-08-06

作者简介:李晨辉(1994-),女,硕士研究生,研究方向:水产品高值化利用,E-mail:2370798704@qq.com。

*通讯作者:刘尊英(1974-),女,博士,教授,研究方向:水产品高值化利用,E-mail:liuzunying@ouc.edu.cn。

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2016CM24)。

能,为绿色活性包装材料提供理论依据与基础性研究数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

迷迭香提取物(有效成分为80%鼠尾草酸)、壳聚糖、DPPH 购于Sigma公司;明胶 青岛东易科技发展有限公司;溴化钾(光谱纯)、丙三醇、无水氯化钙、无水乙醇 分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

TMS-PRO 质构仪 美国 Food Technology Corporation 公司;差示扫描量热仪(DSC-200PC) 德国耐池公司;DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱 上海精宏实验设备有限公司;Nicolet 200SXV 型傅立叶变换红外光谱仪 美国 Nicolet 公司;JSM-840 型扫描电子显微镜 日本东京电子公司。

1.2 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的制备

将15 mg 迷迭香提取物溶解于50 mL 15 mg/mL 的卵磷脂乙醇溶液中,然后将卵磷脂溶液逐滴加入100 mL 水中,得到1%的迷迭香提取物溶液。将该溶液在45 kHz 下超声20 min^[5],置于50℃的水浴锅中,并向溶液中加入一定质量的明胶,搅拌至明胶完全溶解,使明胶的终浓度达到6%,然后继续加入一定量的2%的壳聚糖乙酸溶液与明胶质量20%的甘油,最终使迷迭香提取物终浓度达到0.1%,得到明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜成膜液。取20 mL 的复合膜成膜液倒入9 cm 的一次性培养皿中,在50℃的烘箱中烘干24 h,得到明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜。采取相同的方法,将6%的明胶溶液制成明胶膜,将2%的壳聚糖溶液制成壳聚糖膜,将6%的明胶溶液与2%的壳聚糖溶液以体积比3:2制备明胶/壳聚糖复合膜,然后对上述膜进行表征^[3,6]。

1.3 色差测定

参照 Akhtar 等的方法^[7],用色差计对膜的颜色进行测定,记录色差计显示的L值、a值和b值。其中,L值代表白度,指样品的透明情况;a值为正代表样品偏红,a值为负代表样品偏绿;b值为正代表样品偏黄,为负代表样品偏蓝。取膜的不同位置进行测定,每个样品取7个位置进行测定,计算其平均值。

1.4 水溶解性与水蒸气透过性测定

水溶解性的测定需将样品在105℃烘箱中放置12 h,待温度降至室温后称重记为M₀,之后将样品在水中浸泡12 h,浸泡后再在105℃烘箱中烘12 h,得到的样品称重记为M₁,实验结果以样品在水中浸泡前后溶解的质量所占的百分比来表示^[8]。水溶解性(WS)的计算如下:

$$WS(\%) = (M_0 - M_1) \times 100 / M_0 \quad \text{式(1)}$$

水蒸气透过性(WVP)测定:参照文献[3]的方法进行测定。

1.5 差式量热扫描

采用差式量热扫描仪进行测定:称取约15 mg 的样品装入坩埚中并加盖密封,以空白坩埚作对照,设置样品室的氮气流速为20~30 mL/min,保护气速度为60~70 mL/min,测定温度在20~250℃之间,设置

升温速度为10℃/min^[3]。

1.6 傅里叶红外光谱图

将一定量干燥的KBr和样品膜置于玛瑙研钵中,研磨均匀,成粉末状,装样,压片后,取出样品小心放入样品室。采用Nicolet-200SXV 傅立叶红外光谱仪对样品在4000~400 cm⁻¹扫描,分辨率为2 cm⁻¹,数据点间隔0.5 cm⁻¹。

1.7 膜的微观结构测定

膜的微观结构采用Hitachi S4800 型扫描电子显微镜观察,膜的横截面和表面喷金,加速电压为10 kV。取0.5 cm×0.5 cm 的表面平整均匀的膜用于扫描电镜的观察,取相同放大倍数的样品照片进行比较。

1.8 膜的抗拉强度与断裂伸长率

对膜的力学性质测定指标包括拉伸强度和断裂伸长率。食品质构仪用于测定膜的这两个指标。质构仪的初始夹距设定为40 mm,拉伸速率设定为60 mm/min。每组膜做7个平行,结果取平均值。拉伸强度(TS)值用最大拉力除以横截面积来表示:TS(MPa) = F_{max} / (d × W),式中,TS为抗拉强度(MPa);F_{max}为膜断裂时承受的最大张力(N);d为膜的厚度(mm);W为膜的宽度(mm)。断裂伸长率(EB)按下式来计算:

$$EB(\%) = [(L_1 - L_0) / L_0] \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中,L₀为膜的原始长度(mm);L₁为膜断裂时的长度(mm)。

1.9 迷迭香提取物从膜中的释放

为模拟膜中迷迭香提取物向环境中的释放情况,选取50%乙醇溶液模拟一般水溶性食品体系,取无水乙醇模拟脂溶性食品体系^[6]。根据迷迭香提取物乙醇溶液的全波长扫描结果可知,迷迭香提取物在283 nm 处有一明显吸收峰,因此通过测定溶液在283 nm 处的吸光值,根据迷迭香提取物乙醇溶液的标准曲线(y = 8.8789x - 0.0286, R² = 0.9970),计算溶液中迷迭香提取物的含量以及释放到溶液中的释放率。为防止明胶、壳聚糖的干扰,同时以明胶-壳聚糖膜作为空白对照。

将一定质量的膜剪成1 cm×1 cm 的正方形,浸没在30 mL 的无水乙醇或50%乙醇溶液中,放入摇床中在常温下不断摇晃,定时测定A₂₈₃。结果以每个样品去掉空白对照后的三个平行的算术平均值表示。根据下式计算迷迭香提取物的释放率(Y)。

$$Y(\%) = [(A_{283} \text{ 样品} - A_{283} \text{ 对照}) \times 8.8789 - 0.0286] \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.10 膜的抗氧化性能测定

将膜剪成1 cm×1 cm 的正方形放入无水乙醇及50%乙醇溶液中,放入摇床中不断摇晃,每天取上清液测定其DPPH 自由基清除率。其中,将DPPH 用无水乙醇溶解配制成浓度为0.25 mmol/L 的溶液,取100 μL 样品与300 μL DPPH 溶液充分混合,在室温下反应30 min 后测定517 nm 处的吸光值,对照组(A_{对照})用无水乙醇代替DPPH 溶液,空白组(A_{空白})用无水乙醇及乙醇溶液代替样品,各组平行测定五次

表1 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的物理性质

Table 1 Physical properties of chitosan-gelatin films incorporated with rosemary extract

	L 值	a 值	b 值	水溶解性 (%)	水蒸气透过性 ($\text{g} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$)	热变性温度 ($^{\circ}\text{C}$)
明胶膜	87.33 ± 0.18 ^a	1.47 ± 0.07 ^c	-3.15 ± 0.13 ^b	100.00 ± 0.00 ^a	2.45 ± 0.07 ^b	91.05 ± 3.46 ^c
壳聚糖膜	88.24 ± 0.04 ^a	1.46 ± 0.06 ^c	-4.14 ± 0.04 ^c	52.95 ± 0.13 ^c	2.31 ± 0.14 ^b	131.21 ± 6.77 ^b
明胶/壳聚糖复合膜	87.53 ± 0.16 ^a	1.64 ± 0.06 ^b	-3.08 ± 0.08 ^b	58.01 ± 0.33 ^b	3.81 ± 0.20 ^a	130.97 ± 0.35 ^b
明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜	84.58 ± 0.14 ^b	1.94 ± 0.06 ^a	-1.58 ± 0.20 ^a	45.39 ± 2.72 ^d	3.45 ± 0.28 ^a	167.52 ± 0.99 ^a

注:相同列中不同字母表示数据差异显著($p < 0.05$)。

取平均值,按照下式计算 DPPH 自由基清除率^[9-10]:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [1 - (A_{\text{实验}} - A_{\text{对照}}) / A_{\text{空白}}] \times 100 \quad \text{式(4)}$$

1.11 数据处理

采用 SPSS 19 软件用于数据的统计与分析,采用 Origin Pro 8.5 作图。

2 结果与分析

2.1 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的物理性质

由表 1 色差结果可以发现,明胶膜、壳聚糖膜及明胶/壳聚糖复合膜 L 值(白度)都在 87~89 之间,且 a 值、b 值的相对数值较小,表明膜的亮度较高,色泽偏浅。而明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的 L 值显著低于其他组($p < 0.05$),a 值显著高于其余组($p < 0.05$),b 值绝对值显著低于其余组($p < 0.05$),说明明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的亮度不如其余几种膜,颜色偏暗,但同样表现出稍偏红蓝色。其中,颜色偏暗、亮度下降是由脂溶性迷迭香提取物的添加,导致迷迭香提取物颗粒聚集所致,这与 Etxabide 等的研究结果相一致^[9]。

膜的水溶解性结果显示(表 1),明胶膜可以完全溶于水,壳聚糖膜在水中的溶解度达到 52.95%,而二者混合制备的明胶/壳聚糖复合膜在水中溶解性介于两者之间,这可能是由于明胶与壳聚糖之间的交联作用导致。但是当加入了迷迭香提取物后,膜的溶解性会显著降低($p < 0.05$),原因可能是本研究所选用的迷迭香提取物主要成分为脂溶性的鼠尾草酸,迷迭香提取物的添加,使得其与明胶、壳聚糖进一步结合、交联,导致其水溶解性降低^[10]。

水蒸气透过性结果显示,明胶膜与壳聚糖膜没有显著差异($p > 0.05$),但都显著低于明胶/壳聚糖复合膜和明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜($p < 0.05$)。这可能由于明胶与壳聚糖之间的交联作用使得分子间空隙变大导致水分子更容易通过^[5,11]。迷迭香提取物膜水蒸气透过性的提高,还可能由于迷迭香提取物颗粒聚集体的存在,促进了水分子在膜中的传输。

由表 1 可以看出,明胶膜的热变性温度为 91.05 $^{\circ}\text{C}$,壳聚糖膜在 131.21 $^{\circ}\text{C}$ 时发生变性,由明胶、壳聚糖两种大分子复合成膜得到的明胶/壳聚糖复合膜在 130.97 $^{\circ}\text{C}$ 发生热分解,说明两种分子间发生了交联,改变了分子间结构;在添加迷迭香提取物后,明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的热变性温度提高到 167.52 $^{\circ}\text{C}$,说明迷迭香提取物的添加使膜的热稳

定性得到进一步提高,这可能与迷迭香提取物使得大分子之间的交联更加紧密,从而大分子不容易分解变性所致。

2.2 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的傅里叶红外光谱图

从图 1 中明胶的红外光谱中可以发现,3285 cm^{-1} 的吸收峰是由 N-H 或 O-H 伸缩振动引起的,主要涉及到氢键的形成。1664 cm^{-1} 是酰胺 I 带的特征吸收峰,是由蛋白质多肽链的 C=O 的伸缩振动产生;1549 cm^{-1} 是酰胺 II 带的特征吸收峰,1238 cm^{-1} 是酰胺 III 带的吸收峰^[3];从壳聚糖的红外谱图中可以发现,3370 cm^{-1} 左右的吸收峰是由 N-H 及 O-H 伸缩振动引起的;C-H 的伸缩振动在 2880 cm^{-1} 处形成一个吸收峰;1660 cm^{-1} 处的吸收峰由 C=O 的伸缩振动形成,1590 cm^{-1} 是 NH_2 产生的特征吸收峰,1380 cm^{-1} 是 C-N 的特征吸收峰^[12];明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的红外谱图上在 3530 cm^{-1} 为羟基特征吸收峰,2960 cm^{-1} 为 C-H 所特有的吸收峰,1650 cm^{-1} 处为 C=O 与 C=C 特征吸收峰。1420、1270、913 cm^{-1} 为苯环的特征吸收峰;明胶/壳聚糖复合膜在 2936、1655、1041 cm^{-1} 处有三个特征峰^[13],分别由 C-H 的伸缩振动、C=O 的伸缩振动以及 C-O-C 基团产生,而明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜在 2936 cm^{-1} 附近处的 2930 cm^{-1} 处,在 1655 cm^{-1} 附近的 1671 cm^{-1} 处以及在 1041 cm^{-1} 附近的 1036 cm^{-1} 处都有吸收峰,但相对于明胶/壳聚糖复合膜的吸收峰相比,峰的位置分别发生蓝移以及红移。表明迷迭香提取物的添加对明胶/壳聚糖复合膜的分子结构产生了影响,这与膜的热变性结果相一致。

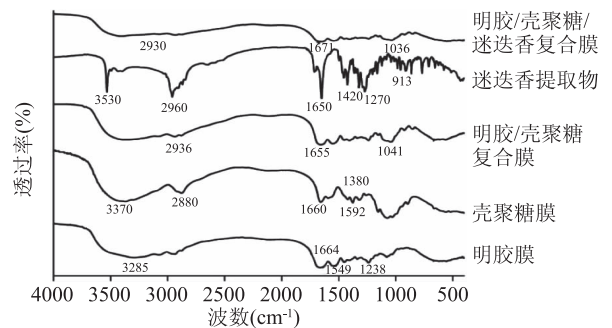


图1 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的红外光谱图

Fig.1 FT-IR spectra of chitosan-gelatin films incorporated with rosemary extract

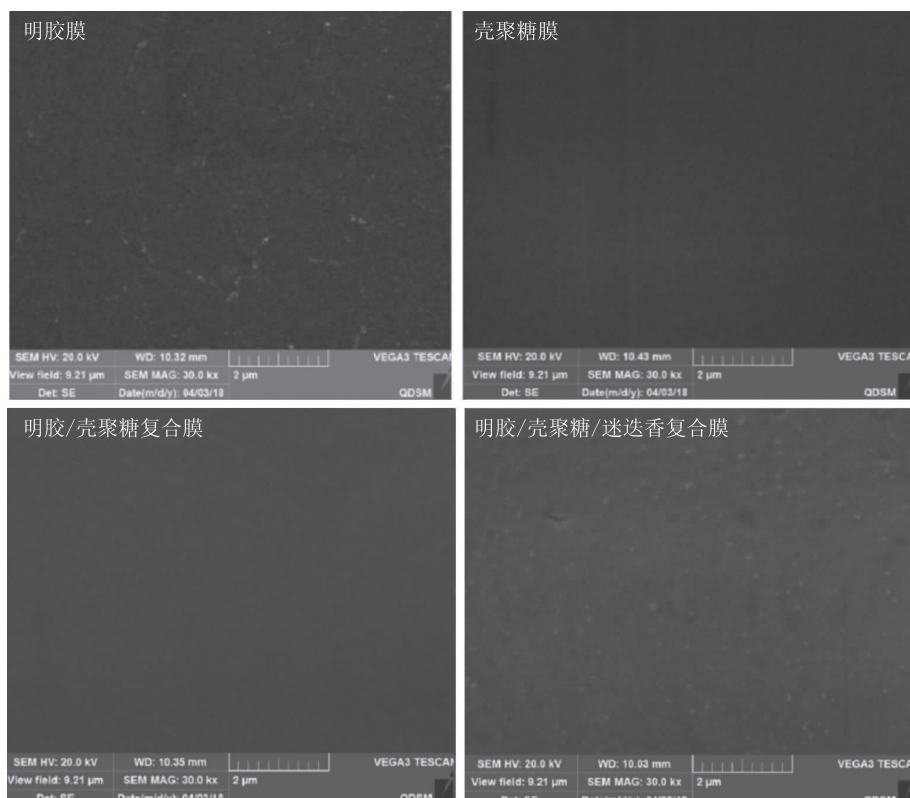


图2 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的表面扫描电镜图

Fig.2 SEM surface images of chitosan-gelatin films incorporated with rosemary extract

2.3 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的扫描电镜图

由图2可知,明胶膜、壳聚糖膜以及明胶/壳聚糖复合膜的表面均光滑平整,添加了迷迭香提取物之后,复合膜表面变得粗糙、不够光滑,但迷迭香提取物在明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜表面均匀分布,没有明显的相分离,表现了良好的生物相容性。在明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的表面,有一些分布均匀的颗粒,这些颗粒的形成可能与膜中水分蒸发,导致迷迭香提取物溶解体系不平衡致使溶质析出有关,从而使膜表面呈现出粗糙不平的结构^[8]。

2.4 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的抗拉强度与断裂伸长率

膜的抗拉强度表明膜抵抗拉力的大小,数值越大表明膜的强度越大;断裂伸长率表示膜破断时的伸长情况,数值越大表示膜断裂时膜伸长越多^[14]。如图3A所示,虽然壳聚糖膜、明胶/壳聚糖/复合膜及明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的抗拉强度显著高于明胶膜的抗拉强度($p < 0.05$),但明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的抗拉强度与明胶/壳聚糖复合膜相比并无显著差异($p < 0.05$)。另外,明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的断裂伸长率与明胶/壳聚糖复合膜相比,也无显著性差异($p < 0.05$) (图3B)。表明,迷迭香提取物的添加对明胶/壳聚糖复合膜的力学性质并无显著影响。

2.5 迷迭香提取物从膜中的释放

由图4可知,迷迭香提取物随着时间的增加从膜中逐渐释放到体系中,可以发现在50%乙醇体系中迷迭香提取物更容易从膜中释放出去并且能够快速并几乎全部转移到体系中,而在无水乙醇中的体

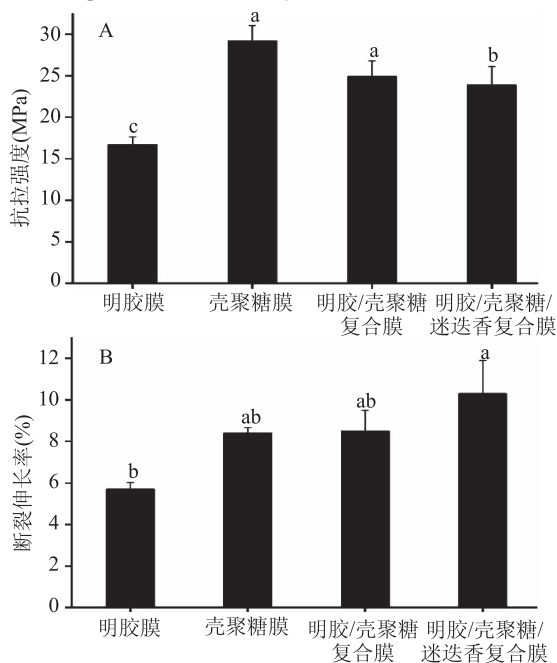


图3 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的抗拉强度(A)及断裂伸长率(B)

Fig.3 Tensile strength (A) and elongation at break (B) of the chitosan-gelatin films incorporated with rosemary extract

注:不同字母表示处理间的差异显著性($p < 0.05$)。

系中释放率较低。这是由于50%乙醇中,首先水分子进入膜中,会导致膜的溶胀,使得膜的结构松散,从而使乙醇分子进入膜内部,将迷迭香提取物溶解到体系中,而无水乙醇体系不能使膜溶胀、结构松散^[15],因此膜内部的迷迭香提取物不能被乙醇接触

并溶解到体系中。这说明迷迭香提取物在一般食品体系中能快速大量地从膜中转移到食品中,防止食品的氧化;而在全脂或脂质含量高的食品中同样能逐渐释放出来但不能完全释放到体系中,推测迷迭香提取物对脂溶性食品体系的抗氧化作用会减弱,这与 Jin^[16], Peng^[17] 等人的研究结果相一致。

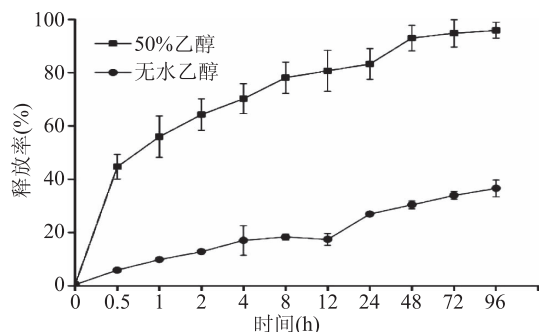


图4 迷迭香提取物从膜中向水溶性和脂溶性食品体系中的释放率

Fig.4 Releasing rates of rosemary extract from films to aqueous and fatty food simulants

2.6 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的 DPPH 自由基清除率

单纯明胶/壳聚糖膜的 DPPH 自由基清除率在 15% 以下,明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜在 50% 乙醇溶液中时,对 DPPH 自由基的清除率约为 60% ~ 70%,并且在 5 d 内始终保持较高的自由基清除活性(图 5)。但在乙醇体系中明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的 DPPH 自由基清除率仅为 20% 左右,这与迷迭香提取物在 50% 乙醇体系及无水乙醇体系中的释放结果相一致。在 50% 乙醇体系中,迷迭香提取物更容易从膜中释放出来,从而增加其抗氧化性;而在无水乙醇中,迷迭香提取物释放率不高,因此抗氧化性不强,但其自由基清除率仍显著高于明胶/壳聚糖复合膜($p < 0.05$)。

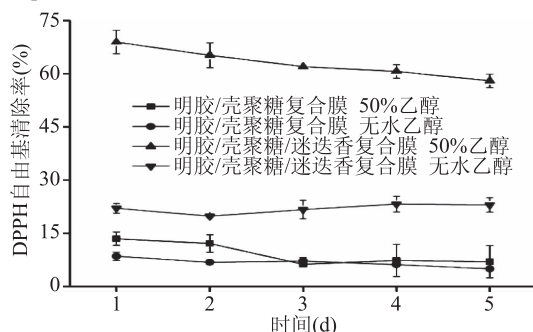


图5 明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜的 DPPH 自由基清除率

Fig.5 DPPH scavenging rate of the chitosan-gelatin films incorporated with rosemary extract

3 结论

本研究成功制备了明胶/壳聚糖/迷迭香复合膜,迷迭香提取物的加入使明胶/壳聚糖复合膜的抗氧化活性显著提高,对 DPPH 自由基的清除能力从不足 15% 提高到了 60% 以上,并且在 5 d 内始终保持高活性。虽然迷迭香提取物改变了膜的外观颜

色,明亮度降低,但对膜的力学性能与超微结构并无影响,另外,迷迭香提取物还显著提高了明胶/壳聚糖复合膜的热稳定性能,0.1% 的迷迭香提取物使明胶/壳聚糖复合膜的热变性温度从 130.97 °C 升至 167.52 °C。

总之,迷迭香提取物是活性包装的理想原料,迷迭香提取物与壳聚糖、明胶复合更有利于开发水溶性低、热稳定性好和抗氧化活性高的包装材料,具有良好的应用潜力。

参考文献

- [1] Kai S, Wang C. Recent advances in the use of gelatin in biomedical research [J]. Science & Technology of Gelatin, 2015, 37(11): 2139-2145.
- [2] 冯守爱, 林宝凤, 梁兴泉. 壳聚糖保鲜膜的研究进展 [J]. 高分子通报, 2004(6): 68-72.
- [3] 葛晓军. 鱼皮明胶的壳聚糖与酶法复合改性及其膜性能研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [4] 夏田娟. 迷迭香叶中鼠尾草酸的分离纯化及其生物活性研究 [D]. 中国林业科学研究院, 2015.
- [5] López-Córdoba A, Medina-Jaramillo C, Piñeros-Hernandez D, et al. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 71: 26-34.
- [6] 吴晓霞, 李建科, 余朝舟. 魔芋葡甘聚糖-壳聚糖-羧甲基纤维素钠复合可食性保鲜膜研究 [J]. 食品工业科技, 2008(2): 236-238.
- [7] Akhtar, Jacquot, Arab-Tehrany, et al. Control of salmon oil photo-oxidation during storage in HPMC packaging film: Influence of film colour [J]. Food Chemistry, 2010, 120: 395-401.
- [8] Jiang S, Liu C, Wang X, et al. Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 69(2): 251-257.
- [9] Etxabide A, Coma V, Guerrero P, et al. Effect of cross-linking in surface properties and antioxidant activity of gelatin films incorporated with a curcumin derivative [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 66: 168-175.
- [10] Li, Hu, Li, et al. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Food Control, 2012, 25: 101-106.
- [11] Bitencourt C M, Fávoro-Trindade C S, Sobral P J A, et al. Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 40(10): 145-152.
- [12] Bonilla J, Fortunati E, Atarés L, et al. Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol - chitosan biodegradable films [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35(1): 463-470.
- [13] Bonilla J, Sobral P J A. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible

(下转第 67 页)

- 97-106.
- [20] Jang J, Hong S H, Choi D, et al. Overexpression of Newcastle disease virus (NDV), V protein enhances NDV production kinetics, in chicken embryo fibroblasts [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(5): 1509.
- [21] Woo I S, Jin H, Kang E S, et al. TMEM 14A inhibits N-(4-hydroxyphenyl) retinamide-induced apoptosis through the stabilization of mitochondrial membrane potential [J]. *Cancer Letters*, 2011, 309(2): 190-198.
- [22] Hodo Y, Hashimoto S I, Honda M, et al. Comprehensive gene expression analysis of 5'-end of mRNA identified novel intronic transcripts associated with hepatocellular carcinoma [J]. *Genomics*, 2010, 95(4): 217-223.
- [23] Zhang Q, Chen X, Xuan Z, et al. Knockdown of TMEM 14A expression by RNAi inhibits the proliferation and invasion of human ovarian cancer cells [J]. *Bioscience Reports*, 2016, 36(1): e00298-e00298.
- [24] Chea E. Regulation of planar cell polarity and vangl2 trafficking by TMEM14A [J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2012, 22(1): 74-85.
- [25] Zulkifli I, Najafi P, Nurfarahin A J, et al. Acute phase proteins, interleukin 6, and heat shock protein 70 in broiler chickens administered with corticosterone [J]. *Poultry Science*, 2014, 93(12): 3112-3118.
- [26] Glasgow A M, Small D M, Scott A, et al. A role for whey acidic protein four-disulfide-core 12 (WFDC12) in the regulation of the inflammatory response in the lung [J]. *Thorax*, 2015, 70(5): 426-432.
- [27] Moore P F, Woo J C, Vernau W, et al. Characterization of feline T cell receptor gamma (TCRG) variable region genes for the molecular diagnosis of feline intestinal T cell lymphoma [J]. *Veterinary Immunology & Immunopathology*, 2005, 106(3): 167-178.
- [28] Everaert N, Willemsen H, Hulikova A, et al. The importance of carbonic anhydrase II in red blood cells during exposure of chicken embryos to CO₂ [J]. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 2010, 172(3): 154-161.
- [29] Basson M A. Sprouty proteins: Multifaceted negative-feedback regulators of receptor tyrosine kinase signaling [J]. *Trends in Cell Biology*, 2006, 16(1): 45-54.
- [30] Hanafusa H, Torii S, Yasunaga T, et al. Sprouty1 and Sprouty2 provide a control mechanism for the Ras/MAPK signalling pathway [J]. *Nature Cell Biology*, 2002, 4(11): 850-858.
- [31] Longen S, Bien M, Bihlmaier K, et al. Systematic analysis of the twin cx(9)c protein family [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2009, 393(2): 356-368.
- [32] Chan Y L, Paz V, Olvera J, et al. The primary structure of L37—a rat ribosomal protein with a zinc finger-like motif [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1993, 192(2): 590-596.
- [33] Gong D, Wilson P W, Bain M M, et al. Gallin; an antimicrobial peptide member of a new avian defensin family, the ovodefensins, has been subject to recent gene duplication [J]. *BMC Immunology*, 2010, 11(1): 1-15.
- [34] Hervé V, Meudal H, Labas V, et al. Three-dimensional NMR structure of hen egg gallin (chicken ovodefensin) reveals a new variation of the β -defensin fold [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(10): 7211-7233.
- [35] Wong M, Hendrix M J C, Mark K V D, et al. Collagen in the egg shell membranes of the hen [J]. *Developmental Biology*, 1984, 104(1): 28-36.
- [36] Knupp C, Chew M, Squire J. Collagen packing in the dogfish egg case wall [J]. *J Struct Biol*, 1998, 122(1-2): 101.
- [37] Holmskov U, Thiel S, Jensenius J C. Collections and ficolins: Humoral lectins of the innate immune defense [J]. *Annual Review of Immunology*, 2003, 21(1): 547-578.
- [38] Ulrich-Lynge S L, Dalgaard T S, Norup L R, et al. Chicken mannose-binding lectin function in relation to antibacterial activity towards *Salmonella enterica* [J]. *Immunobiology*, 2015, 220(5): 555-563.
- [39] Wei M, Zhao X, Liu M, et al. Inhibition of HIV-1 assembly by coiled-coil domain containing protein 8 in human cells [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14724.
- [40] Rearden A. A new LIM protein containing an autoepitope homologous to "senescent cell antigen" [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1994, 201(3): 1124-1131.
- [41] Lu J, Karadsheh M, Delpire E. Developmental regulation of the neuronal-specific isoform of K-Cl cotransporter KCC2 in postnatal rat brains [J]. *Journal of Neurobiology*, 2015, 39(4): 558-568.
- [16] Jin L, Hua Y, Zhang J, et al. Preparation and characterization of antioxidant edible chitosan films incorporated with epigallocatechin gallate nanocapsules [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 171: 300-306.
- [17] Peng Y, Wu Y, Li Y. Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 59(4): 282-289.

(上接第 61 页)

film mixed with plant ethanolic extracts [J]. *Food Bioscience*, 2016, 16: 17-25.

[14] Liu J, Meng C G, Liu S, et al. Preparation and characterization of protocatechuic acid grafted chitosan films with antioxidant activity [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63(2): 457-466.

[15] 彭勇, 李云飞, 项凯翔. 绿茶多酚提高壳聚糖包装膜的抗氧化性能 [J]. *农业工程学报*, 2013, 29(14): 269-276.