



Final Report

**Effect of gelatin hydrolysate on physico-chemical and functional
properties and characteristics of film from fish myofibrillar
protein**

Investigators

Thummanoon Prodpran
Soottawat Benjakul

Department of Material Product Technology and
Department of Food Technology
Faculty of Agro-Industry
Prince of Songkla University

This research project was supported by Prince of Songkla University, Thailand, for
the fiscal year of 2015 (Grant No. AGR580920S).

2017

900

.....
Bib Key.....
16 MAY 2017

- Project Code** : AGR580920S
- Project Title** : Effect of gelatin hydrolysate on physico-chemical and functional properties and characteristics of film from fish myofibrillar protein
- Investigators** : Asst. Prof. Dr. Thummanoon Prodpran
Department of Material Product Technology
Faculty of Agro-Industry
Prince of Songkla University
- Prof. Dr. Soottawat Benjakul
Department of Food Technology
Faculty of Agro-Industry
Prince of Songkla University

ABSTRACT

The effect of using fish gelatin hydrolysates having different degree of hydrolysis (DH: 23, 61 and 95%) as plasticizer at various levels (30 – 60%) in film of fish myofibrillar protein (FMP) from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) was investigated, in comparison with glycerol. All films exhibited increased film flexibility as compared to the control FMP film without plasticizer which was brittle. Regardless of DH, FMP films incorporated with gelatin hydrolysates at 50 and 60% of FMP generally had higher elastic modulus (E) and tensile strength (TS) but lower water vapor permeability (WVP), compared with those added with glycerol at the same level ($p < 0.05$). At the same DH, both E and TS of film decreased, while elongation at break (EAB) and WVP increased with increasing levels of gelatin hydrolysate ($p < 0.05$). When hydrolysate at the same level was used, the decrease in TS and E but the increase in WVP was found as DH increased. Nevertheless, FMP film added with gelatin hydrolysate exhibited the higher b^* -value (yellowness) and lower transparent, compared with the film containing glycerol ($p < 0.05$).

Moreover, use of the blend of glycerol (GLY) and 61% DH gelatin hydrolysate (GH) of various GLY/GH ratios (100/0, 75/25, 50/50, 25/75 and 0/100) at 50% of FMP as plasticizer in the FMP film was also studied. Both TS and E of films increased while EAB of the films decreased as GH level in the blend increased ($p < 0.05$). The presence of GH at higher level in the GLY/GH blend resulted in decreased WVP and transparency but increased yellowness of the FMP film.

FMP films plasticized with glycerol, 60% DH fish gelatin hydrolysate (GH) and glycerol/gelatin hydrolysate blend (GLY/GH = 25/75) were comparatively characterized. In general, the FMP film plasticized with glycerol possessed the highest moisture content and film solubility in water as compared to the others ($p < 0.05$). Film solubility of the films added with GH and GLY/GH was not significantly different ($p < 0.05$). Moreover, all films

exhibited similar protein solubilities in water and different denaturing solvents ($p < 0.05$). As revealed by protein solubility in various solvents and SDS-PAGE protein patterns, FMP films were stabilized by mainly hydrogen bond as well as hydrophobic interaction and disulfide bond, regardless of type of plasticizer used. Based on FTIR analysis, the Amide-A peak became broader for films added with GH or GLY/GH blend as compared to those added with only glycerol, suggesting the greater interaction via hydrogen bond between FMP chains and gelatin hydrolysate. Moreover, SEM and TGA results respectively indicated that the films added with gelatin hydrolysate had more compact structure and thermal stability (higher degradation temperature), compared to that added with glycerol as plasticizer. However, FMP film incorporated with gelatin hydrolysate prepared in this study exhibited no antimicrobial and antioxidative properties.

During the storage at room temperature (28 – 30 °C) for 8 weeks of the selected film samples, mechanical properties (E, TS and EAB) of the film added with 50% glycerol remained constant ($p > 0.05$). However, films added with GH and GLY/GH blend had increased E and TS but decreased EAB upon 8 week of storage ($p < 0.05$). In addition, WVP and transparency of all films seemed to decrease but b^* -value (yellowness) increased with increasing storage time ($p < 0.05$). Dramatic decreases in film solubility as well as protein solubility in water and various solvents were noticed as storage time increased, more likely associated with the formation of various interactions via non-covalent and covalent bonds of the components in the film during the extended storage.

Sealing ability of FMP film incorporated with gelatin hydrolysate by means of applying different natural adhesives (tapioca flour, gelatin and soy protein isolate) in combination with impulse heat sealing at various times (1.5, 2.5 and 3.5 s) was investigated. As evaluated by peel strength test, films sealed with gelatin or soy protein isolate had increased seal strength with increasing heat sealing time used ($p < 0.05$). Irrespective of heat sealing time, the use of gelatin as adhesive rendered the seal with the highest seal strength ($p < 0.05$), followed by soy protein isolate and tapioca starch, respectively. Among sealing conditions studied, the highest seal strength was observed when gelatin was used as adhesive and heat sealed for 3.5 s.

- รหัสโครงการ : AGR580920S
- ชื่อโครงการวิจัย : ผลของเจลาตินไฮโดรไลเสตต่อสมบัติเคมี-กายภาพ สมบัติเชิงหน้าที่ และ ลักษณะเฉพาะของฟิล์มโปรตีนไมโอไฟบริลจากปลา
- ชื่อคณະนักวิจัย : ผศ.ดร.ธรรมณูญ โปรตปราน
ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ศ.ดร.สุทรวัดน์ เบญจกุล
ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของการใช้เจลาตินไฮโดรไลเสตจากปลาที่มีระดับการไฮโดรไลซิสต่างๆ (DH = 23, 61 และ 95%) เป็นพลาสติกไซเซอรินในปริมาณต่างๆ (30 – 60%) ในฟิล์มโปรตีนไมโอไฟบริลจากปลาทับทิมน้ำจืด (*Oreochromis niloticus*) (FMP) เปรียบเทียบกับการใช้กลีเซอรอล พบว่า ฟิล์มทุกชุดการทดลองมีความอ่อนตัวและยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์ม FMP ควบคุมที่ไม่เติมพลาสติกไซเซอริน ซึ่งมีความแข็งเปราะ ฟิล์มที่เติมเจลาตินไฮโดรไลเสตที่ระดับ 50 และ 60% ของ FMP มีค่าอิลาสติกมอดุลัส (E) และการต้านทานแรงดึง (TS) สูงกว่า แต่มีค่าการซึมผ่านไอน้ำ (WVP) ต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลในปริมาณเดียวกัน ($p < 0.05$) และที่ระดับการไฮโดรไลซิสเดียวกัน ค่า E และ TS ของฟิล์มมีค่าลดลง ในขณะที่ค่าการยืดตัวเมื่อขาด (EAB) และค่า WVP มีค่าสูงขึ้น เมื่อปริมาณเจลาตินไฮโดรไลเสตที่เติมในฟิล์มสูงขึ้น ($p < 0.05$) และพบว่าเมื่อใช้เจลาตินไฮโดรไลเสตในปริมาณเดียวกัน ฟิล์มที่เติมเจลาตินไฮโดรไลเสตที่มีระดับการไฮโดรไลซิส (DH) สูงกว่าจะมีค่า TS และ E ต่ำกว่า แต่มีค่า WVP สูงขึ้น อย่างไรก็ตามฟิล์ม FMP ที่เติมเจลาตินไฮโดรไลเสตมีค่า b^* (สีเหลือง) สูงขึ้น และการส่องผ่านแสงลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมกลีเซอรอล ($p < 0.05$)

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาการใช้ของผสมระหว่างกลีเซอรอล (GLY) และเจลาตินไฮโดรไลเสต (61% DH) (GH) ที่อัตราส่วนผสมต่างๆ (GLY/GH = 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 และ 0/100) เพื่อเป็นพลาสติกไซเซอรินในฟิล์ม FMP ที่ปริมาณ 50% ของ FMP พบว่า ค่า TS และ E ของฟิล์มมีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ค่า EAB ลดลงเมื่อปริมาณเจลาตินไฮโดรไลเสตที่ใช้ในของผสม GLY/GH เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) นอกจากนี้เมื่อปริมาณเจลาตินไฮโดรไลเสตในของผสม GLY/GH เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า WVP และการส่องผ่านแสงของฟิล์มลดลง แต่ฟิล์มที่ได้มีสีเหลืองมากขึ้น

จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะเฉพาะของฟิล์ม FMP ที่เติมกลีเซอรอล เจลาตินไฮโดรไลเสต (60% DH) และของผสมระหว่างกลีเซอรอล/เจลาตินไฮโดรไลเสต (GLY/GH = 25/75) เป็นพลาสติกไซเซอรินพบว่าฟิล์ม FMP ที่เติมกลีเซอรอลมีค่าปริมาณความชื้นและการละลายน้ำของฟิล์มสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มอื่นๆ ($p < 0.05$) โดยที่ค่าการละลายน้ำของฟิล์มที่เติม GH และที่เติมของผสมระหว่าง GLY/GH ไม่มีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ฟิล์มทั้งหมดมีค่าการละลายของโปรตีนในน้ำและการละลายของโปรตีนใน 5% วัชระลายชนิดต่างๆ ไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) จากผลการวิเคราะห์ค่าการละลายของโปรตีนในตัวทำละลาย ชนิดต่างๆ และรูปแบบโปรตีน แสดงให้เห็นว่าโครงข่ายของฟิล์ม FMP เกิดจากพันธะไฮโดรเจนเป็นส่วนใหญ่ รวมทั้งอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกและพันธะไดซัลไฟด์ โดยไม่ขึ้นกับชนิดของพลาสติกไซเซอร์ที่ใช้ และจากการผลการ วิเคราะห์โดยเทคนิค FTIR พบว่า แถบการดูดกลืน Amide-A ของฟิล์มที่เติม GH หรือ GLY/GH มีลักษณะที่กว้าง กว่า เมื่อเปรียบเทียบกับของฟิล์มที่เติมกลีเซอรอล ซึ่งแสดงถึงการเกิดอันตรกิริยาโดยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น ได้มากกว่าระหว่างสายโซ่ของ FMP และเจลาตินไฮโดรไลเสต นอกจากนี้จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM และ TGA พบว่าฟิล์มที่เติมเจลาตินไฮโดรไลเสตมีลักษณะโครงสร้างที่แน่นกว่า และฟิล์มที่ได้มีความคงตัวทางความร้อน สูงกว่า (มีค่าอุณหภูมิการสลายตัวทางความร้อนสูงกว่า) เมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซ เซอร์ อย่างไรก็ตามพบว่าฟิล์มที่เติมไฮโดรไลเสตไม่แสดงสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน

จากการศึกษาการเก็บรักษาตัวอย่างฟิล์มที่เลือกที่อุณหภูมิห้อง (28 – 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สมบัติเชิงกล (ค่า E, TS และ EAB) ของฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลในปริมาณ 50% มีค่าค่อนข้างคงที่ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติม GH และ GLY/GH มีค่า E และ TS สูงขึ้น แต่ค่า EAB ต่ำลง ระหว่างการเก็บ รักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบว่า ฟิล์มทุกชนิดมีค่า WVP และการส่องผ่านแสงต่ำลง แต่มีค่า b^* (สีเหลือง) สูงขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษา ($p < 0.05$) รวมทั้งพบว่า ค่าการละลายของฟิล์ม และการ ละลายของโปรตีนในน้ำและในตัวทำละลายต่างๆ เพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ทั้งนี้ น่าจะเกี่ยวข้องกับการเกิดอันตรกิริยาโดยพันธะโควาเลนต์และที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ขององค์ประกอบของฟิล์ม มากขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่นานขึ้น

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาความสามารถในการปิดผนึกฟิล์ม FMP ที่เติมเจลาตินไฮโดรไลเสต โดยการ ใช้สารยึดติดธรรมชาติ (แป้งมันสำปะหลัง เจลาติน และโปรตีนไอโซเลตถั่วเหลือง) ร่วมกับการปิดผนึกด้วยความ ร้อนแบบอิมพัลส์ที่ระยะเวลาการปิดผนึกต่างๆ (1.5 2.5 และ 3.5 วินาที) จากการตรวจสอบความต้านทานต่อการ ลอกของรอยปิดผนึก พบว่ารอยปิดผนึกฟิล์มที่ผ่านการปิดผนึกโดยใช้เจลาตินหรือโปรตีนไอโซเลตถั่วเหลืองเป็นสาร ยึดติด มีค่าความแข็งแรงของรอยปิดผนึกที่สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการปิดผนึกด้วยความร้อนที่ใช้มีค่าสูงขึ้น ($p < 0.05$) การใช้เจลาตินเป็นสารยึดติดให้รอยปิดผนึกฟิล์มที่มีความแข็งแรงสูงสุด ($p < 0.05$) รองลงมาคือการใช้โปรตีนไอโซ เลตถั่วเหลืองและแป้งมันสำปะหลังตามลำดับ ทั้งนี้สภาวะการปิดผนึกที่ทำการศึกษาที่ให้รอยปิดผนึกที่มีความ แข็งแรงสูงสุด คือสภาวะที่มีการใช้เจลาตินเป็นสารยึดติดร่วมกับการปิดผนึกด้วยความร้อนเป็นระยะเวลา 3.5 วินาที