

การสกัดและการจำแนกสมบัติของเนื้อจากกระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus*

นางสาวกิริดา ปฏิพัทธ์เผ่าพงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF OKRA *Abelmoschus esculentus* MUCILAGE

Miss Thirada Patipatpaopong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food Science and Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2007

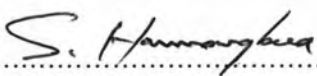
Copyright of Chulalongkorn University

500701


Thesis Title           EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF OKRA *Abelmoschus esculentus*  
MUCILAGE  
By                       Miss Thirada Patipatpaopong  
Field of Study        Food Science and Technology  
Thesis Advisor       Assistant Professor. Jirarat Tattiyakul, Ph.D.

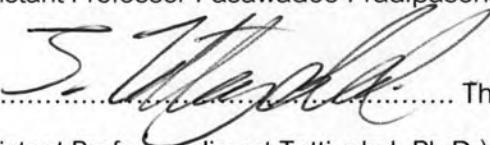
---

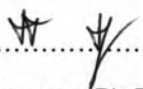
Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment  
of the Requirements for the Master's Degree

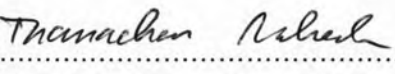
  
..... Dean of the Faculty of Science  
(Professor Supot Hannongbua, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

  
..... Chairman  
(Assistant Professor Pasawadee Pradipasena, Sc.D.)

  
..... Thesis Advisor  
(Assistant Professor Jirarat Tattiyakul, Ph.D.)

  
..... Member  
(Kanitha Tananuwong, Ph.D.)

  
..... Member  
(Thanachan Mahawanich, Ph.D.)

ดิเรก ภูมิพัทธ์เผ่าพงศ์ : การสกัดและการจำแนกสมบัติของเมือกจากกระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus* (EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF OKRA *Abelmoschus esculentus* MUCILAGE) อ. ที่ปรึกษา ผศ. ดร. จิรวรรตน์ ทัดติยกุล. 94 หน้า

งานวิจัยนี้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนและสมบัติของสารเมือกสกัดจากกระเจี๊ยบเขียว การสกัดสารเมือกทำได้โดยใช้น้ำกลั่นในการสกัดและตกตะกอนพอลิเมอร์สารเมือกโดยใช้เอธานอลความเข้มข้นต่างๆ (20, 40, 60, 80, และ 95%) ในอัตราส่วนสารเมือกต่อเอธานอล 1:4 จากผลการทดลองพบว่า เอธานอลเข้มข้น 60, 80, และ 95% เท่านั้นที่สามารถตกตะกอนสารเมือกได้ ความเข้มข้นของเอธานอลมีผลต่อปริมาณสารเมือกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของสารเมือก ( $p > 0.05$ ) โดยเอธานอล 95% ให้ผลผลิตสารเมือกที่ตกตะกอนได้มากที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เอธานอล 95 % สำหรับตกตะกอนสารเมือก

เมื่อศึกษาแรงตึงผิวและสมบัติทางการไหลของสารละลายของสารเมือกโดยเปรียบเทียบกับสารให้ความคงตัวทางการค้า 2 ชนิดได้แก่ แชนแทนกัมและกัวกัมที่ความเข้มข้น 0.2-1.0% โดยน้ำหนัก พบว่าสารเมือกสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำได้ จากการทดสอบสมบัติทางการไหลพบว่าพฤติกรรมการไหลของสารเมือกสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวมีลักษณะคล้ายคลึงกับพฤติกรรมการไหลของแชนแทนกัม กล่าวคือ เป็นการไหลหนืดที่ความเข้มข้นต่ำ (0.4% w/w) เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น (0.6-1.0% w/w) ค่า  $G'$  สูงกว่า  $G''$  ตลอดช่วงความถี่ในการทดลอง แสดงถึงการสร้างโครงร่างตาข่ายของสารเมือก ภาวะความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อลักษณะการไหลของสารสกัดเมือกจากกระเจี๊ยบเขียว เมื่อความเป็นกรดเพิ่มขึ้น  $G'/G''$  cross over frequency มีค่าสูงขึ้น ส่วนค่า moduli และ complex viscosity ที่ภาวะเป็นกลางมีค่าสูงกว่าที่ภาวะความเป็นกรด นอกจากนี้ การเพิ่มความเข้มข้น การลดความเป็นกรด และการลดอุณหภูมิส่งผลให้สารเมือกสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวมีลักษณะการไหลแบบ shear thinning เด่นชัดขึ้น

เมื่อใช้สารเมือกสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวที่ความเข้มข้น (0.2-1.0% w/w) ในการให้ความคงตัวของอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำพบว่า ขนาดของหยดน้ำมันมีค่าในช่วง 2 ถึง 20 ไมโครเมตร อิมัลชันแสดงพฤติกรรมแบบการไหลหนืดที่ช่วงความถี่ต่ำ และแสดงลักษณะแบบยืดหยุ่นคล้ายเจลที่ช่วงความถี่สูง การเพิ่มความเข้มข้นของสารเมือกจากกระเจี๊ยบเขียวในอิมัลชัน ทำให้ค่า  $G'/G''$  crossover frequency ต่ำลง และค่า moduli และ complex viscosity สูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นทำให้เกิด entanglement ของพอลิเมอร์มากขึ้น อิมัลชันที่เติมสารเมือกสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวเข้มข้น 1.0% มีความคงตัวสูงถึง 13 วัน การประยุกต์ใช้สารสกัดเมือกจากกระเจี๊ยบเขียวในน้ำสลัดที่ลดไขมัน 50% ส่งผลให้ค่า moduli และ complex viscosity สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำสลัดที่ลดไขมัน 50% ที่ไม่มีการเติมสารให้ความคงตัวอื่นๆ และยังสามารถป้องกันการแยกชั้นของน้ำสลัดได้ตลอดระยะเวลาทดสอบ (30 วัน) โดยที่การเติมสารสกัดเมือกเปลี่ยนแปลงสีของน้ำสลัดเพียงเล็กน้อย

ภาควิชา.... เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต..... ดิเรก ภูมิพัทธ์เผ่าพงศ์  
สาขาวิชา..วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร.... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... จิรวรรตน์ ทัดติยกุล  
ปีการศึกษา...2550...

# # 4873602723 : MAJOR FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

KEY WORD: OKRA MUCILAGE/ EXTRACTION/ FUNCTIONAL PROPERTIES

THIRADA PATIPATIPAOPONG: EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF OKRA

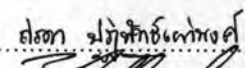

*Abelmoschus esculentus* MUCILAGE . THESIS ADVISOR: ASST. PROF. JIRARAT

TATTIYAKUL, Ph. D. 94 pp

This research aimed to optimize okra mucilage precipitation conditions and investigate the mucilage functional and rheological properties. Okra mucilage was extracted using distilled water. The crude mucilage was then precipitated using 20, 40, 60, 80, and 95% ethanol at 1:4 (the crude extract to ethanol) ratio. The results showed that the polymer from crude extract was not precipitated in 20% and 40% ethanol. Hence, only 60%, 80%, and 95% ethanol precipitated polymers were further determined for proximate compositions and yield. The percentage of ethanol used during precipitation of the crude extract did not significantly affect the proximate composition ( $p > 0.05$ ), but affected the extraction yield ( $p \leq 0.05$ ). The concentration of 95% ethanol gave significantly higher precipitating yield than 80% and 60% ethanol did, respectively ( $p \leq 0.05$ ). Therefore, the concentration 95% ethanol was used as the precipitating solvent for okra mucilage in this study.

The surface tension and rheological properties of okra mucilage solutions as well as that of 0.2-1.0% w/w xanthan gum solution and guar gum solution were determined. The results showed that okra mucilage acted as a weak surfactant, as evidenced by a decrease in surface tension with an increase in concentration of okra mucilage. The results on flow test and dynamic rheological test showed that the flow behavior of okra mucilage was more similar to that of xanthan gum than guar gum. At low concentration (0.4% w/w), okra mucilage exhibited a viscous flow behavior. At higher concentration (0.6-1.0% w/w),  $G'$  was higher than  $G''$  over the tested frequency range, indicating a weak network formation in the okra mucilage solution. Decreasing the pH of the okra mucilage solution caused the crossover frequency to shift to a higher value which suggested that lowering pH value lessened polymer entanglements. At every concentration, the complex viscosity of okra mucilage at neutral pH was higher than that at acidic pH. In addition, increasing concentration and pH of okra mucilage, and decreasing temperature caused an increase in shear thinning behavior of the gum solution.

Microstructure, rheological properties and stability of oil-in-water emulsion stabilized by okra mucilage at various concentrations (0.2%-1.0% w/w) was investigated. The size of oil droplets varied from 2 to 20  $\mu\text{m}$ . The okra mucilage stabilized emulsion exhibited a viscous flow at low frequencies and then exhibited an elastic, gel-like behavior at higher frequencies. An increase in concentration not only caused an increase in moduli and complex viscosity, but also caused a shift of the  $G'/G''$  crossover frequency from a higher value to a lower value. This indicated the more polymer-polymer entanglement. The emulsion stabilized by 1.0% w/w okra mucilage could be stabilized for up to 13 days. An addition of okra mucilage in a 50% reduced fat salad dressing led to an increase in moduli and complex viscosity, comparing to the 50% reduced fat recipe that did not contain any stabilizer. An addition of okra mucilage slightly changed the color of salad dressing. It was stable over the tested period of 30 days.

Department...Food Technology..... Student's..... .....  
 Field of study...Food Science and Technology... Advisor's..... .....  
 Academic year.....2007.....



## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to acknowledge the supervision of my advisor, Asst. Prof. Jirarat Tattiyakul, for her helpful guidance, comments and suggestions throughout my master degree pursuit.

My sincere gratitude is also given to all members of the thesis committee, Asst. Prof. Dr. Pasawadee Pradipasena, Dr. Kanitha Tananuwong, and Dr. Thanachan Mahawanich for their valuable suggestions and expert comments.

I am thankful to staffs and friends in Food Technology Department for their friendliness and encouragement.

Lastly, I would like to special express my gratitude to my parents for their understanding, patience, and encouragement during the study.

## CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	xi
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
CHAPTER II LITERATURE REVIEW.....	3
2.1 Okra.....	3
2.2 Chemical properties and characterization of okra mucilage.....	4
2.3 Hydrocolloids.....	7
2.3.1 Guar gum.....	9
2.3.2 Xanthan gum.....	11
2.4 Fourier Transform Infrared Spectrometry (FTIR).....	13
2.5 Rheology.....	16
2.5.1 Types of fluid flow behavior.....	16
2.5.2 Viscoelasticity.....	19
2.5.3 Flow behavior of okra mucilage.....	21
2.6 Emulsifying property of okra mucilage.....	23
CHAPTER III MATERIAL AND METHODS.....	27
3.1 Materials and instruments.....	27
3.2 Methods.....	28
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION.....	33
4.1 Chemical composition and yield of mucilage extracted from okra.....	33
4.2 FTIR analysis of okra mucilage.....	34
4.3 Surface tension of gum solutions at different concentrations.....	36
4.4 Flow behavior of okra mucilage, xanthan gum, and guar gum.....	38
4.5 Emulsion stability.....	56

4.6 Flow and physical properties of salad dressing containing okra mucilage.....	70
CHAPTER V CONCLUSION.....	76
REFERENCES.....	78
APPENDICES.....	84
Appendix A Determination of chemical properties.....	85
Appendix B Determination of functional properties of okra mucilage and gum solutions.....	89
Appendix C Linear viscoelastic range.....	92
VITA .....	94



## LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
2.1 Composition of okra polysaccharide fractions (percent) and sugar composition (mole percent) after Trifluoroacetic acid (TFA) hydrolysis, acetylation, and GC- MS analysis.....	6
2.2 Source, function, and main applications of hydrocolloids .....	8
2.3 FTIR spectrum with corresponding functional groups.....	15
2.4 Viscosity of 4.75 % w/w okra mucilage at various temperatures.....	21
3.1 Ingredients for the preparation of four salad dressings.....	31
4.1 Yield and proximate composition of okra mucilage precipitated by using 60, 80, and 95% ethanol.....	34
4.2 Consistency index (K) and flow behavior index (n) of 0.2% w/w okra mucilage at neutral (pH 6.6±0.1) and acidic condition ( pH 3.7±0.2) .....	51
4.3 Consistency index (K) and flow behavior index (n) of 0.2% w/w xanthan gum at neutral (pH 6.6±0.1) and acidic condition (pH 3.7±0.2) .....	52
4.4 Flow test with yield stress of xanthan gum at neutral (pH 6.6±0.1) and acidic condition (pH 3.7±0.2).....	53
4.5 Consistency index (K) and flow behavior index (n) of 0.2% w/w guar gum at neutral (pH 6.6±0.1) and acidic condition (pH 3.7±0.2) .....	54
4.6 Activation energy ( $E_a$ ) and Consistency index (K) reference of okra mucilage, xanthan gum, and guar gum at neutral (pH 6.6±0.1) and acidic (pH 3.7±0.2).....	55
4.7 The average size of oil droplets of the emulsion stabilized by okra mucilage, xanthan gum, and guar gum at acidic condition (pH 3.7 ± 0.2).....	62
4.8 Consistency index (K) and flow behavior index (n) of emulsions containing okra mucilage, xanthan, and guar gum at an acidic condition (pH 3.7 ± 0.2), 25°C.....	69

TABLE	PAGE
4.9 Consistency index (K) and flow behavior index (n) of the control full fat salad dressing (FF), the salad dressing with 50% reduced fat (RF), the 50% reduced fat with 1.0% w/w okra mucilage (RFOM 1.0), and the 50% reduced fat with 2.5% w/w okra mucilage (RFOM 2.5).....	73
4.10 Color of the control full fat salad dressing (FF), the salad dressing with 50% reduced fat (RF), the 50% reduced fat with 1.0% w/w okra mucilage (RFOM 1.0), and the 50% reduced fat with 2.5% w/w okra mucilage (RFOM 2.5).....	74

## LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
2.1 Chemical structure of guar gum.....	9
2.2 Chemical structure of xanthan gum.....	12
2.3 Conformational ordering in xanthan gum polysaccharide.....	12
2.4 Schematic drawing of the Michelson interferometer.....	14
2.5 General flow behaviors of fluids.....	18
2.6 Moduli spectrum of polymer in dynamic test (Zone I: the terminal zone, zone II: the plateau zone, zone III: the glass transition zone, and zone IV: the glassy zone). ....	20
2.7 Volume fraction of oil in emulsion at equilibrium as a function of gum concentration.....	26
4.1 FTIR spectrum of okra mucilage that contained 99% moisture.....	36
4.2 Surface tension of okra mucilage, xanthan gum, and guar gum at neutral condition.....	38
4.3 Linear viscoelastic range of okra (a), xanthan (b), and guar gum (c) at various concentrations (0.2%-1.0% w/w).....	39
4.4 Storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) modulus of 0.4-1.0% w/w OM at 6.6 $\pm$ 0.1 (o pH) and pH 3.7 $\pm$ 0.2 (ad pH).....	42
4.5 Complex viscosity of 0.4-1.0% w/w OM at pH 6.6 $\pm$ 0.1 (o pH) and pH 3.7 $\pm$ 0.2 (ad pH).....	43
4.6 Storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) modulus of 0.2-1.0% w/w XG at pH 6.6 $\pm$ 0.1 (o pH) and pH 3.7 $\pm$ 0.2 (ad pH).....	44
4.7 Complex viscosity of 0.2-1.0% w/w XG at pH 6.6 $\pm$ 0.1 (o pH) and pH 3.7 $\pm$ 0.2 (ad pH).....	45
4.8 Storage ( $G'$ ) and loss ( $G''$ ) modulus of 0.4-1.0% w/w GG at pH 6.6 $\pm$ 0.1 (o pH) and pH 3.7 $\pm$ 0.2 (ad pH).....	46
4.9 Complex viscosity of 0.4-1.0% w/w GG at pH 6.6 $\pm$ 0.1 (o pH) and pH 3.7 $\pm$ 0.2 (ad pH).....	47

FIGURE	PAGE
4.10 Effect of concentration; 0.2% (a), 0.4% (b), 0.6% (c), 0.8% (d), 1.0% (e) on microstructure of emulsion containing okra mucilage at acidic condition (pH 3.7 ± 0.2).....	58
4.11 Effect of concentration; 0.2% (a), 0.4% (b), 0.6% (c), 0.8% (d), 1.0 % (e) on microstructure of emulsion containing xanthan gum at acidic condition (pH 3.7 ± 0.2).....	59
4.12 Effect of concentration; 0.2% (a), 0.4% (b), 0.6% (c), 0.8% (d), 1.0%(e) on microstructure of emulsion containing guar gum at acidic condition (pH 3.7 ± 0.2).....	60
4.13 Effect of concentration (0.2-1.0% w/w) of okra mucilage (a), xanthan gum (b), and guar gum (c) in the emulsion at acidic condition (pH 3.7 ± 0.2) on size distribution of oil droplets.....	61
4.14 Effect of concentration (0.2-1.0%) of okra mucilage (a), xanthan (b), and guar gum (c) at acidic condition (pH 3.7 ± 0.2) on emulsion stability.....	64
4.15 The effect of okra mucilage concentration (0.4-1.0% w/w) on viscoelastic behavior of okra mucilage stabilized emulsion.....	66
4.16 The effect of xanthan gum concentration (0.2-1.0% w/w) on viscoelastic behavior of xanthan gum stabilized emulsion.....	67
4.17 The effect of guar gum concentration (0.4-1.0% w/w) on viscoelastic behavior of guar gum stabilized emulsion.....	68
4.18 Viscoelastic behavior of the control full fat salad dressing (FF), the salad dressing with 50% reduced fat (RF), the 50% reduced fat with 1.0% w/w okra mucilage (RFOM 1.0), and the 50% reduced fat with 2.5% w/w okra mucilage (RFOM 2.5) at the frequency range of 0.01-30 Hz.....	72

FIGURE	PAGE
4.19 Color of the control full fat salad dressing (FF), the salad dressing with 50% reduced fat (RF), the 50% reduced fat with 1.0% w/w okra mucilage (RFOM 1.0), and the 50% reduced fat with 2.5% w/w okra mucilage (RFOM 2.5) at day 0.....	74
B1 Determination of surface tension of de-ionized water using goniometer...	89
C1 Linear viscoelastic range of emulsion containing okra mucilage (a), xanthan gum (b), and guar gum (c).....	92
C2 Linear viscoelastic range of the control full fat salad dressing (FF), the salad dressing with 50% reduced fat (RF), the 50% reduced fat with 1.0% w/w okra mucilage (RFOM 1.0), and the 50% reduced fat with 2.5% w/w okra mucilage (RFOM 2.5) at the frequency range of 0.01-30 Hz.....	93