

การประยุกต์ใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

Application of Antioxidants from Roselle Extract in Yogurt

สุภาพ นนทะสันต์¹
Supap Nontasan¹

บทคัดย่อ

สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงปริมาณต่างๆ ต่อคุณภาพทางด้านเคมี กายภาพ ปริมาณแบคทีเรียแลคติก และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต ผลการศึกษาพบว่าโยเกิร์ตที่เติม สารสกัดร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 มีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเป็น 4.34, 8.90 และ 14.64 mg/kg ตามลำดับ และ ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 12.57, 24.24 และ 31.24 ตามลำดับ แต่ไม่มีผลกระทบต่อค่า pH ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ความสามารถในการอุ้มน้ำและจำนวนแบคทีเรียแลคติกหลังกระบวนการหมัก ($p>0.05$) การเติมสารสกัดในปริมาณสูงจนถึงร้อยละ 0.6 ทำให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสลดลง ($p<0.05$) โดยปริมาณที่ เหมาะสมสำหรับเติมในโยเกิร์ต คือร้อยละ 0.4 เมื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษา (4 °C เวลา 21 วัน) ต่อ คุณภาพโยเกิร์ตที่เติมสารสกัด พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 21 วัน ปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้ม ลดลง (จาก 8.94 เป็น 5.73 mg/kg) และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลง (จากร้อยละ 24.24 เป็น ร้อยละ 19.97) นอกจากนี้ ค่า pH (4.61–4.21), ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ 66.44–61.46) และจำนวนแบคทีเรีย แลคติก (8.12–5.30 log cfu/g) มีแนวโน้มลดลง ($p<0.05$) เช่นเดียวกับกับคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตซึ่งมี แนวโน้มลดลงในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีศักยภาพในการ นำมาประยุกต์ใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระในโยเกิร์ตได้ อย่างไรก็ตามยังต้องมีการปรับปรุงความคงตัวต่อการ เก็บรักษาของโยเกิร์ตเพื่อให้ได้โยเกิร์ตที่มีคุณภาพคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ, กระเจี๊ยบแดง, โยเกิร์ต

Abstract

Roselle extract are rich in natural antioxidants that have potential used in food products. The objectives of this study were to investigate the effect of roselle extract at different level on the physicochemical quality, the amount of lactic acid bacteria and sensory characteristic of yogurt. The results showed that the anthocyanin contents in yogurt which was added roselle extract at 0.2, 0.4 and 0.6% were increased to 4.34, 8.90 and 14.64 mg/kg respectively; moreover, the free radical scavenging activities of yogurt were significantly ($p<0.05$) increased to 12.57, 24.24 and 31.24% respectively. Furthermore, the presence of roselle extract did not significantly ($p>0.05$) affect pH, total soluble solid, water-holding capacity and lactic acid bacteria counts after

¹อาจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี 15000

¹Lecturer, Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, ThepsatriRajabhat University, AmphurMuang, Lopburi, 15000

fermentation, whereas yogurt which was added with 0.6% of roselle extract was decreased in sensory attributes; therefore, the appropriate content of roselle extract for adding to yogurt was 0.4%. The physicochemical quality, sensory characteristic and survival of lactic acid bacteria in yogurt which was added 0.4% of roselle extract were determined during storage time up to 21 days at 4 °C. It was found that the anthocyanin contents and free radical scavenging activity declined over time, from 8.94 to 5.73 mg/kg in anthocyanin content and decreased in DPPH inhibition from 24.24 to 19.97%. Moreover, the results showed that the decline ($p < 0.05$) in pH (4.61–4.21), water-holding capacity (66.44–61.46%) lactic acid bacteria counts (8.12–5.30 log cfu/g) as well as sensory attributes were decreased by day 21 of storage. This results indicated that the roselle extract could be used as a good natural antioxidant in yogurt. However storage stability of yogurt need to be improved in order to achieve constant quality throughout storage time.

Keyword: antioxidant, roselle extract, yogurt

บทนำ

ปัจจุบันปัญหาสุขภาพของมนุษย์เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทั้งโรคชนิดเรื้อรังและโรคแบบเฉียบพลัน อย่างไรก็ตาม ผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจอาหารเพื่อสุขภาพ หรืออาหารที่มาจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้นทั้งนี้เพื่อการดูแลสุขภาพแทนการใช้ยารักษาโรค กระเจี๊ยบแดง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* L. เป็นพืชสมุนไพรไทยที่หาได้ง่ายและราคาถูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนของกลีบดอกที่อุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานิน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ¹ มีสรรพคุณในการป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ² นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งสารก่อมะเร็ง³ ป้องกันโรคความดันโลหิตและโรคเบาหวาน⁴ เป็นต้น ดังนั้นกระเจี๊ยบแดงจึงมีศักยภาพเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี⁵ และมีบทบาทสำคัญในการใช้ผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ⁶ จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากกระเจี๊ยบแดงมากมาย เช่น การผลิตซอส เครื่องดื่ม แยมและการผลิตเป็นสีปรุงแต่งอาหาร เป็นต้น แต่สารแอนโทไซยานินในกระเจี๊ยบแดงเป็นสารที่มีความไวต่อปฏิกิริยาสูงภายใต้สภาวะของการแปรรูปและสภาวะที่เก็บผลิตภัณฑ์⁷ ปัจจุบันที่มีผลต่อการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน เช่น ความร้อนและค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยแอนโทไซยานินจะมีความคงตัวมากกว่าเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิต่ำและสภาวะที่มีความเป็นกรด⁸ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะประยุกต์ใช้สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่อุดมไปด้วยสาร

ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทโยเกิร์ต เนื่องจากโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ส่วนใหญ่แล้วไม่ได้มีการให้ความร้อนภายหลังการหมัก และจัดเป็นอาหารประเภทที่มีความเป็นกรดซึ่งเหมาะสำหรับการเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงลงในผลิตภัณฑ์ และที่สำคัญคือโยเกิร์ตจัดเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักเพื่อสุขภาพที่ได้จากการหมักนํ้านมกับแบคทีเรียแลคติก ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ดังนั้นเพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่ชอบรับประทานโยเกิร์ตอีกทั้งยังเป็นการใช้ประโยชน์จากกระเจี๊ยบแดง ซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมาก การวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาผลของการเสริมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโปรไบโอติกแล้วทำการศึกษาผลของการเติมสารสกัดดังกล่าวที่มีต่อคุณภาพด้านต่าง ๆ ของโยเกิร์ต

วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดผงจากกระเจี๊ยบแดง

อบแห้งกลีบของกระเจี๊ยบแดงพันธุ์ชูตาดานจาก ต. โดกสลุง อ. พัฒนานิคม จ. ลพบุรี ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เตรียมเป็นสารสกัดผงโดยดัดแปลงจากวิธีของ Duangmal *et al.*, (2008)⁹ ปั่นให้ละเอียดแล้วผสมกับตัวทำละลายที่เตรียมจากน้ำต่อเอทานอล ในอัตราส่วนของน้ำต่อเอทานอลคือ 1:1 แล้วปรับ pH เป็น 2.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยใช้

อัตราส่วนของกลีบกระเจี๊ยบผดต่อตัวทำละลายเป็น 1:5 กวนผสมด้วยเครื่องกวนสารที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง กรองผ่านผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 4 นำไปประเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ จากนั้นเติมมอลโตเด็กซ์ทริน (DE 10) ร้อยละ 3 แล้วนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ก่อนอบเป็นผงแล้วเก็บในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ในสภาวะสูญญากาศและแช่เยือกแข็ง เพื่อรอการใช้งาน

การเตรียมโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง

เติมสารสกัดผงจากกระเจี๊ยบแดงในน้ำนมสดพาสเจอร์ไรส์ รสจืด (ตราเมจิ, ประเทศไทย) ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 0 (กลุ่มควบคุม), 0.2, 0.4 และ 0.6 (w/v) วิธีการผลิตโยเกิร์ตตัดแปลงจากวิธีการของ Nontasan *et al.*, (2012)¹⁰ ทำการฆ่าเชื้อน้ำนมที่เติมสารสกัดแล้ว ด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63°C นาน 30 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิลงเหลือประมาณ 45 °C เติมเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก (FD-DVS ABY-3 Probio-Tec® จาก Chr. Hansen, Denmark) ซึ่งประกอบด้วย *Bifidobacterium species*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* และ *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* โดยใช้อัตราส่วนของเชื้อ 0.125 ยูนิต ต่อ น้ำนม 6.25 ลิตร กวนผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที เทลงในภาชนะบรรจุที่ปลอดเชื้อและปิดฝา บ่มที่อุณหภูมิ 40-42 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงหรือจน pH ลดลงเป็น 4.5-4.6 แล้วหยุดกระบวนการหมักโดยเก็บที่อุณหภูมิ 4°C

การศึกษาคุณภาพและระยะเวลาในการเก็บรักษาโยเกิร์ตเสริมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง

วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด¹¹ ปริมาณสารแอนโทไซยานิน¹² กิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH¹³ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ต¹⁴ และการประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสแบบ 9-point hedonic scale ใช้ผู้ประเมินจำนวน 24 คน โดยเริ่มจากระดับ 1 (ไม่ชอบมากที่สุด) จนถึงระดับ 9 (ชอบมากที่สุด) และการศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด¹⁵ แล้ว

คัดเลือกโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในปริมาณที่เหมาะสม 1 ระดับ เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพของโยเกิร์ต ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน ตามวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าสถิติของข้อมูล ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย สถิติที่ใช้ทดสอบคือ F-test วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ตามวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 15.0

ผลการศึกษา

คุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ต

การเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงในปริมาณมากขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินและกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยตัวอย่างที่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงในปริมาณร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 4.34, 8.94 และ 14.62 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 12.57, 24.24 และ 31.24 ตามลำดับ แต่ไม่พบปริมาณของแอนโทไซยานินและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารสกัด (Table 1) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่เติมในปริมาณร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในโยเกิร์ต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยโยเกิร์ตทั้งที่เติมและไม่เติมสารสกัดมีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงระหว่าง 4.56–4.62 และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าระหว่าง 9.67–11.07 °Brix การเติมสารสกัดในปริมาณเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p < 0.05$) โดยมีค่าระหว่างร้อยละ 0.60–0.74 (Table 1) นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงในปริมาณที่มากขึ้นไม่มีผลทำให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ต

เปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารสกัดมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับร้อยละ 68.16 และโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกระเจียบแดงปริมาณร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำเป็นร้อยละ 67.62, 67.27 และ 68.30 ตามลำดับ

ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต

หลังเสร็จสิ้นกระบวนการผลิตโยเกิร์ต พบว่าการเติมสารสกัดผงจากกระเจียบแดงไม่มีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างโยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง โดยโยเกิร์ตทั้งที่เติมในปริมาณร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 และไม่เติมสารสกัดมีปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่ในช่วง 8.00–8.17 log cfu/g

คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต

Table 1 Effect of roselle extract on physicochemical properties and lactic acid bacteria in yogurt (n=3)

Parameters	Roselle extract powder(%)			
	0	0.2	0.4	0.6
pH ^{ns}	4.62±0.01	4.61±0.06	4.62±0.03	4.56±0.02
TA (%)	0.60±0.02 ^a	0.61±0.01 ^a	0.66±0.01 ^b	0.74±0.01 ^c
TS (°Brix) ^{ns}	9.67±0.58	10.17±1.04	10.67±0.29	11.07±0.93
Anthocyanin (mg/kg)	nd	4.34±0.24 ^c	8.94±0.18 ^b	14.62±1.37 ^a
%DPPH inhibition	nd	12.57±0.90 ^c	24.24±0.66 ^b	31.24±0.40 ^a
WHC (%) ^{ns}	68.16±1.24	67.62±2.86	67.27±0.53	68.30±2.67
LAB count (log cfu/g) ^{ns}	8.17±0.15	8.00±0.05	8.10±0.10	8.17±0.23

Note. Values are means±SD, values in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$), ^{ns} = Means within the same row are not significantly different ($p>0.05$), nd = not detected, TA = total acidity, TS = total soluble solid, WHC = water-holding capacity, LAB = lactic acid bacteria.

Table 2 Effect of roselle extract on sensory properties of yogurt (n=24)

Roselle extract powder(%)	Sensory properties					
	Appearance	Color	Odor ^{ns}	Flavor	Texture	OA
0	7.00±0.72 ^a	7.13±0.95 ^a	7.13±0.74	7.00±0.98 ^a	6.92±0.72 ^a	7.04±0.95 ^a
0.2	6.88±0.80 ^a	7.00±0.72 ^a	7.04±0.62	6.71±0.75 ^a	6.88±0.85 ^a	6.71±0.75 ^a
0.4	6.75±0.79 ^a	6.96±0.75 ^a	7.08±0.65	6.67±0.70 ^a	6.88±0.90 ^a	6.67±0.96 ^a
0.6	5.67±0.70 ^b	5.79±0.72 ^b	6.83±0.76	5.38±0.82 ^b	5.46±0.66 ^b	5.21±0.78 ^b

Note. Values are means±SD, values in the column with different letters are significantly different at $p<0.05$, ^{ns} = Means within the same column are not significantly different ($p>0.05$), OA = overall acceptability

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณการเติมสารสกัดกระเจียบแดงมีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม แสดงดัง Table 2 เมื่อเปรียบเทียบคะแนนการยอมรับในด้านต่างๆ ระหว่างตัวอย่างโยเกิร์ตที่ไม่เติมและเติมสารสกัดกระเจียบแดงร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 พบว่าตัวอย่างที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงร้อยละ 0.6 มีคะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 0.2–0.4 และโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารสกัดมีคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

อิทธิพลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพของโยเกิร์ตที่เสริมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง

ผลการศึกษาคูณสมบัติทางเคมีของโยเกิร์ตเสริมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงได้แก่ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานิน และกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH แสดงดัง Table 3 จากตารางพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยค่า pH เริ่มต้นจากระยะเวลาการเก็บรักษาวันที่ 0 คือ 4.61 จนกระทั่งวันสุดท้ายของการเก็บรักษาลดลงเป็น 4.21 ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าระหว่างร้อยละ 0.73–0.78 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p > 0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 10.67–11.17 °Brix และปริมาณแอนโทไซยานินในโยเกิร์ตมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาในวันที่ 0, 7, 14 และ 21 โดยมีค่าเป็น 8.94, 7.10, 6.19 และ 5.73 mg/kg ตาม ลำดับ เช่นเดียวกับความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากวันที่ 0, 7, 14 และ 21 โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 24.24, 21.66, 20.98 และ

19.97 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 1 ของการเก็บรักษาและมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน ($p < 0.05$) (Table 3) จากการศึกษาปริมาณการรอดชีวิตของแบคทีเรีย แลคติกพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จำนวนแบคทีเรียแลคติกมีแนวโน้มลดลงในสัปดาห์ที่ 1 ของการเก็บรักษา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน โดยในวันที่ 21 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหลือรอดคือ 5.30 log cfu/g (Table 3)

ผลการศึกษาคูณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ ($p < 0.05$) ดัง Table 4 จากตารางพบว่าคะแนนความชอบด้านสีและรสชาติมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 14 ของการเก็บรักษา โดยอยู่ในช่วงเฉยๆ-ชอบเล็กน้อย ในส่วนของคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมนั้นพบว่ามีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 21 ของการเก็บรักษา

Table 3 Chemical and physical properties of yogurt and Lactic acid bacteria count in yogurt supplemented with roselle extract (0.4%) after manufacture and during storage (n=3)

Parameters	Storage time (days)			
	0	7	14	21
pH	4.61±0.01 ^a	4.35±0.07 ^b	4.22±0.03 ^c	4.21±0.03 ^c
TA (%) ^{ns}	0.73±0.01	0.76±0.04	0.77±0.05	0.78±0.05
TS(°Brix) ^{ns}	10.83±0.29	11.17±1.04	11.00±0.50	10.67±0.58
Anthocyanin (mg/kg)	8.94±0.18 ^a	7.10±0.21 ^b	6.19±0.10 ^c	5.73±0.22 ^d
%DPPH inhibition	24.24±0.67 ^a	21.66±2.22 ^b	20.99±0.78 ^b	19.97±0.41 ^b
WHC(%)	66.44±0.04 ^a	65.94±0.70 ^b	63.86±0.42 ^c	61.46±0.61 ^d
LAB count (log cfu/g)	8.12±0.08 ^a	7.12±0.07 ^b	6.60±0.20 ^c	5.30±0.30 ^d

Note. Values are means±SD, values in the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$),

^{ns} = Means within the same row are not significantly different ($p > 0.05$), TA = total acidity, TS = total soluble solid, WHC = water-holding capacity, LAB = lactic acid bacteria.

Table 4 Sensory profile of yogurt supplemented with roselle extract (0.4%) after manufacture and during storage (n=24)

Sensory Profile	Storage time (days)			
	0	7	14	21
Appearance	6.75±0.85 ^a	6.71±0.81 ^a	6.38±0.80 ^{ab}	6.00±0.66 ^b
Color	6.96±0.69 ^a	6.71±0.80 ^a	5.92±0.72 ^b	5.75±0.74 ^b
Odor	7.08±0.58 ^a	7.13±0.68 ^a	6.92±0.78 ^a	6.21±0.66 ^b
Flavor	6.63±0.65 ^a	6.25±0.99 ^{ab}	5.92±0.65 ^{bc}	5.75±0.68 ^c
Texture	6.83±0.87 ^a	6.58±0.88 ^a	6.46±0.66 ^a	5.63±0.65 ^b
OA	6.71±0.86 ^a	6.67±0.88 ^a	6.25±0.85 ^{ab}	5.92±0.72 ^b

Note. Values are means±SD, values in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$),

OA = Overall acceptability

สรุปและวิจารณ์ผล

กระเจียบแดงเป็นพืชที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้น การเตรียมสารสกัดเข้มข้นที่เหมาะสมจึงทำให้สะดวกต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยทั่วไป โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดซึ่งเป็นสภาวะที่สารแอนโทไซยานินมีความคงตัวได้ดี จากการศึกษพบว่า การเติมสารสกัดผงที่เตรียมได้จากกระเจียบแดงลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในปริมาณร้อยละ 0.2, 0.4 และ 0.6 ทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเท่ากับ 4.34, 8.90 และ 14.64 mg/kg ตามลำดับซึ่งมีผลทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นด้วยโดยมีค่าเป็นร้อยละ 12.57, 24.24 และ 31.24 ตามลำดับ เนื่องจากคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงของแอนโทไซยานินซึ่งมีอยู่ในสารสกัดที่เติมลงไป¹⁶ นอกจากนี้การเติมสารสกัดปริมาณสูงชันมีแนวโน้มทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีผลทำให้ค่า pH, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด รวมทั้งค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ตและปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกแตกต่างกันไปจากโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารสกัด ($p>0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากว่าในสารสกัดกระเจียบแดงยังมีกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่มาจากธรรมชาติของกระเจียบจึงมีผลทำให้ปริมาณกรดในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเมื่อเติมในปริมาณมากขึ้นแต่ยังไม่ส่งผลกระทบต่อ

เปลี่ยนแปลงค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด รวมถึงค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ตและปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต

โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 0, 0.2 และ 0.4 ได้รับคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสสูงสุดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยคะแนนความชอบอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อย-ชอบปานกลาง แต่การเติมสารสกัดในปริมาณสูงชัน (ร้อยละ 0.6) ทำให้คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสทุกด้านมีแนวโน้มลดลง ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสีของโยเกิร์ตมีลักษณะเข้มขึ้นรวมทั้งกลิ่นรสของกระเจียบแดงเด่นชัดซึ่งมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้ ปริมาณสารสกัดที่เหมาะสมสำหรับเติมในโยเกิร์ตคือร้อยละ 0.4 (w/v) เนื่องจากที่ระดับของสารสกัดร้อยละ 0.4 ทำให้โยเกิร์ตมีปริมาณแอนโทไซยานินและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงชันและเป็นระดับที่ผู้ทดสอบยังคงให้คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสทุกด้านสูงที่สุด อีกทั้งยังไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพที่สำคัญด้านอื่นๆ ของผลิตภัณฑ์ เช่นเดียวกับตัวอย่างที่ไม่เติมสารสกัดและที่เติมในระดับร้อยละ 0.2 เช่น จำนวนแบคทีเรียแลคติกและค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ต เป็นต้น

เมื่อทำการศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดเป็นเวลา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า pH และความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลโยเกิร์ตมีแนวโน้มลดลง ($p<0.05$)

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mazloomi *et al* (2011)¹⁷ รายงานว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น 1 สัปดาห์ โยเกิร์ตโปรไบโอติกจะมีค่าความสามารถในการอุ้ม น้ำตาลลงทำให้การแยกตัวของน้ำเวย์มีมากขึ้น จากผลการศึกษาพบว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกและคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p < 0.05$) ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่ ($p > 0.05$) เนื่องจากปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดนั้น นอกจากน้ำตาลแล้วยังรวมไปถึงกรดอินทรีย์¹⁸ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักน้ำตาลแลคโตสของแบคทีเรียแลคติก โดยปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษา 21 วัน (ร้อยละ 0.73–0.78) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากขณะทำการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิต่ำ 4°C แบคทีเรียกรดแลคติกยังคงมีเมตาบอลิซึม ทำให้มีการผลิตกรดเพิ่มขึ้นเป็นผลให้ pH ของโยเกิร์ต ลดลง¹⁹ ซึ่งค่า pH อยู่ในช่วง 4.61–4.21 รายงานวิจัยของ Mazloomi *et al* (2011)¹⁷ พบว่าโยเกิร์ตสูตรควบคุมที่ไม่เติมสารเสริมการเจริญของแบคทีเรียแลคติก เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจากวันที่ 1 ถึง 14 ของการเก็บรักษาทำให้ค่า pH ของโยเกิร์ต ลดลงโดยอยู่ในช่วง 4.57–4.44 แต่ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตดังกล่าวมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 14 วัน (ร้อยละ 0.70–0.74) การลดลงของ pH อย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์แรกของการเก็บรักษา สอดคล้องกับงานวิจัยของอุษามาสม (2552)²⁰ และสัมพันธ์กับปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกที่ยังคงมีปริมาณมากในสัปดาห์แรก (วันที่ 0–7 มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด 8.12–7.12 log cfu/g) ซึ่งสามารถทำกิจกรรมการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกได้มากในช่วงแรกและค่อยๆ ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้รายงานของ Iwalokun and Shittu (2007)²¹ ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดกระเจียบแดงต่อคุณภาพของโยเกิร์ตประเภท stirred yogurt โดยโยเกิร์ตที่ได้หลังจากสิ้นสุดกระบวนการผลิต (ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา) มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นเท่ากับ $2-5 \times 10^9$

cfu/ml (หรือ 9.3–9.7 log cfu/ml) และลดลงเหลือ 10^7 cfu/ml (หรือ 7 log cfu/ml) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา โดยการลดลงของแบคทีเรียแลคติกเป็นผลมาจากค่า pH ของโยเกิร์ตที่ลดลงซึ่งเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์ที่ใช้ในการหมัก เช่น *Bifidobacterium species*²² รวมถึงรายงานของ Shori and Baba (2012)²³ พบว่าแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus spp.* ในโยเกิร์ตที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาและเริ่มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่วนแบคทีเรีย *Streptococcus thermophilus* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ของการเก็บรักษาและเริ่มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 14 และ 21 วัน แบคทีเรียแลคติกทั้งหมดลดลงเป็น 6.60 และ 5.30 log cfu/g ตามลำดับ โดยมาตรฐานของจำนวนแบคทีเรียแลคติกที่มีชีวิตในผลิตภัณฑ์นมซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพและมีผลต่อการบำบัดรักษาโรคนั้น (minimum therapeutic dose) ควรมีอย่างน้อย 10^6 cfu/g หรือ 6 log cfu/g^{17, 21, 22} แต่โดยทั่วไปแล้วผลิตภัณฑ์อาหารประเภทโยเกิร์ตมีอายุการเก็บรักษา 14 วัน ที่อุณหภูมิประมาณ 4°C²⁴ ซึ่งพบว่าโยเกิร์ตเสริมสารสกัดจากกระเจียบแดงนี้ยังคงมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ 6.60 log cfu/g ซึ่งสูงกว่า 6 log cfu/g แต่ในกระบวนการผลิตเพื่อการค้าที่ต้องการให้โยเกิร์ตมีอายุการเก็บรักษานานกว่า 14 วันโดยที่คุณภาพต่างๆ ไม่เปลี่ยนแปลงจึงควรมีการเติมสารเสริมการอยู่รอดของแบคทีเรียแลคติก เช่น อินนูลิน¹⁷ และสารให้ความคงตัวแก่โยเกิร์ต เช่น โปรตีนเวย์ สตาร์ช เพคติน เจลาติน เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของเจลและลดปัญหาการแยกตัวของน้ำเวย์ซึ่งส่งผลต่อเนื้อสัมผัสที่คงตัวและเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น^{21, 25} การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบต่อโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกระเจียบแดงมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่วนหนึ่งนั้นเป็นผลมาจากปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่ลดลงซึ่งแบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญในการสร้างกรดแลคติกและสารให้กลิ่นรส รวมถึงลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีให้กับโยเกิร์ตอีกด้วย¹⁹ นอกจากนี้

ระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นยังสัมพันธ์กับการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารให้สีจากธรรมชาติแก่โยเกิร์ต จึงส่งผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วย จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 21 วัน โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงจากวันที่ 0 ของการเก็บรักษาคือลดลงจาก 8.94 mg/kg เป็น 5.73 mg/kg และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในโยเกิร์ตลดลงจากร้อยละ 24.24 เป็นร้อยละ 19.97 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lawin and Kongbangkerd (2010)²⁶ ที่รายงานว่าโยเกิร์ตที่เติมน้ำเชื่อมกระเจี๊ยบแดงปริมาณร้อยละ 10 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น 21 วัน ความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงจากเริ่มต้นที่มีอยู่ (น้อยกว่าร้อยละ 10) เหลือน้อยกว่าร้อยละ 4 ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงเป็นแหล่งของแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารให้สีจากธรรมชาติ เมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารจะเกิดการสลายตัวเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยรายงานของ Duangmal *et al* (2008)⁹ ได้ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดผงจากกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพบว่ามีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในเครื่องดื่มคือ 53 วัน แต่ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มยังเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภคได้อย่างน้อย 56 วัน สำหรับการศึกษากการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตนั้นแม้ว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นถึง 21 วัน แต่ยังคงแสดงให้เห็นว่าสารแอนโทไซยานินที่ลดลงยังคงพบอยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นปริมาณมาก และยังคงแสดงกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง

ดังนั้นการประยุกต์ใช้สารสกัดเข้มข้นจากกระเจี๊ยบแดงในรูปแบบกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไปโรโยติกจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มคุณค่าให้กับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้งในด้านของการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ แต่อย่างไรก็ตามเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตกระเจี๊ยบแดงที่มีคุณค่าต่อสุขภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานนั้น ยังคงต้องมีการพัฒนาคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตและความสามารถในการอยู่รอดของแบคทีเรียแลคติกอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรีที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนสนับสนุนการวิจัย รวมถึงนางสาววารี ออกซ้อ และนางสาวหนึ่งฤทัย ห่องกระจก ผู้ช่วยวิจัย ศูนย์วิทยาศาสตร์และห้องปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี ที่อำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Yang L, Gou Y, Zhao T, Zhao J, Li F, Zhang B et al. Antioxidant capacity of extracts from calyx fruits of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Afr J Biotechnol* 2012 Feb 28;11(17):4063–8.
2. Chang YC, Huang HP, Hsu JD, Yang SF, Wang CJ. Hibiscus anthocyanins rich extract induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells. *Toxicol Appl Pharm* 2005;205(3):201–12.
3. Chen CC, Hsu JD, Wang SF, Chiang HC, Yang MY, Kao ES et al. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J Agric Food Chem* 2003;51:5472–7.
4. Ali BH, Al-Wabel N, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytother Res* 2005;19:369–75.
5. Du CT, Francis FJ. Anthocyanins of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *J of Food Sci* 1973; 38:810–2.

6. Espin JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ, Garcia-Vigvera C. Anthocyanin-based natural colourants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *J Agric Food Chem* 2000;48(5):1588–92.
7. Yawadio R, Morita N. Color enhancing effect of carboxylic acids on Anthocyanins. *Food Chem* 2007;105 :421–7.
8. Escribano-Bailon MT, Santose-Buega C, Rivas-Gonzalo J. Anthocyanins in cereals. *J Chromatogr* 2004;1054:129–41.
9. Duangmal K, Saicheua B, Sureeprasan S. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. *LWT* 2008;41:1437–45.
10. Nontasan S, Moongngarm A, Deeseenthum S. Application of functional colorant prepared from black rice bran in yogurt. *APCBEE Procedia* 2012 Apr;2:62–7.
11. Fabro MA, Fabro MA, Milanesio HV, Robert LM, Speranza JL, Murphy M et al. Technical Note : Determination of acidity in whole raw milk : Comparison of result obtained by two different analytical methods. *J Dairy Sci* 2006;89:859–61.
12. Lee J. Total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *J AOAC Int* 2005;88(5):1269–78.
13. Dasgupta N, De B. Antioxidant activity of *Piper better* L. leaf extract in vitro. *Food Chem* 2004;88:219–24.
14. Sodini I, Montella J, Tong PS. Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *J Sci Food Agric* 2005; 85:853–9.
15. O'Connor-Shaw RE, Roberts R, Ford AL, Nottingham SM. Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *J Food Sci* 1994; 59(6):1202–15.
16. Blando F, Gerardi C, Nicoletti I. Sour cherry (*Prunus cerasus* L) anthocyanins as ingredients for functional foods. *J Biomed Biotechnol* 2004;5:253–8.
17. Mazloomi SM, Shekarforoush SS, Ebrahimnejad H, Sajedianfard J. Effect of adding inulin on microbial and physicochemical properties of low fat probiotic yogurt. *Iranian J Vet Res* 2011;12(2):93–8.
18. Hardy S, Sanderson G. Citrus maturity testing. Primefact [980] 2010 Jan:[6 screens]. Available from: URL: http://www.dpi.nsw.gov.au/data/assets/pdf_file/0020/320294/Citrus-maturity-testing.pdf June 1, 2013.
19. Zourari A, Accolas JP, Desmazeaud MJ. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *Lait* 1992;72:1–34.
20. อุษามาส จริยวราณหกุล. ผลของสารให้ความหวานต่อคุณภาพของโยเกิร์ต. ว วิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย 2552;29(4):102–11.
21. Iwalokun BA, Shittu MO. Effect of *Hibiscus sabdariffa* (Calyce) extract on biochemical and organoleptic properties of yogurt. *Pakistan J Nutr* 2007;6(2):172–82.

22. Buruleanu L, Nicolescu CL, Avram D, Bratu MG, Manea L. Survival of probiotic bacteria during lactic acid fermentation of vegetable juices. *Agro-Processes and Technologies* 2009;15(1):132-9.
23. Shori AB, Baba AS. Viability of lactic acid bacteria and sensory evaluation in *Cinnamomum verum* and *Allium sativum* bio-yogurts made from camel and cow milk. *J Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* 2012;11:50-5.
24. Boyer R, McKinney J. Food storage guidelines for consumers. Virginia Cooperative Extension 2013;[12 screens]. Available from:http://pubs.ext.vt.edu/348/348-960/348-960_pdf.pdf June 5, 2013.
25. Lee WJ, Lucey JA. Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Aust J Anim Sci* 2010;23(9):1127-36.
26. Lawin P and Kongbangkerd T. Development of probiotic yoghurt mixed with roselle syrup. *KKU Res J* 2010 Sep;15(9):803-8.