

ความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานินจากกากสับดอก
กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* Linn.)
ในผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูล

Stability of Anthocyanin from Red Roselle
(*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Residue in
The Sweet Sticky Rice

ญาณี จินดามัง *
ปิยะวิทย์ ทิพรส**
Yanee Jindamung*
Piyavit thipbharos**

*นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุรุกรกิจบัณฑิตย

*a Student, The Field of Food Technology, Department of Sciences , Faculty of Arts and Sciences,
Dhurakij Pundit University

**อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุรุกรกิจบัณฑิตย

**Lecturer of Food Technology, Department of Sciences , Faculty of Arts and Sciences,
Dhurakij Pundit University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน จากกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน ขั้นแรกวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง พบว่า มีค่าพลังงาน 62.0 Kcal /100 กรัม พลังงานจากไขมัน 0.0 Kcal /100 กรัม คาร์โบไฮเดรต 14.1% (db) โปรตีน 1.22% (db) ไขมัน 0.05% (db) เถ้า 1.29% (db) และความชื้น 83.3% (db) ขั้นที่สองศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง โดยใช้อัตราส่วนระหว่างกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ต่อ น้ำที่มีค่า pH 2.5 (ปรับด้วยกรด HCl 1%) เป็น 1 : 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ แปรค่าอุณหภูมิ 60°C 80°C และ 100°C เวลาสกัด 10 20 และ 30 นาที วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) ทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า อุณหภูมิและเวลาสกัดที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที ให้ค่าสีแดง(α^*) 13.65 สารละลายสีแอนโทไซยานิน ที่สกัดได้ มีค่า pH 2.29 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด 0.41 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรตัวอย่าง (db) และค่า TSS 0°Brix ขั้นที่สามศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารละลายสีแอนโทไซยานินต่อข้าวเหนียวพันธุ์เขียววู (Oryza sativa Linn.) ที่มีต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ นำสารละลายสีแอนโทไซยานินสกัดจากสภาวะที่เหมาะสมของขั้นที่สอง แปรค่าอัตราส่วนสารละลายสารสีแอนโทไซยานิน ต่อ ข้าวเหนียวพันธุ์เขียววู เป็น 30:70 40:60 และ 50:50 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก แช่ทิ้งไว้ 6 - 8 ชั่วโมง นำข้าวเหนียวที่ผ่านการแช่ผลิตข้าวเหนียวมูนด้วยสูตรต้นแบบที่คัดเลือก เดิมมอลโทเดกซ์ทรินผง (DE 10) เป็นสารช่วยเกิดเจล ให้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ทำแบบทดสอบ Hedonic Scale -9- Points วางแผนการทดลองแบบวัดค่าซ้ำ (Repeated Measure Design) พบว่า อัตราส่วนการแช่ข้าวเหนียวพันธุ์เขียววูด้วยสารละลายสีแอนโทไซยานิน 50:50 ได้รับคะแนนความชอบรวม ลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ และกลิ่นรส มากที่สุด คือ 8.1 7.7 8.3 7.6 7.9 และ 7.7 คะแนน ตามลำดับ สุดท้ายประเมินอายุการเก็บรักษาสารสีแอนโทไซยานินที่มีต่อความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน ในผลิตภัณฑ์นำสภาวะที่เหมาะสมจากข้างต้น เก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 1 2 และ 3 วัน เทียบกับอุณหภูมิห้อง พบว่า มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เท่ากับ 0.90 0.91 และ 0.93 มิลลิกรัม/100 กรัม ตัวอย่าง ตามลำดับ ค่าการเหม็นหืน (เปอร์ออกไซด์) และความแข็งเพิ่มขึ้น ส่วนค่าสีแดงลดลง ขณะที่ค่า α_u เท่ากันทั้ง 3 วัน (0.95 α_u) การเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยต่อผู้บริโภค สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า การเก็บในตู้เย็นทั้ง 3 วัน ผู้ทดสอบไม่ยอมรับ แต่ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ณ วันแรกที่ทำ ข้าวเหนียวมูน

ผสมสารสีแอนโทไซยานิน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$). มีปริมาณแอนโทไซยานิน ทั้งหมด 0.21 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง (wb) พลังงาน 257.5 Kcal พลังงานจากไขมัน 23.5 Kcal คาร์โบไฮเดรต 55.43% (wb) ความชื้น 38.54% (wb) โปรตีน 3.06% (wb) ไขมัน 2.60% (wb) และเถ้า 0.39% (wb)

คำสำคัญ : ความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน กากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง
ข้าวเหนียวมูน ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยว

Abstract

This research consisted of four experimental parts. The first part was analyses of chemical compositions of fresh red reselle (*Hibiscus sadariffa* Linn.) residue. It was found that the energy value (62.0 Kcal/100g), energy from fat (0.0 Kcal/100g), carbohydrates(14.1% db), protein (1.22% db), fat (0.05% db), ash (1.29% db), and moisture (83.3% db). In the second part, the effects of extraction temperature (for 60°C 80°C or 100°C) and times (for 10, 20 , or 30 min) of the anthocyanins from fresh red reselle residue were evaluated. The experiment involved as a completely randomized design (CRD) were analysed triplicate experiments. The effects of fresh red reselle residue to distilled water (adjusted for 2.5 pH with 1% HCl) ratios was carried out at 1 : 4 w/v, respectively. The experimental results found that significantly the optimal extraction was 100°C, 30 min which redness (α^*), pH, extracted - total anthocyanin content (db) , as well as total soluble solid were 13.65, 2.29, 0.41 mg/100 mL sample, 0 OBrix, respectively. In the third part, the effects of anthocyanin solution to glutinous rice namely “KEAWNGU”(*Oryza sativa* Linn.) ratios at 30:70, 40 : 60, or 50 : 50 w/w on sensory evaluation with untrained 30 assessors were evaluated. To bring extracted anthocyanin solution from the optimal condition was carried out at soaked over night for 6 – 8 hrs after that to bring soaked glutinous rice were produced the sweet sicky rice with commercially standard formular. After added 3% powdered maltodextrin (DE10) as gelling agent were test by untrained 30 assessors had make hedonic scale -9- points. The experiment involved as a repeated measure design (RMD). The experimental results found that the sinificantly effects of anthocyanin solution to glutinous rice namely “KEAWNGU” ratio at 50 : 50 w/w was received score like overall acceptance, appearance, color, texture, taste or flavor were 8.1, 7.7, 8.3, 7.6, 7.9 or 7.7 , respectively. In the final part, the effects of shelf life evaluation on stability of anthocyanin in the product were studied. To bring the optimal condition of in the third part keep at 1, 2 , or 3 days when compared with control treatment (room temperature at 30±0.5°C). It was found that increasing storage days had significantly effected increasing profiles of anthocyanin contents were 0.90, 0.91, or 0.93 mg/100 g sample, respectively.

In addition, the experimental results found that increasing storage days had significantly effected increasing profiles of peroxide value, and significantly effected decreasing profiles of color (L^* , a^*) while, no significantly effected of water activity (0.95 a_w). In addition, Microbiology evaluation on the sweet stickly rice in refrigeration were studied. It was found that those obtained negative to consumer. On the other hand, sensory evaluation it was found that those obtained throughout 3 days no acceptable assessors but that significantly effected acceptable control treatment (room temperature). The experimental results found that the sinificantly effects of anthocyanin solution to glutinous rice namely "KEAWNGU" ratio at 50 : 50 w/w keep at room temperature of total anthocyanin content, energy, energy from fat , carbohydrate, moisture, protein, fat or ash were 0.21 mg/100g (wb) sample, 257.5 Kcal, 23.5 Kcal, 55.43 (wb), 38.54% (wb), 3.06% (wb), 2.60% (wb) or 0.39% (wb), respectively.

Keywords : Anthocyanin Stability, Red Reselle (*Hibiscus sadariffa* Linn.)
Residue, Sweet Sticky Rice, "KEAWNGU" Glutinous Rice.

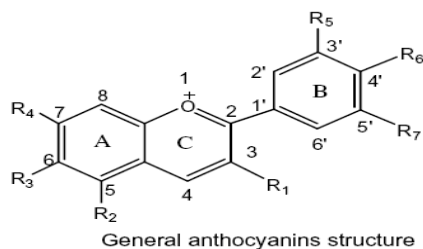
บทนำ

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุหรือสารสีที่มีสีช่วงสีแดง ถึง สีนํ้าเงิน พบในผัก ผลไม้ และดอกไม้ หลายชนิด เช่น ดอกอัญชัน กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ผลองุ่น และผลสตอเบอรี่ เป็นต้น แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีโครงสร้างพื้นฐานทั่วไป (ภาพที่ 1) เป็นอนุพันธ์ Polyhydroxy และ Polymethoxy ของสาร Flavylum หรือ 2-Phenylbenzopyrylium โมเลกุลประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน หรือเรียกว่า Aglycone จับกับน้ำตาลด้วยพันธะ β -Glycosidic และมักจับที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของโครงสร้างแอนโทไซยานิดิน โดยธรรมชาติมีแอนโทไซยานินหลายชนิดซึ่งแตกต่างกัน เนื่องจากมีแอนโทไซยานิดินหลายชนิด (Castaneda-Ovando และคณะ, 2008)

กากกลีบกระเจี๊ยบแดงที่เหลือจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดง พาสเจอร์ไรส์และเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบแดงสเตอริไลส์จากโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา สามารถนำมาเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น โดยสามารถสกัดสารให้สี เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์บางชนิดได้ในเชิงอุตสาหกรรม ปัจจุบัน มีการผลิตเครื่องดื่มกระเจี๊ยบแดง เป็นจำนวนมาก ทำให้มีปริมาณกากกระเจี๊ยบแดงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มของเสียให้กับผู้ผลิต ด้วยแนวคิดดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาประโยชน์ของกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (Red Roselle) ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* Linn. วงศ์ Malvaceae ส่วนที่นิยมบริโภค คือ กลีบดอกหรือกลีบเลี้ยงกระเจี๊ยบแดง มีสารสีแอนโทไซยานินละลายน้ำมากกว่า 50% นอกจากนี้ กระเจี๊ยบแดงยังมีสารพอลิฟีนอลถึง 66%

ของปริมาณกลีบดอก และยังมีคาร์โบไฮเดรตเพกติน รวมทั้งยังมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดทาร์ทาริก กรดเหล่านี้ทำให้กระเจี๊ยบแดงมีรสชาติเปรี้ยว เป็นต้น (Prodanov และคณะ, 2004; Gradinaru และคณะ, 2003; Veridiana และคณะ, 2007; สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2552; เว็บไซต์หมอชาวบ้าน, 2552)

Du และ Francis (1973) อ้างถึงใน บุศรารัตน์ (2545) ศึกษาแอนโทไซยานินหลักที่มีในกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ซึ่งเป็นพันธุ์เดียวกับที่ใช้ในการทดลองนี้ ในขั้นตอนแรก สกัดแอนโทไซยานินด้วย กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.5 นอร์มัลในเอทานอล จากนั้น นำสารละลายสกัดแอนโทไซยานินที่ได้มาไฮโดรไลส์ ด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 2 นอร์มัล และนำไปแช่ในอ่างน้ำ (water bath) นาน 1 ชั่วโมง ทำให้แยกได้แอนโทไซยานิดิน ซึ่งเป็น Aglycon และน้ำตาลและ หาทนิตของ Aglycon และน้ำตาล โดยวิธีโครมาโตกราฟี พบว่าแอนโทไซยานินหลักและรองในกระเจี๊ยบแดง คือ Delphinidin-3-glucoside และ Cyanidin-3-glucoside ตามลำดับ



ภาพที่ 1 โครงสร้างทั่วไปของสารสีแอนโทไซยานินส์
ที่มา: Castaneda-Ovando และคณะ (2008)

ดวงกมล และคณะ (2551) ได้สกัดสารสีแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด คือ อุณหภูมิ 62°C - 65°C เป็นเวลา 67 – 75 นาที โดยใช้อัตราส่วนข้าวเหนียวดำ : น้ำ เป็น 1 ต่อ 3 น้ำหนัก/น้ำหนัก ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า เช่นเดียวกับ บุศวรรัตน์ และ เกียรติศักดิ์ (2545) ได้ศึกษาการสกัดสารละลายสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร รายงานว่า สารสีแอนโทไซยานิน ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่แข็งที่เติมมอลโทเดกซ์ทรินผง (maltodextrin powder) เข้มข้น 3% w/v เป็นสารที่ให้ความคงตัวดีที่สุด และมีค่าดัชนีการเสื่อมสลายต่ำที่สุด (degradation index) นั่นคือสามารถเก็บรักษาได้นาน 15 สัปดาห์ มีค่าครึ่งชีวิตมากที่สุด คือ 86 วัน

เพชรรัตน์ และ อิศรารณ์ (2552) ศึกษาความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานินจากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม รายงานว่า การเพิ่มปริมาณน้ำตาลทรายน้อยกว่า 50°Brix ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเครื่องดื่มลดลงเพียงเล็กน้อย ขณะที่การเติมกรดซิตริกไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Veridiana และคณะ (2007) รายงานว่า การเติมน้ำตาลสามารถช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับสารสีแอนโทไซยานิน Wroldstad และคณะ (1990) อ้างถึงใน Veridiana และคณะ (2007) รายงานว่า การเติมน้ำตาลซูโครสสูง 20% ลงในผลิตภัณฑ์สตรอเบอรี่แช่แข็งทำให้สารสีแอนโทไซยานิน มีความคงตัวสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Prodanov และคณะ (2004) สารสีแอนโทไซยานิน คงตัวได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นกรด และมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ สามารถเพิ่มความคงตัว

ให้กับสารสีแอนโทไซยานิน อย่างมีนัยสำคัญ

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาทดลองสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากกากกระเจี๊ยบแดง เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงที่เหลือจากกระบวนการผลิต ของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา นำสารสีแอนโทไซยานินที่สกัดได้ มาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวพันธุ์ที่ทำจากพันธุ์ข้าวไทย คือ ข้าวเหนียวพันธุ์เขียว (Oryza sativa L.) ซึ่งเป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่ชื่นชอบผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวพันธุ์อีกด้วย

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดสารสีแอนโทไซยานิน จากกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงที่มี ต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของสารละลายสีที่สกัดได้
2. เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารละลายแอนโทไซยานินที่สกัดได้ และข้าวเหนียวพันธุ์เขียว ที่มีต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ
3. เพื่อศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวผสมสารสีแอนโทไซยานิน ที่มีต่อ คุณภาพทาง เคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย

1. อุปกรณ์ กากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง (โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา) ข้าวเหนียวพันธุ์เขียว (Oryza sativa L.) (ตลาดบางซื่อ กรุงเทพฯ) มอลโทเดกซ์ทริน (DE10 ; บริษัทเฮลท์ มหาบุญ จำกัด) กะทิมะพร้าวเยวชที่ตราอร่อยดี น้ำตาลทราย ตรามิตรผล ใบเตยหอมแก่จัด เกลือแกง เครื่องวัดค่า pH

(ตรา CONSOE รุ่น C – 830) เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (ตรา Satorius รุ่น CP – 2245) เครื่องวัดค่าสี (ระบบ Hunter Lab รุ่น Mini Scan XE Plus) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (ตรา Lloyd รุ่น TA plus S/N LF 2430 ชนิด Ball probe) รีแฟลกโตมิเตอร์แบบพกพา (Hand refractometer) 0 – 32 °Brix ตรา MAHCO รุ่น FG – 130 และอุปกรณ์เครื่องครัวที่จำเป็น

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเริ่มต้นของกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

การทดลองนี้ใช้กากกระเจี๊ยบแดงส่วนที่เรียกว่า กลีบดอก (ภาพที่ 2) ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำกระเจี๊ยบพาสเจอร์ไรซ์ และน้ำกระเจี๊ยบสเตอริไลซ์บรรจุกระป๋องโลหะของโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ พลังงาน พลังงานจากไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า และ ความชื้น



ภาพที่ 2 กากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

(*Hibiscus sabdariffa* Linn.)

ได้จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา

2.2 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาสกัดสารละลายสีแอนโทไซยานิน จากกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงที่มีต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของสารละลายสีแอนโทไซยานิน ที่สกัดได้

นำกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงมาสกัดสีแอนโทไซยานินด้วยตัวทำละลาย (น้ำกลั่นปรับ pH 2.5 ด้วย 1% HCl) (ดัดแปลงวิธีของ บุศรารัตน์ และ เกียรติศักดิ์, 2545) ใช้อัตราส่วนระหว่างกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง ต่อ ตัวทำละลาย เป็น 1 ต่อ 4 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร จากงานวิจัยของ ดวงกมล และคณะ (2551) รายงานว่า อุณหภูมิและเวลาสกัด เป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด ฉะนั้น งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอุณหภูมิ และเวลาในการสกัด ดังนี้ คือ อุณหภูมิ (แปรค่าเป็น 60°C, 80°C และ 100°C) และเวลาสกัด (แปรค่าเป็น 10, 20, และ 30 นาที) เก็บรักษาสารละลายสีแอนโทไซยานินที่สกัดได้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 °C ในภาชนะที่ป้องกันการซึมผ่านของอากาศ ความชื้น และแสง เพื่อรอการวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

จากนั้น นำสารละลายสีแอนโทไซยานินที่สกัดได้ในแต่ละสถานะ วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (วัดด้วยเครื่อง HPLC) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solid; TSS) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ ค่าสี L^* a^* b^* วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ใช้การวิเคราะห์แบบ ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละสิ่งทดลอง (multiple comparison) โดยวิธี Duncan's new Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งในการ

ทดลองนี้จะใช้ค่าสี a^* (redness) เป็นเกณฑ์ ในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสี แอนโทไซยานินจากกากกลีบดอกกระเจียบแดง

2.3 ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารละลายสีแอนโทไซยานินต่อข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววู ที่มีต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

นำสารละลายสีแอนโทไซยานิน สกัดที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม จากข้อ 2.2 แปรค่าอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารละลายสารสีแอนโทไซยานิน ต่อ ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววู เป็น 30:70 40:60 และ 50:50 โดยน้ำหนัก/น้ำหนักแห้งทิ้งไว้ 6 - 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การแช่ข้าวเหนียวเขี้ยววูด้วยสารละลายสีแอนโทไซยานินสกัด ที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

นำข้าวเหนียวผลิตข้าวเหนียวมูน (ภาพที่ 4) ด้วยสูตรต้นแบบที่คัดเลือก (ตารางที่ 1) ซึ่งมีกระบวนการผลิต ดังนี้ 1) นำข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววูล้างน้ำสะอาด 1-2 ครั้ง 2) ล้าง-ขัดถูด้วยสารส้มอะลูมินา (กรดอาหาร) นาน 30 นาที เหน้ทิ้ง 3) ล้างด้วยน้ำสะอาดคุณภาพน้ำดื่ม 1-2 ครั้ง จากนั้น แช่น้ำสารละลายสีแอนโทไซยานิน ตามอัตราส่วนที่กำหนด ทิ้งไว้ประมาณ 6 - 8 ชั่วโมง 4) นึ่งด้วยไอน้ำในหม้อรังถึง พร้อม กับใส่ใบเตยแก่จัด 1 มัดใหญ่ ที่ก้นหม้อรังถึง เพื่อเพิ่มความหอม 5) นึ่งด้วยอุณหภูมิ 100°C นานประมาณ 45 - 50 นาที 6) เตรียมกระทะ ะพรวัวยูเอชที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ $\leq 4^{\circ}\text{C}$ รอผสม

7) เทข้าวเหนียวหนึ่งลงกะละมังสแตนเลสที่สะอาด จากนั้น เทหัวกระทะพรวัว น้ำตาลทราย และ มอลโทเดกซ์ทรินซึ้งง 3% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร (เป็นสารเพิ่มปริมาณของแข็งและให้ความคงตัว) ที่ชั่งตวงไว้ 8) ใช้ไม้พายกวนให้เข้ากัน เพื่อให้ส่วนผสมทั้งหมดละลายและกระจายตัวได้ดี 9) ปิดฝากะละมัง ทิ้งไว้นาน 15 - 30 นาที ได้ ผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน (ภาพที่ 4)

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ด้วยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ด้วยแบบทดสอบ Hedonic scale -9- points วางแผนการทดลองแบบวัดค่าซ้ำ (Repeated Measure Design; RMD) ใช้การวิเคราะห์แบบ ANOVA และ วิเคราะห์ Multiple Comparison โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4 การผลิตผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูนเสริมสารสีแอนโทไซยานิน

ตารางที่ 1 สูตรส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน (สูตรต้นแบบที่ผลิตขายได้)

ส่วนผสม	ปริมาณ (% w/w)
ข้าวเหนียวแช่เยว่ง	100.0
หัวกะทิ	50.0
น้ำตาลทราย	45.0
เกลือป่น	1.0
มอลโทเดกซ์ทรีน (DE 10)	3.0

ที่มา : จัดแปลงสูตรของ คุณจรัญ เกษมรติ (สัมภาษณ์, 2552)

2.4 ประเมินอายุการเก็บรักษา
ผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูนที่มีต่อความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน ในผลิตภัณฑ์และคุณภาพด้านเคมี ภายนอก จุลินทรีย์ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

นำสภาวะที่เหมาะสมจากขั้น 2.3 เก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 1 2 และ 3 วัน เทียบกับอุณหภูมิห้อง (สภาวะควบคุม) วางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ภายนอก และจุลินทรีย์ และวางแผนการทดลองแบบการวัดค่าซ้ำ RMD สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ใช้การวิเคราะห์แบบ ANOVA และวิเคราะห์ Multiple Comparison โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

ผลการวิจัยด้านการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ภายนอก และการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ในช่วงการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 2 ถึงตารางที่ 9

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเริ่มต้นของกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง

องค์ประกอบทางเคมีเริ่มต้นของกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงที่ใช้ในการทดลอง มีค่าแสดงดัง ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของกากกลีบดอกกระเจียวแดง

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (ต่อ 100 กรัม) ¹	
ความชื้น	83.3±0.01	กรัม
พลังงาน	62.0±0.08	กิโลแคลอรี
พลังงานจากไขมัน	0.00	กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	14.4±0.07	กรัม
โปรตีน	1.22 ±0.04	กรัม
ไขมัน	0.05±0.01	กรัม
เถ้า	1.29±0.06	กรัม

¹ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

2. ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดสารละลายสีแอนโทไซยานิน จากกากกลีบกระเจียวแดงที่มีต่อคุณภาพทางเคมีและกายภาพของสารละลายสีแอนโทไซยานิน ที่สกัดได้

พบว่า สารละลายสีแอนโทไซยานินที่สกัดด้วยน้ำ (พีเอช 2.5) ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 30 นาที ที่ค่า pH 2.29 ค่า TSS 0 °Brix และสามารถสกัดได้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) เท่ากับ 0.41 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรตัวอย่าง และให้ค่าสีแดง(a*) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ คือ 13.65 เนื่องจากอุณหภูมิและเวลาเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากกากกระเจียวแดงทำให้ปริมาณสีม่วงแดงจากกากกระเจียวแดงต่างกัน ในช่วงอุณหภูมิสูงจะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด แต่ถ้าสูงเกินไปทำให้แอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวได้ เมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดนานขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลง (ดวงกมล และคณะ, 2551)

ตารางที่ 3 ค่าสีแดง (redness ; a^*) และค่า pH ของสารละลายสารสีแอนโทไซยานินที่สกัดแต่ละสภาวะ

สภาวะการสกัด	ค่า a^*	pH
60°C, 10 นาที	$4.6^{abc} \pm 1.23$	$2.61^c \pm 0.16$
60°C, 20 นาที	$4.24^a \pm 0.18$	$2.58^c \pm 0.05$
60°C, 30 นาที	$2.73^a \pm 0.15$	$2.67^d \pm 0.11$
80°C, 10 นาที	$5.05^{abc} \pm 0.46$	$2.58^c \pm 0.19$
80°C, 20 นาที	$6.04^{abc} \pm 0.91$	$2.55^c \pm 0.20$
80°C, 30 นาที	$3.77^a \pm 0.11$	$2.43^b \pm 0.09$
100°C, 10 นาที	$5.15^b \pm 0.20$	$2.41^b \pm 0.06$
100°C, 20 นาที	$6.99^c \pm 0.13$	$2.36^b \pm 0.31$
100°C, 30 นาที	$13.65^d \pm 0.75$	$2.29^a \pm 0.23$

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ a, b, c, และ d ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง หมายถึงค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ดังนั้น ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะว่า ในการสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดง พบว่า ตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัด คือ เอทานอล สามารถสกัดแล้วให้สารสีแอนโทไซยานินมีสีแดงเข้มมากขึ้น แต่ทำให้สารละลายแอนโทไซยานินมีรสชาติขมมาก เมื่อนำไปแช่ในข้าวเหนียวเปียกส่งผลให้ข้าวเหนียวมีรสชาติขมมาก ควรใช้น้ำปรับกรดสกัดดีที่สุด และมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมว่า กรดที่ใช้ในการปรับ pH 2.5 ในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสีแอนโทไซยานิน เราสามารถใช้กรดซิตริกแทนการใช้กรดไฮโดรคลอริกได้ กรณีถ้าไม่มีกรดไฮโดรคลอริก แต่ต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น

3. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างสารละลายสีแอนโทไซยานิน ต่อ ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววู ที่มีต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

พบว่า อัตราส่วนการแช่ระหว่างสารละลายสีแอนโทไซยานิน ต่อ ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยววู เป็น 50 ต่อ 50 โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก ตามลำดับ ได้รับคะแนนความชอบรวม ลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ และกลิ่นรส มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ คือ 8.1 7.7 8.3 7.6 7.9 และ 7.7 คะแนนตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 คะแนนประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน

อัตราส่วนระหว่างสารละลายแอนโทไซยานินสกัด : ข้าวเหนียวพันธุ์เขียว
(โดย น้ำหนัก : น้ำหนัก)

ประเมินคุณภาพ	30 : 70	40 : 60	50 : 50
สี	6.0 ^a ± 1.51	7.3 ^b ± 1.06	8.3 ^c ± 0.78
ลักษณะปรากฏ	6.7 ^a ± 1.21	7.4 ^b ± 0.96	7.7 ^a ± 1.09
รสชาติ	7.7 ^a ± 1.15	7.7 ^a ± 0.83	7.9 ^a ± 1.03
กลิ่นรส	7.5 ^a ± 1.14	7.6 ^a ± 0.97	7.7 ^a ± 0.94
เนื้อสัมผัสโดยรวม	6.8 ^a ± 1.68	7.4 ^a ± 1.30	7.6 ^a ± 1.07
ความชอบรวม	7.0 ^a ± 1.56	7.6 ^a ± 1.16	8.1 ^b ± 0.68

หมายเหตุ a, b และ c ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดัง หมายถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4 ประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูนที่มีต่อความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน และคุณภาพด้านเคมีกายภาพ จุลินทรีย์ และการยอมรับทางประสาทสัมผัส

พบว่า การเก็บทั้ง 3 วัน มีค่าแอนโทไซยานินทั้งหมด ในช่วง 0.90 – 0.93 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง (ตารางที่ 5) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าสีแดง (a*) ลดลง (ตารางที่ 6) และเนื้อสัมผัส(ความแข็ง) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7) ค่าการเหม็นหืนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8) ขณะที่ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) เท่ากันทั้ง 3 วัน (0.95 a_w) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 9) นอกจากนี้ การเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค เมื่อพิจารณาการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่า การเก็บทั้ง 3 วัน ผู้ทดสอบไม่ยอมรับ แต่ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง อาจเป็นเพราะ

ว่าผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน มีปริมาณน้ำตาลทรายสูง ประกอบกับผลิตภัณฑ์ถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องตลอดเวลาทั้ง 3 วัน ทำให้สูญเสียความชื้นออกจากผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์จึงไม่เป็นที่ยอมรับ โดยผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณแอนโทไซยานิน ทั้งหมด (dry basis; db) 0.21 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง พลังงาน 257.5 Kcal พลังงานจากไขมัน 23.5 Kcal (d.b.) คาร์โบไฮเดรต 55.43 % (d.b.) ความชื้น 38.5 % (d.b.) โปรตีน 3.06% (d.b.) ไขมัน 2.60% (d.b.) และเถ้า 0.39% (d.b.)

ตารางที่ 5 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด(มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง) ในผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน ที่ผ่านการเก็บรักษา ทั้ง 3 วัน ที่อุณหภูมิตู้เย็น

เวลาเก็บรักษา(วัน)	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัม/100 กรัม)*
0 (อุณหภูมิห้อง (30 ± 0.5 °C). ; อุณหภูมิควบคุม)	0.21 ± 0.03
1	0.90 ± 0.02^a
2	0.92 ± 0.01^a
3	0.93 ± 0.04^a

*ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 6 ค่าความสว่าง (Lightness; L*) และค่าสีแดง (redness ; a*) จากการวัดด้วยเครื่องวัดสี

ค่าสี	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
L*	36.6 ± 0.04^a	41.7 ± 0.07^b	46.4 ± 0.01^c	49.34 ± 0.09^d
a*	7.36 ± 0.03^d	6.94 ± 0.03^c	6.60 ± 0.05^b	6.01 ± 0.10^a

*ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ a b c และ d ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 7 ค่าเนื้อสัมผัสวัดในรูปความแข็ง (hardness ;นิวตัน) จากการวัดด้วยเครื่อง Texture Analyzer

ค่าเนื้อสัมผัส	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
ความแข็ง	8.01 ± 0.11^a	7.84 ± 0.08^a	14.77 ± 0.06^b	14.82 ± 0.10^b

*ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ a b c และ d ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 8 ค่าการเหึนเหึน (ค่าเปอร์ออกไซด์ ; PV) หน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์/กิโลกรัม

ค่าการเหึนเหึน	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
PV	0.19 ± 0.08^a	0.26 ± 0.21^b	0.39 ± 0.11^c	0.50 ± 0.06^d

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ a b c และ d ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)

ปริมาณน้ำอิสระ	อายุการเก็บรักษา (วัน)			
	0	1	2	3
a_w	0.95 ± 0.11^a	0.95 ± 0.21^a	0.95 ± 0.21^a	0.95 ± 0.20^a

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

สรุปผลการวิจัย

1. องค์ประกอบทางเคมีของกากกลีบดอกกระเจี๊ยบแดงเริ่มต้นมีค่าพลังงาน 62.0 Kcal /100 กรัม พลังงานจากไขมัน 0.0 Kcal /100 กรัม คาร์โบไฮเดรต 14.1% โปรตีน 1.22% ไขมัน 0.05% เถ้า 1.29% และความชื้น 83.3%

2. อุณหภูมิและเวลาสกัดที่เหมาะสมโดยการใช้อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที สารละลายสีแอนโทไซยานิน ที่สกัดได้ มีค่า pH 2.29 มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด 0.41 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตัวอย่าง

3. อัตราส่วนระหว่าง สารละลายสีแอนโทไซยานิน : ข้าวเหนียวพันธุ์เข็ญวู คือ 50 : 50

โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก ได้รับคะแนนความชอบรวม ลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสชาติ และกลิ่นรส คือ 8.1 7.7 8.3 7.6 7.9 และ 7.7 คะแนนตามลำดับ

4. การเก็บข้าวเหนียวมูนที่อุณหภูมิตู้เย็น 1 - 3 วัน มีปริมาณ แอนโทไซยานิน ในช่วง 0.90 - 0.93 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง ค่าการเหึนเหึน (เปอร์ออกไซด์; PV) และค่าความแข็งเพิ่มขึ้น ส่วนค่าสีแดงลดลง ขณะที่ค่า a_w เท่ากันทั้ง 3 วัน (0.95 a_w) ส่วนการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์-รา อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยต่อผู้บริโภค และการเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น 3 วัน ผู้ทดสอบไม่ยอมรับ แต่ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์

เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง ผลิตภัณฑ์มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด 0.21 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง พลังงาน 257.5 Kcal พลังงานจากไขมัน 23.5 Kcal คาร์โบไฮเดรต 55.43% ความชื้น 38.54% โปรตีน 3.06% ไขมัน 2.60% และเถ้า 0.39%

เอกสารอ้างอิง

- จรัญ เกษมรติ. (2552). สูตรและกระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวมูน. ได้จากการสัมภาษณ์. เมื่อวันที่ 1 พฤษภาคม 2552.
- ดวงกมล ลิมจันทร์. วิษฐิดา จันทราพรชัย และวิชัย หุทัยธนาสันดี. (2551). การสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำ. แหล่งที่ http://www.kucon.lib.ku.ac.th/cgi-bin/KUCON.exe?rec_id=010962&database=KUCON&search_type=link&table=mona&back_path=/KUCON/mona&lang=thai&format_name=TFMON, 6 มิถุนายน 2552
- บุศรารัตน์ สายเชื้อ.(2545). แอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดง *Hibiscus sabdariffa* L. เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เพชรรัตน์ เพ็งรัตน์ และ และ อิศราภรณ์ พาณิชย์ เจริญรัตน์. (2552). ความเสถียรของ แอนโทไซยานินของกระเจี๊ยบและอัญชันในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม. ออนไลน์ เข้าถึงใน <http://science.swu.ac.th/content/e65/e969/e1472/HomeAbstract.pdf>, 6 มิถุนายน 2552
- วนิดา เทวฤทธิ์. (2552). การสกัดสารแอนโทไซยานินในัญพืช. อาหาร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, ปีที่ 39 ฉบับที่ 4 ตุลาคม – ธันวาคม 2552, หน้า 293 – 298.
- เพชรรัตน์ เพ็งเจริญ และ อิศราภรณ์ พาณิชย์ เจริญรัตน์. (2552). ความเสถียรของ แอนโทไซยานินของกระเจี๊ยบและอัญชันในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม. สืบค้นใน www.google.com, 1 หน้า.
- เว็บไซต์หมอบ้าน. (2552). กระเจี๊ยบมอญ. สืบค้นใน www.google.com , เมื่อวันที่ 6 มิถุนายน 2552 , 5 หน้า.
- สถาบันการแพทย์แผนไทย. (2552). กระเจี๊ยบแดง. สืบค้นใน [www. Google.com](http://www.Google.com), สืบค้นเมื่อวันที่ 6 มิถุนายน 2552, 3 หน้า.
- Gradinaru, G., Billaderis, C. G., Kallithraka, S., Kefalas, P., and Garcia-Viguera, C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state : effects of copigmentation and glass transition. **Journal of Food Chemistry**. 83 : 423 – 436.

- Prodanov, M. P., Dominguez, J. A., Blazquez, I., Salinas, M. R., and Alonso, M. L. (2004). Some aspects of the quantitative/qualitative assessment of commercial anthocyanin – rich extracts. **Journal of Food Chemistry**, 90 : 585 – 596.
- Veridiana, V. R., Adriana, Z., and Mercadante. (2007). Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 8 : 347 – 352.
- Wrolstad, R. E., Skrede, M., Lea, P., & Enersen, A. (1990). Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. **Journal of Food Science**, 55 : 1064 – 1065, 1072.