جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی میزان ترکیبات فنلی در انواع شکر حاصل از مراحل مختلف فرایند کریستالیزاسیون طی ۲ سال نگهداری

مسعود هنرور[a*]، فاطمه سید سجادی[b]، احمد کلباسی اشتری[c]، کامبیز لاریجانی[d]، بابک دلخوش[e]، پرنیان متقیان[f]

[a] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران، ایران
[b] دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران
[c] دانشیار دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران
[d] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه شیمی، تهران، ایران
[e] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، تهران، ایران
[f] کارشناس مهندسی علوم و صنایع غذایی، شرکت پارس مینو، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۹/۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۱۲

چکیده

مقدمه: شکر به عنوان یک ماده غذایی پر مصرف که در تهیه بسیاری از مواد غذایی دیگر کاربرد دارد، طی فرایند طولانی و پر هزینه ای تولید می‌شود که با حذف مراحلی از این فرایند می‌توان از دور ریز مواد مغذی، با ارزش تغذیه‌ای بالا جلوگیری کرد. در این مطالعه، ترکیبات فنلی به عنوان یک شاخص ارزشمند و ماده غذایی عملگرا، مد نظر قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه اثر فاکتور زمان بر نمونه های شکر از طریق آزمون‌های تعیین میزان تغییرات ترکیبات فنلی با استفاده از روش Singleton، تغییرات شیمیایی (میزان قند، میزان اینورت، رنگ، میزان خاکستر، pH) و آزمون های میکروبی با استفاده از روش‌های استاندارد بین المللی ICUMSA اندازه گیری شده است.

یافته‌ها: نتایج آزمون‌های میکروبی آلودگی باکتریایی مزوفیل را نشان می‌دهد. نتایج آزمون های شیمیایی نشان می‌دهد که با گذشت زمان در شکر بدون کلرساژ، شکر پخت II و شکر پخت III میزان قند، اینورت و رنگ کاهش یافته و در میزان ترکیبات فنلی افزایش قابل توجهی مشاهده می شود. که در این رابطه بین نمونه ها تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده می گردد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصله، با ایجاد شرایط کنترل شده، می‌توان شکرهایی را تولید کرد که علاوه بر جلوگیری از پدیده حذف مواد مغذی در زمان تولید منجر به حفظ و بعضاً افزایش ارزش کیفی، در طی نگهداری شود.

واژه‌های کلیدی: *شکر، فنل، کریستالیزاسیون، کلرساژ، مواد غذایی عملگرا*

* نویسنده مسئول مکاتبات email:m- honarvar@hotmail.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

شکر ماده غذایی است که به عنوان ماده اولیه در تهیه بسیاری از مواد غذایی دیگر کاربرد فراوان دارد. علیرغم تولید شیرین کننده‌های طبیعی و غیر طبیعی دیگر، مصرف شکر همچنان از جایگاه ویژه ای در صنایع غذایی برخوردار است (Nayaka *et al.*, 2008).

شکر سفید به عنوان یک شیرین کننده غالب شناخته شده و انواع دیگر شکر، از جمله شکرهای قهوه‌ای، با توجه به فرهنگ مناطق هر یک جایگاه متفاوتی را به خود اختصاص داده‌اند.

شکرها باتوجه به منبع و شیوه تولید،دارای مشخصات فیزیکی و شیمیایی متفاوت می‌باشند. انواع شکر می‌تواند شکر قهوه‌ای حاصل از نیشکر باشد که از ترکیب شکر سفید با ملاس استریل بدست می‌آید و یا شکر حاصل از مراحل مختلف فرآیند کریستالیزاسیون چغندر قند باشد.

برای تولید شکر از چغندر قند مراحل زیر باید طی شود: ۱- شستشوی چغندر ۲- آسیاب چغندر ۳- دیفوزیون ۴- دفکاسیون ۵- ساتراسیون ۶- فیلتراسیون ۷- سولفیتاسیون ۸- اواپراسیون ۹- کریستالیزاسیون ۱۰- خشک کردن ۱۱- بسته بندی

یکی از مهمترین مراحل در تولید شکر، مرحله کریستالیزاسیون است. کریستالیزاسیون در تکنولوژی قند به معنی انتقال مولکول‌های قند از سیروپ و تبدیل آنها به یک فاز جامد به نام کریستال است. در طی عمل کریستالیزاسیون مواد غیر قندی در سیروپ باقی می‌ماند. کریستالیزاسیون فرایندی است که در طی آن جداسازی و خالص‌سازی قند تا ۹۹٪ افزایش می‌یابد (Asadi, 2007).

پساب نهایی پس از پروسه کریستالیزاسیون ملاس نام دارد که کلیه مواد رنگی، مواد معدنی و به طور کلی مواد غیر قندی در آن جمع می‌شود. ملاس به عنوان یک محصول جانبی به فروش می‌رسد و فرایندهای متفاوتی برای جدا کردن مواد با ارزش موجود در آن انجام می‌گیرد (Asadi, 2007).

در سال ۱۹۹۱ طی پژوهشی میزان رنگدانه‌های موجود در شکر چغندری، توسط روش کروماتوگرافی GPC (Gel Permeation Chromatography) اندازه‌گیری شد و محققین دریافتند که ترکیبات فنلی و رنگی که دارای وزن مولکولی بالا می‌باشند، علاوه بر سطح کریستال در داخل آن نیز وجود دارند. شکر با گذشت زمان تحت شرایط خاص تغییر رنگ می‌دهد که این تغییر باید از نظر فیزیکی و شیمیایی بررسی گردد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که این تغییر رنگ بدلیل وجود ترکیبات باقی مانده بر سطح و داخل کریستال می‌باشد. این ترکیبات شامل: ترکیبات فنلی، ملانوئیدین، ملانین، کارامل و ترکیبات آلکالوئیدی حاصل از تغییرات pH محیط می‌باشد (Godshall *et al.*, 1991).

ملانوئیدین از مهمترین رنگدانه‌های مؤثر در تغییر رنگ شکر می‌باشد که در طی فرآیند اواپراسیون و کریستالیزاسیون بدلیل پدیده میلارد ایجاد می‌شود. ملانوئیدین به دو حالت وزن مولکولی بالا و وزن مولکولی پایین دیده می‌شود و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی‌کارسینوژنی می باشد. ملانوئیدین از مهارکننده‌های قدرتمند و شناخته شده در مقابل اکسیژن فعال و دارای ساختار فنلی می باشد (Finot *et al.*, 1990).

در بین ترکیبات فوق آنهایی که دارای ساختار فنلی می‌باشند از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. پلی فنل‌ها به عنوان مواد غذایی عملگرا، جزء اصلی ترکیبات بیواکتیو هستند و جایگاه منحصر به فردی در میان محصولات بیواکتیو طبیعی دارند. پلی‌فنل‌ها به وفور در دنیای گیاهان گلدار، سبزیجات و میوه‌ها دیده می‌شوند. پلی‌فنل‌ها بوسیله خاصیت آنتی اکسیدانی از تخریب سلول‌ها توسط اکسیژن فعال جلوگیری می‌کنند. خاصیت آنتی اکسیدانی، اصلی‌ترین تأثیر درمانی پلی فنل‌ها شناخته می‌شود. پلی‌فنل‌ها استرس‌های اکسیداتیو را کاهش می‌دهند که این خاصیت بواسطه توان بازدارندگی آنها در ممانعت از شکل‌گیری محصولات حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها در سیستم‌های بیولوژیک می باشد (Akowuah *et al.*, 2009).

شواهد و مطالعات فراوان نشان می‌دهد که پلی‌فنل‌ها علاوه بر جلوگیری از اکسیداسیون LDL، از لخته شدن پلاکت‌ها در عروق و تخریب گلبول‌های قرمز نیز جلوگیری می‌کنند (Gharras, 2009).

هزاران پلی‌فنل گیاهی شناخته شده‌اند که همه آنها دارای حداقل یک حلقه آروماتیک و یک گروه هیدروکسیل یا بیشتر نسبت به دیگر ترکیبات می‌باشند. پلی‌فنل‌ها خواص بیولوژیکی بسیاری دارند که مهمترین آنها خواص آنتی اکسیدانی، ضدسرطانی و ضد التهابی آنها می‌باشد

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(Ferranzzano *et al.*, 2011).

مکانیسم‌های متفاوتی از عملکرد پلی فنل‌ها در ممانعت از انواع بیماری‌ها شناخته شده است که از آن جمله می‌توان به جلوگیری از عملکرد آنزیم‌های مؤثر در تکثیر باکتریایی، مرگ و میر سلول‌های تومور توسط تغییر در DNA سلول سرطانی و تحریک مونوسیت‌ها یا ماکروفاژها به تولید سیتوکین، اشاره کرد (Ferranzzano *et al.*, 2011).

اثر ضد میکروبی پلی فنل‌ها با خنثی کردن و غیر فعال کردن سموم میکروبی نشان داده می‌شود. پلی‌فنل‌ها بر پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک نیز مؤثر می‌باشند. پلی‌فنل‌ها عملکردهای دفاعی متفاوتی در گیاهان دارند، مانند: مرمت و استقامت بخشی به دیواره سلول گیاهی و فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی در گیاه. پلی فنل‌ها در سطح گیاه و یا سیتوپلاسم سلول‌های اپیدرم ایجاد می‌شوند و این در واقع مکانی است که بتوانند به عنوان بازدارنده پاتوژن‌ها در آن عمل کنند (Ferranzzano *et al.*, 2011).

پلی فنل‌ها ترکیبات مهمی در کیفیت میوه‌ها هستند و این به دلیل سهم بسزای آنها در طعم، رنگ و خواص غذایی میوه‌ها می‌باشد. علاوه بر این پلی فنل‌ها به عنوان کی لیت کننده فلزات، آنتی‌موتاژن، آنتی‌کارسینوژن و آنتی‌باکتریال شناخته می شوند (Gharras, 2009).

انواع پلی‌فنل شامل فنولیک اسیدها (هیدروکسی بنزوئیک اسیدها و هیدروکسی سینامیک اسیدها)، فلاونوئیدها (فلاونول‌ها، فلاون‌ها، فلاوانون‌ها، فلاوانول‌ها، ایزو فلاون‌ها، پروآنتو سیانین‌ها)، آنتو سیانین‌ها، Stilbens و لیگنان‌ها تقسیم می‌شوند (Manach *et al.*, 2005).

مطالعات انجام شده بر روی انواع شکر نشان می‌دهد که حجم قابل توجهی از مواد رنگی و پیش سازهای مواد رنگی، در یک لایه از ملاس که اطراف کریستال شکر را پوشانده است و فیلم نامیده می‌شود، وجود دارد. این فیلم حدود ۶۳ درصد از مواد ذکر شده را در خود جای داده است که نزدیک به نیمی از آن را ترکیبات فنلی تشکیل می‌دهد (Godsall *et al.*, 1991).

هدف از انجام این مطالعه اندازه‌گیری کمی ترکیبات فنلی و سایر ویژگی‌های کیفی، در شکر سفید و شکرهای حاصل از فرآیند کریستالیزاسیون کارخانجات قند چغندری، در زمان تولید و پس از گذشت زمان نگهداری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- روش نمونه برداری

نمونه‌های مورد مصرف در این مطالعه شکر سفید، شکر بدون کلرساژ، شکر پخت II و شکر پخت III می‌باشند که از مرحله کریستالیزاسیون از کارخانه قند هگمتان تهیه شده‌اند. نمونه شکر بدون کلرساژ از سانتریفوژ کریستالیزاتور I قبل از آنکه عملیات کلرساژ صورت بگیرد تهیه شده است. شکر پختII از خروجی سانتریفوژ کریستالیزاتور II تهیه شده و شکر پخت III از خروجی سانتریفوژ کریستالیزاتور III تهیه شده است. از این نمونه‌ها تحت شرایط استریل در محل نمونه‌برداری شده و برای آزمایشات میکروبی استفاده شده است. مابقی نمونه‌ها در شرایط کنترل شده با استفاده از حرارت خود نمونه‌ها در آزمایشگاه خشک شده و به دو قسمت تقسیم شده است. قسمت اول برای آزمایشات تعیین میزان ترکیبات فنلی، میزان قند، میزان اینورت، رنگ، میزان خاکستر و pH در سال اول استفاده شده و قسمت دوم برای تکرار آزمایشات در سال دوم در دمای محیط (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شده است.

شکر بدون کلرساژ در واقع شکری است که عملیات شستشو در سانتریفوژ پخت I، توسط آب داغ و بخار بر روی آن انجام نگرفته است.

شکر پخت II عبارت است از شکری که از سانتریفوژ پخت II خارج می‌شود و دارای درجه خلوص حدوداً ۹۹/۳ درصد می‌باشد و لایه‌ای نازک از ملاس روی کریستال‌های آن را پوشانده است (Asadi, 2007).

شکر پخت III عبارت است از شکری که از آپارات پخت III وارد سانتریفوژ می‌شود و درجه خلوص آن در حدود ۸۸ درصد می‌باشد (Asadi, 2007).

آزمایشات شیمیایی و میکروبی این مطالعه بر اساس کتاب مرجع ICUMS[1] (کمیته بین‌المللی تدوین روش‌های آنالیز انواع شکر) انجام شده است که به شرح زیر می‌باشد:

آزمون تعیین مقدار قند بر طبق روش استاندارد

[1] International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis

ICUMSA به شماره (2009)GS1/2/3/9-1، آزمون تعیین مقدار اینورت بر طبق روش استاندارد ICUMSA به شماره (2007)GS2/9-6 ،آزمون تعیین مقدار خاکستر بر اساس روش استاندارد ICUMSA به شماره (2002)GS2/3-17، آزمون تعیین مقدار pH بر طبق روش استاندارد ICUMSA به شماره (2009)GS1/2/3/4/7/8/9-23، آزمون جستجوی باکتری‌های مزوفیل بر اساس روش استاندارد ICUMSA به شماره (1998)GS2/3-43، آزمون جستجوی کپک و مخمر بر اساس استاندارد ICUMSA به شماره (1998)GS2/3-47 و آزمون تعیین مقدار رنگ بر اساس استاندارد ICUMSA به شماره (2005)GS2/3/9 و (2007)GS2/3/10 انجام شد. تجهیزات مورد استفاده شامل: اسپکتروفتومتر مدل Cary 100 ساخت شرکت Varian، دستگاه جذب اتمی RAYLEIGH wfx-210، کانداکتومتر، پلاریمتر Schmidt+Haensch و رفراکتومتر بوده است.

- مواد

مواد شیمیایی مورد مصرف در این مطالعه شامل اسید گالیک، معرف فولین سیو کالتو، کربنات سدیم، محلول رزانیلین، محلول فرم آلدئید، اسید هیدروکلریدریک، محیط کشت نوترینت آگار، محیط کشت پلیت کانت آگار، محیط کشت عصاره مخمر، گلوکز، کلرامفنیکل آگار یا محیط ورت آگار که همه آنها ازکمپانی Merck تهیه شدند.

- تهیه استاندارد گالیک اسید

۰/۵ گرم از گالیک اسید استاندارد در ۱۰میلی لیتر اتانول حل می‌شود. سپس با آب دوبار تقطیر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده می‌شود. این رقت در اصل ۵ گرم در لیتر است. سپس از این محلول رقت‌های ۵۰ – ۱۰۰ – ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه می‌گردد.

- روش تهیه محلول اشباع کربنات سدیم

۱۰۰ گرم کربنات سدیم در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب حل می‌شود. برای آن که بتوان کربنات سدیم را در آب دوبار تقطیر حل کرد باید آن را به مدت یک ساعت بر روی شیکر قرار داد. سپس درب آن با پارافیلم بسته و تا زمان آزمایش در دمای یخچال نگهداری می‌شود.

- اندازه‌گیری پلی فنل در شکر

ابتدا یک گرم از شکر در ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل می‌گردد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول شکر با ۰/۹ میلی‌لیتر از آب دوبار تقطیر داخل یک تیوب آزمایشگاهی ریخته می‌شود. به این محلول ۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو۰/۲ نرمال اضافه می‌گردد. سپس به آن ۴ میلی‌لیتر از محلول اشباع کربنات کلسیم اضافه شده و در نهایت تیوب در میکسر قرار می‌گیرد تا تمام مواد به خوبی با هم ترکیب شوند (Singleton *et al.*,1965, 1999). پس از نیم ساعت در دمای اتاق جذب توسط اسپکتروفتومتر مدل Cary 100 ساخت شرکت Varian در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت می‌شود. نتیجه بر حسب معادل گالیک اسید در هر محصول گزارش می‌گردد.

- تجزیه و تحلیل آماری

ارزیابی آماری این مطالعه، ابتدا با آزمایش تجزیه واریانس بوسیله طرح کاملا تصادفی بین تیمارها در سال اول و همین طرح بین تیمارها در سال دوم انجام شد و تأثیر گذشت زمان یکسال بین تیمارهای سال اول و تیمارهای سال دوم با استفاده از طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. مقایسه داده‌ها با روش مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن انجام شد. نرم افزار آماری مورد استفاده SPSS، ویرایش ۲۱ می‌باشد.

در این مطالعه ۶ آزمون به عنوان متغیر پیوسته بر روی ۴ تیمار شکر با عنوان شکر سفید، شکر پخت II، شکر پخت III و شکر بدون کلرساژ به عنوان متغیر مستقل انجام گرفت. هر یک از آزمون‌ها با سه تکرار انجام شده است.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از تست‌های میزان قند (Pol)، خاکستر (Ash)، رنگ (Color)، اینورت (Invert) و pH در سال اول در جدول ۱مشخص گردیده است.

آنالیز آماری نتایج میزان قند، نشان می‌دهد که شکرهای پخت II و III در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$)

تفاوت معنی‌داری با شکرهای پخت I یا سفید و شکر سفید بدون کلرساژ دارند. همچنین بین نمونه‌های پخت II و پخت III نیز تفاوت معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) وجود دارد.

آنالیز آماری نتایج میزان خاکستر نشان می‌دهد که بین شکر سفید با شکرهای پخت II و III و شکر بدون کلرساژ تفاوت معنی‌دار وجود دارد. بین شکرهای پخت II و پخت III در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار وجود دارد. بین شکر پخت II و شکر بدون کلرساژ تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی شود. همچنین بین شکر پخت III و شکر بدون کلرساژ نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

آنالیز آماری نتایج آزمون رنگ نشان می‌دهد که شکر سفید با شکر پخت II و شکر پخت III و شکر بدون کلرساژ در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار دارد. بین شکر پخت III با شکرهای پخت II و شکر بدون کلرساژ نیزدر سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود. بین شکر پخت II و شکر بدون کلرساژ تفاوت معنی‌دار مشاهده نمی‌شود.

آنالیز آماری نتایج میزان اینورت نشان می‌دهد که در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌داری بین شکر سفید با شکرهای پخت II و III و شکر بدون کلرساژ وجود دارد. اما بین شکرهای پخت II و III و شکر بدون کلرساژ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

آنالیز آماری نتایج آزمون pH نشان می‌دهد که هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد.

آنالیز آماری نتایج آزمون‌های میکروبیولوژی در سال اول (جدول ۲)، نشان می‌دهد که در شکرهای پخت II، پخت III و نمونه شکر بدون کلرساژ آلودگی باکتری‌های مزوفیل مشاهده شده است و هیچ تفاوت آماری معنی‌داری بین این سه تیمار وجود ندارد. شکر سفید فاقد آلودگی باکتری مزوفیل بوده و آلودگی کپک و مخمر در هیچ یک از نمونه‌ها دیده نشده است.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از تست‌های میزان قند (Pol)، خاکستر (Ash)، رنگ(Color)، اینورت (Invert) و pH در سال دوم در جدول ۳ مشخص گردیده است.

آنالیز آماری نتایج آزمون قند (Pol)، خاکستر (Ash)، رنگ (Color)، اینورت (Invert) نشان می‌دهد که بین کلیه تیمارها در سطح ۹۹درصد ($p<0.01$) تفاوت آماری معنی‌دار دیده می‌شود.

آنالیز آماری تست اندازه‌گیری pH نشان می‌دهد که بین شکر سفید و شکرهای پخت II و III تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) دیده می‌شود. بین شکر بدون کلرساژ با شکر سفید و شکر پخت II نیز در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت آماری معنی‌دار دیده می‌شود ولی بین شکر بدون کلرساژ و شکر پخت III تفاوت آماری معنی‌دار وجود ندارد.

جدول ۱- نتایج آزمایشات شیمیایی نمونه های شکر در سال اول

نمونه/ صفت	pH	Color (IU)	Invert (%)	Ash (%)	Pol (z^o)
شکر سفید	۷/۲۶۷±۰/۲۵[a]	۵۰/۶۶±۴/۶[a]	۰/۰۱۱±۰/۰۰۱[a]	۰/۰۱۳±۰/۰۰۴[a]	۹۹/۸۶ ± ۰/۰۲۸[a]
شکر سفید بدون کلرساژ	۷/۵۳±۰/۲۸[a]	۱۷۷۸/۳۳±۳۰۱/۶۶[b]	۰/۲۳۰±۰/۰۷[b]	۱/۱۹±۰/۳۳[b]	۹۹/۴۶±۰/۵۷[a]
شکر پخت II	۷/۵۶±۰/۴۹[a]	۱۸۱۷±۱۵۸/۴۸[b]	۰/۲۰۳±۰/۰۱۵[b]	۱/۰۰۳±۰/۰۵[b]	۹۶/۹۳±۰/۸۵[b]
شکر پخت III	۷/۵۶±۰/۳۲[a]	۳۵۳۳±۳۹۵/۷۸[c]	۰/۲۶۰±۰/۰۲۸[b]	۱/۳۸±۰/۰۴[c]	۹۵/۵۰±۰/۵۵[c]

میانگین ± انحراف معیار، n=3 ، IU=ICUMSA Unit ، Z^o= درجه ساکاروز.

جدول ۲- نتایج آزمون میکروبی در سال اول

نمونه/صفت	باکتری‌های مزوفیل (CFU)
شکر سفید	۰
شکر سفید بدون کلرساژ	۹۵۰±۵۰[a]
شکر پخت II	۹۵۰±۵۰[a]
شکر پخت III	۹۵۰±۵۰[a]

میانگین ± انحراف معیار،n=3، CFU=Colony Forming Unit.

آنالیز آماری نتایج آزمون پلی فنل درسال اول نشان می‌دهد که بین همه تیمار ها در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود. نتایج این آزمون در سال دوم نشان می‌دهد که بین شکر سفید، شکر پخت II و شکر پخت III تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) دیده می‌شود. بین شکر بدون کلرساژ با شکر پخت III و شکر سفید نیز تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) دیده می‌شود ولی بین شکر پخت II و شکر بدون کلرساژ تفاوت آماری معنی‌دار وجود ندارد (جدول ۴).

آنالیز آماری نتایج حاصل از تست میزان قند (Pol) نشان می‌دهد که بین نمونه‌ها با توجه به گذر زمان در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود و اثر زمان بر روی نمونه‌ها در سطح ۹۵ درصد ($p<0.05$) معنی‌دار می باشد (جدول ۵).

آنالیز آماری نتایج حاصل از بررسی آزمون اندازه‌گیری خاکستر (Ash)، رنگ (Color) و اینورت (Invert) نشان می‌دهد که بین نمونه‌ها در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار وجود دارد و اثر گذر زمان بر نمونه‌ها در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) معنی‌دار می باشد.

آنالیز نتایج حاصل از تست pH نشان می‌دهد که با توجه به گذر زمان بین نمونه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد ($p<0.05$) مشاهده می‌شود و اثر زمان بر روی نمونه‌ها معنی‌دار نمی باشد.

نتایج آنالیز آماری تست اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی نشان می‌دهد که بین نمونه‌ها پس از گذشت یکسال در میزان ترکیبات فنلی تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) دیده می‌شود و اثر زمان بر روی این تغییرات در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) معنی‌دار می‌باشد.

جدول۳- نتایج آزمایشات شیمیایی نمونه های شکر در سال دوم

نمونه/صفت	pH	Invert (%)	Color (IU)	Ash (%)	Pol (z^o)
شکر سفید	۷[a]	۰/۰۱۲±۰/۰۰۱[a]	۵۷/۵۱±۰/۲۲[a]	۰/۰۳۵±۰/۰۰۰۵[a]	۹۹/۷۸±۰/۰۲[a]
شکر سفید بدون کلرساژ	۷/۵۶±۰/۰۵[b]	۰/۰۰۸±۰/۰۰۲[b]	۱۱۲۰±۲۰[b]	۰/۸۱±۰/۰۱۶[b]	۹۷/۴۶±۰/۱۱[b]
شکر پخت II	۷/۴۳±۰/۰۵[c]	۰/۰۳۵±۰/۰۰۱[c]	۱۳۴۸/۳۳±۲/۸۸[c]	۱/۰۵±۰/۰۰۶[c]	۹۶/۸۳±۰/۰۲[c]
شکر پخت III	۷/۵۰± ۰/۲[b]	۰/۰۸±۰/۰۰۳[d]	۲۳۵۶±۱۵/۲۷[d]	۱/۳۵±۰/۰۵[d]	۹۵/۴۶±۰/۲۵[d]

میانگین ± انحراف معیار، n=3 ، IU=ICUMSA Unit ، Z^o=درجه ساکاروز.

جدول ٤- نتایج میزان ترکیبات فنلی در سال اول و دوم

نمونه/صفت	Total Phenol(mg/100gr)	
	سال اول	سال دوم
شکر سفید	۱/۴۳±۰/۰۷[a]	۰[a]
شکر سفید بدون کلرساژ	۴/۰۰۹±۰/۰۳[b]	۳۴/۴۴±۲/۹۳[b]
شکر پخت II	۳/۸۳±۰/۱۱[c]	۲۹/۲۵±۱/۷۰[b]
شکر پخت III	۶/۷۳±۰/۰۵[d]	۵۷/۷۷±۷/۲۸[c]

میانگین ± انحراف معیار،n=3.

جدول۵- نتایج آزمایشات شیمیایی و تغییرات میزان ترکیبات فنلی با در نظر گرفتن اثر فاکتور زمان

نمونه/صفت	Total Phenol (mg/100gr)	pH	Invert (%)	Color (IU)	Ash (%)	Pol (z^o)
شکر سفید	۰/۷۱±۰/۷[a]	۷/۱۳±۰/۲۱[a]	۰/۰۱۱±۰/۰۰۰۹[a]	۵۴/۰۹±۴/۷۵[a]	۰/۰۲۴±۰/۰۱[a]	۹۹/۸۲±۰/۰۵[a]
شکر سفید بدون کلرساژ	۱۹/۲۲±۱۶/۷۷[b]	۷/۵۵±۰/۱۸[b]	۱/۱۱±۰/۱۲[b]	۱۴۴۹/۱۶±۴۰۸/۱۴[b]	۱/۰۰۰۵±۰/۲۹[b]	۹۸/۴۶±۱/۱۵[b]
شکر پخت II	۱۶/۵۴±۱۳/۹۶[c]	۷/۵۰±۰/۳۲[c]	۰/۱۱±۰/۰۹[c]	۱۵۸۲/۶۰±۲۷۵/۵۰[c]	۱/۰۲۹±۰/۰۴[c]	۹۶/۸۳±۰/۵۴[c]
شکر پخت III	۳۲/۲۵±۲۸/۳۳[d]	۷/۵۳±۰/۲۳[d]	۰/۱۷±۰/۱[d]	۲۹۴۴/۸۳±۶۹۱/۲۸[d]	۱/۳۶±۰/۰۴[d]	۹۵/۴۸±۰/۳۸[d]

میانگین ± انحراف معیار، n=3 ، IU=ICUMSA Unit ، Z^o=درجه ساکاروز.

بحث

بررسی نتایج آزمون قند و اینورت در سال اول نشان می‌دهد که زمان مورد نیاز در هر کریستالیزاتور از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. در پخت I کریستالیزاسیون و تولید شکر سفید حدود ۲ ساعت زمان نیاز دارد. این زمان برای پخت II ۸-۴ ساعت و برای پخت III به ۱۲-۶ ساعت افزایش می‌یابد. هر چه به پخت III نزدیک می‌شویم میزان ناخالصی کل بیشتر می‌شود زیرا در هر مرحله قسمتی از ساکاروز کسر می‌گردد. به دلیل افزایش زمان و حرارت موجود، قسمتی از ساکاروز نیز تبدیل به اینورت می‌شود که قسمت اعظم اینورت حاصله در ملاس جمع می‌گردد. در نهایت میزان قند موجود در پخت III کمتر از پخت II ، و میزان قند پخت II کمتر از شکر سفید و شکر بدون کلرساژ می‌باشد ودر هر نمونه‌ای که لایه فیلم مانند ملاس وجود دارد، اینورت قابل ملاحظه‌ای نیز دیده می‌شود (Asadi, 2007).

خاکستر در واقع تشکیل شده است از مواد معدنی که در بین آنها سدیم و پتاسیم بیشترین مقدار را تشکیل می‌دهند. این مواد تمام مراحل فرایند را طی کرده و در نهایت در پسآب نهایی کارخانه یعنی ملاس جمع می‌شوند (Asadi, 2007).

وقتی پخت I داخل سانتریفوژ تخلیه می‌شود لایه ملاسی که روی کریستال شکر سفید را پوشانده است بوسیله آب کندانس شسته می‌شود و به این ترتیب ناخلصی‌های معدنی از کریستال شکر جدا می‌گردد (Rein, 2007).

در رابطه با شکر بدون کلرساژ عمل شستشو با آب کندانس انجام نمی‌گیرد و به این ترتیب ناخالصی‌های معدنی همراه کریستال باقی می‌ماند. در رابطه با شکر پخت II وقتی پخت داخل رفریژرانت تخلیه می‌شود برای جلوگیری از افزایش ویسکوزیته، آب کندانس اضافه می‌شود و بعد سانتریفوژ می گردد. علیرغم اینکه لایه‌ای از ملاس بر روی کریستال باقی می‌ماند ولی قسمت بیشتر ناخالصی به پخت III منتقل می‌گردد. در رفریژرانت پخت III نیز آب کندانس اضافه می‌گردد و سپس سانتریفوژ می‌شود. قسمتی از ناخالصی همراه لایه ملاس بر روی کریستال باقی مانده و مابقی وارد ملاس می‌شود. با توجه به دلایل ذکر شده در شکر سفید کمترین خاکستر و در تیمارهای شکر پخت II، شکر پخت III و شکر بدون کلرساژ بیشترین خاکستر را مشاهده می‌کنیم (Asadi, 2007).

عامل عمده ایجاد رنگ در تولید شکر از چغندر قند حرارت می‌باشد، که در این رابطه مواد رنگی به دو دسته تقسیم می‌شوند. در ابتدا مواد رنگی هستند که در حرارت پائین و در اثر اکسیداسیون ایجاد می‌شوند، مانند اکسیداسیون تیروزین که منجر به تولید ملانین می‌شود. این رنگ دانه در مرحله خالص سازی حذف می‌شود (Asadi, 2007).

در حرارت بالا مواد رنگی در اثر پدیده میلارد ایجاد می‌شوند که در آن اسیدهای آمینه با قندهای احیا کننده واکنش داده و ماده رنگی ملانوئیدین را تولید می‌کنند. این رنگدانه نیز در مرحله خالص‌سازی حذف می‌شود ولی در مراحل بعدی مانند اواپراسیون و کریستالیزاسیون بدلیل وجود حرارت، مجدد تولید می شود. عملیات کلر ساژ با هدف کاهش رنگ انجام می شود بنابر این در شکر سفید یا تیمار ۱ کاهش رنگ را مشاهده می‌کنیم. در پخت II و پخت III بدلیل افزایش زمان حرارت دهی، افزایش رنگ را مشاهده می‌کنیم. در شکر بدون کلرساژ نیز عدم انجام عملیات کلرساژ که هدف آن کاهش رنگ است، باعث افزایش رنگ می‌شود (Asadi, 2007).

در رابطه با آزمون pH بررسی نتایج آزمون pH نشان می دهد که بین تیمار ها تفاوت معنی دار وجود ندارد زیرا فر آورده‌های شکر باید pH در حدود خنثی داشته باشند در غیر اینصورت pH اسیدی منجر به شکل‌گیری اینورت می‌شود و pH بازی بالا منجر به واکنش میلارد می‌شود که هیچ کدام از این موارد در تولید شکر مناسب نمی‌باشد (Rein, 2007).

در رابطه با آلودگی باکتری‌های مزوفیل چون استانداردی در این زمینه وجود ندارد، نمی‌توان آن را مقایسه کرد. با توجه به نتایج آزمون میکروبی به نظر می‌رسد که یک فرایند حرارتی، بهداشتی مناسب برای از بین بردن این معضل در رابطه با شکرهای بدون کلرساژ و پخت II و پخت III ضروری است.

بررسی نتایج آزمون تعیین مقدار پلی‌فنل در سال اول در شکرها نشان می‌دهد که بین تیمارهای شکر تفاوت معنی‌دار وجود دارد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که حجم قابل توجهی از مواد رنگی و پیش‌سازهای مواد رنگی،

در یک لایه از ملاس که اطراف کریستال شکر را پوشانده است و فیلم نامیده می‌شود، وجود دارد این لایه حاوی ترکیبات فنلی است که تحقیقات Godshall و همکاران این فرض را تأیید می کند.

از مجموع این دلایل متوجه می‌شویم که باید شکر پخت III بیشترین میزان مواد فنلی و شکر سفید کمترین میزان را داشته باشد. دلایل ذکر شده نتایج این مطالعه را تأیید می‌کند.

نتایج آزمایشات در سال دوم با در نظر گرفتن فاکتور زمان، نشان می‌دهد که علیرغم حفظ روند موجود در سال اول میزان ترکیبات فنلی و رنگ دستخوش تغییرات قابل توجهی شده است. میزان رنگ در نمونه‌های شکر بدون کلرساژ، شکر پختII و شکر پخت III کاهش یافته است و میزان ترکیبات فنلی چند برابر سال اول افزایش یافته که بدلیل تجزیه و تغییر در ساختار ملانوئیدین می‌باشد. در نمونه شکر سفید میزان ترکیبات فنلی به صفر رسیده است و میزان رنگ افزایش یافته است.

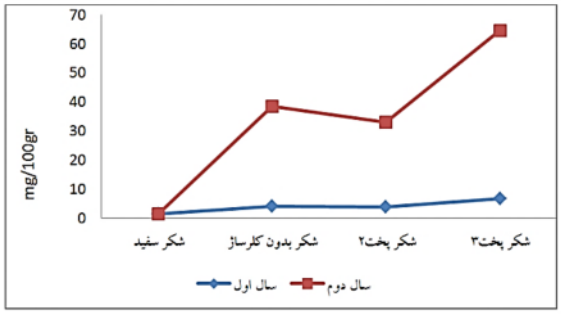
pH در سال اول در محدوده خنثی بوده و در سال دوم نیز این روند تقریباً مشاهده می‌شود با این تفاوت که در نمونه شکر سفید میزان pH کاهش یافته و با نمونه‌های دیگر در سطح ۹۹ درصد ($p<0.01$) تفاوت معنی‌دار دارد و در نمونه شکر بدون کلرساژ افزایش دیده می‌شود ولی تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های شکر پخت II و شکر پخت III دیده نمی‌شود. آلودگی باکتری‌های مزوفیل در سه نمونه شکر بدون کلرساژ، شکر پخت II و شکر پخت III در سال اول مشاهده گردیده است.

رنگ موجود در نمونه‌های شکر همانطور که اشاره شد به دلیل وجود ملانوئیدین می‌باشد که محصول نهایی فرایند میلارد است. ملانوئیدین وزن مولکولی بالا داشته و پیش‌ساز آن ترکیبات فنلی است که این ترکیبات در حین شکل‌گیری ملانوئیدین کندانس شده و در ساختار آن قرار می‌گیرد (Bradzynski *et al*., 2011; Godshall *et al*., 1991).

بر اساس مطالعات انجام شده، باکتری‌های مزوفیل (گونه‌هایی از باسیلوس) قدرت رنگبری از نمونه های حاوی ملانوئیدین را دارند (Naike *et al*., 2010). این کاهش رنگ که بدلیل تغییر در ساختار ملانوئیدین می‌باشد که تحت شرایط خاص صورت می‌گیرد. عوامل مؤثر بر این فرایند، pH، حرارت ،میزان و نوع قند یا منبع کربن، زمان و میزان ملانوئیدین موجود در نمونه می‌باشد. عوامل بازدارنده مانند ترکیبات نیتروژنه زیاد علاوه بر خود ملانوئیدین می‌تواند باعث کاهش فرایند رنگبری شود (Chandra *et al*., 2007; Ojijo *et al*., 2010; Santal *et al*., 2013; Naik, 2007).

مطالعات نشان می دهند که برای رنگبری ملانوئیدین باید شرایط اپتیمال وجود داشته باشد تا بیشترین میزان رنگبری مشاهده گردد. این شرایط شامل: pH خنثی در حدود ۷/۵-۷/۲ و حرارت محیط در حدود ۳۷-۲۰ درجه که مناسب ترین حرارت با توجه به نوع میکرواورگانیسم، ۳۰-۲۵ درجه می‌باشد. نوع منبع کربنی موجود از اهمیت برخوردار می‌باشد که گلوکز، فروکتوز و ساکاروز بیشترین تأثیر را دارا می‌باشند. افزایش زمان می‌تواند تخریب ساختار ملانوئیدین و کاهش رنگ را افزایش دهد (Ojijo *et al*., 2010; Chandra *et al*., 2007; Naik, 2007; Chavan *et al*., 2006).

تحقیقات انجام شده نشان می‌دهند که از بین رفتن رنگ ملانوئیدین بدلیل تغییر در ساختار ملانوئیدین و شکسته شدن باندهای C=C و C=N می‌باشد و این تغییر و شکسته شدن ساختار منجر به تولید ترکیبات اولیه که مونومرها و یا دیمرهای پایه می‌باشند می‌گردد. همچنین نتایج این تحقیقات اذعان دارد که در طی این تخریب ساختاری ترکیبات حاوی گروه هیدروکسیل بالاخص پیش سازهای ملانوئیدین که همان ترکیبات فنلی هستند بوجود می‌آیند و آزمایشات اسپکتروفتومتری انجام شده بر روی نمونه‌ها پس از رنگبری، این فرضیه را تأیید می‌کند (moriera *et al*., 2012; Naike *et al*., 2010).



نمودار ۱-تغییرات میزان ترکیبات فنلی در طی نگهداری

از مجموعه نتایج حاصل از این مطالعه و تحقیقات به عمل آمده پیشین به نظر می رسد که حضور باکتری‌های

مزوفیل در نمونه‌های شکر بدون کلرساژ، شکر پخت II و شکر پخت III، علیرغم افزایش با گذر زمان منجر به تغییرات مطلوبی در زمینه تجزیه و تغییر در ساختار ملانوئیدین و آزادسازی ترکیبات فنلی از ساختار ملانوئیدین شده است. لذا به نظر می‌رسد اندازه‌گیری کمی و کیفی فعالیت باکتری‌های مزوفیل با هدف مطلوب کاهش رنگ بواسطه تغییر در ساختار ملانوئیدینو افزایش میزان ترکیبات فنلی از اصلی‌ترین دستاوردهای اولیه این تحقیق بوده که می‌تواند در پژوهش‌های آینده مد نظر قرار گیرد.

از مجموعه نتایج حاصل از این مطالعه و تحقیقات به عمل آمده پیشین به نظر می‌رسد که حضور باکتری‌های مزوفیل در نمونه‌های شکر بدون کلرساژ،شکر پخت II و شکر پخت III، علیرغم افزایش با گذر زمان منجر به تغییرات مطلوبی در زمینه تجزیه و تغییر در ساختار ملانوئیدین و آزادسازی ترکیبات فنلی از ساختار ملانوئیدین شده است. لذا به نظر می‌رسد اندازه‌گیری کمی وکیفی فعالیت باکتری‌های مزوفیل با هدف مطلوب کاهش رنگ بواسطه تغییر در ساختار ملانوئیدینو افزایش میزان ترکیبات فنلی از اصلی‌ترین دستاوردهای اولیه این تحقیق بوده که می‌تواند در پژوهش های آینده مد نظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در حال حاضر تنها محصول قابل عرضه جهت مصرف در صنایع مختلف غذایی شکر سفید می‌باشد، که با اعمال عملیات مختلف نسبت به سفید کردن آن اقدام می‌شود و از نظر فرهنگی، مصرف کنندگان این امر را نشانه کیفیت مطلوب می‌دانند. حال آنکه بعضا با استفاده از روش‌های نامطلوب، از جنبه‌های تغذیه‌ای، این امر صورت می‌گیرد، که صرف وقت و هزینه نیز مزید بر آن می‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که با استفاده از شکر پخت II و شکر پخت III و شکر سفید بدون کلرساژ می‌توان از پدیده حذف مواد مغذی جلوگیری کرده و محصولی تولید نمود که مواد غذایی و دارویی مفید موجود در ماده اولیه، در آن حفظ شده باشد. پیشنهاد می‌گردد در پژوهش‌های آینده نوع ترکیبات فنلی به تفصیل تعیین گردد.

در این تحقیق با توجه به آنکه محصولات شکر تولیدی در فرآیند کریستالیزاسیون در حال حاضر محصولات تمام شده‌ای نمی‌باشند، لذا ضروری است جهت فرآیند تکمیلی تحت شرایط کنترل شده، از جمله تعیین نوع میکروارگانیسم‌های موجود و تبدیل به محصول تمام شده و نهایی، برخی عملیات اصلاحی از جمله بهداشتی نمودن و خشک نمودن بر روی آن بررسی و آزمایش شود تا بتوان به محصولی با ارزش تغذیه‌ای و اقتصادی مناسب دست یافت.

منابع

Akowuah, G. A., Mariam, A. & Chin, J. H. (2009). The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of Gynura procumbeans leaf, Phamacognosy Magazine, Vol 17, pages 81-85.

Asadi, M. (2007). Beet-Sugar Handbook, Wiley-Interscience, A John Wiley & Sons, Inc, Publication.

Bradzynski, K. & Mioto, D. (2011). Honey Melanoidins: Analysis of the Compositions of the High Molecular Weight Melanoidins Exhibiting Radical-Scavenging Activity, Journal of Food Chemistry.

Chandra, R., Naresh, B. R. & Vibhuti, R. (2007). Melanoidins as Major Colourant in Sugar Cane Molasses Based Distillery Effluent and its Degradation, Journal of Bioresource Technology, pages: 4648-4660.

Chavan, M. N., Kulkarni, M. N., Zope, V. P. & Mahulikar, P. P. (2006). Microbial Degradation of Melanoidins in Distillery Spent Wash by an Indigenous Isolate, Indian Journal of Biotechnology, vol: 5, pages: 416-424.

Finot, P. A., Aeschbacher, H. U., Hurrell, R. F. & Liardon, R. (1990). The Mailard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Phisilogy, pages 361-366.

Frranzzano, G., Amato, I., Ingenito, A., Armando, Z., Gabriele, P. & Antonio, P. (2011). Plant PolypHones and Their Anti-Cariogenic Properties, Journal of Molecules, pages 1486-1507.

Gharras, H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties, and applications, International of Food Science and Technology, pages 2512-2518.

Godshal, M. A., Clarke, M. A. & Doodley, C. D. (1991). Progress In Beet Sugar Colorant Research, Sugar Processing Research Institute, New Orleans.

ICUMSA Methods Book and ICUMSA Ssupplements, 2009, Bartens Publishing.

Manach, C., Gary, W., Christine, M., Scalbert, A. & Remesy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in Humans, American Journal of Clinical Nutrition, pages 230-242.

Moreira, A., Nunes, F., Domingues, M., Rosario, L. & Coimbra Manuel, A. (2012). Coffee Melanoidins: Structures, Mechanisms of Formation and Potential Health Impacts, Royal Society of Chemistry Journal, DOI:10-1039/c2fo30048f.

Naik Nagaraj, M. (2007). Decolourization of Biomethanated Spent Wash by Native Microorganisms, Doctor and Philosophy Thesis, University of Agricultural Sciences, AHARWAD, India.

Naik, N., Jagadeesh, K. S. & Noolvi, M. N. (2010). Enhanced Degradation of Melanoidin and Caramel in Bioethanated Distillery Spent Wash by Microorganisms Isolated from Mangroves, Iranica Journal of Energy and Environment, 1(4):347-351, ISSN 2079-2115.

Nayaka, N. A., Harish, V., Sathisha, U. V., Chandrashekar, K. B. & Dharmesh Shylaja, M. (2008). Cytoprotective and antioxidant activity studies of jiggery sugar, Department Of Biochemistry and Nutrition, Central Food Technological Research Institute, India.

Ojijo, V. O., Onyango, M. S., Ochieng, A. & Otieno, F. A. O. (2010). Decolourization of Melanoidin Containing Waste Water Using South African Coal Fly Ash, International Journal of Civiland Environmental Engineering 2:1.

Rani Santal, A. & Pal Singh, N. (2013). Biodegradation of Hazardous and Special Products, chapter 5: Biodegradation of Melanoidin from Distillery Effluent, Role of Microbes and their Potential Enzymes, pages71-104.

Rein, P. (2007). Cane Sugar Engineering, Barthens Publishing.

Singleton, V. L. & Orthoferd, R. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, Methods in Enzymology, pages 152-177.

Singleton, V. L. & Rossi, J. (1965). Colorimetry of Total phenol with Phosphomolibidic-Phosphotungstic Acid Reagent, American Journal of Enology and Viticulture, pages 144-158.