

Original article

Comparative Evaluation of Major Carbohydrates in Classic and Flavored Non-Alcoholic Beers by High Performance Liquid Chromatography and Refractive Index Detection: A Post-Market Surveillance

Behrouz Akbari-Adergani^{1*}Simin Naghavi²Faezeh Shirkhan³

- 1- Associate Professor, Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
- 2- MSc in Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran
- 3- Department of Food Science and Technology, Pharmacy Faculty, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Corresponding author: Behrouz Akbari-Adergani, Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Organization, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

Email: analystchemist@yahoo.com

Received: 10 October 2018

Accepted: 06 December 2018

ABSTRACT

Introduction and purpose: Non-alcoholic beer is a product that is made of mixing malt or malt extract, water, hops, carbon dioxide, and permitted additives with or without sweetener. In this regard, the present study aimed to compare and evaluate major carbohydrates in classic and flavored non-alcoholic beers using high-performance liquid chromatography and refractive index detection.

Methods: In this study, 45 non-alcoholic beer samples, including 15 simple classic, 15 lemon flavored, and 15 apple flavored samples were randomly collected and examined in a post-market surveillance program in Tehran in 2016.

Results: The mean scores of the concentration of fructose, glucose, sucrose, and maltose were reported as 216.43, 116.28, 0.0, and 104.47 mg/100 ml in the classic group and 266.46, 348.97, 0.0, and 116.02 mg/100 ml in the flavored group, respectively. The mean scores of the total concentration of carbohydrates in all of the five investigated brands were 145.5 and 243.84 mg/100 ml for the classic and flavored groups, respectively. This result showed a lower concentration of simple carbohydrates in classic non-alcoholic beers, compared to that of the flavored ones. The results of statistical analyses revealed that there was no significant difference between the mean scores of maltose concentration, as a major carbohydrate, in the classic and flavored malt products ($P>0.05$).

Conclusion: There was a significant difference in the mean scores of glucose concentration between the two groups ($P<0.05$). Therefore, the control of simple carbohydrate profile in non-alcoholic beers regarding the nutritional value and health effects, as well as engineering, quality control, and adulteration can be crucial.

Keywords: High-performance liquid chromatography, Non-alcoholic beer, Nutrition and diabetes, Refractive index detection, Simple carbohydrates

► **Citation:** Akbari-Adergani B, Naghavi S, Shirkhan F. Comparative Evaluation of Major Carbohydrates in Classic and Flavored Non-Alcoholic Beers by High Performance Liquid Chromatography and Refractive Index Detection: A Post-Market Surveillance. Journal of Health Research in Community. Autumn 2018;4(3): 79-90.

مقاله پژوهشی

ارزیابی مقایسه‌ای کربوهیدرات‌های شاخص موجود در ماء‌الشعیر در دو گروه کلاسیک و طعم‌دار به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارسازی ضریب شکست: پایش سطح عرضه

چکیده

بهروز اکبری آدرگانی^{۱*}
سیمین نقوی^۲
فائزه شیرخان^۳

مقدمه و هدف: ماء‌الشعیر فرآورده‌ای است که از اختلاط مالت یا عصاره آن، آب، رازک، گاز کربنیک و مواد افزودنی معجاز با شیرین کننده و یا بدون آن تهیه می‌شود. در این راستا، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی مقایسه‌ای کربوهیدرات‌های شاخص موجود در ماء‌الشعیر در دو گروه کلاسیک و طعم‌دار به روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا و آشکارسازی ضریب شکست انجام شد.

روش کار: در این مطالعه ۴۵ نمونه ماء‌الشعیر شامل: ۱۵ نمونه کلاسیک، ۱۵ نمونه با طعم لیمو و ۱۵ نمونه با طعم سیب در تابستان سال ۱۳۹۵ از سطح عرضه در شهر تهران به‌طور تصادفی جمع‌آوری شدند و مورد آزمایش و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج میانگین غلظت فروکتوز، گلوکز، سوکروز و مالتوز در گروه کلاسیک به ترتیب ۲۱۶/۴۳، ۱۱۶/۲۸، ۰/۰ و ۱۰۴/۴۷ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر و در گروه طعم‌دار به ترتیب ۲۶۶/۴۶، ۳۴۸/۹۷، ۰/۰ و ۱۱۶/۰۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. میانگین غلظت کل کربوهیدرات‌های مورد مطالعه نیز در پنج برند در گروه کلاسیک ۱۴۵/۵۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر و در گروه طعم‌دار ۲۴۳/۸۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر به‌دست آمد که نشان‌دهنده میزان قندهای ساده کمتر در ماء‌الشعیر کلاسیک می‌باشد. از سوی دیگر، نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس نشان دادند که میانگین غلظت مالتوز به‌عنوان قند شاخص در فرآورده مالت در گروه‌های طعم‌دار و کلاسیک تفاوت معناداری وجود ندارد ($P > 0/05$) و در عین حال میانگین غلظت گلوکز در این دو گروه از فرآورده‌های مالت، اختلاف کاملاً معناداری دارند ($P < 0/05$).
نتیجه‌گیری: کنترل پروفایل قندهای ساده در فرآورده‌های ماء‌الشعیر هم از نظر ارزش تغذیه‌ای و آثار سلامت‌محور آن و هم از نظر مهندسی، کنترل کیفی و تقلبات آن حائز اهمیت می‌باشد.

کلمات کلیدی: آشکارسازی ضریب شکست، تغذیه و دیابت، کربوهیدرات‌های ساده، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، ماء‌الشعیر

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران
۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: بهروز اکبری آدرگانی، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

Email: analystchemist@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۵

◀ **استناد:** اکبری آدرگانی، بهروز؛ نقوی، سیمین؛ شیرخان، فائزه. ارزیابی مقایسه‌ای کربوهیدرات‌های شاخص موجود در ماء‌الشعیر در دو گروه کلاسیک و طعم‌دار به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارسازی ضریب شکست: پایش سطح عرضه. مجله تحقیقات سلامت در جامعه، پاییز ۱۳۹۷؛ ۴(۳): ۹۰-۷۹.

مقدمه

امروزه همگام با افزایش سطح آگاهی تغذیه‌ای مصرف‌کنندگان مواد غذایی، ارزش و اهمیت نوشیدنی‌های

ساخته شده بر اساس مواد طبیعی در مقابل نوشیدنی‌های ساخته شده از مواد سنتزی روز به روز مشخص تر شده است. این موضوع سبب شده است تا گرایش به مصرف نوشیدنی‌های طبیعی از جمله نوشیدنی‌های مالت در قالب انواع ماء‌الشعیرهای کلاسیک و طعم‌دار و استفاده از آن در رژیم غذایی روزانه افراد افزایش یابد [۱].

در ایران ماء‌الشعیر به‌طور عمده از اختلاط مالت یا عصاره آن، آب، رازک، گاز کربنیک و مواد افزودنی مجاز با شیرین کننده و یا بدون آن تهیه می‌شود و دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی می‌باشد [۲،۳]. تولید ماء‌الشعیر با عصاره‌گیری گرم از مالت صورت می‌گیرد که ۹۰ تا ۹۲ درصد از ترکیبات عصاره، کربوهیدرات‌های محلول استحصال شده می‌باشد [۴]. ترکیب کربوهیدرات‌ها در ماء‌الشعیر طعم‌دار و کلاسیک با یکدیگر متفاوت است؛ زیرا در ماء‌الشعیر کلاسیک، کربوهیدرات‌های تولید شده حاصل از تخمیر مالت هستند و منشاء طبیعی دارند؛ اما ماء‌الشعیرهای طعم‌دار معمولاً فرمولاسیونی حاصل از ترکیب انواع قندها و طعم‌دهنده‌ها می‌باشند. از جمله مخاطرات ناشی از مصرف نوشیدنی‌های حاوی طعم‌دهنده‌های مصنوعی، وجود قند فراوان در آن است که خطر ابتلا به بیماری دیابت نوع دو را تشدید می‌کند؛ به‌طوری که امروزه مصرف نوشیدنی‌های شیرین شده با شکر (SSBs: Sugar Sweetened Beverages) با توسعه سندرم متابولیک و دیابت نوع دو در ارتباط می‌باشد [۵،۶].

تنوع گسترده کربوهیدرات‌ها در این محصولات منجر به توسعه تکنیک‌های متعددی برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌ها شده است. در این راستا، روش‌های کروماتوگرافی به‌طور موفقیت آمیزی برای ارزیابی صحیح نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷،۸]. در این بین، آشکارسازی ضریب شکست به دلیل قیمت ارزان، عدم نیاز به نگهداری پرهزینه، عمر طولانی، دقت و انتخاب‌گری مناسب برای تعیین مقدار کربوهیدرات‌ها گزینه مناسب‌تری می‌باشد؛ اما از آنجایی که کربوهیدرات‌ها دارای خواص شیمیایی و فیزیکی مشابهی هستند، تجزیه و تفکیک آن‌ها از سایر ترکیبات سخت‌تر می‌باشد که این امر به دلیل غلظت

بالای آن‌ها در ماء‌الشعیر اهمیت بیشتری دارد [۹،۱۰].

در زمینه سنجش کربوهیدرات در نوشیدنی‌های مالت، Floridi و همکاران (۲۰۰۱) به مطالعه و اندازه‌گیری کربوهیدرات‌ها در ورت و آبجو به روش کروماتوگرافی مایع پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که حدود ۲۹ درصد از کربوهیدرات‌های موجود در نوشیدنی الکلی از نوع قندهای تخمیری می‌باشد [۱۱]. در پژوهشی دیگر Bamforth و همکاران (۲۰۰۵) محتوای کربوهیدراتی نوشیدنی الکلی را بررسی کردند. نتایج پژوهش آن‌ها حاکی از آن بود که میزان کل کربوهیدرات‌های موجود در نوشیدنی در هر سروینگ (Serving) دارای حدود ۱۰ الی ۲۰ گرم کربوهیدرات می‌باشد [۱۲]. علاوه بر این، Ferreira و Martins (۲۰۰۷) به بررسی مقدار کربوهیدرات‌ها در نوشیدنی آبجو پرداختند که بر مبنای نتایج، میانگین غلظت کربوهیدرات‌ها در نمونه‌های مورد مطالعه به ترتیب فروکتوز ۲/۴۶ گرم بر لیتر، گلوکز ۵/۶۰ گرم بر لیتر و مالتوز ۴۴/۱۳ گرم بر لیتر بود [۱۳]. Jurkova و همکاران (۲۰۱۴) نیز به تعیین درصد مجموع کربوهیدرات‌ها در آبجو با استفاده از کروماتوگرافی مایع پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت گلوکز در نمونه الکلی تنها ۳/۴۳ گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر بود؛ در حالی که در نمونه غیرالکلی، این میزان معادل ۳/۸۲ گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر به دست آمده بود [۱۴]. با توجه به گرایش مردم به استفاده از نوشیدنی‌های بر پایه مالت که در قالب افزایش سرانه مصرف انواع فرآورده‌های آن مشهود است و نیز امکان ایجاد تغییر در ماهیت طبیعی نوشیدنی‌های بر پایه مالت توسط برخی از افراد سودجو از سوی دیگر به نظر می‌رسد که انجام مطالعه میدانی در این زمینه و انطباق نتایج آن با مستندات علمی می‌تواند در جهت ارتقای سلامت عمومی و ایجاد اطمینان در مصرف کنندگان مؤثر باشد. به‌طور کلی، پایش سلامت و ایمنی فرآورده‌های غذایی پس از تولید و در سطح عرضه، بخش مهمی از کنترل زنجیره سلامت غذایی را تشکیل می‌دهد. این بخش از کنترل غذا، سهم مهمی در سیاست‌های پایش غذا دارد که در حفظ سلامت جامعه و اطمینان

مصرف‌کننده از ایمنی فرآورده غذایی بسیار مهم می‌باشد. در مطالعات قبلی گزارش شده توسط اعضای این گروه تحقیقاتی، نتایج پایش در سطح عرضه برای کنترل برخی از فرآورده‌های غذایی مانند فلزات سنگین در عسل، هیستامین در کنسرو ماهی، برخی از افزودنی‌های شیمیایی در آب میوه و برخی نگهدارنده‌های شیمیایی در دوغ در قالب یک برنامه ارتقای ایمنی و سلامت غذا مورد توجه قرار گرفته است [۱۵-۱۸]. بررسی‌ها نشان می‌دهند که کنترل فرآورده‌های مالت در سطح عرضه از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد. تقلب در نوشیدنی‌های بر پایه مالت به دلیل محتوای بالای کربوهیدرات می‌تواند به صورت استفاده از منابع ارزان‌تر قند، نشاسته و یا افزودن قندهای دیگر به این نوشیدنی‌ها رخ دهد [۱۹]. در این راستا، به کارگیری روش‌های آنالیز همزمان و روش‌های سریع و مقرون به صرفه برای تعیین میزان کربوهیدرات‌ها و مطابقت محتوا با برجسب بسته‌بندی محصول از اهمیت خاصی برخوردار است [۸]. از آنجایی که کربوهیدرات‌ها نور ماوراء بنفش، مرئی و فلورسانس را جذب نکرده و یا بسیار کم جذب می‌نمایند، روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا صرفاً با آشکارساز ضریب شکست می‌تواند به طور مستقیم در زمینه کنترل این ترکیبات سودمند باشد [۲۰، ۱۰]. تاکنون مطالعات مختلفی در جهت سنجش کربوهیدرات در مواد خوراکی مانند ملاس، عصاره مالت، آبجو، شیر، توت، سبزیجات، غذای کودک، آبمیوه، گیاهان و سایر مواد خوراکی انجام شده است [۲۷-۲۰، ۱۰]. در این راستا، هدف از پژوهش حاضر ارزیابی مقایسه‌ای کربوهیدرات‌های شاخص موجود در ماء‌الشعیر در دو گروه کلاسیک و طعم‌دار به روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا و آشکارسازی ضریب شکست می‌باشد. در این مطالعه برای اولین بار از روش کروماتوگرافی مایع و آشکارسازی ضریب شکست به طور مقایسه‌ای جهت شناسایی و تعیین میزان کربوهیدرات‌های شاخص موجود در انواع ماء‌الشعیر طعم‌دار و کلاسیک در قالب یک طرح در مراکز عرضه مواد غذایی به منظور

کمک به تشخیص ماهیت طبیعی و کشف احتمال وجود هرگونه تقلب در فرآورده تولیدی استفاده شده است.

روش کار

در پژوهش حاضر از پرمصرف‌ترین نمونه‌های ماء‌الشعیر تولیدشده در داخل کشور از پنج برند مختلف موجود از انواع کلاسیک و طعم‌دار (لیمو و سیب) استفاده گردید و نمونه‌ها به طور تصادفی از سطح عرضه در مراکز عمده توزیع مواد غذایی در شهر تهران در تابستان سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مورد آزمون شامل: ۱۵ نمونه کلاسیک و ۳۰ نمونه طعم‌دار (طعم سیب و لیمو) بودند که هر یک از نظر ماهیت و مقدار کربوهیدرات‌های شاخص مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمون جهت حفظ پایداری در آزمایشگاهی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. شایان ذکر است که محلول‌های استاندارد (سوکروز، گلوکز، فروکتوز و مالتوز) با خلوص بیش از ۹۹/۵ درصد از شرکت سیگمای آمریکا خریداری شدند. علاوه بر این، از استونیتریل و آب یون‌زدایی شده با درجه خلوص HPLC (High-performance Liquid Chromatography) (شرکت Merck آلمان) به عنوان حلال کروماتوگرافی مایع استفاده گردید. نمونه‌های ماء‌الشعیر پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا در حمام اولتراسونیک (Fritsch، ساخت آلمان) به مدت ۱۵ دقیقه گاززدایی شدند و پس از خارج شدن گاز با استفاده از دستگاه pH متر مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس به نسبت ۱:۲ در حلال استونیتریل رقیق شدند و از طریق یک فیلتر سرسرنگی با قطر منافذ ۰/۲ میکرومتر تحت فیلتراسیون قرار گرفتند. در نهایت، نمونه‌ها تا زمان آزمون در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای ساخت محلول‌های استاندارد فروکتوز، گلوکز، سوکروز و مالتوز، ۰/۰۵ گرم از هر یک از استانداردها به دقت توزین گردیدند و در بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شده و

استاندارد ملی ایران اختلاف معناداری داشت ($P > 0.05$).

نتایج کیفیت فروکتوز، گلوکز، سوکروز و مالتوز

جهت تعیین کیفی کربوهیدرات‌های شاخص موجود در نمونه‌های ماء‌الشعیر، به‌طور جداگانه محلول‌های استاندارد ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر از فروکتوز، گلوکز، سوکروز و مالتوز تهیه شد و برای تعیین زمان بازداری و مقایسه پیک هر یک از کربوهیدرات‌ها با پیک متناظر آن در کروماتوگرام نمونه به سامانه کروماتوگرافی تزریق گردید. همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، کروماتوگرام‌های مربوط به آنالیز محلول استاندارد هر یک از کربوهیدرات‌ها در سامانه کروماتوگرافی به‌ترتیب مربوط به فروکتوز، گلوکز، سوکروز و مالتوز هستند. با ثبت مقادیر سطح زیر پیک هر یک از این کربوهیدرات‌ها در شکل‌های مربوطه به‌ترتیب مقادیر ۲۴/۷۰۹، ۸/۰۳۳، ۵/۴۰۱ و ۸/۱۲۲ در هر کروماتوگرام ثبت گردید و برای تعیین مقدار هر کربوهیدرات در نمونه مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، زمان‌های ظاهر شدن هر یک از کربوهیدرات‌ها در کروماتوگرام در قالب زمان‌های بازداری ثبت گردید و مشخص شد که زمان بازداری آن‌ها به‌ترتیب ۱۳/۷۱، ۶/۶۸، ۱۰/۵۰ و ۵۱/۷ دقیقه می‌باشد که این مهم برای آنالیز کیفی مورد استفاده قرار گرفت. این نتایج و کروماتوگرام‌های ثبت شده برای نمونه‌ها گویای آن هستند که قسمت عمده کربوهیدرات‌های ثبت شده در این محصول شامل: مونوساکاریدهای گلوکز، فروکتوز، دی‌ساکاریدهای مالتوز و سوکروز می‌باشد.

نتایج کمی فروکتوز، گلوکز، سوکروز و مالتوز

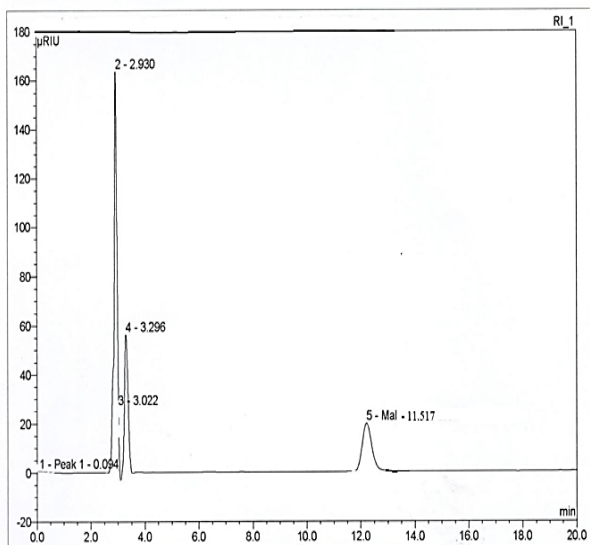
نتایج آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با آشکارسازی ضریب شکست در ۴۵ نمونه ماء‌الشعیر مورد مطالعه شامل: ۱۵ نمونه کلاسیک، ۱۵ نمونه با طعم سیب و ۱۵ نمونه با طعم لیمو از طریق ثبت سطح زیر پیک هر یک از کربوهیدرات‌ها در نمونه‌های مورد مطالعه و مقایسه آن با مقادیر متناظر آن در کروماتوگرام‌های

با آب مقطر به حجم رسانده شدند. تمامی تجزیه و تحلیل‌های کروماتوگرافی در سامانه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (Waters، ساخت کشور آمریکا) و آشکارساز ضریب شکست (Shodex، ساخت کشور ژاپن) با استفاده از یک پمپ فشار بالای مجهز به مخزن هواگیری انجام شدند. جداسازی بر روی یک ستون بر پایه سیلیکا آمینی به ابعاد $150 \times 4/6$ میلی‌متر (Agilent، ساخت کشور آمریکا) در دمای محیط صورت گرفت. جهت تهیه فاز متحرک نیز از محلول آب و استونیتریل با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. علاوه بر این، شناسایی کربوهیدرات‌های شاخص در نمونه‌ها از مقایسه و تطبیق زمان بازداری پیک محلول کربوهیدرات استاندارد در کروماتوگرام با پیک مربوط به نمونه صورت گرفت. جمع‌آوری و پردازش داده‌های کروماتوگرافی نیز توسط نرم‌افزار Millennium 2.5 انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار Excel و جهت آزمون آماری از نرم‌افزار SPSS 20 استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل نتایج نیز آمار توصیفی و استنباطی مورد استفاده قرار گرفت و برای بررسی نتایج از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) بهره گرفته شد.

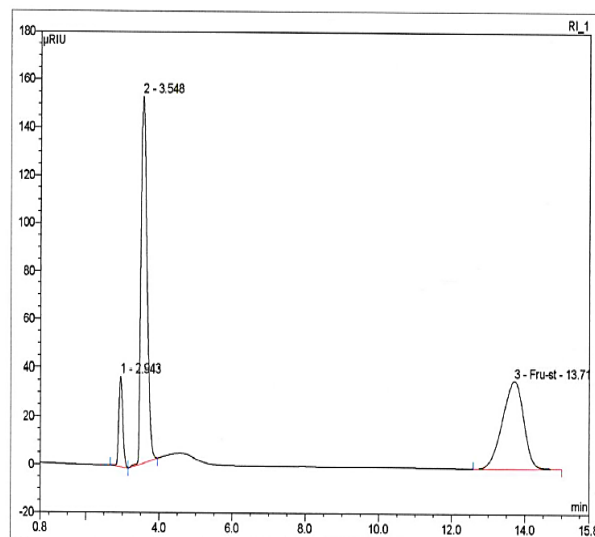
یافته‌ها

نتایج اندازه‌گیری pH

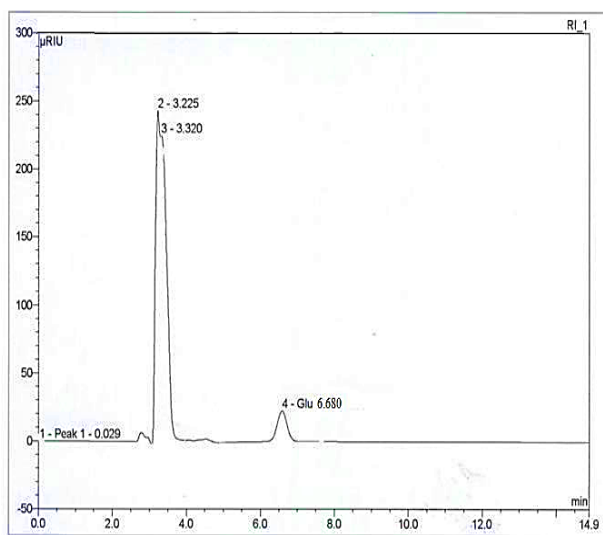
در پژوهش حاضر میانگین pH اندازه‌گیری شده در نمونه‌های ماء‌الشعیر مورد مطالعه قرار گرفت. میانگین pH در انواع کلاسیک، لیمو و سیب به‌ترتیب معادل ۴/۲۰، ۳/۳۱ و ۳/۳۷ محاسبه شد. در مورد اندازه‌گیری pH از نظر دامنه تغییرات، این مقادیر میانگین در دامنه ۳/۳۱-۴/۲۰ قرار داشتند. لازم به ذکر است که مطابق با ضوابط استاندارد ملی ایران، میزان pH ماء‌الشعیر باید در دامنه ۳/۶ تا ۴/۵ قرار داشته باشد که نتایج به‌دست آمده در این پژوهش در ارتباط با میزان pH در ماء‌الشعیر با طعم سیب و لیمو با ضوابط



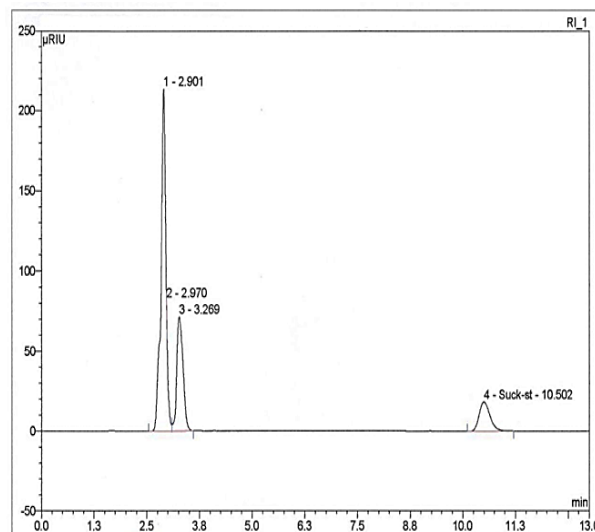
الف



ج



ب



د

نمودار ۱: کروماتوگرام HPLC-IR مربوط به آنالیز محلول استاندارد برخی از کربوهیدرات‌های ساده
الف. فروکتوز؛ ب. گلوکز؛ ج. سوکروز؛ د. مالتوز

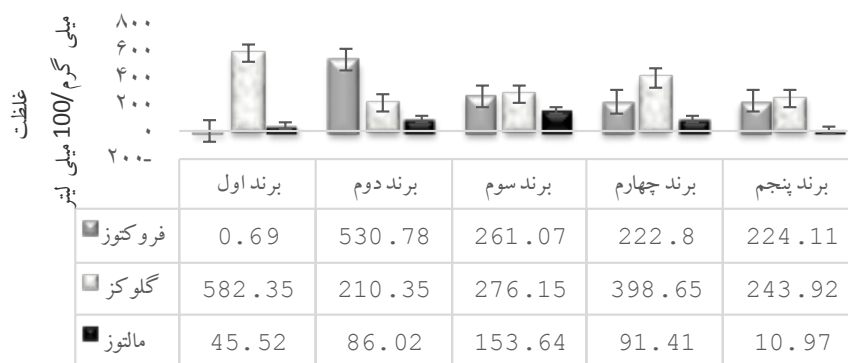
در نمودار ۲ نتایج مقایسه‌ای میانگین غلظت کربوهیدرات‌های فروکتوز، گلوکز و مالتوز در پنج برند رایج ماء‌الشعیر در بازار مصرف در قالب انواع ساده کلاسیک و طعم‌دار لیمو و سیب نشان داده شده است. براساس نتایج آزمون کروماتوگرافی، به جز در

ثبت شده برای محلول‌های استاندارد فروکتوز، گلوکز و مالتوز در جدول ۱ قابل مشاهده می‌باشد. در این جدول علاوه بر ثبت سطح زیر پیک هر یک از کربوهیدرات‌ها، مقادیر میانگین آن‌ها به تفکیک هر برند محاسبه و گزارش شده است.

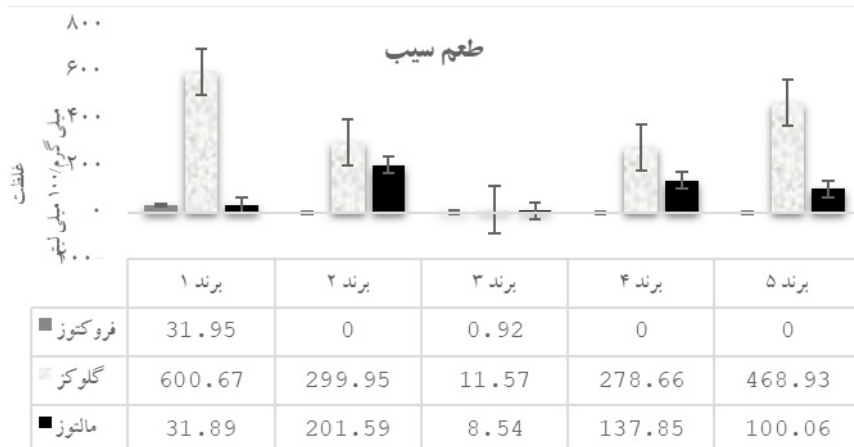
جدول ۱: نتایج سطح زیر منحنی آنالیز گلوکز، مالتوز و فروکتوز در نمونه‌های ماء‌الشعیر

| برند | سطح زیر پیک میانگین گلوکز، مالتوز و فروکتوز ماء‌الشعیر با طعم سيب | | | سطح زیر پیک میانگین گلوکز، مالتوز و فروکتوز ماء‌الشعیر با طعم لیمو | | | سطح زیر پیک میانگین گلوکز، مالتوز و فروکتوز ماء‌الشعیر کلاسیک | | |
|------------|---|----------------|---------------|--|----------------|---------------|---|----------------|---------------|
| | میانگین فروکتوز | میانگین مالتوز | میانگین گلوکز | میانگین فروکتوز | میانگین مالتوز | میانگین گلوکز | میانگین فروکتوز | میانگین مالتوز | میانگین گلوکز |
| برند ۱ | ۲۵/۶۶ | ۸۳/۵۸ | ۹۵۳/۷۳ | ۰/۵۵ | ۱۱۹/۳۰ | ۹۲۴/۵ | ۸۸/۰۲ | ۱۷۵/۵۰ | ۸۷/۴۰ |
| برند ۲ | ۰ | ۵۲۸/۲۸ | ۴۷۶/۲۵ | ۴۲۶/۲۵ | ۲۲۵/۴۵ | ۳۳۳/۹۸ | ۲۱۸/۰۶ | ۶۵/۹۷ | ۱۷۱/۴۲ |
| برند ۳ | ۰/۷۴ | ۲۲/۴۰ | ۱۸/۴۰ | ۲۰۹/۶۵ | ۴۰۲/۶۱ | ۴۳۸/۴۵ | ۴۱/۵۱ | ۲۳/۳۸ | ۶۵/۶۲ |
| برند ۴ | ۰ | ۳۶۲/۲۲ | ۴۴۲/۴۵ | ۱۸۸/۰۰ | ۲۳۹/۵۱ | ۶۳۲/۱۰ | ۰ | ۱۸۳/۰۵ | ۳۵۰/۵۲ |
| برند ۵ | ۰ | ۲۶۲/۲۲ | ۷۴۴/۵۵ | ۱۸۰/۰۰ | ۲۸/۷۵ | ۳۸۷/۳۰ | ۰ | ۴۶۴/۶۳ | ۶۳/۵۶ |
| میانگین کل | ۵/۳۰ | ۲۵۱/۵۴ | ۵۲۷/۰۷ | ۲۰۰/۸۹ | ۲۰۳/۱۲ | ۵۴۳/۴۴ | ۶۹/۵۲ | ۱۸۲/۵۱ | ۱۴۷/۷۰ |

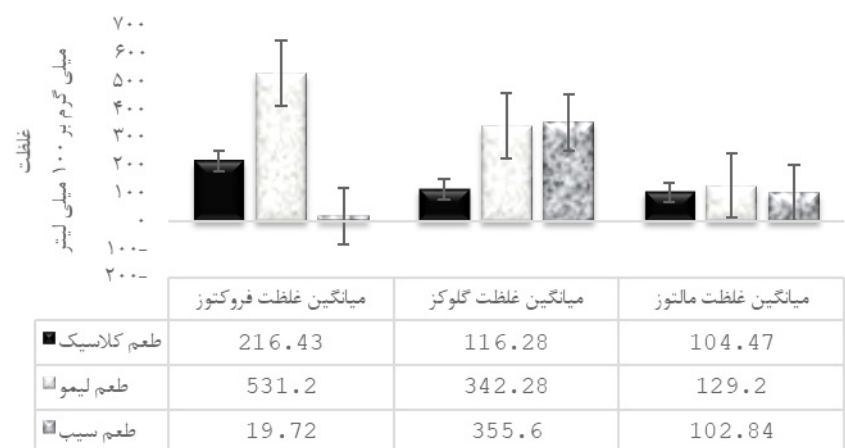
طعم لیمو



طعم سيب



نمودار ۲: غلظت کربوهیدرات‌های موجود در نمونه‌های ماء‌الشعیر با طعم لیمو و سيب (میلی‌گرم/۱۰۰ میلی‌لیتر)



نمودار ۳: میانگین غلظت کربوهیدرات‌های ساده در نمونه‌های طعم‌دار و کلاسیک

از سوی دیگر، نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) برای مقایسه میانگین غلظت کربوهیدرات‌ها در نمونه‌های کلاسیک و طعم‌دار حاکی از آن هستند که بین میانگین غلظت مالتوز به‌عنوان قند شاخص در فرآورده مالت در گروه‌های طعم‌دار و کلاسیک تفاوت معناداری وجود ندارد ($P > 0.05$)؛ اما میانگین غلظت گلوکز در این دو گروه از فرآورده‌های مالت، اختلاف کاملاً معناداری داشتند ($P < 0.05$) که به‌ویژه از نظر مصرف برای گروه دیابتیک، مقدار بالای این قند در نوع طعم‌دار حائز اهمیت می‌باشد. از سوی دیگر، مقایسه میانگین غلظت فروکتوز در این دو گروه نشان می‌دهد که اختلاف بین مقدار آن در دو گروه کلاسیک و طعم‌دار چندان معنادار نبوده و برای تفکیک بین این دو گروه قابل استفاده نمی‌باشد ($P = 0.014$).

بحث و نتیجه‌گیری

مقایسه نتایج pH در پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده توسط Kelebek و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که مقدار میانگین گزارش شده معادل 3.6 ± 0.1 با میانگین pH نوشیدنی ماء‌الشعیر طعم‌دار در این مطالعه همخوانی ندارد [۲۸]. این در حالی است

یکی از نمونه‌های با طعم سیب، تقریباً در تمام نمونه‌ها غلظت سوکروز ناچیز بود؛ از این رو بررسی این کربوهیدرات از روند مطالعه و بررسی حذف گردید. علاوه‌براین، نتایج ارائه‌شده در نمودار ۲ نشان می‌دهند که بیشترین میانگین غلظت فروکتوز در برند ۲ با طعم لیمو و کمترین آن در برند ۱ با طعم لیمو و برندهای ۱، ۲، ۴ و ۵ با طعم سیب و برندهای ۴ و ۵ کلاسیک بوده است. بیشترین میانگین غلظت گلوکز نیز از آن برند ۱ با طعم سیب بود و کمترین آن به برند ۳ با طعم سیب اختصاص داشت. علاوه‌براین، میانگین غلظت مالتوز در برند ۳ در انواع کلاسیک و طعم سیب از کمترین مقدار برخوردار بود؛ اما در مجموع بین میانگین غلظت مالتوز در انواع کلاسیک و طعم‌دار اختلاف معناداری وجود نداشت ($P > 0.05$).

در نمودار ۳ میانگین غلظت کل هریک از کربوهیدرات‌های مورد مطالعه در انواع نمونه‌های ماء‌الشعیر نشان داده شده است. نتایج این بررسی گویای آن هستند که اگرچه اختلاف معناداری بین میانگین غلظت مالتوز در انواع کلاسیک و هریک از طعم‌های سیب و لیمو وجود ندارد؛ اما انحراف استاندارد بالای موجود در دو نوع طعم‌دار حاکی از نوسانات بیشتر در غلظت مالتوز در انواع طعم‌دار می‌باشد.

که ماء‌الشعیر کلاسیک در دامنه منطقی مطابق با استاندارد ملی ایران قرار دارد [۲]. مطابق با نمودار ۲، سهم ناچیز مالتوز در برخی از برندها می‌تواند به دلیل وجود نقص در فرایند تخمیر و تولید مالت و یا تولید این فراورده خارج از مسیر تخمیری و فرموله کردن مصنوعی آن باشد؛ در نتیجه این پروفایل می‌تواند در کشف فرآورده نامنطبق، سودمند واقع گردد [۲۰]. مطابق با نمودار ۳، نمونه‌های کلاسیک با برخورداری از یک انحراف استاندارد اندک حول میانگین از ثبات بیشتری در فرمولاسیون به لحاظ میزان این قند شاخص برخوردار هستند. از سوی دیگر با توجه به اینکه اساس تولید ماء‌الشعیر در صنعت بر پایه فرآورده‌های مالتی می‌باشد که بر اثر جوانه‌زدن جو و عملکرد آنزیم‌های مختلف حاصل می‌شود، انتظار می‌رود که میزان قند مالتوز آن در مقایسه با دو قند فروکتوز و گلوکز بیشتر باشد. در این راستا، نتایج مطالعه Gorinstein و همکاران (۱۹۹۲) نشان داد که گلوکز و فروکتوز، بالاترین میزان را در نمونه مورد مطالعه داشته و به‌عنوان اجزای اصلی نوشیدنی الکلی در نظر گرفته شده‌اند. پس از آن‌ها نیز سوکروز، مالتوز و مالتوترئوز در رده‌های بعدی قرار دارند [۲۹]. این درحالی است که با توجه به اینکه میزان مالتوز و مالتوترئوز که از اجزای قندهای تخمیری در مالت و فرآورده‌های آن هستند و نیز تولید نوشیدنی‌های الکلی از مسیر تخمیر الکل صورت می‌گیرد، انتظار می‌رود که میزان مالتوز در این نوشیدنی‌های الکلی بیشتر باشد. نتایج مطالعه ذکرشده از نظر بالاتر بودن رتبه غلظتی گلوکز و فروکتوز با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی دارد. این درحالی است که در پژوهش Castellari و همکاران (۲۰۰۱) غلظت قابل ملاحظه‌ای از گلوکز و فروکتوز در نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد و غلظت مالتوز به‌عنوان قند اصلی و شاخص در محصول گزارش گردید [۳۰]. از سوی دیگر مطابق با نمودار ۳، مجموع میانگین غلظت کربوهیدرات‌ها به تفکیک در سه نوع مختلف (کلاسیک، لیمویی و سیب) قابل ارزیابی می‌باشد. میانگین غلظت کل کربوهیدرات‌ها (فروکتوز،

گلوکز و مالتوز) در پنج برند مورد بررسی در گروه کلاسیک معادل ۱۴۵/۷۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر و در مجموع دو گروه طعم‌دار معادل ۲۴۶/۸۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر به‌دست آمد. میزان کربوهیدرات‌های گروه طعم‌دار نیز بیشتر از گروه کلاسیک بود. این موضوع نشان می‌دهد که به‌طور کلی در گروه کلاسیک، میزان دریافت قندهای ساده کمتر از انواع طعم‌دار آن است که علت این موضوع را می‌توان به افزودن مصنوعی قندها در فرمولاسیون انواع طعم‌دار نسبت داد. به‌طور کلی با توجه به نتایج پژوهش حاضر و سایر مطالعات گزارش‌شده، سهم ناچیز مالتوز در مقایسه با سایر کربوهیدرات‌های ساده در فرآورده بر پایه مالت حاکی از عدم به‌کارگیری فرایند تخمیر، تخمیر ناقص و استفاده از فرمولاسیون مصنوعی برای تولید ماء‌الشعیر می‌باشد. علاوه‌براین، با توجه به اینکه در این ارزیابی میانگین کل قندهای منوساکارید گلوکز و فروکتوز در نمونه‌های کلاسیک و طعم‌دار تقریباً برابر بودند (گلوکز ۲۳۲/۶۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر و فروکتوز ۲۴۱/۴۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر) و نیز اینکه در اغلب مطالعات نشان داده شده است که از شناسایی مقادیر مختلف کربوهیدرات در نوشیدنی‌های بر پایه غلات، قند غالب در آن‌ها گلوکز تعیین گردیده است؛ از این رو با نظر به اینکه قندهای ساده‌ای چون گلوکز و فروکتوز به‌عنوان شیرین‌کننده بارز این محصولات و نیز منبعی از انرژی که به آسانی در بدن متابولیزه می‌گردند در نظر گرفته می‌شوند، مصرف زیاد این محصولات قابل تأمل می‌باشد. این درحالی است که تلفیق و استفاده از سایر قندهای پیچیده مانند رافینوز موجود در سبزیجاتی چون چغندر قند، اثرات مثبت بسیاری را برای سلامتی افراد همچون پیشگیری از بیماری‌های قلبی، دیابت، چاقی و برخی از بیماری‌های دستگاه گوارش به همراه خواهد داشت [۳۱].

از سوی دیگر، اگرچه از روش کروماتوگرافی به‌عنوان روشی حساس برای تشخیص همزمان انواع کربوهیدرات‌ها در مواد غذایی استفاده می‌شود؛ اما نوع تکنیک به‌کاررفته تأثیر

جدول ۳: مقایسه زمان بازداری پژوهش حاضر با سایر مطالعات در انواع نوشیدنی (بر حسب دقیقه)

| نمونه | روش آنالیز | گلوکز | فروکتوز | سوکروز | مالتوز | منبع |
|------------------|------------|-------|---------|--------|--------|------------|
| نوشیدنی غیرالکلی | HPLC-ELSD | ۶/۰ | ۷/۵۲ | ۱۱/۳۱ | - | [۲۱] |
| آب سیب | HPLC-IR | ۹/۴۲ | ۷/۵۲ | ۱۱ | - | [۲۵] |
| نوشیدنی غیرالکلی | HPLC-UV | - | - | - | ۸/۹۷ | [۳۰] |
| نوشیدنی غیرالکلی | HPLC-ELSD | ۹/۷۱ | ۸/۷۶ | - | ۱۵/۴۲ | [۳۲] |
| ماء‌الشعیر | HPLC-IR | ۶/۶۸ | ۱۳/۷۱ | ۱۰/۵۰ | ۱۱/۵۱ | پژوهش حاضر |

UV: Ultraviolet Visible IR: Refractive Index ELSD: Evaporative Light Scattering Detector

HPLC-RI (HPLC Refractive Index) به‌عنوان یک روش ساده و تکرارپذیر برای شناسایی و تعیین مقدار کربوهیدرات‌ها در فرآورده بر پایه شیر استفاده شده است [۳۳]. همچنین در مطالعه دیگری با به‌کارگیری روشی مشابه جهت تجزیه و تحلیل مونو و دی‌ساکاریدها در آبجو استحصال‌شده از برنج استفاده گردید [۲۷]. در مطالعه حاضر انواع نمونه‌های ماء‌الشعیر ساده و طعم‌دار از نظر ماهیت و میزان کربوهیدرات‌های ساده مورد بررسی و آزمون قرار گرفتند و برخی از ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی آن‌ها همراه با میزان محتوای قند در این نوشیدنی‌ها در قالب یک طرح پایش سطح عرضه ارزیابی گردید. از آنجایی که میزان کل محتوای قندهای ساده در گروه کلاسیک کمتر از گروه طعم‌دار می‌باشد، با توجه به شیوع بیماری دیابت در جامعه و کم‌تحرکی افراد توصیه می‌گردد که بیشتر از این فرآورده استفاده شود؛ اما از سوی دیگر با توجه به اهمیت ذائقه مصرف‌کننده و نیاز به تولید متنوع طعم‌های این نوشیدنی ارزشمند لازم است که با حفظ و نظارت بر تولید آن و نیز به‌کارگیری ارزش غذایی ترکیبات حاصل از جوانه‌زنی جو در این فرآورده نسبت به عرضه این محصول به‌صورت یک فرمولاسیون با ارزش غذایی بالای حاصل از اختلاط مالت یا عصاره آن با آب، رازک و سایر افزودنی‌های مجاز بیان‌شده در بالا اقدام گردد. در این مطالعه بین میانگین غلظت مالتوز

قابل توجهی بر زمان بازداری هر کربوهیدرات و به تبع آن مدت زمان آنالیز خواهد داشت. جهت ارزیابی این شاخص در تکنیک به‌کاررفته در این پژوهش، مقایسه مدت زمان آزمون در قالب زمان بازداری با نتایج مطالعات سایر پژوهشگران بررسی گردید که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که از نتایج به‌دست‌آمده استنباط می‌شود، تفاوت معناداری بین زمان بازداری کربوهیدرات‌ها در هر روش گزارش‌شده وجود دارد که می‌تواند ناشی از تفاوت ماهیت فرمولاسیون، به‌کارگیری بستر کروماتوگرافی متفاوت و نوع و ترکیب فاز متحرک بوده و به سیستم استخراجی برای آنالیز کروماتوگرافی مربوط باشد. در این راستا در مطالعه‌ای که در مورد پودر مالت، عصاره آن و پودر عصاره مالت به روش HPLC-IR (HPLC Infrared) انجام شد، گزارش گردید که ردیابی قندهای تخمیری در مالت مانند مالتوترئوز می‌تواند در شناسایی اصل بودن نمونه مورد مطالعه و کشف تقلبات در این حوزه مؤثر باشد. در نتایج این بررسی که با به‌کارگیری آشکارساز ضریب شکست انجام‌شده در یک بازه زمانی ۱۵ دقیقه ثبت شده است، زمان بازداری برای مالتوترئوز معادل ۳/۳ دقیقه می‌باشد [۱۶]. استفاده از آشکارساز ضریب شکست به‌عنوان یک آشکارساز عمومی و در دسترس در سایر مطالعات مشابه نیز مورد توجه قرار گرفته است؛ به‌عنوان مثال در پژوهش Chávez و همکاران در سال ۲۰۰۴ از روش

قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از تمامی عزیزانی که آن‌ها را در انجام این پژوهش یاری رساندند؛ به‌ویژه از آزمایشگاه مرجع کنترل غذا و داروی وزارت بهداشت ابراز می‌دارند.

به‌عنوان قند شاخص در فرآورده مالت در گروه‌های طعم‌دار و کلاسیک تفاوت معناداری مشاهده نشد. با توجه به وجود انحراف معیار بالا در میزان قند مالت در گروه طعم‌دار به نظر می‌رسد که فرآورده طعم‌دار نیز از به‌کارگیری مالت یا عصاره آن تولید شده باشد. در مجموع، کنترل ویژگی‌های شیمیایی و پروفایل قندهای ساده در فرآورده‌های ماء‌الشعیر هم از نظر ارزش تغذیه‌ای و آثار سلامت‌محور آن و هم از نظر مهندسی، کنترل کیفی و تقلبات آن حائز اهمیت می‌باشد.

References

1. Feyzipour Namaghi AR, Hosseini Ghaboos S. Malt and non-alcoholic malt drink. 1st ed. Tehran: Iranian Agricultural Science Publisher; 2011. P. 101 (Persian).
2. Institute of Standard and Industrial Research of Iran (ISIRI). Maltose drinks-property. 5th ed. Tehran: National Iranian Standard. Standard Number 2279; 2012 (Persian).
3. Shirkhan F, Akbari-adergani B. Malt and malt product principles of production & processing standards and test methods. 1st ed. Tehran: Food and Drug Research Center; 2016. P. 77 (Persian).
4. Taheri M, Nateghi L, Maleki Kahaki A, Rahmani T, Soleimani, F. Examining the most important filters in the process the extract of warm extract from malt barley by thermal planning methodology. *Innovat Food Sci Technol* 2017; 9(1):15-26 (Persian).
5. Boahen Y, Isaac A. Colorimetric determination of carbohydrates in some brands of beer in Ghana as an indication of their glycemic index in the management of diabetes type II. *Afr J Food Sci Technol* 2015; 6(7):204-8.
6. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Despres JP, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2010; 33(11):2477-83.
7. Albalasmeh AA, Asmeret AA, Ghezzehei TA. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydr Polym* 2013; 97(2):253-61.
8. Leopold L, Leopold N, Diehl HA, Socaciu C. Quantification of carbohydrates in fruit juices using FTIR spectroscopy and multivariate analysis. *J Spectroscopy* 2011; 26(2):93-104.
9. Muntean E. Column selection strategies for high performance liquid chromatographic analysis of carbohydrates. *J Agro Aliment Proc Technol* 2010; 16(2):89-92.
10. Xu W, Liang L, Zhu M. Determination of sugars in molasses by HPLC following solid-Phase Extraction. *Int J Food Propert* 2015; 18(3):547-57.
11. Floridi S, Miniati E, Montanari L, Fantozzi P. Carbohydrate determination in wort and beer by HPLC-ELSD. *De Monatsschrift Brauwissen* 2001; 54(9-10):209-15.
12. Bamforth CW. Beer, carbohydrates and diet. *J Instit Brew* 2005; 111(3):259-64.
13. Ferreira IM, Martins F. Carbohydrate content of lager and ale beer. *Aliment Hum* 2007; 13(1):26-30.
14. Jurkova M, Cejka P, Steba k, Olsovska J. Determination of total carbohydrate content in beer using its pre column enzymatic cleavage and HPLC-IR method. *Food Anal Meth* 2014; 7(8):1677-89.
15. Akbari B, Gharanfoli F, Khayyat MH, Khashyarmanesh Z, Rezaee R, Karimi G. Determination of heavy metals in different honey brands from Iranian markets. *Food Addit Contamin Part B Surveill* 2012; 5(2):105-11.
16. Akbari-Adergani B, Hosseini H, Shekarchi M, Piralı-Hamedani M. A competitive histamine evaluation of canned tuna fish samples by

- electrochemical and immunochemical methods for post market surveillance (PMS). *Int J Food Propert* 2012; 15(6):1336-44.
17. Akbari-Adergani B, Poorasad M, Eskandari Z. Sunset yellow, tartrazine and sodium benzoate in orange juice distributed in Iranian market and subsequent exposure assessment. *Int Food Res J* 2018; 25(3):975-81.
 18. Akbari-Adergani B, Eskandari S, Bahremand N. Determination of sodium benzoate and potassium sorbate in "Doogh" samples in post market surveillance in Iran 2012. *J Chem Health Risks* 2013; 3(1):65-71.
 19. Lachenmeier DW. *Advances in the detection of the adulteration of alcoholic beverages including unrecorded alcohol*. 1st ed. London: Elsevier Ltd; 2016. P. 566-84.
 20. Shirkhan F, Akbari-Adergani B, Salami M. Detection of adulteration in malt by maltotriose index in malt powder, malt extract & malt extract powder by high Performance liquid chromatography coupled with refractive index detection. *J Food Sci Technol* 2018; 83(15):157-67 (Persian).
 21. Lethonen P, Hueme R. Liquid chromatographic determination of sugars in beer by evaporative light Scattering detection. *J Inst Brew* 1994; 100(5):343-6.
 22. Trani A, Gambacorta G, Loizzo P, Cassone A, Fasciano C, Zambrini AV, et al. Comparison of HPLC-RI, LC/MS-MS and enzymatic assays for the analysis of residual lactose in lactose-free milk. *Food Chem* 2017; 233:385-90.
 23. Montesano D, Cossignani L, Giua, L, Urbani E, Simonetti MS, Blasi F. A Simple HPLC-ELSD method for sugar analysis in goji berry. *J Chem* 2016; 2016:1-3.
 24. Priccina L, Karklina D. Determination of major sugars in fresh and dried spices and vegetables using high performance liquid chromatography. *Food Consumer Well Being* 2014; 2014:198-201.
 25. Walker RW, Goran MI. Laboratory determined sugar content and composition of commercial infant formulas, baby foods and common grocery items targeted to children. *Nutrients* 2015; 7(7):5850-67.
 26. Zielinski AA, Braga CM, Demiate IM, Beltrame FL, Nogueira A, Wosiacki G. Development and optimization of a HPLC-RI method for the determination of major sugars in apple juice and evaluation of the effect of the ripening stage. *Food Sci Technol* 2014; 34(1):38-43.
 27. Wei K, Alt M. Determination of single sugars, including inulin, in plants and feed materials by high performance liquid chromatography and refraction index detection. *Fermentation* 2017; 3(3):36.
 28. Kelebek H, Selli S, Canbas A, Cabaroglu, T. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish Cv. Kozan. *Microchem J* 2009; 91(2):187-92.
 29. Gorinstein S, Moshe R, Deutsch J, Wolfed FH, Tilis K, Stiller A, et al. Determination of basic components in white wines by HPLC, FT-IR spectroscopy and electrophoretic techniques. *J Food Compos Anal* 1992; 5(3):236-45.
 30. Castellari M, Staitini E, Spinabelli U, Riponi C. Determination of carboxylic acid, carbohydrates, glycerol, ethanol and 5-HMF in beer by high performance liquid chromatography and UV-refractive index double detection. *J Chromatographic Sci* 2001; 39(6):235-8.
 31. Das AJ, Khawas P, Miyaji T, Deka SC. HPLC and GC-MS analyses of organic acids, carbohydrates, amino acids and volatile aromatic compounds in some varieties of rice beer from northeast India. *J Inst Brew* 2014; 120(3):244-52.
 32. Nogueira L, Silva F, Ferreira I, Trugo LC. Separation and quantification of beer carbohydrates by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *J Chromatography A* 2005; 1065(2):207-10.
 33. Chávez-Servín JL, Castellote AI, López-Sabater MC. Analysis of mono and disaccharides in milk-based formulae by high performance liquid chromatography with refractive index detection. *J Chromatography A* 2004; 1043(2):211-5.