

**PENGARUH INTENSITAS CAHAYA TERHADAP DEGRADASI WARNA AGAR-
AGAR YANG DIWARNAI SARI UMBI BIT MERAH (*Beta vulgaris L. var. rubra L.*)**

**THE EFFECT OF LIGHT INTENSITY ON THE COLOR DEGRADATION OF JELLY
COLORED BY RED BEET (*Beta vulgaris L. var. rubra L.*) JUICE**

Lydia Ninan Lestario¹⁾, Noviana Gunawan¹⁾, Yohanes Martono¹⁾

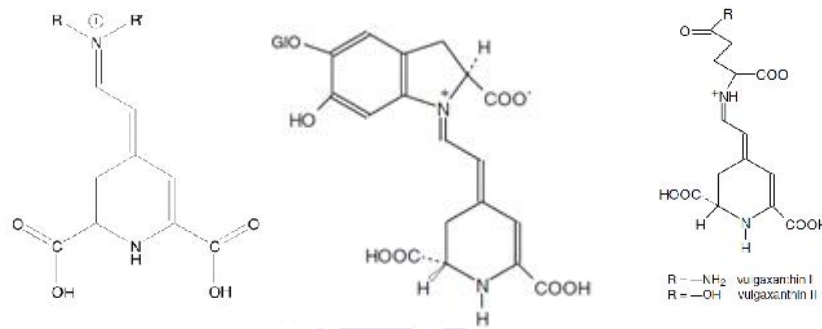
Diterima 4 Juni 2012, disetujui 12 November 2013

PENDAHULUAN

Warna merupakan faktor penting yang menentukan kualitas makanan. Bersama dengan aroma, rasa dan tekstur, warna memegang peranan penting dalam penerimaan makanan oleh konsumen. Beberapa waktu yang lalu, banyak digunakan pewarna sintetis untuk makanan karena mudah diaplikasikan, harganya relatif murah dan dapat disimpan lama. Namun, akhir-akhir ini banyak laporan yang menyatakan bahwa pewarna sintetis cenderung bersifat toksik dan karsinogen, terutama pewarna sintetis merah, seperti Red no. 3 dan Red no. 5 (Rodriguez, dkk, 1995). Oleh sebab itu perlu

dicari pewarna merah alami yang aman sebagai pengganti. Salah satu bahan yang dapat dijadikan sebagai pewarna merah alami yang belum banyak digunakan adalah betalain. Pigmen merah keunguan ini dijumpai pada beberapa jenis tanaman seperti buah naga dan umbi bit merah. (*Beta vulgaris L var. rubra L.*). Pigmen utama yang ada di dalam umbi bit merah adalah betasianin (mengandung 75%-95% betanin), sedangkan betaxantin berada dalam jumlah yang lebih sedikit. Betaxantin yang dominan di dalam bit merah yaitu Vulgaxantin I, sekitar 95 persen (Stintzing dkk., 2008).

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana
Jl Diponegoro 52-60 Salatiga
email: nlestario@gmail.com



Gambar 1. Struktur betalain, betanin dan vulgaxanthin I dan II (Jeszka, 2007)

Pigmen betalain dari umbi bit ini aman digunakan sebagai pewarna makanan (Vargas dan Lopez, 2003). Hal yang sering menjadi masalah dalam penggunaan pewarna alami adalah stabilitasnya. Banyak hal yang mempengaruhi stabilitas warna selama penyimpanan, salah satunya adalah cahaya. Melihat kenyataan bahwa banyak produk pangan yang terpapar cahaya selama penjualan, terutama cahaya lampu, oleh sebab itu dalam penelitian ini diuji stabilitasnya terhadap cahaya.

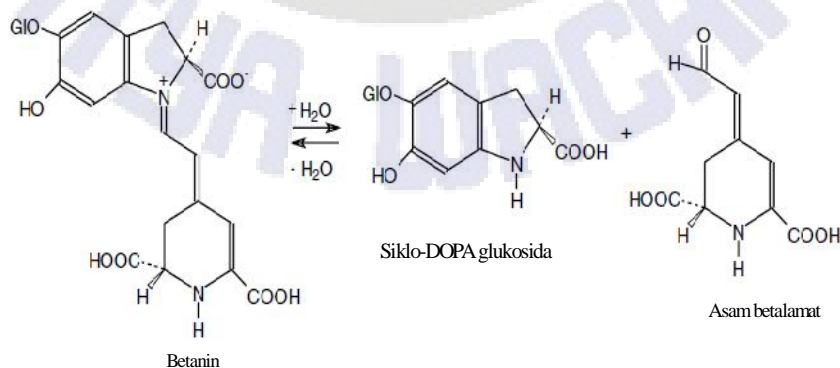
Pada kondisi dengan disinari lampu *fluorescent*, kinetika degradasi betalain mengikuti pola reaksi orde-1 (Vargas dan Lopez, 2003). Betalain secara umum terdegradasi menjadi asam betalamat yang berwarna kuning dan *cylo*-DOPA glukosida yang tidak berwarna (Jeszka, 2007).

Banyak makanan jajanan yang disukai anak diwarnai merah, seperti es krim, sirup, kue bolu, dan agar- agar. Umbi bit merah dalam penelitian ini diaplikasikan ke agar-agar, sebagai makanan yang disukai anak-anak, dan sering diwarnai merah, serta biasanya habis dalam sehari. Pemberian pewarna alami dari bit ini akan memberikan warna merah keunguan pada agar-agar yang disebabkan oleh pigmen betalain. Warna merah keunguan ini lebih menarik minat konsumen dan merupakan inovasi terbaru yang diterapkan dalam pembuatan agar-agar.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: umbi bit merah (*Beta vulgaris L.*) yang diperoleh dari desa Kopeng, kab. Semarang. Bahan-bahan lain meliputi: agar-agar (Swallow,



Gambar 2. Degradasi betanin secara umum (Jeszka, 2007)

putih), gula pasir (Gulaku), pewarna sintetis makanan merah dan ungu 'food grade'. Bahan kimia meliputi: metanol (teknis) sedang HCl, Na_2HPO_4 , dan KH_2PO_4 (Merck, Jerman).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: neraca analitik 4 desimal (Mettler, H80), juice extractor (Miyako, JE 607), shaker, lightmeter (Lutron, LX 102), spektrofotometer UV-VIS (Mini Shimadzu, 1240), gelas plastik (d = 5 cm, tinggi 5 cm), lampu 'fluorescent' (Philips Essential: 11 watt, 18 watt dan 23 watt; Sinyoku: 45 watt).

Metode Penelitian

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Ekstrak Bit Merah (Harborne, 1987)

Ditimbang 1 g umbi bit merah, dan dimaserasi secara bertingkat dengan pelarut 1 persen HCl dalam metanol (v/v) sebanyak 100 ml menggunakan *orbital shaker*. Penentuan panjang gelombang dilakukan pada daerah 200-700 nm, dan sebagai blanko digunakan 1 persen HCl dalam metanol (v/v). Panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh digunakan untuk pengukuran absorbansi stabilitas warna agar-agar.

Pembuatan Agar-agar-Bit merah

Sari bit merah diperoleh dengan cara memasukkan potongan-potongan umbi bit merah ke dalam juice extractor, tanpa ditambah air, sehingga diperoleh cairan berwarna merah keunguan. Ditimbang 2,5 g agar-agar, ditambah dengan 31,25 g gula pasir dan 200 ml air, dipanaskan sambil diaduk-aduk sampai mendidih. Selanjutnya, ditambah sari bit merah sesuai dengan perlakuan (2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%; v/v), dan pewarna sintetis (merah : ungu = 1: 9, v/v) kemudian digenapkan dengan air matang sampai volumenya 250 ml. Agar- agar cair dituang ke dalam wadah plastik transparan masing-masing sebanyak 10 ml, dan didiamkan sampai dingin.

Uji Organoleptik Agar-agar yang diwarnai Sari Umbi bit merah (Soekarto, 1985)

Uji organoleptik dilakukan dengan 25 orang panelis dengan uji hedonik dengan 5 skala (1= sangat tidak suka, 2= tidak suka, 3= agak suka, 4= suka, 5= sangat suka), terhadap warna, aroma, rasa, dan tekstur agar-agar yang diberi sari umbi bit merah dengan berbagai konsentrasi dan pewarna sintetis (campuran warna ungu dan merah).

Uji Stabilitas Warna Agar-agar

Agar-agar bit dituang ke dalam gelas plastik transparan sebanyak 10 ml dan ditutup dengan plastik transparan. Gelas plastik berisi agar-agar sari bit disinari cahaya lampu dengan intensitas intensitas 879,06 lux, 1.688,54 lux, 2.342,2 lux dan 6.752,2 lux dalam kotak kayu, masing-masing dengan panjang 31 cm, lebar 40 cm dan tinggi 37 cm. Sampel yang disinari diletakkan di bawah masing-masing lampu tersebut dengan jarak dari sumber cahaya lampu sekitar 20 cm. Serta disinari cahaya matahari di ruang terbuka dari pukul 08.00-13.00.

Sampel diambil setiap 2 jam, dihancurkan hingga halus dan ditimbang sebanyak 1,0000 g. Kemudian agar-agar tersebut dimaserasi menggunakan 1 persen HCl dalam metanol (v/v) sebanyak 10 ml selama 1 jam dalam erlenmeyer yang dilapisi dengan aluminium foil. Setelah itu, hasil maserasi disaring dan filtrat digenapkan dalam labu ukur 10 ml. Filtrat kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 554 nm. Untuk agar-agar yang disinari cahaya matahari sesuai dengan yang disinari cahaya lampu, hanya pengukurannya setiap 1 jam.

Pengukuran Kandungan Betalain Daging Umbi Bit Merah (Wrolstad dkk., 2001)

0,5000 g daging bit dimaserasi dengan akuades sebanyak 50 ml secara bertingkat. Filtrat yang diperoleh kemudian digenapkan dalam labu ukur 50 ml yang telah dilapisi aluminium foil. Filtrat dilarutkan dalam larutan buffer fosfat (0,05M, pH

6,5) digunakan dalam volume tertentu agar absorbansi yang diperoleh berada pada kisaran 0,4 sampai $0,5 \pm 0,02$ pada panjang gelombang 538 nm. Nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang 538 nm, 476 nm dan 600 nm. Perhitungan kandungan betalain menggunakan persamaan berikut:

$$x = 1,095 (A_{538} - A_{600})$$

$$z = A_{538} - x$$

$$y = A_{476} - z - \frac{x}{3,1}$$

Di mana, x = absorbansi betanin dikurangi pengotor

y = absorbansi vulgaxanthin-I

z = absorbansi pengotor

konsentrasi betanin dan vulgaxanthin-I ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\frac{x}{1120} \times \text{Faktor pengenceran}$$

$$\frac{y}{750} \times \text{Faktor pengenceran}$$

Kandungan pigmen betalain adalah jumlah C_{betanin} + $C_{\text{vulgaxanthin-I}}$ dengan satuan g/100g.

Pengukuran Pigmen Sari Bit

Daging umbi bit merah ditimbang 25 g, kemudian diambil sarinya menggunakan *juice extractor*. Volume sari bit yg diperoleh diukur (setara dengan 25 g). Volume sari dari 1 g bit digunakan dengan akuades sampai 100 ml. Sari bit ditambah buffer fosfat (0,05M, pH 6,5) digunakan dalam volume tertentu hingga nilai absorbansi pada panjang gelombang 538 nm berkisar antara $0,4-0,5 \pm 0,02$. Kemudian nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang 538 nm, 476 nm dan 600 nm. Penghitungan kandungan betalain dalam sari umbi bit merah sama dengan pengukuran betalain dalam daging umbi bit merah.

Analisa Data (Steel dan Torie, 1981)

Penelitian mengenai stabilitas warna agar-agar terdiri dari 4 perlakuan dan 6 ulangan, sebagai perlakuan adalah penyinaran lampu *fluorescent*

dengan intensitas 879,06 lux, 1.688,54 lux, 2.342,2 lux, dan 6.752,2 lux, sebagai kelompok adalah waktu analisa. Konstanta laju degradasi dianalisa menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok). Untuk membandingkan konstanta laju degradasi warna agar-agar 5 persen antar perlakuan dilakukan uji BNJ dengan tingkat kebermaknaan 5 persen.

Data organoleptik dianalisa dengan RAK. Jumlah panelis sebagai ulangan. Uji organoleptik untuk menentukan konsentrasi sari daging umbi bit merah yang tepat terdiri dari 6 perlakuan, yaitu agar-agar dengan penambahan sari bit merah 2,5 persen, 5 persen, 7,5 persen, 10 persen, 12,5 persen dan pewarna sintetik. Purata skor organoleptik antar perlakuan dibandingkan dengan BNJ 5 persen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Organoleptik

Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 1. yang secara umum menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sari bit yang ditambahkan ke dalam agar-agar, skor yang diperoleh makin rendah, yang berarti panelis makin tidak menyukai. Untuk warna, yang paling disukai panelis adalah yang berasal dari agar-agar yang diberi sari bit 2,5 persen dan yang diberi pewarna sintetik. Untuk parameter rasa, yang paling disukai panelis adalah yang berasal dari agar-agar yang diberi sari bit 2,5 persen dan pewarna sintetik.

Untuk bau atau aroma, juga mempunyai kecenderungan yang sama, yaitu bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi sari bit semakin tidak disukai panelis. Hal ini karena umbi bit mengandung suatu senyawa yang disebut 'geosmin' yang menyebabkan agar-agar yang ditambah sari bit berbau seperti tanah. Konsentrasi penambahan sari bit yang paling disukai panelis 2,5 persen dan pewarna sintetik.

Untuk tekstur, penambahan sari bit yang paling disukai panelis adalah konsentrasi 2,5 persen dan

pewarna sintetik. Penambahan sari bit dengan berbagai konsentrasi ke dalam agar-agar menyebabkan perubahan tekstur pada agar-agar, yaitu semakin banyak konsentrasi sari bit yang ditambahkan, agar-agar menjadi semakin lunak. Jadi dalam hal ini panelis cenderung menyukai tekstur agar-agar yang lebih keras.

Penambahan sari bit pada konsentrasi 2,5 persen secara umum memberikan skor organoleptik yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan skor organoleptik dengan pewarna sintetik. Dengan demikian, penambahan sari bit dengan konsentrasi 2,5 persen ini berpotensi untuk menggantikan

pewarna sintetik, yang masih disukai oleh panelis dan lebih aman dikonsumsi.

Selanjutnya, aga-agar dengan sari bit yang dipakai untuk uji stabilitas warna dalam penelitian ini adalah agar-agar dengan penambahan sari bit 5 persen, karena selain masih disukai panelis, juga lebih baik dari sisi kesehatan karena mengandung jumlah betalain yang lebih banyak dibandingkan dengan sari bit 2,5 persen. Agar-agar dengan penambahan sari bit 5 persen membutuhkan waktu degradasi lebih lama dibandingkan dengan penambahan sari bit 2,5 persen.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik

Warna	Perlakuan					
	Sintetik	2,5%	5%	7,5%	10%	12,5%
Purata	3,91	4,45	3,27	2,86	2,41	2,00
\bar{E}	±	±	±	±	±	±
SE	0,2706	0,2260	0,2799	0,2836	0,2954	0,3060
W =0,87	(cd)	(d)	(bc)	(ab)	(ab)	(a)
Rasa	Sintetik	2,5%	5%	7,5%	10%	12,5%
Purata	4,17	4,04	3,13	2,25	1,96	1,63
\bar{E}	±	±	±	±	±	±
SE	0,2385	0,2323	0,2267	0,2245	0,2915	0,2732
W =0,89	(c)	(c)	(b)	(ab)	(a)	(a)
Bau	Sintetik	2,5%	5%	7,5%	10%	12,5%
Purata	4,00	3,75	3,29	2,63	2,29	1,88
\bar{E}	±	±	±	±	±	±
SE	0,2643	0,2477	0,2419	0,2665	0,3345	0,3828
W =1,01	(c)	(c)	(bc)	(ab)	(ab)	(a)
Tekstur	Sintetik	2,5%	5%	7,5%	10%	12,5%
Purata	4,08	3,88	3,52	3,00	2,64	2,12
\bar{E}	±	±	±	±	±	±
SE	0,2643	0,2477	0,2419	0,2665	0,3345	0,3828
W =1,08	(c)	(c)	(bc)	(abc)	(ab)	(a)

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan tidak berbeda secara bermakna, sedangkan angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan antar perlakuan berbeda secara bermakna. W = BNJ 5%.

Keterangan Skor = (1: Sangat tidak suka; 2: Tidak suka; 3: Agak suka; 4: Suka; 5: Sangat suka)

Spektrum Absorpsi Ekstrak Bit Merah

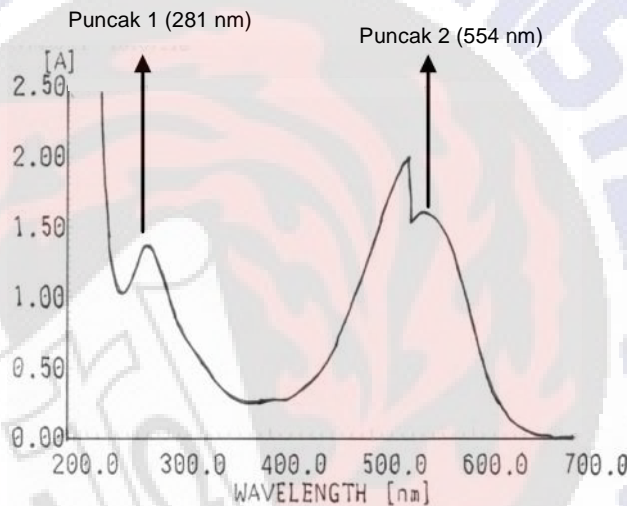
Hasil scanning panjang gelombang, menunjukkan bahwa ekstrak bit merah memiliki 2 puncak absorpsi, yaitu pada 281 nm dan 554 nm dalam metanol-1 persen HCl (v/v) (Gambar 3).

Betalain ini memang menyerap cahaya dengan kuat pada panjang gelombang antara 532-554 nm (Harborne, 1987) yang merupakan serapan warna hijau sehingga warna yang tampak adalah ungu kemerahan (warna komplementer) (Tiley, 1999 dalam Moss, 2002).

Fotodegradasi warna Agar-agar-sari bit 5%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa degradasi warna agar-agar yang diberi sari bit 5 persen mengikuti pola degradasi orde-1. Hal ini sesuai dengan yang disebutkan oleh Vargas dan Lopez (2003) yang menyatakan bahwa kinetika laju degradasi betalain mengikuti pola degradasi orde-1.

Dari hasil analisa konstanta laju degradasi dapat dilihat bahwa semakin intensitas intensitas cahaya yang diberikan, konstanta laju degradasi warna merah dalam agar-agar semakin besar pula (Tabel 2 dan Gambar 4).

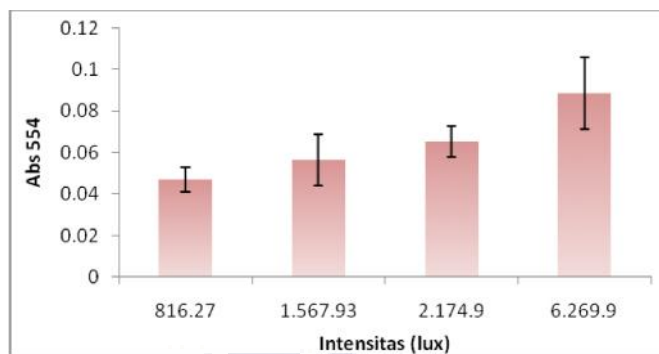


Gambar 3. Spektrum Absorpsi ekstrak umbi bit merah dalam metanol - 1% HCl.

Tabel 2. Konstanta Laju Degradasi Warna Agar- agar Sari Bit 5% (Jam⁻¹)

Intensitas (lux)	Purata \bar{X} SE	
879,06	0,0468 \bar{X} 0,0060	(a)
1.688,54	0,0565 \bar{X} 0,0123	(ab)
2.342,2	0,0653 \bar{X} 0,0073	(b)
6.752,2	0,0887 \bar{X} 0,0173	(c)

Keterangan : W = 0,0204



Gambar 4 Histogram konstanta laju degradasi warna agar-agar yang diberi sari bit 5% pada berbagai intensitas cahaya

Berdasarkan hal tersebut, maka intensitas cahaya yang masih dapat digunakan dalam penyimpanan agar-agar sari bit 5 persen adalah pada intensitas di bawah 1.688,54 lux karena pada intensitas lebih dari itu, warna agar-agar semakin cepat terdegradasi yang menyebabkan perubahan warna yang cukup signifikan, yaitu dari warna merah keunguan menjadi warna coklat. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Azeredo (2006), bahwa stabilitas betalain mulai menunjukkan adanya pengaruh pada intensitas antara 2200lux-4400 lux. Konstanta laju degradasi warna agar-agar sari bit 5 persen setelah disinari cahaya matahari (55. 263,64 lux) adalah sebesar 0,911/jam, lebih besar dibandingkan dengan penyinaran oleh cahaya lampu *flourescent*. Pemaparan oleh cahaya matahari menyebabkan laju degradasi warna agar-agar semakin cepat.

Menurut Jackman dan Smith (1996 dalam Azeredo 2006) sinar UV maupun sinar tampak mampu mengeksitasi elektron π dari gugus kromofor ke tingkat energi yang lebih tinggi (π^*) karena adanya energi yang dipancarkan oleh sinar tersebut. Selain itu, Attoe dan von Elbe (1981 dalam Villota dan Hawkes 2007) mengatakan bahwa oksigen berperan penting sebagai fotokatalis dalam perusakan pigmen betalain. Berdasarkan hal tersebut diduga bahwa energi yang dipancarkan oleh cahaya merusak struktur betalain (dalam hal ini betanin) menjadi asam betalimat dan *cyclo* DOPA glukosida yang

menyebabkan perubahan warna pada agar-agar yang diberi sari bit (Gambar 2).

Kandungan Betalain Daging dan Sari Bit

Kandungan betalain daging bit adalah $127,70 \pm 9,34$ mg/100g berat basah (bb) (Tabel 3). Kandungan betalain ini cukup berbeda dengan kandungan betalain daging bit yang dilakukan oleh Azeredo (2006) yaitu sebesar 111,8 mg/ 100 g bb.

Menurut Vargas dan Lopez (2003) kandungan pigmen betalain di dalam umbi bit berkisar antara 130- 500 mg/100 g bb, tergantung dari varietas bit itu sendiri. Perbedaan kandungan ini disebabkan lokasi penanaman yang berbeda, karena seperti disebutkan dalam Wang dkk. (2006) dan Khandaker dkk. (2010) bahwa kandungan pigmen betalain dalam kultivar dipengaruhi oleh suhu dan pencahayaan pada lokasi penanaman.

Jika dibandingkan dengan kandungan betalain dari bayam merah dan *cactus pear*, kandungan betalain umbi bit tergolong paling tinggi. Bayam merah memiliki kandungan betalain sekitar 46-199 mg/100 g bb dan *cactus pear* memiliki kandungan betalain sebesar 15-100 mg/100 g bb (Stintzing dan Carle, 2008).

Sari daging umbi bit memiliki kandungan betalain yang lebih rendah (80,2 mg/100 g bb atau setara dengan 80,2 mg/100ml) dibandingkan dengan daging umbi bit merah seperti yang terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Betalain Umbi Bit dan Sari Umbi Bit

	$\bar{X} \pm SE$ (mg/100g bb)
Umbi Bit	127,70 \pm 9,34
Sari Umbi Bit	80,2 \pm 49,66

KESIMPULAN

Sari bit yang disukai panelis untuk diuji konstanta laju degradasinya setelah diaplikasikan pada agar-agar adalah pada konsentrasi 5 persen.

Konstanta laju degradasi warna agar- agar yang diberi pewarna sari bit 5 persen pada intensitas: (a) 879,06 lux: 0,0468 Jam⁻¹; (b) 1.688,54 lux: 0,0565 Jam⁻¹; (c) 2.342,2 lux: 0,0653 Jam⁻¹; (d) 6.752,2 lux: 0,0887 Jam⁻¹. Konstanta laju degradasi warna pada agar-agar yang diberi pewarna sari bit 5 persen semakin besar dengan semakin meningkatnya intensitas cahaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Azeredo, H.M.C. 2006. Betalains: Properties, Sources, Application, and Stability-A Review. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 2365-2376.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB, Bandung.
- Jeszka, J.W. 2007. Food Colorants, dalam Sikorski, Z.E. (Ed). *Chemical and Functional Properties of Food Component*. p. 265-268. CRC Press LLC, New York.
- Khandaker, L., A.S.M.G.M. Akond, dan S. Oba. 2009. *Air Temperature and Sunlight Intensity of Different Growing Period Affects The Biomass, Leaf Color and Betacyanin Pigment Accumulations in Red Amaranth (Amaranthus tricolor L.)*. *Journal Central European Agriculture* 10(4): 439-448.
- Moss, B.W. 2002. Improving Quality. dalam Macdougall, D.B. (Ed). *Color in Food*. p. 145-175. CRC Press LLC, New York.
- Rodriguez-Saona, L.E., M.M. Giusti, dan R.E. Wrolstad. 1999. *Color and Pigment Stability of Red Radish and Red-Fleshed Potato Anthocyanins in Juice Model Systems*. *J.Food Sci.* 64 (3): 451-456.
- Soekarto, S.T. 1985. *Penilaian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian*. Bhratara Karya Aksara, Jakarta.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torie. 1981. *Principles and Procedures of Statistics*. Mc GrawHill Book Co. New York.
- Stintzing, F.C., K.M. Herbach, M.R. Mosshammer, F. Kugler, and R. Carle. 2008. Betalain Pigments and Color Quality, dalam Chaterine A., Culver and R. E. Wrolstad (Eds). *Color Quality of Fresh and Processed Food*. p. 82-101. Oxford University Press, Washington DC.
- Stintzing, F.C. and R. Carle, 2008. N-Heterocyclic Pigments: Betalains, dalam Carmen Socaciu (Ed). *Food Colorants Chemical and Functional Properties*. p. 87- 100. CRC Press LLC, New York.
- Vargas, F.D. dan O.P. Lopez, 2003. *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*. CRC Press LLC, New York.
- Villota, R. and J.G. Hawkes, 2007. Reaction Kinetics in Food Systems. dalam D.R. Heldman dan D.B.Lund (Eds). *Handbook*

- of Food Engineering, 2nd Edition.* p. 125-266. CRC Press LLC, New York.
- Wang, C.Q., J.Q. Zhao, M. Chen, and B.S. Wang. 2006. Identification of Betacyanin and Effects of Environmental Factors on Its Accumulation in Halophyte Suaeda Salsa. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* 32 (2): 195-201.
- Wrolstad, R.E., E.A. Decker, J. Schwartz dan S. Peter. 2001. *Handbook of Food Analytical Chemistry.* John Wiley & Sons Inc. Wisconsin.

