

ประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์หรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิค

Near Infrared Spectroscopy(NIRS)

Examination the amount of alcohol or in alcoholic drinks

by using Near Infrared Spectroscopy (NIRS)

จารุวรรณ บางแวก¹

Charuwan Bangwaek¹

¹สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

¹Postharvest and Processing Research and Development Office, Department of Agriculture

.....

Abstract

Ethyl alcohol and methanol were controlled in alcoholic drinks such as wine whisky etc. Though, factory has to test in sequence on the line of production. But alcohol and methanol analysis were complicated, hazard chemicals, take time, need experience and destroy samples used. NIR Spectroscopy (NIRS) is the interested technique to construct the effective model to predict accuracy and precision in the quantity of organic matters in short time, no experience, no chemicals, and non destructive samples. During the year, 2011-12, this study was conducted at PPRDO. The aim of this study was to use NIRS technique to evaluate the amount of ethylalcohol and methanol in wine samples. Two effective models for evaluation ethyl alcohol and methanol were constructed. NIR absorption at 400-2500 nm and the laboratory analysis were correlated. The ethyl alcohol model was showed high correlation ($R= 0.95$), low standard error of prediction ($SEP =1.41\%$) which was less than sd (4.29%). The methanal model was showed high correlation ($R= 0.95$), low standard error of calibration ($SEC =0.07\%$), low standard error of prediction ($SEP =0.07$) which was less than sd (0.17%).

Key words: alcohol drink, ethyl alcohol, methanol, NIR Spectroscopy, NIRS technique

บทคัดย่อ

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ วิสกี้ เป็นต้น ต้องมีการควบคุมปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ให้ได้ตามที่ระบุบนฉลาก และตามกฎหมายระเบียบ ตามลำดับ ซึ่งโรงงานผู้ผลิตต้องมีการตรวจในขั้นตอนการผลิต ซึ่งการตรวจวิเคราะห์ทั้งปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์เป็นวิธีที่ยุ่งยาก เครื่องมือราคาสูง ต้องมีประสบการณ์ และใช้เวลานาน NIRS เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการประเมินสารที่เป็นอินทรีย์วัตถุ เช่น ปริมาณโปรตีน ความหวาน ความชื้น เป็นต้น จึงทำการทดลอง เพื่อนำเทคนิค NIRS มาใช้ประเมินปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์ ทำการทดลองที่ สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ปี 2553-54 โดยนำตัวอย่างไวน์ที่มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์และเม

ทิลแอลกอฮอล์ต่างๆ วัดค่าการดูดซับแสงในย่าน NIR (400-2500 นาโนเมตร) ใช้หลักการส่งผ่านแสง (transmission) และวิเคราะห์ปริมาณเอทิลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ จากการทดลอง ได้ผลการที่มีประสิทธิภาพประเมินปริมาณเอทิลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ที่มีประสิทธิภาพ โดยสมการสำหรับประเมินปริมาณเอทิลกอฮอล์ในไวน์ มีค่าสหสัมพันธ์ ($R = 0.95$) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำ ($SEP = 1.41\%$) ซึ่งต่ำกว่าค่า sd (4.29%) ส่วนสมการสำหรับประเมินปริมาณเมทานอล ในไวน์ที่มีประสิทธิภาพ มีค่าสหสัมพันธ์ ($R = 0.95$) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมินต่ำ ($SEP = 0.07\%$) ซึ่งต่ำกว่าค่า sd (0.17%) ใช้ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร

คำหลัก: เอทิลแอลกอฮอล์ เมทิลแอลกอฮอล์

คำนำ

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ วิสกี้ เบียร์ ฯลฯ เป็นเครื่องดื่มที่ต้องมีการควบคุมปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ต้องระบุไว้บนฉลากเพื่อบอกองค์ประกอบหรือคุณภาพไวน์ แต่สารแอลกอฮอล์เป็นสารระเหยได้ง่าย ในการผลิตจำเป็นต้องผลิตให้ได้มาตรฐานที่ระบุ ในเส้นทางการผลิตจำเป็นต้องตรวจวัดปริมาณเอทิลกอฮอล์เพื่อเป็นขบวนการควบคุมคุณภาพ เช่นเดียวกัน ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ หรือเมทานอล ต้องมีการควบคุมปริมาณในเส้นทางการผลิตเพราะเมทานอลเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ จึงต้องมีตรวจวัดปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ในขบวนการผลิต เพื่อควบคุมคุณภาพเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ แต่วิธีการตรวจวัดทั้งปริมาณเอทานอล และเมทานอล เป็นวิธีการที่ใช้เวลา เครื่องมือที่มีราคาสูง ทั้งสารทั้ง 2 ชนิดเป็นสารระเหย ต้องใช้ผู้มีประสบการณ์ ซึ่งวิธีการวัดปริมาณแอลกอฮอล์มีหลายวิธี คือ

1. Ebulliometer

วัดแอลกอฮอล์ด้วยอุณหภูมิที่จุดเดือดของน้ำหมักที่ลดลงเมื่อเทียบกับจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ และนำค่าอุณหภูมิจุดเดือดที่อ่านได้ ไปเทียบกับตารางที่ให้มากับเครื่อง ก็สามารถบอกปริมาณแอลกอฮอล์ได้ แต่วิธีนี้อาจมีความคลาดเคลื่อนหากน้ำหมักของเรา มีสารละลายอยู่หลายอย่าง เช่นมีน้ำตาลเหลืออยู่มาก อุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพงมาก

2. Vino-o-Meter

วิธีนี้ใช้ง่าย สะดวก อุปกรณ์เป็นหลอดแก้วเล็กๆ ราคาถูก แต่ค่าที่ได้ไม่น่าเชื่อถือเลยโดยเฉพาะในการวัดน้ำหมักที่ยังมีน้ำตาลอยู่ เพราะเป็นอุปกรณ์ที่อาศัยความถ่วงจำเพาะ และค่าจะเพี้ยนไปขึ้นอยู่กับของแข็งที่ละลายอยู่ในสารละลาย

3. การกลั่น

เป็นวิธีที่กรมสรรพสามิตใช้ในการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ของสุราแช่ โดยการกลั่นแอลกอฮอล์แยกออกจากสารละลายที่มีกรดและน้ำตาล ให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ที่ละลายในน้ำเท่านั้น จากนั้นก็สามารถใช้หลักความถ่วงจำเพาะ วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้ โดยหย่อน hydrometer ลงในกระบอกตวงที่มีน้ำสุราที่กลั่นได้ ก็จะ

สามารถอ่านค่าแอลกอฮอล์ได้อย่างแม่นยำ โดยต้องปรับอุณหภูมิของน้ำสุราให้เป็น 20 องศาเซลเซียส แต่วิธีนี้ต้องใช้ น้ำหนักจำนวนมากเพื่อกันให้ได้สุราพอที่จะนำไปใส่ใน กระบอกตวงเพื่อหย่อน hydrometer จึงไม่เหมาะกับการวิเคราะห์น้ำหนักในระหว่างการหมักในการวิจัย ที่ต้องเก็บตัวอย่างน้ำหนักหลายๆ ครั้ง

4. ชุดทดสอบทางเอนไซม์

อาศัยหลักการ เอธานอล จะถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจิเนส เกิดเป็นอะซีตัลดีไฮด์ และปฏิกิริยานี้จะวัดการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ 340 นาโนเมตร นำค่ามาคำนวณด้วย สมการก็จะได้ปริมาณเอธานอลเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร แต่วิธีนี้ใช้กับแอลกอฮอล์ปริมาณน้อยๆ ถ้าใช้ตัวอย่างเป็น น้ำหนัก จึงต้องเจือจางร้อยละชุดทดสอบนี้มีจำหน่ายโดย Boeringer Mannheim

5. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เอธานอลที่ละลายอยู่ในสารละลาย สามารถแยกออกจากของผสมในระบบ HPLC ซึ่งสามารถวิเคราะห์ ไปพร้อมกับน้ำตาลต่างๆ ในน้ำหนักได้ด้วย โดยใช้คอลัมน์ BIO-RAD Aminex® Fermentation Monitor column (150 x 7.8 mm, 5 µm) ใช้ Refractive Index detector

6. ก๊าซโครมาโตกราฟี (GC)

ก๊าซโครมาโตกราฟีเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงที่ต้องมีผู้ชำนาญในการ ดูแลบำรุงรักษา และใช้งาน อย่างถูกต้อง เครื่องมีราคาสูง นอกจากเครื่องมือเองซึ่งมีราคาหลายล้าน ยังต้องมีระบบสารมาตรฐานได้แก่ถังก๊าซ ท่อก๊าซ ระบบระบายอากาศ สำหรับติดตั้งเครื่อง ฯลฯ

เห็นได้ว่าวิธีการดังกล่าว ต้องใช้เครื่องมือราคาสูง สารเคมีที่มีอันตราย ผู้มีประสบการณ์ และใช้เวลานาน ทำลายตัวอย่าง เทคนิค NIR Spectroscopy จึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจเพื่อใช้ประเมินเฉพาะองค์ประกอบที่เป็น อินทรีย์สาร วิธีนี้มีการใช้อย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น จีน เกาหลี เช่น ในประเทศ ญี่ปุ่น ได้นำเอาเทคนิค NIR Spectroscopy มาคัดเลือกส้มตามความหวาน ในประเทศไทย ฟาร์มเลี้ยงสัตว์มีการ นำเอาเทคนิคนี้ประเมินคุณภาพอาหารสัตว์ เช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน ในพืช เช่น น้ำหนักแห้งในหัวหอม (Birth *et al.*, 1985), soluble solids ในแคนตาลูป (Dull *et al.*, 1989) ค่า Brix ในพืช (Kawano *et al.* 1992) ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีนในข้าวสาลี ความชื้นเมล็ด เป็นต้น เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ให้ความถูกต้อง แม่นยำ ใช้เวลา สั้น ไม่ใช้สารเคมี ตัวอย่างไม่ถูกทำลาย

Bangwaek (2010) ได้ทดลองใช้เทคนิค NIR Spectroscopy ในการประเมินปริมาณอมิโอสโนลในเมล็ด ข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร ประเมินคุณภาพการสีในข้าว โปรตีนในแป้งพืช เป็นต้น

การทดลองนี้ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเทคนิค NIR Spectroscopy มาประเมินปริมาณ แอลกอฮอล์และเมทานอลในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ และเพื่อเผยแพร่ความรู้กับโรงงานผู้ผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ไวน์ที่มีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์ และเมทานอล ระดับต่างๆ
2. เครื่อง NIR Spectrometer รุ่น Foss 6500
3. เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์แบบ Ebulliometer
4. เครื่อง Gas Chromatography (GC) พร้อม Head Space
5. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ปีกเกอร์ ปิเปต กระบอกตวง แท่งแก้วคน เป็นต้น

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างไวน์จากแหล่งต่างๆ จำนวนไม่ต่ำกว่า 100 ตัวอย่าง นำตัวอย่างมาผสมด้วยน้ำหรือไวน์ต่างชนิดกัน เพื่อให้มีปริมาณแอลกอฮอล์และเมทิลแอลกอฮอล์ต่างๆ กัน
2. แต่ละตัวอย่างแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปวัดค่าการดูดซับแสง ด้วยเครื่อง Near Infrared Spectrometer (FOSS6500) ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร อีกส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ และเมทิลแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์แบบ Ebulliometer และปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่อง GC
3. ทำสมการโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป The Unscrambler (Camo, Oslo, Norway) โดยใช้ค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ และค่าการวิเคราะห์ค่าเอทานอล และ เมทานอลจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
4. เลือกสมการให้ได้สมการที่มีประสิทธิภาพในการประเมิน โดยดูจากค่าสหสัมพันธ์ correlation coefficient (R) ให้ใกล้เคียง 1 ค่าความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ (Standard Error of Calibration: SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนในการประเมิน (Standard Error of Prediction: SEP) เปรียบเทียบกับค่า Standard deviation: (Sd) จากการวิเคราะห์
5. นำสมการไปทดสอบกับตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ว่ามีความถูกต้องหรือไม่

ผลการทดลองและวิจารณ์

คุณสมบัติของตัวอย่างที่ใช้ในการทำสมการ

ตัวอย่างไวน์ที่ใช้ในการทำสมการประเมินเอทานอล จำนวน 231 ตัวอย่าง ปริมาณเอทานอลของตัวอย่างอยู่ในช่วง 0- 17% ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.76% ค่า standard deviation 4.29% (Table 1)

ตัวอย่างไวน์ที่ใช้ในการทำสมการประเมินเมทานอล จำนวน 194 ตัวอย่าง ปริมาณเมทานอลของตัวอย่างอยู่ในช่วง 0- 0.7% ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.18% ค่า standard deviation 0.17% (Table 1)

ค่าการดูดซับแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของตัวอย่างไวน์

ค่าการดูดซับแสง ($\log 1/R$) ของไวน์ แสดงใน Figure 1 ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดซับแสงมากจะอยู่ที่ 1450 nm เนื่องจากมีส่วนของน้ำที่จะดูดซับแสงได้สูงที่ความยาวคลื่น 1450 นาโนเมตร

การทำ Calibration ด้วย PLS regression

จากการทำ calibration ค่าเอทานอล ด้วยวิธี PLS regression ทำการวิเคราะห์แบบ Full cross validation โดยการใช้ spectra เริ่มต้น (original) พบว่า สมการจาก original spectra ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร จะมีค่า $R = 0.95$ $SEC = 1.33\%$ $SEP = 1.41\%$ มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 5 ปัจจัย มีประสิทธิภาพในการประเมินปริมาณเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะมีค่า SEP ต่ำกว่า ค่า Sd (4.29%) (Figure 2)

จากการทำ calibration ค่าเมทานอล ด้วยวิธี PLS regression โดยการใช้ spectra เริ่มต้น (original) พบว่า สมการจาก original spectra ที่ความยาวคลื่น 400-2500 นาโนเมตร จะมีค่า $R = 0.95$ $SEC = 0.06\%$ $SEP = 0.07\%$ มีปัจจัย (F) ที่เกี่ยวข้อง 8 ปัจจัย มีประสิทธิภาพในการประเมินปริมาณเอทานอลและเมทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะมีค่า SEP ต่ำกว่า ค่า Sd (0.17%) (Figure 2)

จากสมการทั้ง 2 สมการ จะเห็นว่า ช่วงคลื่นแสง 400-2500 nm ใช้หลักการส่งผ่านแสง (Transmission) เหมาะที่จะใช้ในการประเมินปริมาณเอทานอลและเมทานอล

ภาพที่ 2 เป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการประเมินจากสมการที่ดีที่สุดของเอทานอลและเมทานอลในไวน์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างค่าการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ และค่าการประเมินจากสมการ แสดงว่าการพัฒนาสมการได้ค่าความถูกต้องที่เพียงพอแล้ว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคนิค NIR Spectroscopy สามารถใช้ในการประเมินปริมาณเอทานอลและเมทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้

สมการที่ใช้ประเมินได้จากค่าการดูดซับแสงในช่วงคลื่นแสง 400-2500 นาโนเมตร จากเครื่อง NIR Spectrometer FOSS 6500 โดยใช้หลักการการผ่านของแสง (Transmission)

การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถเผยแพร่การใช้เทคนิค NIR Spectroscopy ในการประเมินปริมาณเอทานอลและเมทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เพื่อรักษามาตรฐานคุณภาพเครื่องดื่ม

สามารถเผยแพร่ให้นักวิชาการและผู้ที่เกี่ยวข้องนำเทคนิคนี้ไปใช้ในการตรวจสอบคุณภาพเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ซึ่งทำให้การประเมินได้อย่างถูกต้อง รวดเร็ว และไม่ทำลายตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- Bangwaek, C., O. Jitham and O. Suwanchom. 2010. Evaluation of amylose content in rough rice, brown rice and milled rice by using near infrared spectroscopy. Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 14th International conference. pp.,
- Birth, G.S., G.G. Dull, W.T. Renfore and S.J. Kays. 1985. Nondestructive spectrophotometric determination of dry matter in onions. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110: 297-303.

Dull, G.G., G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler. 1989. Near infrared analysis of soluble solids in

intact cantaloupe. J. Food Sci. 54: 393-395.

Kawano, S., H. Watanabe and M. Iwamoto. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by

near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 61 (2): 445-451.

Table 1. Performances of samples using in model construction by NIRS

Items	Alcohol	Methanal
Number	231	194
Max-min	0-17	0-0.7
Average	6.76	0.18
Sd	4.29	0.17
Unit	%	%

Table 2 Statistic analysis of models constructing by NIRS to predict the amount of alcohol and methanol in wines

Items	Wavelength (nm)	R	SEC	SEP	Bias	Sd	F
Ethyl Alcohol	400-2500	0.95	1.33	1.41	0.02	4.29	5
Methanal	400-2500	0.95	0.06	0.07	1.21×10^{-5}	0.17	8

R : Regression correlation

SEC: Standard error of calibration

SEP : Standard error of prediction

Sd: Standard deviation

N : number of sample

F : Factor



Figure 1 Ebulliometer

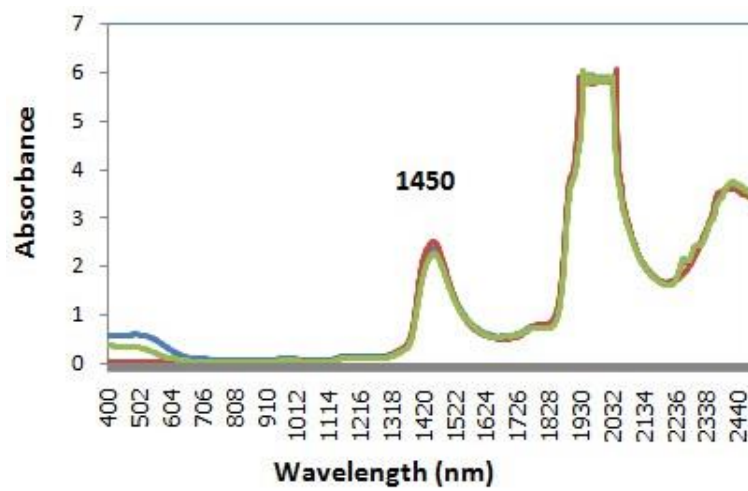


Figure 2. NIR Absorbance at different wavelengths (400 – 2500 nanometer) of various amount of alcohol in wine samples

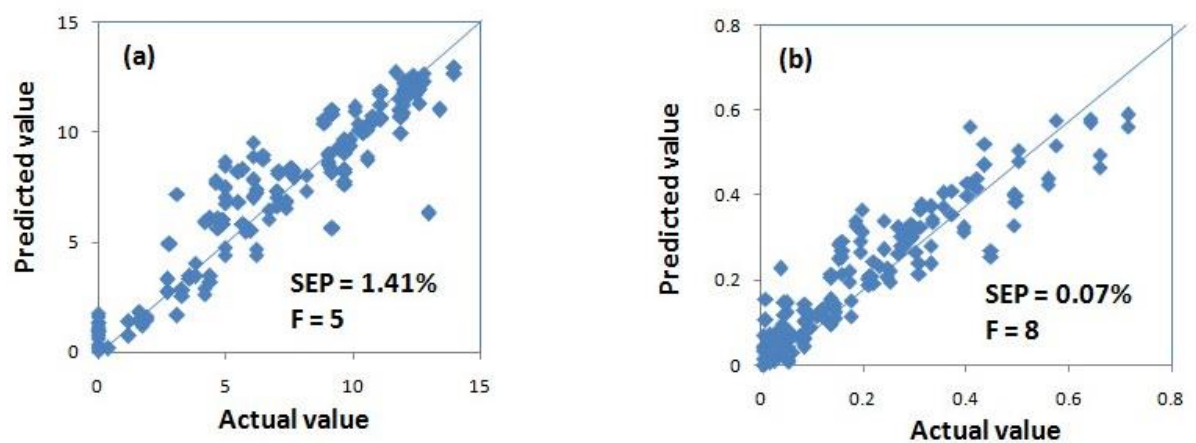


Figure 3. The correlation between actual values from laboratory analysis and predicted values from model (a) ethyl alcohol (b) methanal