Agricultural Sci. J. 44 : 3 (Suppl.) : 458-461 (2013) ว. วิทย. กษ. 44 : 3 (พิเศษ) : 458-461 (2556)

ความเป็นไปได้ในการตรวจหาเอทานอลในน้ำคั้นผลส้มด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

The Possibility of Alcohol Determination in Mandarin Juice by Near Infrared Spectroscopy

ปาริชาติ เทียนจุมพล[1,2] ดนัย บุณยเกียรติ[1,2,3] พิเชษฐ์ น้อยมณี[1,2] และ ศศิเมษ ฟองสา[1,2]

Parichat Theanjumpol[1,2], Danai Boonyakiat[1,2,3], Pichet Noimanee[1,2] and Sasimet Fongsa[1,2]

Abstract

Study of the possibility of alcohol determination in mandarin juice by near infrared spectroscopy (NIRS) was made. Mandarin juice cv. Sai Nam Pueng added with ethanol at the concentration of 100, 500, 1,000 and 1,500 ppm were prepared. Before measuring the spectra by NIRSystem 6500 in the wavelength range from 1100 nm to 2500 nm, they were loaded into 1 mm cuvette cell and pasting cell. The spectral data were transformed with various mathematical techniques for calibration equation development. Partial least squares regression (PLSR) was used by The Unscrambler® version 9.8. The PLSR calibration results of samples in cuvette cell obtaining the values of correlation coefficient (R), standard error of calibration (SEC), standard error of prediction (SEP) and average of difference between actual and NIR values (bias) of 0.99, 75.95 ppm, 75.07 ppm and 1.50 ppm, respectively. In pasting cell test, R was low but SEC, SEP and bias were high. Therefore it was possible to use NIRS for ethanol determination in mandarin juice by loading into cuvette cell.

Keywords: mandarin, ethanol, near infrared spectroscopy

บทคัดย่อ

ศึกษาความเป็นไปได้ของการตรวจหาเอทานอลในน้ำคั้นผลส้มด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (NIRS) โดยเตรียมน้ำคั้นผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งผสมเอทานอล ให้มีความเข้มข้น 100, 500, 1,000 และ 1,500 ppm บรรจุลงใน cuvette cell ขนาด 1 มิลลิเมตร และ pasting cell ก่อนนำไปวัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 ช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร แปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ และพัฒนาสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค partial least squares regression (PLSR) ด้วยโปรแกรม The Unscrambler® version 9.8 ผลของสมการเทียบมาตรฐาน PLSR มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (SEC) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (SEP) และค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (bias) เท่ากับ 0.99, 75.95 ppm, 75.07 ppm และ 1.50 ppm ตามลำดับ สำหรับสมการเทียบมาตรฐานของตัวอย่างที่บรรจุใน pasting cell พบว่า R มีค่าต่ำ แต่ค่า SEC, SEP และ bias มีค่าสูง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการใช้ NIRS ตรวจหาเอทานอลในน้ำคั้นผลส้มด้วยการบรรจุตัวอย่างใน cuvette cell

คำสำคัญ: ส้มสายน้ำผึ้ง, เอทานอล, เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

คำนำ

เนื่องจากปัจจุบันยังขาดเทคโนโลยีในการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวผลส้มเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับสภาพอากาศของประเทศไทย จึงมีเฉพาะการเคลือบผิวด้วยสารเคลือบผิวเท่านั้น ซึ่งช่วยลดการสูญเสียน้ำแต่ส่งผลให้ผลส้มเกิดกลิ่นและรสชาติที่ผิดปกติ จึงมีคุณภาพไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (นิธิยา, 2547) ทั้งที่ลักษณะภายนอกของผลส้มมีลักษณะผลสดใกล้เคียงกับผลส้มที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ ทำให้ผู้บริโภคตัดสินใจผิดพลาดในการเลือกซื้อ และได้สินค้าที่ไม่ได้คุณภาพตามที่คาดหมาย ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้การประเมินคุณภาพแบบไม่ทำลายผลิตผล (nondestructive) ซึ่งเป็นวิธีการประเมินคุณภาพที่ได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์สั้น ประหยัดแรงงาน ลดต้นทุนการผลิต และลดการสูญเสียผลิตผล (Iwamoto *et al*., 1995) เทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (near infrared

[1] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[1] Postharvest Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Commission on Higher Education, Bangkok 10400

[3] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[3] Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

spectroscopy, NIRS) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีการศึกษาเพื่อนำมาใช้ควบคุมคุณภาพในระบบการผลิตอย่างแพร่หลาย ในงานวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิค NIRS เพื่อประเมินปริมาณเอทานอลในน้ำคั้นผลส้ม แต่การประเมินคุณภาพด้วยเทคนิค NIRS นั้นต้องสร้างสมการเทียบมาตรฐานที่มีความแม่นยำ เพื่อที่จะสามารถทำนายปริมาณเอทานอลในผลส้มได้อย่างถูกต้อง

อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งที่มีอายุเก็บเกี่ยวใกล้เคียงกัน (ไม่ผ่านกระบวนการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวในโรงคัดบรรจุ) มาคั้นน้ำ จากนั้นเตรียมน้ำคั้นให้มีความเข้มข้นของเอทานอลที่ 100, 500, 1000 และ 1500 ppm จำนวน 30 ตัวอย่างต่อระดับความเข้มข้น (ปริมาตร 50 มิลลิลิตร) แล้วจึงบรรจุในเซลล์บรรจุตัวอย่าง 2 ชนิด คือ cuvette cell (ความหนา 1 มิลลิเมตร) และ pasting cell วัดสเปกตรัมด้วยเครื่อง NIRSystem 6500 ชุดอุปกรณ์เสริม transportation module ในช่วงความยาวคลื่น 1100-2500 นาโนเมตร (Figure 1) จากนั้นนำข้อมูลสเปกตรัมและความเข้มข้นของเอทานอลไปหาความสัมพันธ์เพื่อสร้างสมการเทียบมาตรฐานด้วยเทคนิค partial least squares regression (PLSR) ด้วยโปรแกรม The Unscrambler ® version 9.8 (Camo, Oslo, Norway)

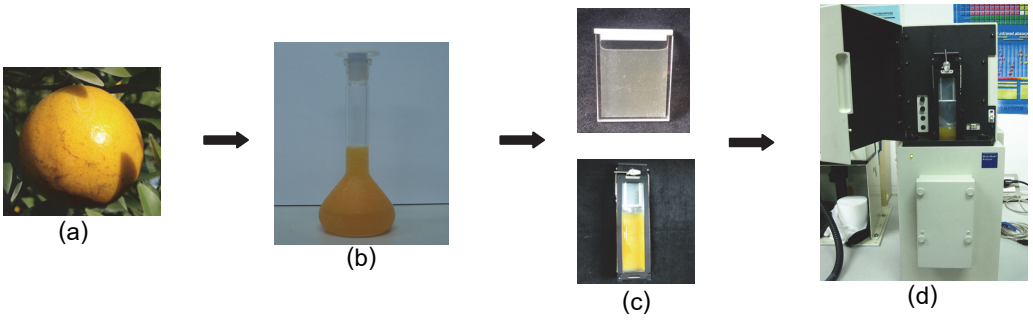

Figure 1 Process of sample preparation and spectra measurement: (a) harvested mandarin, (b) prepared ethanol solution, (c) packed into cuvette cell and pasting cell, and (d) measured the spectra by NIRSystem 6500

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองพบว่า สเปกตรัมดั้งเดิมเฉลี่ยของเอทานอลในน้ำคั้นผลส้มทุกระดับความเข้มข้นที่บรรจุใน cuvette cell มีลักษณะไม่แตกต่างกัน และพบพีกของน้ำอย่างชัดเจนที่ความยาวคลื่น 1454 นาโนเมตร ส่วนที่ความยาวคลื่น 1940 นาโนเมตร พบพีกหัวตัด (Figure 2) เนื่องจากน้ำคั้นผลส้มมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก โดยผลไม้มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก 80-90 เปอร์เซ็นต์ (Gómez *et al*., 2006) ซึ่งสามารถดูดกลืนแสง NIR ได้ดี จึงซ้อนทับพีกขององค์ประกอบอื่นทำให้ไม่สามารถมองเห็นได้ (William and Norris, 2001) โดยเฉพาะพีกของเอทานอล ดังนั้นจึงต้องแปลงข้อมูลสเปกตรัมด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ ได้แก่ Savitzky-Golay smoothing และ Savitzky-Golay second derivative เพื่อลดสัญญาณรบกวนและการซ้อนทับกันของพีก ทำให้พบพีกหัวกลับที่ความยาวคลื่นต่างๆ (Figure 3) ที่ 1420 นาโนเมตร สัมพันธ์กับแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ O-H ในโมเลกุลของสารระเหย (Osborne *et al*., 1993) ส่วน 1914 และ 1966 นาโนเมตร เป็นผลจากการแปลงข้อมูลด้วยเทคนิคทางคณิตศาสตร์ ทำให้ไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นแถบการดูดกลืนแสงของเอทานอลหรือของน้ำ แล้วจึงสร้างสมการเทียบมาตรฐาน พบว่า สมการเทียบมาตรฐานที่สร้างจากข้อมูลสเปกตรัมแปลงข้อมูลด้วย Savitzky-Golay smoothing 10 (20 nm average for left and right sides) ร่วมกับ Savitzky-Golay second derivative 10 (20 nm average for left and right sides) ช่วงความยาวคลื่น 2036-2426 นาโนเมตร มีความแม่นยำค่อนข้างสูงและสูงกว่าการแปลงข้อมูลด้วยเทคนิคใดเทคนิคหนึ่ง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) เท่ากับ 0.99 ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มสร้างสมการ (standard error of calibration, SEC) เท่ากับ 75.98 ppm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มทดสอบสมการ (standard error of prediction, SEP) เท่ากับ 75.07 ppm และค่าเฉลี่ยของผลต่างระหว่างค่าที่ได้จากวิธีอ้างอิงกับค่าที่ได้จาก NIR (averages of difference between actual and NIR values, bias) เท่ากับ 1.50 ppm (Table 1)

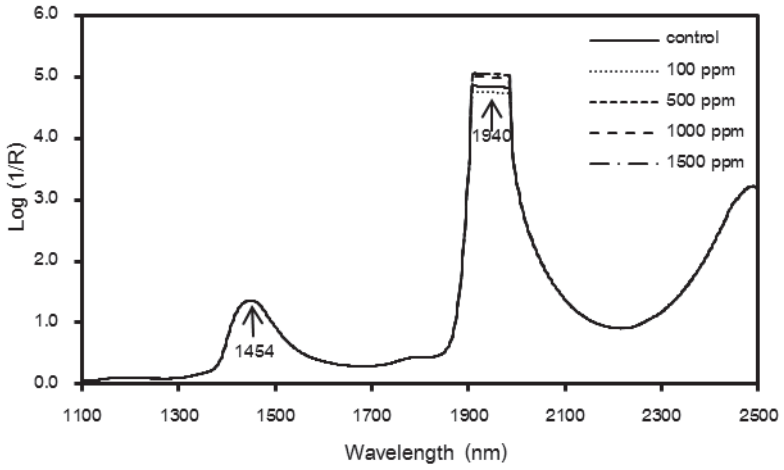

Figure 2 Means original spectra of ethanol solution at various concentrations measuring by NIRSystem 6500 with cuvette cell

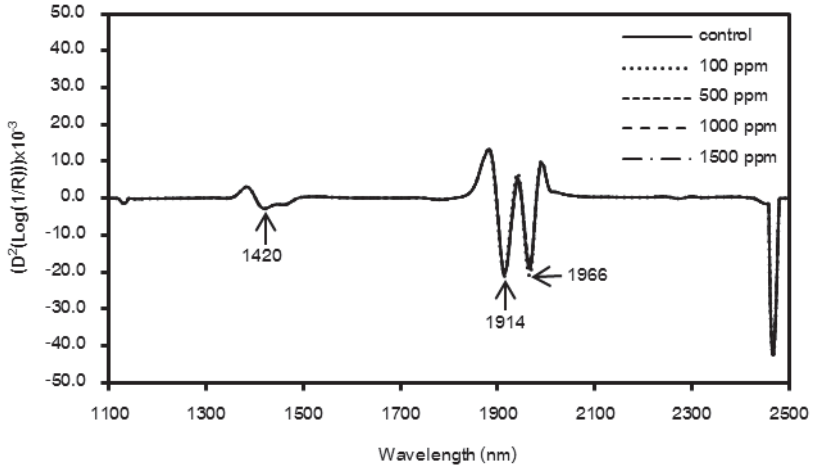

Figure 3 Means treated spectra by smoothing and second derivative of ethanol solution at various concentrations measuring by NIRSystem 6500 with cuvette cell

Table 1 PLSR calibration result of ethanol content in mandarin juice loading in cuvette cell

Pre-treatment	Wavelength region (nm)	F	R	SEC (ppm)	SEP (ppm)	Bias (ppm)
Smoothing 10	2036-2426	5	0.98	85.51	92.76	-3.18
2^{nd} derivative 10	2036-2426	4	0.99	73.52	77.39	4.71
Smoothing 10 + 2^{nd} derivative 10	**2036-2426**	**4**	**0.99**	**75.98**	**75.07**	**1.50**

2^{nd} : second derivative; F: number of factors used in the calibration model; R: correlation coefficient; SEC: standard error of calibration; SEP: standard error of prediction; Bias: average of the difference between actual value and NIR predicted value

ส่วนน้ำคั้นผลส้มที่บรรจุใน pasting cell พบว่าสเปกตรัมดั้งเดิมเฉลี่ยของเอทานอลในน้ำคั้นผลส้มทุกความเข้มข้นมีลักษณะไม่แตกต่างกันและไม่สามารถแยกออกจากกันได้ นอกจากนี้พบว่ามีสัญญาณรบกวนค่อนข้างสูง (noise) ในช่วงความยาวคลื่น 1900 – 2500 นาโนเมตร อย่างไรก็ตามพบพีกของน้ำอย่างชัดเจนที่ความยาวคลื่น 1454 นาโนเมตร (Figure 4) ผล

ของสมการเทียบมาตรฐานที่สร้างด้วยข้อมูลสเปกตรัมซึ่งแปลงด้วยเทคนิค Savitzky-Golay smoothing 10 (20 nm average for left and right sides) ร่วมกับ Savitzky-Golay second derivative 5 (10 nm average for left and right sides) ให้ค่าความแม่นยำค่อนข้างต่ำ โดยให้ค่า R เท่ากับ 0.42 ค่า SEC เท่ากับ 502.83 ppm ค่า SEP เท่ากับ 652.04 ppm และค่า bias เท่ากับ -39.39 ppm เป็นผลจากข้อมูลสเปกตรัมมีสัญญาณรบกวนค่อนข้างสูง ประกอบกับความหนาของตัวอย่างมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงจึงส่งผลต่อความแม่นยำของสมการ (William and Norris, 2001)

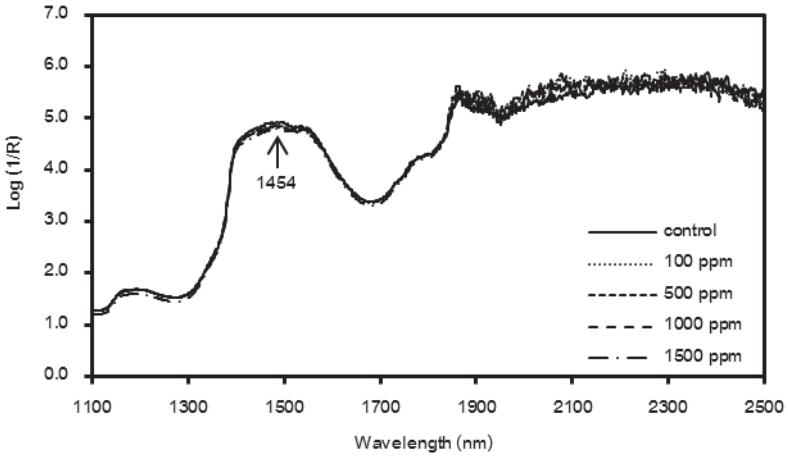

Figure 4 Means original spectra of ethanol solution at various concentrations measuring by NIRSystem 6500 with pasting cell

สรุป

เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี สามารถใช้ตรวจหาปริมาณเอทานอลในน้ำคั้นผลส้มได้ โดยการบรรจุใน cuvette cell และสามารถพัฒนาต่อไปสำหรับใช้กับการวิเคราะห์เชิงปฏิบัติได้ ส่วนการบรรจุน้ำคั้นผลส้มใน pasting cell ไม่เหมาะสมที่จะนำข้อมูลมาใช้สร้างสมการเทียบมาตรฐาน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กทม. 10400 ที่สนับสนุนทุนวิจัย และสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์สำหรับทำการศึกษาวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2547. สารเคลือบผิวที่บริโภคได้. หน้า. 179-196. *ใน*: นิธิยา รัตนาปนนท์ และไพโรจน์ วิริยจารี (บรรณาธิการ). เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 1. TRIO Advertising & Media Co., Ltd., เชียงใหม่.

Gómez, A.H., Y. He and A.G. Pereira. 2006. Non-destructive measurement of acidity, soluble solid and firmness of Satsuma mandarin using Vis/NIR-spectroscopy techniques. Journal of Food Engineering 77: 313-319.

Iwamoto, M., S. Kawano and Y. Ozaki. 1995. An overview of research and development of near infrared spectroscopy in Japan. Journal of Near Infrared Spectroscopy 3: 179-189.

Osborne, B. G., T. Fearn and P. H. Hindle. 1993. Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis. Longman Group UK Limited1986, UK. p 227.

Williams, P. and K. Norris. 2001. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. 2nd (ed). American Association of Cereal Chemists, Inc, USA.