

Katarzyna Sujka, Magdalena Reder, Piotr Koczoń

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII FT-IR DO IDENTYFIKACJI WYBRANYCH NAPOJÓW SPIRYTUSOWYCH

Zakład Chemii Żywności Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. *P. Koczoń*

Zarejestrowano widma w podczerwieni napojów spirytusowych typu: whisky, gin, koniak oraz brandy. Uzyskane dane spektralne poddano analizie dyskryminacyjnej. Znalezione statystycznie istotne różnice w widmach w podczerwieni napojów spirytusowych pozwalające na identyfikację nieznanymi próbek napojów wykorzystując wyłącznie spektroskopię FT-IR.

Hasła kluczowe: spektroskopia w podczerwieni, napoje spirytusowe, analiza dyskryminacyjna

Key words: infrared spectroscopy, spirits beverages, discriminant analysis

Spektroskopia w podczerwieni z transformacją *Fouriera* (FT-IR) wykorzystuje absorpcję promieniowania elektromagnetycznego o określonej długości fali (energii) przez oscylujące cząsteczki. Zaabsorbowana porcja energii powoduje wzrost energii oscylacji atomów połączonych wiązaniami chemicznymi i przejście na poziom wzbudzony. Absorbowanie promieniowania przez cząsteczki jest rejestrowane w postaci widma absorpcyjnego (1,2,3).

Spektroskopia FT-IR w połączeniu z zaawansowanym modelowaniem statystycznym znajduje coraz szersze zastosowanie w badaniu produktów spożywczych. Technika ta posiada wiele zalet takich jak: szybkość, prostota, stosowanie niewielkich ilości badanej substancji, niewielkie zużycie odczynników chemicznych, często mniejsze koszty w porównaniu z innymi technikami, nie powoduje zniszczenia próbki (4,5). W przypadku analizy dyskryminacyjnej szczególnie mieszanin biologicznych może stanowić doskonałą alternatywę dla metod klasycznych polegających na oznaczaniu zawartości danego składnika czy składników. Dzięki tym zaletom może stanowić skuteczne narzędzie kontroli jakości czy też autentyczności produktów spożywczych. Źródła literaturowe (6,7,8) potwierdzają potencjał spektroskopii w podczerwieni w badaniu wyrobów alkoholowych tj. whisky, brandy, rum, tequila, wino czy piwo w zakresie ich klasyfikacji, identyfikacji oraz oceny stopnia dojrzałości.

Zastosowanie danych spektralnych do analizy nieznannej próbki wymaga wcześniejszego opracowania modelu statystycznego. Model taki konstruuje się wykorzystując widma próbek o znanych składzie i znanych właściwościach. Każda próbka będąca mieszaniną pod względem chemicznym ma specyficzny dla niej

skład, który generuje widmo charakterystyczne dla tej mieszaniny. W procedurze PCA (principal component analysis, analiza składowych głównych) dane spektralne są zredukowane do składowych głównych odzwierciedlających największą zmienność danej próbki bez znacznej utraty kluczowych informacji. Fragmenty widma o największej zmienności są wykorzystywane do konstruowania modelu rozdzielającego próbki statystycznie podobne i niepodobne na grupy homogenne. Składowe główne służą jako dane wyjściowe do oceny nieznannej próbki z zastosowaniem odległości *Michelanobisa*. Otrzymuje się model dyskryminacyjny pozwalający na rozróżnienie poszczególnych próbek. W procedurze PLS (partially least square, częściowych najmniejszych kwadratów) składowe główne są korelowane z zawartością określonego składnika, którego ilość jest oznaczana przy pomocy metod referencyjnych. W ten sposób otrzymuje się model referencyjny, który koreluje dane spektralne z danymi odniesienia i pozwala na oznaczenie zawartości danego składnika w nieznannej próbce w oparciu o zarejestrowane dla tej próbki widmo. Wyniki uzyskane przy pomocy takiego modelu mogą mieć dokładność maksymalnie taką jaką ma metoda referencyjna. W przypadku analizy dyskryminacyjnej zastosowanie metod dodatkowych nie jest wymagane, a wyniki opierają się tylko na danych spektralnych.

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie konsumentów napojami spirytusowymi innymi niż wódka. Wzrost zarobków, czy też większa otwartość na inne kręgi kulturowe sprzyja większemu popytowi na droższe trunki, w tym markowe, prawnie chronione (9). Zwiększone zapotrzebowanie na takie napoje prowadzi do obecności na rynku produktów o pogorszonej jakości, a podobnej nazwie oraz tak zwanych „podróbek” produktów oryginalnych.

Celem niniejszej pracy była analiza widm w podczerwieni napojów spirytusowych typu: whisky, gin, koniak i brandy prowadząca do znalezienia statystycznych różnic i podobieństw pozwalających na identyfikację próbek nieznanymi napojów spirytusowych oraz ich rozróżnianie z wykorzystaniem wyłącznie danych spektralnych poprzez opracowanie jednoznacznych modeli statystycznych dopasowujących widma do opracowanego wzorca statystycznego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły cztery typy napojów spirytusowych: whisky (jedenaście rodzajów), koniak (dwa rodzaje), gin (cztery rodzaje) oraz brandy (pięć rodzajów).

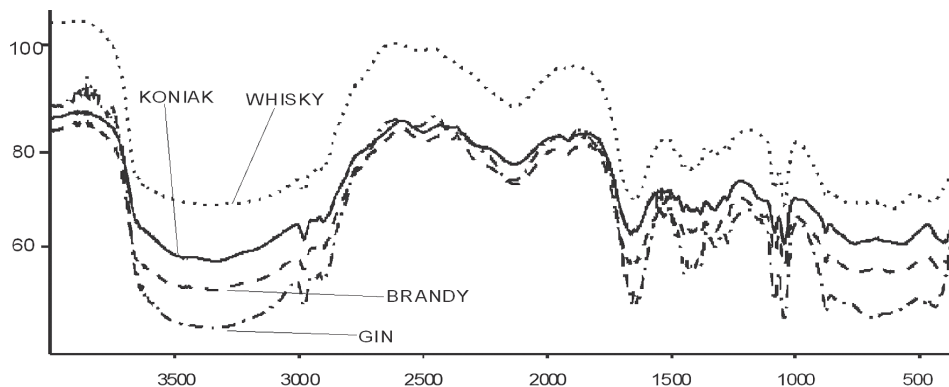
Pomiaru widm dokonano stosując spektrometr System 2000 firmy Perkin Elmer, sterowany przy pomocy programu komputerowego GRAMS Research działającego na platformie Windows 95. Zarejestrowano widma w zakresie spektralnym 4000–370 cm^{-1} techniką transmisyjną w filmie, przy użyciu kryształów z KRS. Dla każdego napoju spirytusowego zarejestrowano 12 widm, a w każdym procesie rejestracji wykonywano 25 skanów. Łącznie zarejestrowano 252 widma. Widma te stanowiły materiał do konstruowania i walidacji modelu statystycznego (12 widm – konstrukcja modelu, 2 widma - walidacja modelu, 1 widmo – nieznaną próbką).

Do analizy uzyskanych danych spektralnych wykorzystano moduł analizy dyskryminacyjnej w programie OMNIC 8. Program ten służy do analizy danych spektralnych a więc konstrukcji, walidacji modelu statystycznego i jest niezbędny każdorazowo do zbadania nieznannej próbki, poprzez wprowadzenie do opracowanego modelu danych spektralnych (widma) tej próbki.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Przykładowe widma IR stanowiące materiał badawczy są przedstawione na rysunku 1. Zamieszczono tu cztery widma: koniaku, whisky, brandy i ginu. Każde widmo to widmo „uśrednione” otrzymane z wszystkich widm rejestrowanych dla danego rodzaju napoju spirytusowego. Widmo whisky to widmo „średnie” 132 próbek z 11 rodzajów whisky, widmo koniaku to widmo „średnie” 24 próbek z 2 rodzajów koniaków, widmo brandy to widmo „średnie” 60 próbek z 5 różnych brandy, a widmo ginu to widmo „średnie” 48 widm z 4 różnych ginów. Tak przygotowane i uśrednione widma umożliwiły wizualne poszukiwanie fragmentów, które mogą odpowiadać za zmienność i różnorodność poszczególnych napojów spirytusowych.

Rejestrując widma tego samego materiału badawczego można spodziewać się, że będą one identyczne. Jednakże dwa widma nigdy nie będą w pełni jednakoze ze względu na różne warunki prowadzonego pomiaru, takie jak wilgotność, przygotowanie próbki, wahania spektrometru czy też minimalne różnice w każdej próbce. Jeśli porównuje się z kolei widma próbek różnego materiału spodziewane różnice spektralne są większe. W obu przypadkach, przed porównaniem widm konieczna jest ich wstępna korekta. Z tego powodu zarejestrowane widma użyte do konstrukcji treningowego zestawu były poddane obróbce wstępnej tj. korekcji linii bazowej, korekcji offset (dla każdej próbki punkt pomiarowy przy



Rycina 1. Średnie widma IR w zakresie $4000 - 370 \text{ cm}^{-1}$, czterech rodzajów badanych napojów spirytusowych

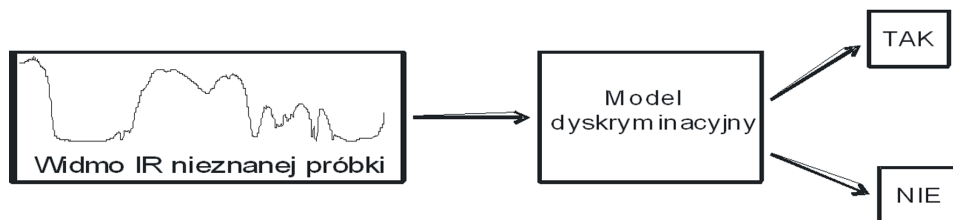
Figure 1. IR spectra of four types of analyzed spirit beverages in range $4000 - 370 \text{ cm}^{-1}$

1840 cm^{-1} miał wymuszoną wartość intensywności równą 60) oraz normalizacji jednostki powierzchniowej. We wszystkich widmach obserwowano charakterystyczne dla wody pasma w zakresie 3500-3300 cm^{-1} . Kształt tych pasm był nieco inny w każdym z przypadków co świadczy o różnym oddziaływaniu cząsteczek wody i cząsteczek substancji rozpuszczonej, ale nie były one używane do budowania modelu. Widma czterech rodzajów napojów spirytusowych były analizowane pod kątem obecności związków innych niż etanol, co oznacza, że poszukiwano różnic w widmach poszczególnych próbek spowodowanych obecnością różnych związków stanowiących pozostałość procesu destylacji lub też dodawanych podczas jednego z etapów procesu technologicznego. W tym celu widma podzielono na 4 grupy i dla każdej grupy utworzono dyskryminacyjny model statystyczny, w którym analizowano wybrane zakresy spektralne. Dla próbek whisky (łącznie 132 widma) był to zakres 1240-1109 cm^{-1} oraz 842-390 cm^{-1} dla próbek koniaków (łącznie 24 widma) 800-400 cm^{-1} , dla próbek brandy (łącznie 60 widm) 750-400 cm^{-1} , a dla próbek ginów (łącznie 48 widm) 935-405 cm^{-1} . Otrzymano cztery niezależne modele nazwane WHISKY, BRANDY, KONIAK, GIN. Parametry charakteryzujące każdy model są przedstawione w Tabeli I. Modele tworzone każdorazowo w ten sam sposób stosując procedurę modelu dyskryminacyjnego z walidacją krzyżową polegającą na pozostawieniu jednego widma jako nieznanego, z jednym lub dwoma zakresami spektralnymi, z użyciem 12 widm tworzących wyjściową bazę do opracowania modelu.

Tabela I. Parametry charakteryzujące poszczególne modele dyskryminacyjne
Table I. Parameters characterizing individual discriminant models

Model	Liczba czynników	F. Test (rev)	% Wariacji	Wartość własna macierzy
KONIAK	4	0,9263	84,6	4,56x10 ⁻⁷
BRANDY	7	0,9734	89,2	3,21x10 ⁻⁷
GIN	3	0,9822	91,2	5,42x10 ⁻⁷
WHISKY	2	0,9933	80,51	6,39x10 ⁻⁸

Celem analizy dyskryminacyjnej jest jednoznaczna identyfikacja lub określenie jakości nieznannej próbki. W przypadku spektroskopii istnieją dwa główne zastosowania: zbadanie czystości próbki i identyfikacja próbki. W przypadku sprawdzania autentyczności (identyfikacja) metoda analizy dyskryminacyjnej może zastąpić wiele innych bardziej skomplikowanych i kosztownych metod. W efekcie opracowany algorytm zwraca informacje na temat „nieznannej” próbki wskazując na jej statystycznie istotne podobieństwo lub statystycznie istotny brak podobieństwa do próbek wcześniej użytych do konstrukcji algorytmu, o których wiadomo, że spełniają założone kryteria (np. są autentyczne). Obrazowo przedstawia to rycina 2.



Rycina 2. Obrazowy schemat postępowania podczas spektroskopowej analizy dyskryminacji
Figure 2. Schematic diagram presenting procedure in spectroscopic discriminant analysis

Próbki każdego rodzaju napoju spirytusowego tworzyły jedną grupę homogeną. Otrzymano w ten sposób 4 grupy homogenne: whisky, koniak, brandy, gin, a potwierdzenie przynależności do danej grupy dla nieznannej próbki wymagała osiągnięcia wartości odległości *Mahalanobisa* mniejszej niż 1. Odległość *Mahalanobisa* większa od 3 powodowała zaprzeczenie przynależności do danej grupy. Odległości między 1 a 3 były traktowane jako próbki niepewne. W tabeli II przedstawione są wyniki dotyczące zastosowania opracowanych modeli do sprawdzenia różnych próbek. Weryfikacja poszczególnych modeli udowodniła, że można skutecznie z dużym prawdopodobieństwem, w sposób szybki i nieskomplikowany odróżnić napoje spirytusowe klasy whisky, brandy, koniak, gin od każdego z pozostałych badanych napojów, w oparciu jedynie o dane zawarte w widmie w podczerwieni ocenianej próbki. Oznacza to, że wprowadzając dane spektralne (widmo) dowolnego napoju spirytusowego innego niż whisky do modelu WHISKY uzyska się odpowiedź, że próbka nie należy do grupy opisywanej tym modelem (odpowiedź „nie pasuje”). W przypadku wprowadzenia widma napoju typu whisky do modelu WHISKY uzyska się odpowiedź „pasuje” co oznacza, że próbka należy do tej grupy. W ten sposób można ocenić dowolną nieznaną próbkę pod kątem jej przynależności do danej klasy napojów alkoholowych.

W przypadku modelu opracowanego dla napojów klasy koniak (model KONIAK) zaobserwowano największą niepewność po wprowadzeniu do modelu widma napoju typu brandy. 53,2% próbek brandy było zakwalifikowanych jako próbki pasujące do grupy koniaków. Tylko 5,1% próbek whisky była zakwalifikowana jako próbki należące do koniaków. Spośród badanych 60 próbek ginu 0% było kwalifikowanych jako koniaki.

Model BRANDY klasyfikował próbki koniaków jako próbki pasujące do tej grupy w 30,2%. Próbki whisky były przy pomocy tego modelu klasyfikowane jako brandy w 4,5%. Próbki ginu były odrzucane w 100%. Model BRANDY niespodziewanie odrzucił 2% próbek należący w rzeczywistości do tej klasy napojów alkoholowych.

Model WHISKY sklasyfikował 100% napojów typu whisky jako napoje należące do tej grupy. 8,3% koniaków zostało nieprawidłowo zakwalifikowanych do grupy whisky, a tylko 97,2% napojów typu brandy została odrzucona z tej grupy przez model WHISKY.

Model GIN zaakceptował w 100% próbki ginów jako właściwe należące do tej grupy. Pozostałe napoje były w 100% odrzucane przez ten model jako nienależące do tej grupy napojów. Przedstawione wyniki są zaprezentowane w Tabeli II.

Table II. Procentowy [%] udział próbek odrzuconych lub zaakceptowanych do danej grupy napojów spirytusowych przez opracowane modele. Suma w poszczególnych przypadkach nie zawsze wynosi 100, co oznacza, że pozostałe próbki były zakwalifikowane jako niepewne

Table II. Proportions [%] of samples rejected or accepted to given spirit beverages group by the models. In some cases the sum is lower than 100, which means that the rest samples were qualified as possible

Model	koniaki		brandy		gin		whisky	
	odrzucone	zaakceptowane	odrzucone	zaakceptowane	odrzucone	zaakceptowane	odrzucone	zaakceptowane
KONIAK	0	100	53,2	46,7	100	0	93,2	5,1
BRANDY	68,1	30,2	2	98	100	0	93,1	4,5
GIN	100	0	100	0	0	100	100	0
WHISKY	8,3	91,4	97,2	1,7	100	0	0	100

WNIOSKI

Przedstawione wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że spektroskopia FT-IR może być wykorzystywana do identyfikacji klas napojów spirytusowych. Jednakże napoje typu brandy, koniak i whisky wykazują tylko minimalne różnice w składzie chemicznym co powoduje, że opracowane modele mogą „mylić się” klasyfikując nieznane próbki. Można również stwierdzić, że zwiększenie liczby próbek należących do danej klasy napojów spirytusowych powoduje znaczne wzmocnienie siły przewidywania skonstruowanego modelu (model WHISKY zakwalifikował wszystkie próbki whisky do właściwej grupy). W oparciu o model statystyczny, którego przygotowanie stanowi najdłuższy fragment analizy, uzyskanie informacji identyfikujących próbkę jest bardzo szybkie. Niewątpliwą zaletą procedury jest fakt, że nie ma konieczności rozdziału próbki na poszczególne składniki, mimo że pod względem chemicznym jest to mieszanina różnych związków.

K. Sujka, M. Reder, P. Koczoń

THE APPLICATION OF FT-IR SPECTROSCOPY FOR IDENTIFICATION AND
DYSCRIMINATION OF SELECTED SPIRIT BEVERAGES

Summary

FT-IR spectroscopy in combination with multivariate data analysis was used for discrimination and identification of whisky, gin, cognac and brandy. The occurring spectral differences between analyzed spirit beverages suggest that FT-IR spectroscopy might be a useful tool in control of product's originality and quality. For spirit beverages, no sample preparation is required and measurement is rapid. For that reason FT-IR technique is more convenient comparing to conventional methods. Non-destructive character of FT-IR spectroscopy makes possibility to use it in-line and on-line. Obtained here models called BRANDY, KONIAK, WHISKY and GIN predicted with satisfactory precision membership of given unknown spirit beverage to proper group of beverages. Best results were obtained for models GIN and WHISKY. This is due to the fact that for whisky a number of 132 spectra was involved in model building while for GIN the most important is distinctly different chemical composition of this beverage as compared to others.

PIŚMIENNICTWO

1. *McMurry J.*: Chemia organiczna. PWN, Warszawa, 2007; tom II. – 2. *Pigoń K., Ruziewicz Z.*: Chemia fizyczna. PWN, Warszawa, 2005; tom II. – 3. *Szczepaniak W.*: Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, Warszawa, 2008. – 4. *Scotter C.N.G.*: Non-destructive spectroscopic techniques for the measurement of food quality. *Trends Food Sci. Technol.*, 1997; 8(9): 285-292. – 5. *Van de Voort F.R., Sedman J., Ismail A.A.*: A rapid FTIR quality-control method for determining fat and moisture in high-fat products. *Food Chem.*, 1993; 48(2): 213-221 – 6. *Palma M., Barroso C.G.*: Application of FT-IR spectroscopy to the characterization and classification of wines, brandies and other distilled drinks. *Talanta*, 2002; 58: 265-271. – 7. *Pontes M.J.C., Santos S.R.B., Araújo M.C.U., Almeida L.F., Lima R.A.C., Gaião E.N., Souto U.T.C.P.*: Classification of distilled alcoholic beverages and verification of adulteration by near infrared spectrometry. *Food Res. Int.*, 2006; 39:182-189. – 8. *Lachenmeier D.W.*: Rapid quality control of spirit drinks and beer using multivariate data analysis of Fourier transform infrared spectra. *Food Chem.*, 2007; 101: 825-832. – 9. *Wiwala L.*: Ile piją Polacy?. *Agro Przemysł*, 2011; 3-4: 54-57.

Adres: 02-782 Warszawa, ul. Nowoursynowska 166.

Praca była wspierana finansowo z grantu: N N312 463440