รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์เพื่อจำแนกพันธุ์กระเทียม

โดย

ดร.สุชิน ไตรรงค์จิตเหมาะ

21 พฤษภาคม พ.ศ. 2556

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์เพื่อจำแนกพันธุ์กระเทียม

Development of electronic nose system to classify garlic type

ดร.สุชิน ไตรรงค์จิตเหมาะ คณะวิศวกรรมศาสตร์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ประจำปีงบประมาณ 2554

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ม.อบ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร.ภาคภูมิ สมบูรณ์ ภาควิชาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์และโทรคมนาคม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยกรุงเทพ ในคำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ ดร.ครศร ศรีกุลนารถ อาจารย์ประจำภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำและความร่วมมือในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณอาจารย์ทรงพร จึงมั่นคง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่มุ่งมั่นและเพียรพยายามทำให้การวัดและวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง GC-MS เป็นไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณอาจารย์และบุคลากร ภาควิชาวิศวกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์และช่วยเหลือในการใช้เครื่อง GC-MS เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณนายธิติพนธ์ อินทร์งาม และนายวิชิต วินทะไชย นักศึกษาภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ผู้ช่วยจัดหาวัสดุอุปกรณ์และทำให้ระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์เสร็จสมบูรณ์

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การพัฒนาระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์เพื่อจำแนกพันธุ์กระเทียม
(ภาษาอังกฤษ) Development of electronic nose system to classify garlic type

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เกษตรกรรมเป็นอาชีพหลักของประชาชนในประเทศไทย ในแต่ละปีมีพืชผลทางการเกษตรจำนวนมากที่ออกสู่ท้องตลาด ซึ่งพืชผลแต่ละชนิดก็มีหลากหลายสายพันธุ์ทำให้ผู้บริโภคจำนวนไม่น้อยประสบปัญหาในการเลือกซื้อพืชผลทางการเกษตรให้ได้ความต้องการ กระเทียม (Allium Sativum L.) ก็เป็นผลผลิตทางการเกษตรชนิดหนึ่งที่ผู้บริโภคก็มักจะประสบปัญหาในการเลือกซื้อ ในกระเทียมมีองค์ประกอบของซัลเฟอร์ในปริมาณที่สูงมาก โดยมี S-2-propenyl-L-cysteine sulfuroxide (allin) อยู่ถึง 85% ซึ่งส่งผลต่อกลิ่นและคุณลักษณะทางชีวภาพของกระเทียม โดยกลิ่นของกระเทียมเกิดจากการที่เอนไซม์ allinase ทำปฏิกริยากับ allin ทำให้เกิด diallyl thiosulfinate (allicin) ขึ้นมา และเนื่องจากกระเทียมแต่ละพันธุ์จะมีรสและกลิ่นที่แตกต่างกันทำให้กระเทียมบางพันธุ์เป็นที่นิยมของผู้บริโภคอย่างมาก อีกทั้งในอุตสาหกรรมอาหารผู้ประกอบการก็จะเลือกใช้กระเทียมพันธุ์ที่ต้องการเท่านั้นเพื่อควบคุมคุณภาพและสร้างรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของสินค้า แต่ในการเลือกซื้อกระเทียมให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคนั้นยังต้องอาศัยคำยืนยันจากผู้ค้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันหลังจากเปิดเขตการค้าเสรีทำให้กระเทียมจากต่างประเทศหลากหลายพันธุ์ถูกส่งเข้ามาในประเทศไทยจำนวนมาก อีกทั้งยังเกิดปัญหาการแอบอ้างหรือปลอมปนกระเทียมสายพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการและราคาสูงด้วยกระเทียมสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันอีกด้วย โดยปกติแล้วการจำแนกพันธุ์กระเทียมนั้นจะสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ตามอายุการเก็บเกี่ยวหรือจำแนกตามแหล่งที่มาของพันธุ์ซึ่งสามารถดูได้จากขนาดหรือน้ำหนัก สำหรับกระเทียมในประเทศไทยนั้นจะแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทตามอายุการเก็บเกี่ยว ได้แก่ พันธุ์เบา อายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วง 75 - 90 วัน ได้แก่ พันธุ์ศรีสะเกษ, พันธุ์กลางอายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วง 100 - 120 วัน ได้แก่ พันธุ์บางช้าง และพันธุ์เชียงใหม่ และพันธุ์หนัก อายุการเก็บเกี่ยว 150 วันขึ้นไป ได้แก่ พันธุ์พม่าและพันธุ์แม่สาย แต่จากการสืบค้นยังไม่พบข้อมูลที่เพียงพอเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารระเหยของกระเทียมไทย แต่อย่างไรก็ตามเป็นเรื่องยากสำหรับผู้บริโภคที่จะจำแนกกระเทียมต่างสายพันธุ์ที่มีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกัน

จากคุณสมบัติในการตรวจรู้สารเคมีของจมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic nose or Gas sensor or Odor sensor) ประเภทสารกึ่งตัวนำที่ความต้านทานภายในจะแปรผันตามปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารกึ่งตัวนำกับความเข้มข้นของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในก๊าซที่ตรวจวัด ผู้วิจัยมีแนวความคิดที่จะพัฒนาระบบจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยการตรวจรู้กลิ่นของกระเทียมต่างสายพันธุ์ด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ เนื่องจากเป็นระบบวัดที่ไม่ซับซ้อนเหมาะแก่การพัฒนาเพื่อนำมาใช้กับการเกษตรในประเทศ โดยระบบที่ได้นั้นนอกจากจะใช้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมแล้ว ยังสามารถใช้

ในการศึกษาคุณสมบัติของกระเทียมชนิดต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลในการเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวได้อีกทางหนึ่งด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อศึกษาคุณสมบัติของจมูกอิเล็กทรอนิกส์ที่มีต่อกลิ่นของกระเทียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ในท้องถิ่น
2) เพื่อสร้างระบบจำแนกพันธุ์กระเทียม
3) เพื่อหาแนวทางสร้างสำหรับพัฒนาจมูกอิเล็กทรอนิกส์ขึ้นเอง

ระเบียบวิธีวิจัย

ในงานวิจัยนี้เลือกใช้จมูกอิเล็กทรอนิกส์ชนิดสารกึ่งตัวนำในการตรวจรู้กลิ่นของกระเทียม โดยจะใช้จมูกอิเล็กทรอนิกส์หลายตัว (7 ชนิด) ที่มีการตอบสนองต่อสารประกอบทางเคมีที่ต่างกันมาประกอบลงในแผ่นวงจร ระบบสำหรับวัดกลิ่นจากกระเทียมจะถูกออกแบบให้เป็นระบบปิดเพื่อแล้วควบคุมการไหลของอากาศให้ผ่านเซ็นเซอร์ด้วยปั๊มดูดอากาศ นอกจากนี้ในวงจรวัดจะมีการชดเชยผลของอุณหภูมิเพื่อให้เกิดความคลาดเคลื่อนในระดับที่ต่ำที่สุด สัญญาณไฟฟ้าจากเซ็นเซอร์แต่ละตัวที่ได้จะถูกแปลงเป็นสัญญาณดิจิตอลและทำการจัดเก็บลงในคอมพิวเตอร์โดยใช้อุปกรณ์ ADC (Analog to Digital Conversion) จากนั้นเทคนิคการประมวลผลสัญญาณและการวิเคราะห์ทางสถิติ (MATLAB) จะถูกนำมาใช้ในการหาคุณลักษณะเฉพาะของผลตอบสนองทางไฟฟ้าที่ได้จากจมูกอิเล็กทรอนิกส์ของกระเทียมแต่ละชนิด. ค่าคุณลักษณะที่ได้นั้นจะนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิค Principal component analysis (PCA) การทำงานของระบบวัด ระบบจัดเก็บข้อมูล และระบบประมวลผลทั้งหมดจะทำการเชื่อมต่อและจัดการด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่พัฒนาขึ้นเองบนโปรแกรม LabVIEW เมื่อระบบมีความสมบูรณ์แล้ว ในขั้นการทดลองจะนำตัวอย่างกระเทียมในประเทศไทยจาก 3 แหล่ง ได้แก่ อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ, อ.น้ำปาด จ.อุตรดิตถ์ และ อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน ซึ่งเป็นแหล่งปลูกกระเทียมที่มีชื่อเสียง มาทำการเก็บข้อมูลสารระเหยด้วยระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์ที่สร้างขึ้น โดยจะเปรียบเทียบและตรวจสอบองค์ประกอบในสารระเหยของแต่ละตัวอย่างด้วยเครื่อง GC-MS ที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยการเปรียบเทียบไอออนโครมาโตรแกรมเพื่อศึกษาความแตกต่างของสัดส่วนขององค์ประกอบในกลิ่นของกระเทียมแต่ละพันธุ์ นอกจากนี้แล้วเพื่อเป็นการยืนยันว่ากระเทียมตัวอย่างที่นำมาทดสอบนั้นเป็นสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ตัวอย่างจะถูกนำไปหาข้อมูลพันธุกรรม ณ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ในแต่ละวิธีจะถูกนำมาเปรียบเทียบกันเพื่อประเมินการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ และทำการพัฒนาระบบวัดให้เหมาะสมกับการใช้งานจริงต่อไป นอกจากนี้แล้วในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาหาแนวทางเพื่อทดลองพัฒนาจมูกอิเล็กทรอนิกส์ต้นแบบสำหรับวัดสารระเหยจากกระเทียมขึ้นใช้งานเองอีกด้วย

ระยะเวลาทำการวิจัย และแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

กิจกรรม	ระยะเวลา 12 เดือน (เมษายน 2554 - มีนาคม 2555)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. การเตรียมงานวิจัย/ทบทวนศึกษาเอกสาร	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2. กำหนดแผนการ/วิธีการดำเนินงานวิจัย	■	■										
3. ดำเนินงานวิจัย/เก็บข้อมูล		■	■	■	■	■	■	■	■			
3.1 สร้างและพัฒนาระบบวัด		■	■	■	■	■	■	■	■			
3.2 วัดกลิ่นกระเทียมด้วยระบบวัดที่สร้างขึ้น					■	■	■	■	■			
3.3 วัดสารระเหยโดย GC-MS					■	■	■	■	■			
3.4 เก็บข้อมูลพันธุกรรม					■	■	■	■	■			
4.การวิเคราะห์								■	■	■	■	
4.1 วิเคราะห์สัญญาณไฟฟ้าจากจมูกอิเล็กทรอนิกส์								■	■	■	■	
4.2 วิเคราะห์ข้อมูลจาก GC และข้อมูลพันธุกรรม								■	■	■	■	
4.3 เปรียบเทียบข้อมูลจากข้อ 3.2 กับ 3.3								■	■	■	■	
5. จัดทำรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์												■

สรุป

งานวิจัยนี้นำเสนอการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ โดยทำการยืนยันความแตกต่างของพันธุ์กระเทียมที่นำมาจาก 3 แหล่ง ได้แก่ อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ, อ.น้ำปาด จ.อุตรดิตถ์ และ อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน ด้วยการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอหรือไฟโลจีเนติกซึ่งสามารถยืนยันได้ว่ากระเทียมที่นำมาทดสอบเป็นกระเทียมต่างชนิดกัน และจากการหาองค์ประกอบทางเคมีของกลิ่นกระเทียมจากไอออนโครมาโตกราฟที่ได้จากเทคนิค GC-MS พบว่ากระเทียมแต่ละพันธุ์มีสัดส่วนขององค์ประกอบในสารระเหยมีความแตกต่างกัน โดยจากผลการทดลองทั้งสองเทคนิคแสดงให้เห็นกระเทียมลำพูนและอุตรดิตถ์มีความใกล้ชิดกันมากกว่ากระเทียมศรีสะเกษ และอาจกล่าวได้ว่ากระเทียมจากแหล่งปลูกที่ต่างกันจะมีสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันสอดคล้องกับสมมติฐานได้ตั้งไว้ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ ระบบวัดกลิ่นกระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์หรือก๊าซเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นนั้นประกอบไปด้วยก๊าซเซนเซอร์ที่มีความไวต่อสารต่างกันทั้งหมด 7 ตัว และเมื่อทำการทดลองวัดกลิ่นของกระเทียมพบว่าก๊าซเซนเซอร์ที่ตอบสนองต่อสารในกลุ่มแอลกอฮอล์จะมีความไวในการตอบสนองต่อกลิ่นของกระเทียมไม่สูงนัก ในขณะที่ก๊าซเซ็นเซอร์ที่ตอบสนองต่อแอมโมเนียและโพรเพนมีความไวต่อกลิ่นกระเทียมสูงกว่าก๊าซเซนเซอร์ชนิดอื่น ๆ และเมื่อนำข้อมูลที่ได้วัดกระเทียม 3 ชนิด ๆ ละ 12 ครั้ง มาวิเคราะห์จำแนกพันธุ์โดยเทคนิค PCA พบว่าข้อมูลของตัวอย่างกระเทียมชนิดเดียวกันมีแนวโน้ม

กระจายตัวอยู่ในช่วงค่าองค์ประกอบหลักที่ใกล้เคียงกัน ถึงแม้จะพบการซ้อนกันระหว่างกลุ่มบ้างแต่ก็เห็นแนวโน้มของแต่ละกลุ่มพันธุ์กระเทียมได้อย่างชัดเจน ผลการทดลองนี้ยืนยันความสามารถในการจำแนกพันธุ์กระเทียมจากกลิ่นของกระเทียมด้วยระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์ซึ่งเป็นระบบที่ง่ายและมีค่าใช้จ่ายต่ำเหมาะที่จะพัฒนาเป็นเครื่องมือในการเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรต่อไป

สารบัญ

บทคัดย่อ i

Abstract ii

บทสรุปผู้บริหาร iii

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 1

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 1

1.4 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัยและ ผลงานที่คาดว่าจะได้รับ 2

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 กระเทียม 4

2.2 จมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Gas Sensor) 5

2.3 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) 6

2.4 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 6

2.5 โปรแกรม LabVIEW 8

2.6 Principal Component Analysis (PCA) 8

บทที่ 3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสารระเหยและข้อมูลพันธุกรรมของกระเทียม 9

3.1 การเก็บตัวอย่างกระเทียม 9

3.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกระเทียม 10

3.2.1 ขั้นตอนการทดลอง 10

3.2.2 ผลการทดลอง 13

3.2.3 วิจารณ์ผลการทดลอง 14

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบในสารระเหย 14

3.3.1 ขั้นตอนการทดลอง 15

3.3.2 ผลการทดลอง 15

3.2.3 วิจารณ์ผลการทดลอง 19

บทที่ 4 ระบบวัดกลิ่นและจำแนกพันธุ์กระเทียม 21

4.1 ระบบวัดด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ 21

4.2 การทดลองวัดกลิ่นกระเทียม 23

4.2.1 ขั้นตอนการทดลอง 23

4.2.2 ผลการทดลอง 25
4.3 การวิเคราะห์จำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิค PCA 29
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 31
เอกสารอ้างอิง 33
กิตติกรรมประกาศ 35
ภาคผนวก ก 36

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เกษตรกรรมเป็นอาชีพหลักของประชาชนในประเทศไทย ในแต่ละปีมีพืชผลทางการเกษตรจำนวนมากที่ออกสู่ท้องตลาด ซึ่งพืชผลแต่ละชนิดก็มีหลากหลายสายพันธุ์ทำให้ผู้บริโภคจำนวนไม่น้อยประสบปัญหาในการเลือกซื้อพืชผลทางการเกษตรให้ได้ความต้องการ กระเทียมก็เป็นผลผลิตทางการเกษตรชนิดหนึ่งที่ผู้บริโภคก็มักจะประสบปัญหาในการเลือกซื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันหลังจากเปิดเขตการค้าเสรีทำให้กระเทียมจากต่างประเทศหลากหลายพันธุ์ถูกส่งเข้ามาในประเทศไทยจำนวนมาก การเลือกซื้อกระเทียมให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคจึงเป็นการอาศัยคำยืนยันจากผู้ค้า อีกทั้งยังเกิดปัญหาการแอบอ้างหรือปลอมปนกระเทียมสายพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการและราคาสูงด้วยกระเทียมสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันอีกด้วย โดยปกติแล้วการจำแนกพันธุ์กระเทียมนั้นจะจำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยวหรือจำแนกตามแหล่งที่มาของพันธุ์ ซึ่งหากขาดทักษะความชำนาญก็เป็นเรื่องยากที่ผู้บริโภคจะสามารถจำแนกความแตกต่างได้

จากที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยมีแนวความคิดที่จะพัฒนาระบบจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยการตรวจรู้กลิ่นของกระเทียมต่างสายพันธุ์ด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic nose or Gas sensor or Odor sensor) เนื่องจากเป็นระบบวัดที่ไม่ซับซ้อนเหมาะแก่การพัฒนาเพื่อนำมาใช้กับการเกษตรในประเทศ โดยระบบที่ได้นั้นนอกจากจะใช้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมแล้ว ยังสามารถใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของกระเทียมชนิดต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลในการเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวได้อีกทางหนึ่งด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อศึกษาคุณสมบัติของจมูกอิเล็กทรอนิกส์ที่มีต่อกลิ่นของกระเทียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ในท้องถิ่น

2) เพื่อสร้างระบบจำแนกพันธุ์กระเทียม

3) เพื่อหาแนวทางสร้างสำหรับพัฒนาจมูกอิเล็กทรอนิกส์ขึ้นเอง

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1) สามารถจำแนกกระเทียมสายพันธุ์เบา สายพันธุ์กลาง และสายพันธุ์หนักได้โดยใช้จมูกอิเล็กทรอนิกส์

2) ได้ระบบสำหรับพัฒนาจมูกอิเล็กทรอนิกส์

1.4 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัยและ ผลงานที่คาดว่าจะได้รับ

กิจกรรม	ช่วงเวลา (เดือน)												ผลงานที่จะได้จากกิจกรรม *
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1. การเตรียมงานวิจัย/ทบทวนศึกษาเอกสาร	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2. กำหนดแผนการ/วิธีการดำเนินงานวิจัย	■	■											ได้โครงสร้างระบบวัดและแผนการทดลอง
3. ดำเนินงานวิจัย/เก็บข้อมูล		■	■	■	■	■	■	■	■				
3.1 สร้างระบบวัด		■	■	■	■	■	■	■	■				ระบบวัดกลิ่นกระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์
3.2 วัดกลิ่นกระเทียมด้วยระบบวัดที่สร้างขึ้น					■	■	■	■	■				ได้ข้อมูลสัญญาณไฟฟ้า
3.3 วัดสารระเหยโดย GC					■	■	■	■	■				ได้ข้อมูลปริมาณสารระเหยในกระเทียม
3.4 เก็บข้อมูล DNA					■	■	■	■	■				ได้ข้อมูล DNAของกระเทียม
4.การวิเคราะห์								■	■	■	■		
4.1 วิเคราะห์สัญญาณไฟฟ้าจากจมูกอิเล็กทรอนิกส์								■	■	■	■		ได้คุณลักษณะทางของสัญญาณไฟฟ้าที่วัดได้จากกลิ่นกระเทียม
4.2 วิเคราะห์ข้อมูลจาก GC และข้อมูล DNA								■	■	■	■		ผลเปรียบเทียบระหว่างข้อมูลDNAและปริมาณสารระเหยของกระเทียมแต่ละพันธุ์
4.3 เปรียบเทียบข้อมูลจากข้อ 3.2 กับ 3.3								■	■	■	■		ได้ผลประเมินการจำแนกพันธุ์กระเทียมโดยใช้จมูกอิเล็กทรอนิกส์
5. จัดทำรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์												■	

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ผลผลิต

- บทความที่คาดว่าจะตีพิมพ์ /นำเสนอ เรื่อง "Development of electronic nose system to classify Thai garlic type" คาดว่าจะส่งตีพิมพ์ที่ International Journal of Food Science and Technology หรือ IEEE Sensors Journal หรือ Sensors and Actuators Journal เป็นต้น
- ผลงานเพื่อจดทรัพย์สินทางปัญญา ระบบวัดกลิ่นและจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์

1.5.2 ผลลัพธ์

งานวิจัยนี้มีความมุ่งหวังว่าจะสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนกพันธุ์กระเทียมอันจะเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าของจากการจัดจำหน่ายผลผลิตทางการเกษตรได้ นอกจากนี้ยังเป็นการพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีทางการเกษตรที่ช่วยให้ภาคอุตสาหกรรมสามารถนำไปใช้งานได้จริงและลดค่าใช้จ่ายในการซื้ออุปกรณ์ราคาแพงจากต่างประเทศได้ โดยระบบที่ได้นั้นนอกจากจะใช้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมแล้ว ยังสามารถใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของกระเทียมชนิดต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลในการเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวได้อีกทางหนึ่งด้วย

กระเทียมที่ใช้ในงานวิจัยนี้จะใช้กระเทียมที่หาได้ภายในท้องถิ่น เนื่องจากต้องการจำกัดตัวแปรอื่นที่ควบคุมไม่ได้ให้มากที่สุด กลุ่มตัวอย่างที่ใช้จึงต้องมาจากแหล่งผลิตเดียวกัน ดังนั้นในการดำเนินการวิจัยจึงต้องร่วมมือกับเกษตรกรเพื่อให้ได้กลุ่มตัวอย่างที่มีเงื่อนไขตามต้องการ ผลการวิจัยจะถูกนำไปปรับเทียบกับความชำนาญของเกษตรกรเพื่อนำไปสู่การใช้งานจริงต่อไป

ระบบวัดกลิ่นที่ได้นั้นยังสามารถประยุกต์ใช้ในการจำแนกหรือประเมินผลิตผลทางการเกษตรอื่น ๆ ได้อีก ไม่ว่าจะเป็นหอมแดง หรือ ไม้กฤษณา ฯลฯ และยังประยุกต์ใช้ในการประเมินความสุกของผลไม้ได้อีกด้วย

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระเทียม

กระเทียม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Allium Sativum L. เป็นพืชล้มลุกประเภทอายุยืน มนุษย์รู้จักกระเทียมและนำมาใช้ในการประกอบอาหารและรักษาโรคมาเป็นเวลานับพันปีแล้ว ในกระเทียมมีองค์ประกอบของซัลเฟอร์ในปริมาณที่สูงมาก โดยในสารระเหยของกระเทียมประกอบไปด้วยสารประกอบหลักของ hydrogen sulphide, methyl sulphide, dimethyl sulphide และ allyl sulphide [1] โดยมี S-2-propenyl-L-cysteine sulfuroxide (allin) อยู่ถึง 85% ซึ่งส่งผลต่อกลิ่นและคุณลักษณะทางชีวภาพของกระเทียม โดยกลิ่นของกระเทียมเกิดจากการที่เอนไซม์ allinase ทำปฏิกริยากับ allin ทำให้เกิด diallyl thiosulfinate (allicin) ขึ้นมา ปฏิกิริยาขององค์ประกอบเคมีในกระเทียมนั้นมีความซับซ้อนมากและได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ดังเช่น Yu at el. [2]ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบของสารเคมีในสารระเหยของกระเทียมด้วย GC พบว่าการสกัดสารระเหยด้วยน้ำนั้นทำให้เกิดการสูญเสียส่วนประกอบบางอย่างไป Amagase at el. [3, 4]ได้ศึกษาสรรพคุณของกระเทียมที่มีผลต่อสุขภาพ

ในการศึกษาเปรียบเทียบกระเทียมจากประเทศต่าง ๆ ด้วยองค์ประกอบในสารระเหยโดยวิธี Gas chromatography with flame photometric detection (GC-FPD) พบว่าสารระเหยของกระเทียมจากแต่ละแหล่งมีองค์ประกอบหลักเหมือนกัน แต่ก็มีความแตกต่างในปริมาณสารระเหยบางชนิด [5] นอกจากนี้ในการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารระเหยระหว่างกระเทียมที่มีอายุต่าง ๆ กัน โดย GC-FID และ GC-MS พบว่ากระเทียมอ่อนมีปริมาณของ dially disulfide, diallyl trisulfide, allyl methyl disulfide และ allyl methyl trisulfide มากกว่ากระเทียมที่โตเต็มที่แล้ว [6]

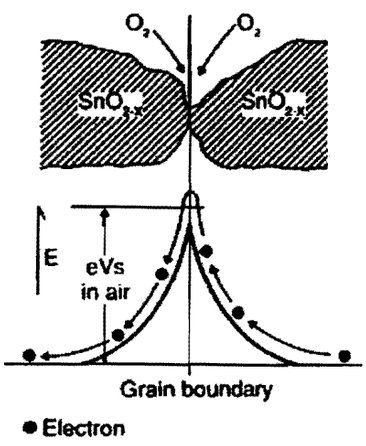
นอกจากนี้แล้วยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดกลิ่นติดปากที่ไม่พึงประสงค์หลังการบริโภคกระเทียมอย่างกว้างขวาง Tamaki at el. ได้ศึกษาเปรียบเทียบกลิ่นของกระเทียมสดและกระเทียมที่ปรุงสุกแล้วหลังการบริโภคโดยเปรียบเทียบผลการวัดจากจมูกอิเล็กทรอนิกส์กับผลที่ได้จาก Gas chromatography ซึ่งพบว่ากระเทียมที่ปรุงสุกแล้วจะมีกลิ่นรุนแรงลดน้อยลง [1].

สำหรับกระเทียมในประเทศไทยนั้นจะแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทตามอายุการเก็บเกี่ยว ได้แก่ พันธุ์เบา อายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วง 75 - 90 วัน ได้แก่ พันธุ์ศรีสะเกษ, พันธุ์กลางอายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วง 100 - 120 วัน ได้แก่ พันธุ์บางช้าง และพันธุ์เชียงใหม่ และพันธุ์หนัก อายุการเก็บเกี่ยว 150 วันขึ้นไป ได้แก่ พันธุ์พม่าและพันธุ์แม่สาย แต่จากการสืบค้นยังไม่พบข้อมูลที่เพียงพอเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารระเหยของกระเทียมไทย

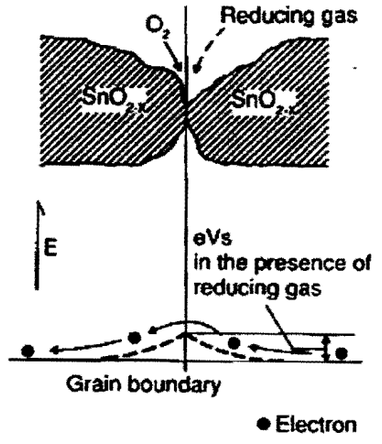
2.2 จมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Gas Sensor)

จมูกอิเล็กทรอนิกส์เป็น Chemical sensor ซึ่งมีหลายชนิดด้วยกัน โดยแต่ละชนิดจะมีหลักการทำงานและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณทางฟิสิกส์หรือเคมีที่แตกต่างกันออกไป ยกตัวอย่าง เช่น ชนิด QCM ที่ใช้หลักการของ Mass sensor ที่มีความถี่ของการสั่นของผลึกควอทซ์ (Quartz) เปลี่ยนแปลงตามปริมาณสารเคมีที่ถูกดูดซับบนผิวของควอทซ์ [7-9] หรือชนิดสารกึ่งตัวนำ (semiconductor type) จะมีความต้านทานภายในแปรผันตามปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารกึ่งตัวนำกับความเข้มข้นของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในก๊าซที่ตรวจวัด เป็นต้น [10-13]

โดยในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะหลักการทำงานของจมูกอิเล็กทรอนิกส์ชนิดสารกึ่งตัวนำซึ่งมีความไวในการวัดสูง แต่ไม่ค่อยได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม สำหรับวัสดุตรวจรู้ (Sensing material) นั้นจะเป็นสารโลหะออกไซด์ โดยทั่วไปคือ SnO_2 (Tin oxide) ซึ่งเมื่อถูกทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิจำเพาะค่าหนึ่ง ออกซิเจนจะถูกดูดซับ (adsorb) บนผิวของผลึกออกไซด์ได้ง่ายขึ้น จากนั้นอิเล็กตรอนผู้ให้ (Donor Electron) ในผิวผลึกจะถูกถ่ายโอนไปยังออกซิเจนที่ถูกดูดซับไว้ ส่งผลให้เหลืออนุภาคประจุบวกในชั้นที่ว่างของประจุ ปรากฏการณ์นี้ทำให้เกิดศักย์ไฟฟ้าขัดขวางไม่ให้พาหะเคลื่อนที่อย่างอิสระตามรูปที่ 2.1 โดยความต้านทานไฟฟ้าของตัวตรวจรู้จะขึ้นอยู่กับค่าศักย์ไฟฟ้านี้ ขณะที่ก๊าซเป้าหมายมีปริมาณมากขึ้น ความหนาแน่นของอนุภาคประจุลบของออกซิเจนจะลดลงส่งผลให้ศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อมีค่าลดลงด้วย ตามสมการที่ 2.1 และรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.1 โมเดลของศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อ (ไม่มีก๊าซรีดิวซ์)



รูปที่ 2.2 โมเดลของศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อ (เมื่อมีก๊าซรีดิวซ์)

$$1/2\,O_2 + (SnO_{2-x}) \rightarrow O^- ad(SnO_{2-x})$$
$$CO + O^- ad(SnO_{2-x}) \rightarrow CO_2 + (SnO_{2-x}) \qquad (2.1)$$

ดังนั้นความต้านทานของตัวตรวจรู้ก็จะมีค่าลดต่ำลง ซึ่งกล่าวได้ว่า ค่าความต้านทานที่เปลี่ยนไปนี้จะเป็นสัดส่วนผกผันกับความเข้มข้นของก๊าซเป้าหมาย ดังสมการ

$$R_s = A[C]^{-\alpha} \quad (2.2)$$

เมื่อ R_s, A, C และ α คือ ค่าความต้านทานไฟฟ้าของตัวตรวจรู้ ค่าคงที่ ความเข้มข้นของก๊าซ และความชันของกราฟ R_s ตามลำดับ

จากคุณสมบัติในการตรวจรู้สารเคมีของจมูกอิเล็กทรอนิกส์นี้ นอกจากจะถูกนำมาใช้ในการตรวจรู้กลิ่นหรือสารระเหยจากผลไม้แล้ว ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย เช่น การวัดปริมาณแอลกอฮอล์หรือกลิ่นในอาหารและเครื่องดื่ม[14] เป็นต้น

2.3 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) [15]

GC-MS เป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบในสารตัวอย่างโดยอาศัยการเปรียบเทียบ Fingerprint ของเลขมวล (Mass number) กับข้อมูลที่มีอยู่ใน Library โดยสามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (Quantitative analysis) และเชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) GC-MS ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ Gas chromatography และ Mass spectrometry

2.3.1 Gas Chromatography (GC) ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารตัวอย่างที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (Volatile organic compounds) ได้เมื่อถูกความร้อน โดยอาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อ Stationary phase และ Mobile phase องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่

1) Injector คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่อง และระเหยเป็น gas พร้อมกับถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนที่จะเข้าสู่ column อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้แต่ต้องไม่ถูกทำให้สลายตัว (decompose)

2) Oven คือ ส่วนที่บรรจุ column และควบคุมอุณหภูมิของ column ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ถูกฉีด

3) Detector คือส่วนที่จะใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของ detector ที่เลือกใช้

2.3.2 Mass Spectrometry (MS) เป็น Detector ชนิดหนึ่งที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบในสารตัวอย่าง โดยโมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกไอออนไนซ์ในสภาวะสุญญากาศแล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิงและแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ

การวิเคราะห์องค์ประกอบในสารตัวอย่างด้วยเครื่อง GC-MS แม้จะมีข้อดีหลายประการ แต่ก็ยังเป็นเทคนิคที่มีราคาแพงและค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง

2.4 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ [16]

2.4.1 ดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอ (DNA, Deoxyribonucleic acid) เป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต สามารถจำลอง

ตัวเองได้ ดีเอ็นเอทำหน้าที่เก็บรหัสข้อมูลของพ่อแม่และถ่ายทอดสู่รุ่นลูก ดีเอ็นเอประกอบด้วยหน่วยย่อยหรือเบส 4 ชนิด ได้แก่ A (adenine) T (thymine) C (cytosine) และ G (guanine) เรียงต่อกันเป็นสายยาวยึดติดกันโดยมีแกนเป็นน้ำตาลดีออกซีไรโบส (deoxyribose) และฟอสเฟต (phosphate) สายยาวนี้เรียกว่าสายนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ดีเอ็นเอเป็นสายนิวคลีโอไทด์ 2 สายจับกันเป็นเกลียวคู่โดยเบสต่างๆ การจับกันของเบสนั้นจะจับกันแบบเฉพาะเจาะจงโดยพันธะเคมี เบส A จะจับคู่กับเบส T และเบส C จะจับคู่กับเบส G ทำให้ดีเอ็นเอมีรูปร่างคล้ายบันไดเวียน (spiral) การเรียงตัวของเบส A T C และ G ที่ประกอบเป็นสายดีเอ็นเอมีความสำคัญมาก เพราะในที่สุดจะเป็นตัวกำหนดการแปลความหมายออกมาในรูปของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ดีเอ็นเอของพืชนั้นกระจายอยู่ได้หลายแหล่งภายในเซลล์ ได้แก่ ในนิวเคลียส (nucleus) ไมโตคอนเดรีย (Mitochondria) และคลอโรพลาสต์ (chloroplast) โดยทั่วไปในการจัดหมวดหมู่ (classification) และหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogeny) ของพืชชนิดต่าง ๆ นิยมใช้ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ (chloroplast DNA)

2.4.2 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอคือรูปแบบของแถบชิ้นดีเอ็นเอที่ถูกสร้างขึ้นและเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของสิ่งมีชีวิตหนึ่ง ๆ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีได้หลายรูปแบบขึ้นกับเทคนิคที่ใช้ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอต้องสามารถสร้างซ้ำได้และต้องได้ลายพิมพ์เหมือนเดิมทุกครั้ง ส่วนข้อด้อยของลายพิมพ์ดีเอ็นเอนั้น คงจะเป็นเรื่องของค่าใช้จ่าย ซึ่งมีราคาค่อนข้างแพง เหมาะกับการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอเก็บไว้เป็นข้อมูล

2.4.3 เทคนิคการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

เริ่มต้นด้วยการเก็บตัวอย่างพืชอาจเป็นพืชสดหรือพืชแห้งก็ได้ ถ้าเป็นพืชสดควรเลือกใบอ่อน ควรเก็บแยกต้น แยกแหล่งปลูกด้วยถ้าเป็นไปได้ การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอสามารถแบ่งออกเป็นแบบต่างๆ ดังนี้

1) Polymerase chain reaction (PCR) - based methods

เป็นวิธีที่มีการใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลีเมอเรส (polymerase chain reaction) ในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอร่วมด้วย หลักการของ PCR คือ การสังเคราะห์ให้ได้ดีเอ็นเอสายใหม่ปริมาณสูงขึ้นในหลอดทดลอง โดยตั้งต้นจากดีเอ็นเอต้นแบบ (template DNA) ในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งมีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน ได้แก่ a) ไพร์เมอร์ (primers) ซึ่งเป็นนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ b) เอนไซม์ DNA polymerase เป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการนำเบสต่าง ๆ มาต่อกันทำให้สายดีเอ็นเอยาวขึ้นและ c) นิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิด คือ dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ซึ่งใช้สร้างดีเอ็นเอสายใหม่ การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีที่มีการใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลีเมอเรสร่วมด้วยนี้สามารถแบ่งออกได้อีกเป็นหลายแบบได้แก่ RAPD (Rapid Amplified Polymorphic DNA), PCR-RFLP (PCR - Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat; Minisatellites, Microsatellites) เป็นต้น

2) Hybridization – based methods

หลังจากตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะและแยกชิ้นดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโตรโฟรีซีสแล้ว ต้องย้ายชิ้นดีเอ็นเอเหล่านั้นไปไว้บนแผ่นฟิลเตอร์ (filter membrane) แล้วนำมาจับ (hybridize) กับตัวตรวจจับ (probe) ที่ติดฉลากด้วยกัมมันตรังสีหรือสารเคมี เมื่อใช้เอนไซม์ชนิดหนึ่งตัดดีเอ็นเอของพืชชนิดหนึ่ง จะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดและจำนวนคงที่เสมอ ถ้าดีเอ็นเอของพืชต่างกันและมีลำดับเบสที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกัน จะได้ขนาดและจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างจากเดิม เรียกว่าเกิดพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) หรือ RFLP ขึ้น

3) Sequencing – based methods

การทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยการหาลำดับเบสเป็นวิธีที่สามารถตรวจสอบความแตกต่างของพืชได้อย่างละเอียด สามารถทราบได้ถึงความแตกต่างของดีเอ็นเอที่อาจเป็นแบบ การแทนที่กันของเบส (substitution) การเพิ่มของเบส (insertion) หรือการขาดหายไปของเบส (deletion) ข้อมูลที่ได้มักนำมาจัดทำเป็นสายความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต (phylogenetic tree) ซึ่งอาจจัดได้ว่าเป็นลายพิมพ์ชนิดหนึ่ง การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยการหาลำดับเบสนี้ใช้ทุนสูง เนื่องจากต้องใช้สารเคมีและเครื่องมือซึ่งมีราคาแพง

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ถูกสร้างขึ้นนั้นมีได้หลายรูปแบบขึ้นกับปัจจัยหลายชนิด รวมทั้งเครื่องมือและเทคนิคที่ใช้ก็เป็นปัจจัยหนึ่งในการกำหนดรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้ การนำลายพิมพ์ไปใช้ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งว่าจะใช้เพื่อการตรวจสอบหรือเพื่อเก็บเป็นข้อมูลเท่านั้น

2.5 โปรแกรม LabVIEW

โปรแกรม LabVIEW (Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench) เป็นโปรแกรมที่ใช้กันมากในทางการวัดและระบบควบคุมซึ่งโปรแกรมที่พัฒนาโดยใช้โปรแกรม LabVIEW จะเรียกว่า Virtual Instrument (VI) หมายถึงเครื่องมือวัดเสมือน ซึ่งใช้ในการจัดเก็บข้อมูล ประมวลผล และแสดงข้อมูลที่จำเป็นเพื่อติดต่อกับผู้ใช้ โดยโปรแกรม LabVIEW จะทำงานแบบ Dataflow ซึ่งไม่เหมือนกับโปรแกรมประยุกต์อื่นที่ทำงานจากบนลงล่าง เช่น Pascal, C เป็นต้น โดย LabVIEW นิยมใช้ในการติดต่อกับเครื่องมือหรือทรานสดิวเซอร์เพื่อใช้วัดสัญญาณทางกายภาพต่าง ๆ

2.6 Principal Component Analysis (PCA)

เทคนิค PCA เป็นการแปลงเชิงตั้งฉาก (Orthogonal transformation) เทคนิคหนึ่งซึ่งจะทำการแปลงตัวแปรจากการสังเกตหรือการวัดไปยังพิกัดใหม่หรือองค์ประกอบมุขสำคัญ (Principal component) ที่เป็นอิสระต่อกัน โดยที่องค์ประกอบมุขสำคัญหลักตัวแรก (First principal component : PC1) จะมีค่าความแปรปรวน (Variance) สูงที่สุดและตัวแปรหลักตัวถัดไปจะมีค่าความแปรปรวนลดหลั่นกันลงไป เทคนิค PCA นี้นิยมใช้ในการจำแนกข้อมูลแบบ Unsupervised และใช้ในการลดขนาดของข้อมูลก่อนนำไปประมวลผลต่อไปอีกด้วย ข้อมูลที่นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCA นี้เป็นค่าแรงดันจากวงจรวัดของเซ็นเซอร์ทั้งห้าตัวที่ได้จากการวัดกลิ่นของกระเทียม

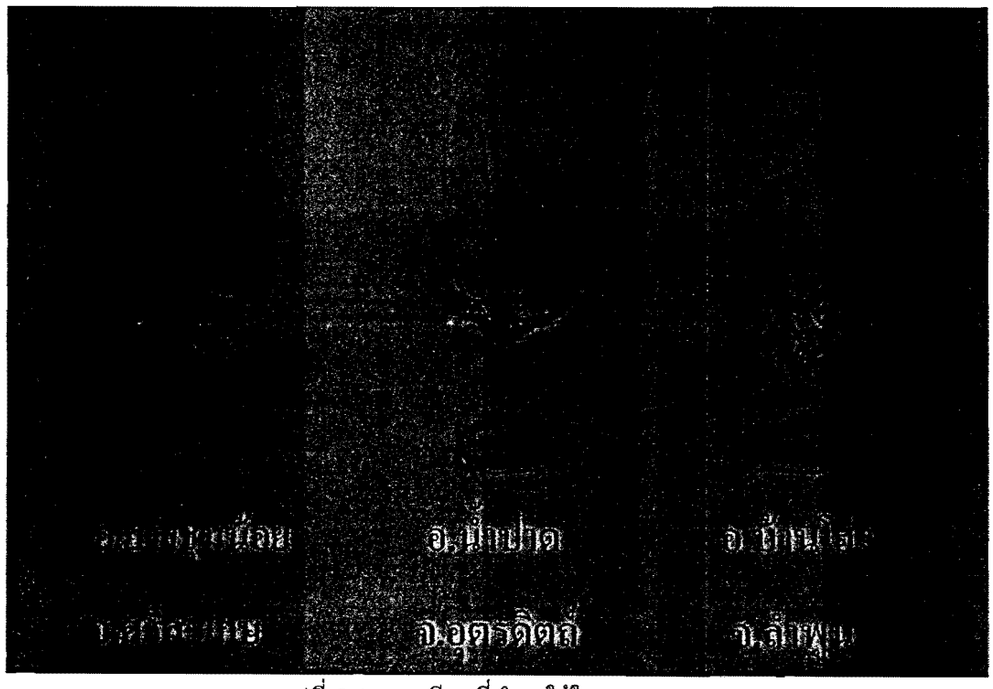
บทที่ 3

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสารระเหยและข้อมูลพันธุกรรมของกระเทียม

ก่อนที่จะกล่าวถึงการวัดกลิ่นของกระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์นั้น ในบทนี้จะกล่าวถึงการตรวจหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเทียมตัวอย่างเพื่อยืนยันความแตกต่างระหว่างพันธุ์กระเทียมด้วยการสร้างไฟโลจีเนติกทรีและทดสอบสมมติฐานว่ากระเทียมต่างพันธุ์กันจะมีองค์ประกอบทางเคมีหรือกลิ่นที่แตกต่างกัน โดยทำการทดลองหาองค์ประกอบทางเคมีในสารระเหยของกระเทียมพันธุ์ต่าง ๆ ด้วยการวิเคราะห์ GC-MS ตามลำดับ

3.1 การเก็บตัวอย่างกระเทียม

ในขั้นการทดลองได้นำตัวอย่างกระเทียมในประเทศไทยจาก 3 แหล่ง ได้แก่ อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ, อ.น้ำปาด จ.อุตรดิตถ์ และ อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน ซึ่งเป็นแหล่งปลูกกระเทียมที่มีชื่อเสียง ดังแสดงตัวอย่างกระเทียมในรูปที่ 3.1 เพื่อความเชื่อมั่นว่าจะได้กระเทียมพันธุ์ที่ปลูกในท้องถิ่นนั้นจริง การจัดหากระเทียมเหล่านี้จะซื้อโดยตรงจากเกษตรกรที่รู้จักในพื้นที่นั้น ๆ มาทำการเก็บข้อมูลด้วยวิธีต่าง ๆ



รูปที่ 3.1 กระเทียมที่นำมาใช้ในการทดลอง

3.2 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของกระเทียม

เพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogeny) ระหว่างกระเทียมตัวอย่างที่มาจากแหล่งปลูกต่าง ๆ กัน ดังนั้นตัวอย่างกระเทียมทั้งหมดจึงถูกนำไปหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ณ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ด้วยวิธี AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

วิธี AFLP นี้เป็นการใช้เทคนิค RFLP และ PCR เข้าด้วยกัน โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะตัดดีเอ็นเอก่อนและเชื่อมต่อดีเอ็นเอด้วย adapter ที่เป็นนิวคลีโอไทด์สายสั้นไม่เกิน 20 เบส แล้วจึงเพิ่มปริมาณด้วย PCR โดยไพร์เมอร์จะจับเฉพาะเจาะจงกับ adapter นั้นๆ จากนั้นจึงแยกชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยใช้พอลิอะคิลาไมด์เจล และจะปรากฏชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเป็นแถบ

3.2.1 ขั้นตอนการทดลอง

3.2.1.1 การสกัดดีเอ็นเอ

1. นำกระเทียมบดในโกร่งที่เย็น โดยเติมไนโตรเจนเหลวแล้วบดให้ละเอียดจนเป็นผง
2. นำตัวอย่างที่บดแล้วใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมบัฟเฟอร์ปริมาตร 600 ไมโครลิตร (CTAB 2%, NaCl 1.4 mM, PVP 2%, EDTA pH 8.0 20 mM, Tris HCl pH 8.0 100 mM และ 2-mercaptoethanol 2%) ซึ่งอุ่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยกลับหลอดไปมา 2-3 ครั้งทุก 15 นาที
3. เติมสารละลายโพแทสเซียมอะซีเตท ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเขย่า แรง ๆ แล้วแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที ในขั้นนี้โปรตีนและโพลีแซคคาไรด์จะตกตะกอนร่วมกับโพแทสเซียมโดเดซีลซัลเฟต เหลือกรดนิวคลีอิกอยู่ในสารละลาย นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที
4. ดูดสารละลายใสส่วนบนปริมาตร 600 ไมโครลิตรย้ายใส่หลอดใหม่ เติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิล (chloroform:isoamyl, 24:1) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยกลับหลอดไปมาประมาณ 20 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
5. ดูดสารละลายใสส่วนบนปริมาตร 600 ไมโครลิตรย้ายใส่หลอดใหม่ เติมสารละลายโซเดียมอะซีเตท pH 5.2 ปริมาตร 50 ไมโครลิตรเขย่าเบา ๆ แล้วเติมเอทานอล 95% ที่เย็นจัดปริมาตร 2 เท่าของสารละลายในหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
6. เทสารละลายส่วนบนทิ้ง แล้วล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล 70% 2 ครั้ง จากนั้นผึ่งตะกอนดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยบัฟเฟอร์ TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8.0) ปริมาตร 20-50 ไมโครลิตร เพื่อละลายตะกอนดีเอ็นเอ

3.2.1.2 การวิเคราะห์เอเอฟแอลพี (AFLP)

นำดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบทำปฏิกิริยาตามขั้นตอนดังนี้

1. การตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะและต่อ adapter ใช้ดีเอ็นเอต้นแบบที่ต้องการตรวจสอบตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิดพร้อมกัน คือ *Eco*RI ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัดจำเพาะที่มีความถี่ในการตัดต่ำ มีตำแหน่งจดจำ 6 เบส และ เอนไซม์ *Mse*I ที่มีความถี่ในการตัดสูง มีตำแหน่งจดจำ 4 เบส ผลจากการตัดด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด จะได้ขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ (1) ชิ้นที่มีปลายทั้งสองด้านถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI (2) ชิ้นที่มีปลายทั้งสองด้านถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Mse*Iและ (3) ชิ้นที่มีปลายด้านหนึ่งถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Eco*RI และอีกด้านหนึ่งถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Mse*I จากนั้นนำ *Eco*RI adapter และ *Mse*I adapter ซึ่งเป็นชิ้นดีเอ็นเอสายคู่สั้น ๆ มาต่อเข้ากับปลายทั้ง 2 ด้านของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เพื่อใช้เป็นตำแหน่งจับของไพรเมอร์ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยการนำดีเอ็นเอต้นแบบ 100-150 นาโนกรัม มาตัดส่วนปลายด้วยเอนไซม์ *Eco*RI และ *Mse*I ชนิดละ 5 ยูนิต พร้อมกับ 10x บับเฟอร์ A 5.0 ไมโครลิตร พร้อมทั้งเติมเอนไซม์ T4 DNA ligase 1 ยูนิต 10 mM ATP 1.5 ไมโครลิตร ร่วมกับ *Eco*RI adapter และ *Mse*I adapter ปริมาณ 5 และ 50 พิโคโมลตามลำดับเพื่อเป็นการต่อเชื่อม adapter เข้ากับปลายดีเอ็นเอต้นแบบ ปรับปริมาตรสุทธิเป็น 30 ไมโครลิตรด้วยน้ำ deionized นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน
2. การทำพีซีอาร์ I หรือ preselective amplification เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเฉพาะส่วนที่ต้องการ ทำโดยนำดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะและต่อกับ adapter เรียบร้อยแล้วมาเจือจางลง 10 เท่าด้วยน้ำ deionize ใช้ดีเอ็นเอที่เจือจางแล้วปริมาตร 1.0 ไมโครลิตร เป็นต้นแบบ ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์กับ *Eco*RI ไพรเมอร์ และ *Mse*I ไพรเมอร์ที่เพิ่มเบสคัดเลือกที่ปลาย 3' จำนวน 1 เบส เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการคัดเลือกชิ้นดีเอ็นเอ ชนิดละ 0.5 ไมโครลิตร (5 ไมโครโมลต่อ28ไมโครลิตร) พร้อมกับ 10x บับเฟอร์(10 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM KCl) 1.0 ไมโครลิตร 1.5 mM MgCl2 0.6 ไมโครลิตร dNTP 2.0 ไมโครลิตร (1 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร) และเอนไซม์ *Taq* polymerase 0.2 ไมโครลิตร (5 ยูนิตต่อไมโครลิตร) ปรับปริมาตรสุทธิเป็น 10 ไมโครลิตรด้วยน้ำdeionize แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยาในเครื่องเพิ่มปริมาณสานพันธุกรรมชนิดควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ โดยใช้โปรแกรมในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ I ดังนี้ 28 รอบ : denature ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 15 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 60 วินาที 1 รอบ : extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 120 วินาที ผลผลิตที่ได้จากการทำ preselective amplification คือ การเพิ่มจำนวนของชิ้นดีเอ็นเอเฉพาะที่มีปลายด้านหนึ่งถูกตัดด้วย *Eco*RI และ ปลายอีกด้านหนึ่งถูกตัดด้วย *Mse*I ในขั้นตอนนี้จะช่วยลดจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการคัดเลือกลง ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้รับการเพิ่มปริมาณในขั้นตอนนี้จะใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการทำ selective amplification ต่อไป
3. การทำพีซีอาร์ II หรือ selective amplification ใช้ดีเอ็นเอจากพีซีอาร์ I ที่เจือจางลง 10 เท่าด้วยน้ำ deionized เป็นต้นแบบในการทำปฏิกิริยา โดยใช้ดีเอ็นเอที่เจือจางแล้วปริมาตร

1.0 ไมโครลิตร เป็นต้นแบบ ทำปฏิกิริยากับ *Eco*RI ไพรเมอร์ และ *Mse*I ไพรเมอร์ที่เพิ่มเบสคัดเลือกที่ ปลาย 3' จำนวน 3 เบส เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการคัดเลือกชิ้นดีเอ็นเอชนิดละ 0.5 ไมโครลิตร (5 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร) พร้อมกับ 10x บัฟเฟอร์(10 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM KCl) 1.0 ไมโครลิตร 1.5 mM MgCl2 0.6 ไมโครลิตร dNTP 2.0 ไมโครลิตร (1 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร) และเอนไซม์ *Taq* polymerase 0.2 ไมโครลิตร (5 ยูนิตต่อไมโครลิตร) ปรับปริมาตรสุทธิเป็น 10 ไมโครลิตรด้วยน้ำ deionize แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยาในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมชนิดควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ โดยใช้โปรแกรมในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ II ดังนี้ 13 รอบ : denature ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 10 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส 30 วินาที (ลดอุณหภูมิลง 0.7 องศาเซลเซียสต่อรอบหลังจากเสร็จรอบแรก) extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 60 วินาที 25 รอบ : denature ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 10 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส 30 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 60 วินาที (เพิ่มเวลารอบละ 1 วินาที)

4. การแยกดีเอ็นเอโดย denaturing polyacrylamide gel

การเตรียมกระจกสำหรับเทเจล

1) นำแผ่นกระจกสำหรับเทเจลมาล้างให้สะอาด แล้วเช็ดด้วยเอธานอล 95 %ให้สะอาดทั้ง 2 แผ่น
2) เช็ดกระจกแผ่นหลังด้วย bind silane (bind silane 1 ไมโครลิตร, glacial acetic acid 2.5 ไมโครลิตร และ เอธานอล 95 % 500 ไมโครลิตร) เพื่อให้เจลเกาะติดกับกระจก
3) กระจกแผ่นหน้าที่มีลักษณะเป็นหูกระต่าย เช็ดให้ทั่วด้วย clear view เพื่อป้องกันไม่ให้เจล เกาะติดกับกระจก ปล่อยให้แห้งประมาณ 5-10 นาที
4) นำกระจกทั้ง 2 แผ่นมาประกอบเข้าชุดกัน โดยวาง spacer ไว้ทั้งสองข้างเพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่างกระจกทั้งสอง โดยหันด้านที่ทา bind silane และ clear view เข้าหากัน ใช้คลิปหนีบยึดให้อยู่คงที่
5) เตรียมโพลีอะครีลาไมด์เจลเข้มข้น 4.5 เปอร์เซ็นต์ โดยนำ 4.5 % acrylamide gel 40 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 10 % 250 ไมโครลิตร และ TEMED (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamide) 20 ไมโครลิตร ผสมในขวดสำหรับเทเจลให้เข้ากัน ระวังอย่างให้เกิดฟองอากาศ
6) เทเจลใส่ลงในช่องระหว่างกระจกจนเต็ม ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ แล้วใส่หวีเข้าด้านบน ปล่อยให้เจลแข็งตัวประมาณ 2 ชั่วโมง

3.2.1.3 การทำอิเล็คโทรโฟรีซีส

1) เมื่อเจลแข็งตัวดีแล้วใช้น้ำล้างกระจกด้านนอกให้สะอาด ดึงหวีออก และประกอบกระจกเข้ากับเครื่องอิเลคโทรโฟริซีส และเติมบัฟเฟอร์ 1x TBE (100 mM Tris HCl pH 8.0, 10mM

boric acid, 2 mM EDTA) ลงในช่องด้านบนและด้านล่าง ระวังอย่าให้มีฟองอากาศอยู่ใต้กระจก

2) ต่อสายไฟเข้ากับเครื่องอิเล็คโทรโฟริซีส เปิดกระแสไฟฟ้าทำ pre-run ที่กำลังไฟฟ้า 60 วัตต์ เป็นเวลา 20-30 นาที จนมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส
3) ปิดเครื่อง ใช้เข็มฉีดยาดูดบัฟเฟอร์มาล้างผิวหน้าของเจล ใส่หวีแบบฟันฉลามโดยให้หวีด้านที่เป็นฟันลงไปสัมผัสกับผิวหน้าเจลเพียงเล็กน้อย และใช้เข็มฉีดยาดูดบัฟเฟอร์ล้างยูเรียที่ช่องหวีแต่ละช่องออกให้หมด
4) หยอดตัวอย่างดีเอ็นเอจากการทำ PCR II ที่เติม sequencing dye (98% formamide, 10 mM EDTA, 0.01% (w/v) bromophenol blue, 0.01% (w/v) xylene cyanal) 5 ไมโครลิตร ปริมาตร 4 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมเจล จากนั้นเปิดเครื่องอิเลคโทรโฟริซีส โดยใช้กำลังไฟคงที่ 60 วัตต์ เป็นเวลา 80 นาที จนกว่าสี xylene cyanol (สีที่อยู่ด้านบน) เคลื่อนที่ลงมาประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของเจล
5) ปิดเครื่อง เทบัฟเฟอร์จากช่องด้านบนออก นำกระจกออกจากเครื่อง แยกกระจกทั้งสองแผ่นออกจากกัน เจลจะติดกับกระจกแผ่นหลังที่เป็นสี่เหลี่ยมตรง นำเจลไปย้อมสีด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท

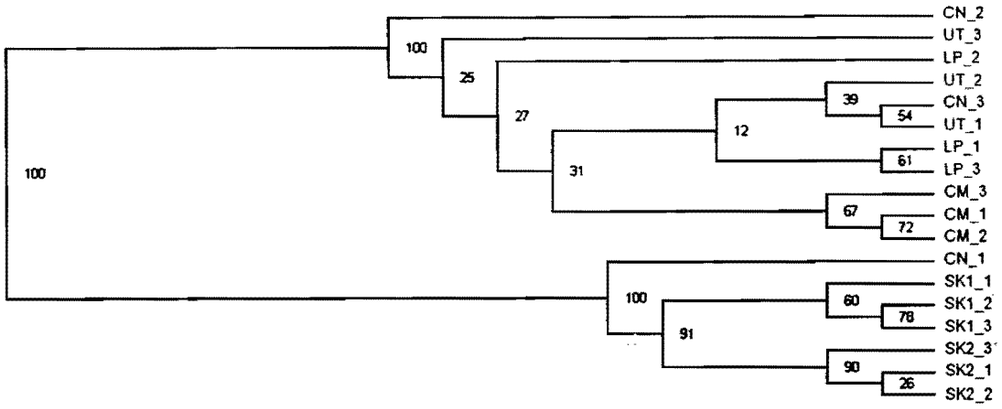
3.2.1.4 การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท

1) นำกระจกเจลมาแช่ย่าในสารละลายกรดอะซีติกเข้มข้น 10 % เป็นเวลา 30 นาที และ ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที บนเครื่องเขย่า
2) นำแผ่นกระจกเจลย้อมด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (1% silver strain, 0.56% formaldehyde) เพื่อย้อมเจลเป็นเวลา 30 นาที กรณีที่ใช้ซิลเวอร์ไนเตรทซ้ำอาจเพิ่มเวลาได้จนถึง 1 ชั่วโมง เขย่าอย่างสม่ำเสมอตลอดเวลา ถาดที่ใช้ย้อมวิลเวอร์ไม่ควรใช้ถาดเดียวกับ fixation เพราะอาจมีการปนเปื้อนของกรดอะซิติก ทำให้ย้อมได้ไม่ดี
3) นำแผ่นกระจกเจลออกล้างด้วยน้ำ deionized อย่างรวดเร็วเพื่อล้างซิลเวอร์ไนเตรทส่วนเกินออก
4) นำแผ่นกระจกเจลใส่ลงในสารละลาย develop (30% sodiumcarbonate, 0.1% sodium thiosulfate, 0.56% formaldehyde) ที่เตรียมใหม่และแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเขย่าอย่างสม่ำเสมอประมาณ 5-10 นาที จนมองเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน
5) หยุดปฏิกิริยาโดยนำแผ่นกระจกเจลใสในสารละลายกรดอะซิติก 10 % เป็นเวลา 3- 5 นาที และล้างด้วยน้ำ deionized 10 นาที ผึ่งให้แห้งในอากาศ
6) นำแผ่นกระจกมาวิเคราะห์ผล

3.2.2 ผลการทดลอง

ตัวอย่างกระเทียมที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ได้แก่ กระเทียมศรีสะเกษ ที่ได้จากแหล่งปลูกที่ 1 (SK1) และ แหล่งปลูกที่ 2 (SK2) กระเทียมเชียงใหม่ (CM), กระเทียมลำพูน (LP) กระเทียมอุตรดิถต์ (UT) และกระเทียมจีนที่หาซื้อจากท้องตลาด (CN) โดยทำการทดลองซ้ำตัวอย่าง

ละ 3 ครั้ง ซึ่งจะแสดงเลขกำกับลำดับครั้งของแต่ละตัวอย่างกระเทียม ยกตัวอย่างเช่น SK1_2 หมายถึง ตัวอย่างกระเทียมศรีสะเกษจากแหล่งปลูกที่ 1 ลำดับที่ 2 ผลการทดลองที่ได้สามารถนำมาสร้างไฟโลจีเนติกทรีแบบมีรากโดยวิธี UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmetic mean) ได้ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ไฟโลจีเนติกทรีแบบมีรากโดยวิธี UPGMA

3.2.3 วิจารณ์ผลการทดลอง

แม้ว่ากระเทียมตัวอย่างจะมีทั้งหมดในการทดลองนี้จะมี 6 ตัวอย่างด้วยกัน แต่ในที่นี้จะขอพิจารณาผลการทดลองเฉพาะของกระเทียมศรีสะเกษ ลำพูน และอุตรดิตถ์เท่านั้น เมื่อพิจารณาไฟโลจีเนติกทรีแบบมีรากในรูปที่ 3.2 จะเห็นว่ากิ่งก้านส่วนล่างนั้นมีแทกซอน (taxon) เป็นกระเทียมศรีสะเกษทั้งหมด โดยตัวอย่างกระเทียมศรีสะเกษจากแต่ละแหล่งปลูกมีความใกล้ชิดกัน และจากไฟโลจีเนติกสามารถกล่าวได้ว่ากระเทียมพันธุ์ศรีสะเกษมีความใกล้ชิดกับกระเทียมพันธุ์อื่น ๆ ในระดับต่ำ หรือกล่าวได้ว่ากระเทียมศรีสะเกษมีพันธุกรรมต่างจากกระเทียมจากพื้นที่ภาคเหนือ เมื่อพิจารณากระเทียมในกลุ่มภาคเหนือ จะพบว่าสามารถแยกกระเทียมจากเชียงใหม่ออกจากกระเทียมจากลำพูนและอุตรดิตถ์ได้อย่างชัดเจน ในขณะที่กระเทียมลำพูนและอุตรดิตถ์มีความใกล้ชิดกันในระดับที่สังเกตได้ แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบในสารระเหย

เพื่อเป็นการทดสอบสมมติฐานที่ว่ากระเทียมแต่ละพันธุ์จะมีองค์ประกอบในสารระเหยแตกต่างกันจึงทำการตรวจสอบองค์ประกอบในสารระเหยของแต่ละตัวอย่างด้วยเครื่อง GC-MS ที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับวัดด้วยเครื่อง GC-MS นั้นจะทำการสกัดเย็นโดยใช้ไนโตรเจนเหลว โดยในเบื้องต้นจะเปรียบเทียบให้เห็นความแตกต่างของปริมาณขององค์ประกอบในกลิ่นของกระเทียมแบบสัมพัทธ์จากการวัดด้วย GC-MS จากนั้นการทดสอบซ้ำเพื่อหาวิเคราะห์เชิงปริมาณจะทำเพิ่มเติมต่อไป

3.3.1 ขั้นตอนการทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

นำกระเทียมสดที่ลอกเปลือกออกและบดด้วยซ้อนจนละเอียดปริมาณ 1 g บรรจุลงในขวด จากนั้นเติม Dichloromethane 5.0 mL เพื่อสกัดองค์ประกอบทางเคมีของกระเทียม และทำการกรองด้วยไนลอนฟิลเตอร์ขนาด 0.2 um นำสารละลายที่กรองแล้วประมาณ 2 uL ฉีดเข้าสู่เครื่อง GC – MS โดยเตรียมตัวอย่างสารละลายของกระเทียมแต่ละพันธุ์ ๆ ละ 3 ตัวอย่าง

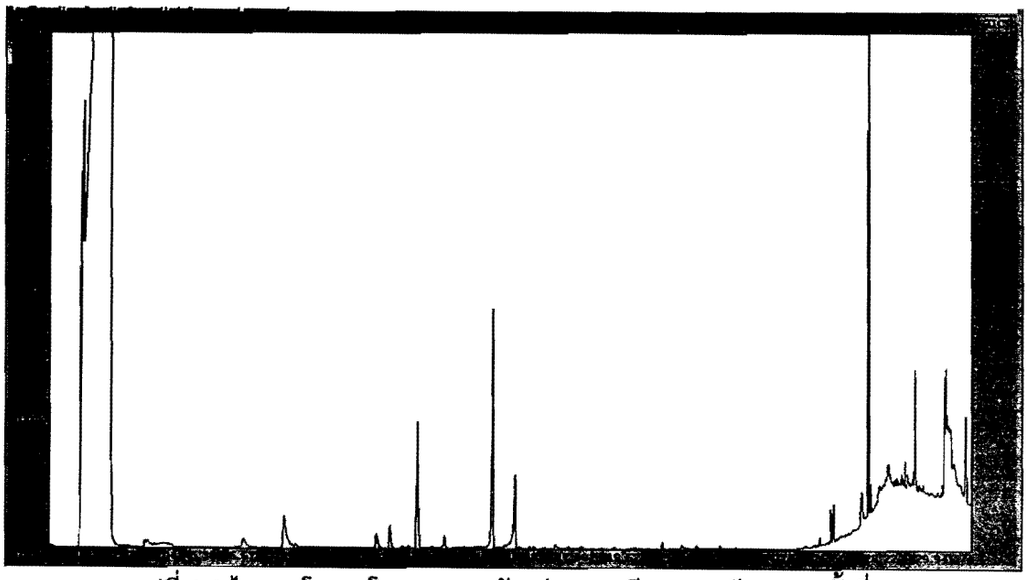
GC – MS

เครื่อง GC – MS ที่ใช้ผลิตโดยบริษัท Agilent ซึ่งประกอบด้วย Network GC system รุ่น 6890N และ Mass selective detector รุ่น 5973 โดยใช้คอลัมน์ DB-5 และใช้ He เป็นก๊าซพาด้วยอัตราการไหล 51 cm/sec และอุณหภูมิของเตาอบจะเพิ่มจาก 50 °C จนถึง 150 °C ด้วยอัตรา 5°C/min และคงค่าไว้ที่ 150 °C เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นอุณหภูมิจะเพิ่มไปเป็น 250 °C ด้วยอัตรา 30°C/min และคงค่าไว้ที่ 250 °C เป็นเวลา 1 นาที โหมด electron ionization (EI) ตั้งค่าไว้ที่ 70 eV

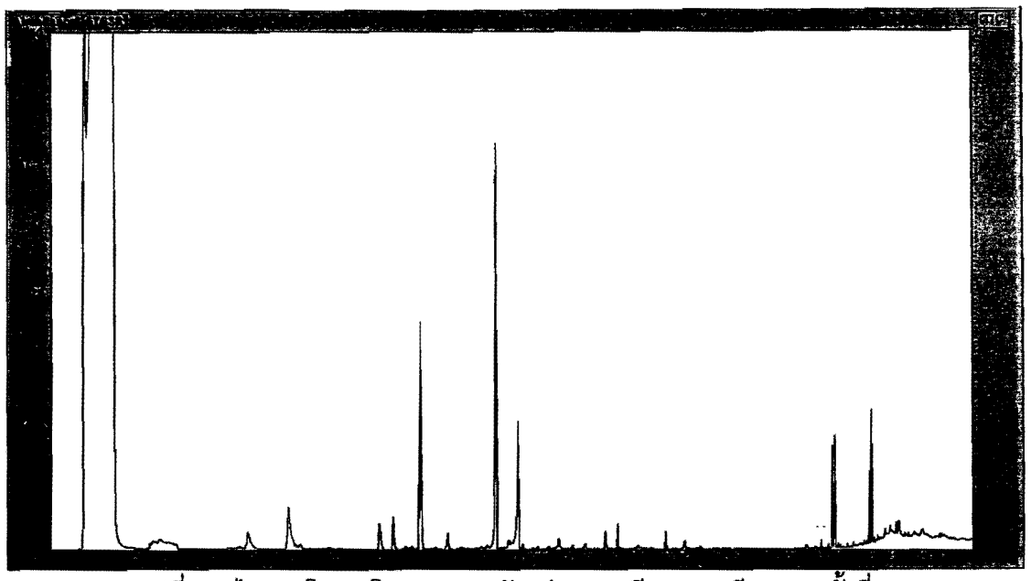
3.3.2 ผลการทดลอง

จากการทดลองฉีดสารละลายที่สกัดจากกระเทียมเข้าเครื่อง GC-MS ตามขั้นตอนที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งผลการทดลองที่ได้จะแสดงด้วยไอออนโครมาโตแกรม (Ion chromatogram) โดยแกนนอนแสดงลำดับเวลาและแกนตั้งแสดงเปอร์เซ็นต์ Abundance ขององค์ประกอบในสารละลาย โดยแต่ละองค์ประกอบในสารละลายจะมีตำแหน่งพีค (Peak) ที่แตกต่างกัน และพื้นที่ใต้กราฟของพีคจะแสดงถึงปริมาณขององค์ประกอบนั้น

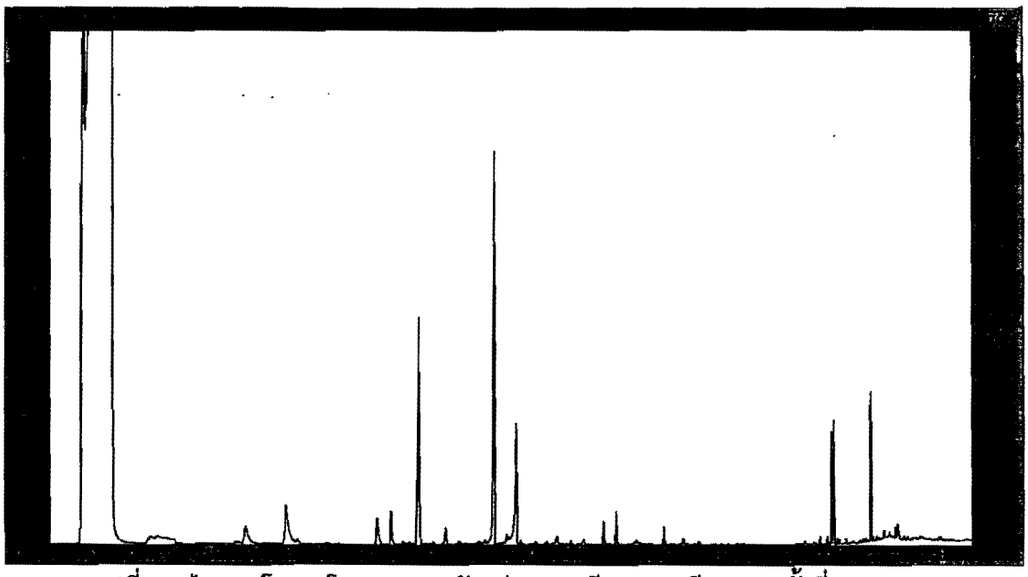
รูปที่ 3.3 – 3.5 แสดงไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษ ครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ



รูปที่ 3.3 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษครั้งที่ 1

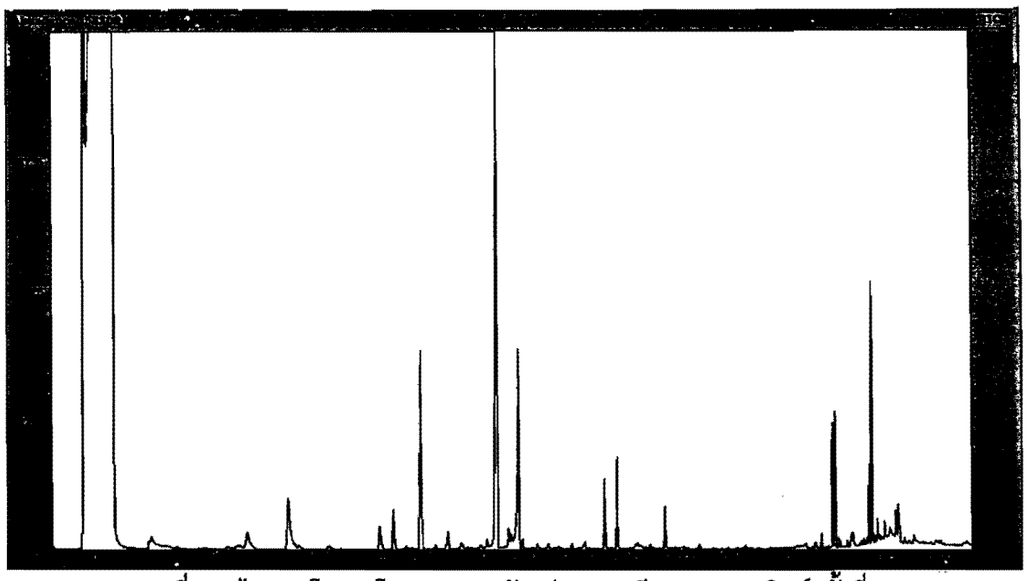


รูปที่ 3.4 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษครั้งที่ 2

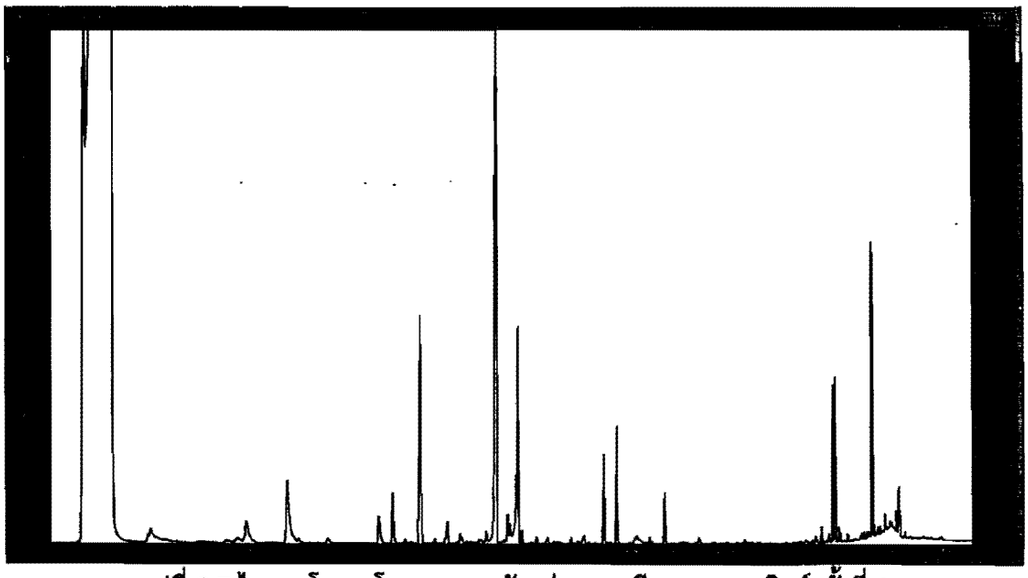


รูปที่ 3.5 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษครั้งที่ 3

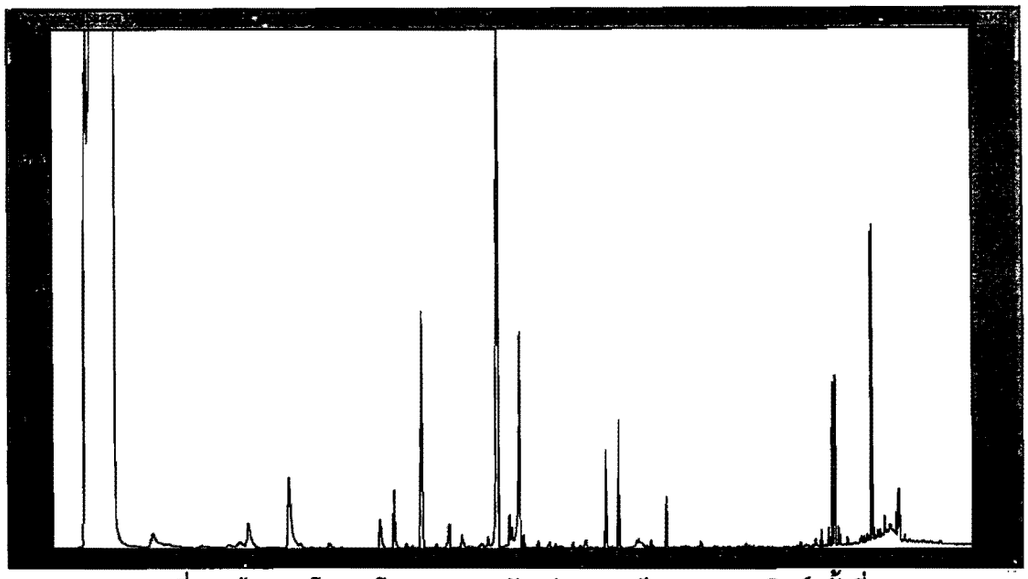
รูปที่ 3.6 – 3.8 แสดงไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ ครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ



รูปที่ 3.6 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ครั้งที่ 1

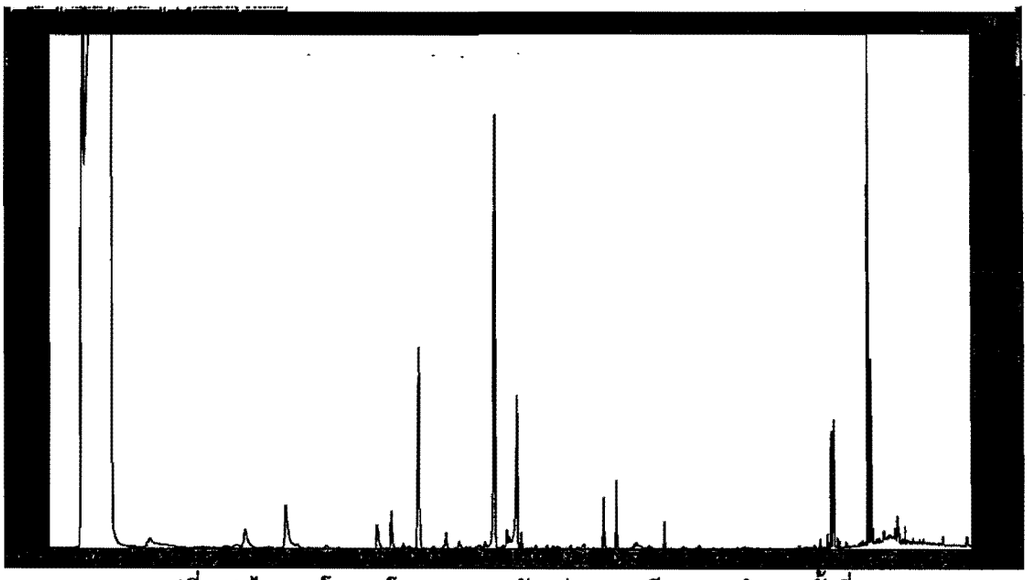


รูปที่ 3.7 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ครั้งที่ 2

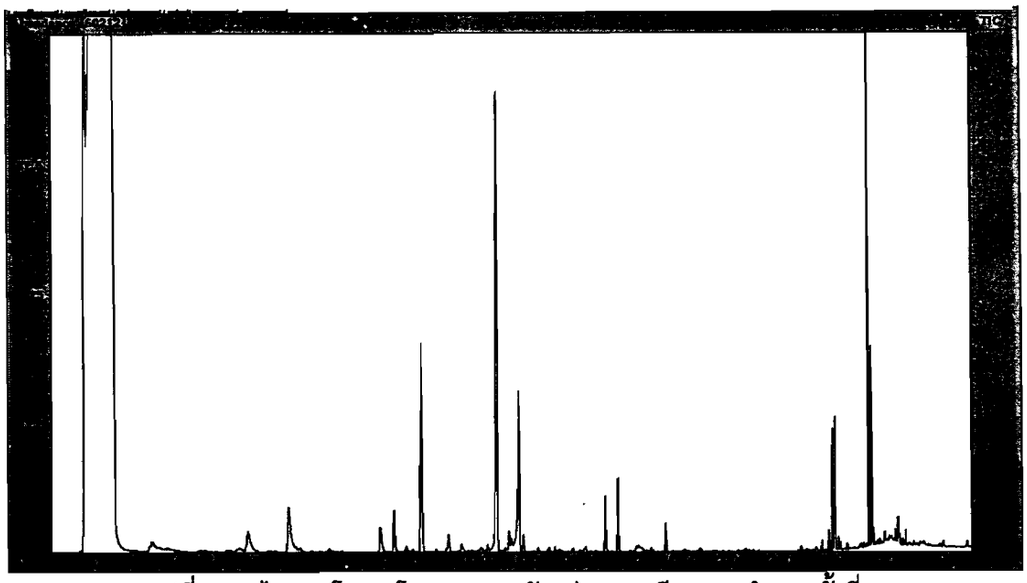


รูปที่ 3.8 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ครั้งที่ 3

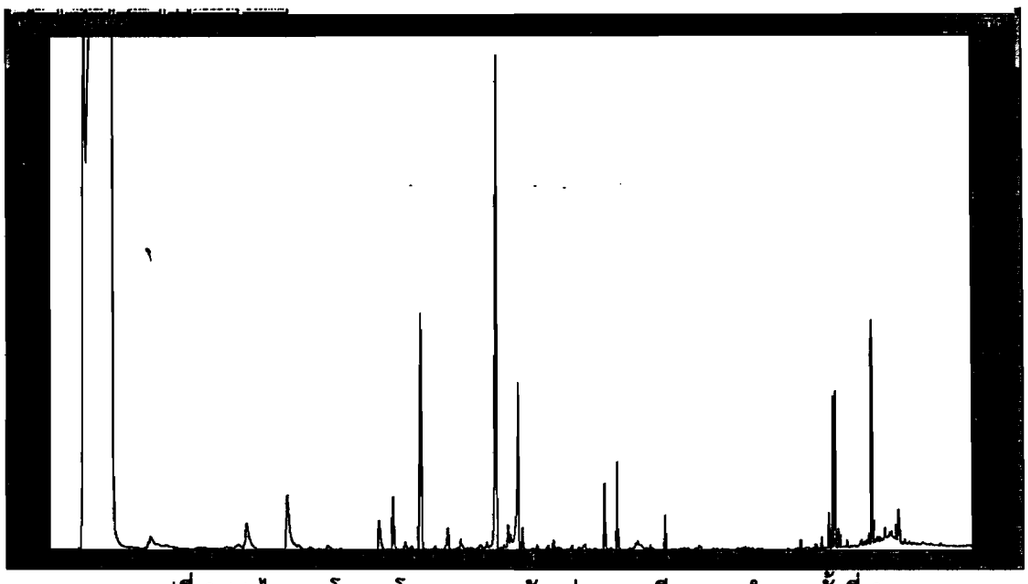
รูปที่ 3.9 – 3.11 แสดงไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูน ครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ



รูปที่ 3.9 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนครั้งที่ 1



รูปที่ 3.10 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนครั้งที่ 2



รูปที่ 3.11 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนครั้งที่ 3

3.2.3 วิจารณ์ผลการทดลอง

โดยทั่วไปแล้วการวิเคราะห์จะเปรียบเทียบผลจากไอออนโครมาโตแกรมที่ได้กับฐานข้อมูลทางเคมี (Library) แต่เนื่องจากโปรแกรมที่ใช้ในการวิเคราะห์นั้นขาดไลบรารีขององค์ประกอบทางเคมีหลักในสารระเหยกระเทียม เช่น 3-Viny-1,2-dithiocyclohex-5-ene, Allyl sufide, 1,3-Benzenedithiol, 2-Vinyl-1,3-dithiane, 2-Vinyl-4H-1,3-dithiin, 3,4-Dihydro-3-vinyl-1,2-

dithiin, 3-vinyl-[4H]-1,2-dithiin, Diallyl disulphide, Methyl allyl disulfide และ Methyl allyl trisulfide เป็นต้น จึงต้องใช้เวลาในการจัดหาแหล่งฐานข้อมูลหรือนำข้อมูลไปวิเคราะห์

อย่างไรก็ตาม จากไอออนโครมาโตแกรมที่ได้จากการทดลองซ้ำสามครั้งของกระเทียมแต่ละพันธุ์จะเห็นได้ว่าไอออนโครมาโตแกรมของกระเทียมแต่ละพันธุ์จะมีรูปแบบที่เหมือนกันทั้งตำแหน่งของพีคและสัดส่วนระหว่างความสูงของพีคที่ตำแหน่งต่าง ๆ และมีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์กระเทียม ยกตัวอย่างเช่น เมื่อหาสัดส่วนระหว่างยอดคลื่นของพีคเวลา 12.74 นาที และที่เวลาประมาณ 14.46 นาที ของกระเทียมศรีสะเกษในรูปที่ 3.3 เปรียบเทียบกับค่าสัดส่วนเดียวกันนี้ที่หาได้จากกระเทียมอุตรดิตถ์ในรูปที่ 3.6 จะพบว่า ค่าสัดส่วนที่ได้จากกระเทียมศรีสะเกษจะมีค่ามากกว่าที่ได้จากกระเทียมอุตรดิตถ์ ในขณะที่ค่าสัดส่วนนี้ของกระเทียมศรีสะเกษและกระเทียมลำพูนจะมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาที่เวลา 19.62 นาที จะพบว่าค่าพีคขององค์ประกอบที่เวลานี้ของกระเทียมลำพูนจะมีค่าสูงกว่าของกระเทียมศรีสะเกษ

นอกจากนี้แล้วผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับผลการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอในรูปที่ 3.3 โดยจะเห็นว่ารูปแบบของไอออนโครมาโตรแกรมของกระเทียมอุตรดิตถ์จะมีความคล้ายคลึงกับของกระเทียมลำพูนมากกว่าของกระเทียมศรีสะเกษ

กล่าวโดยสรุปได้ว่า แม้จะยังไม่สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่แน่นอนได้ แต่จากรูปแบบของไอออนโครมาโตแกรมที่ได้จากผลการทดลองนี้ก็สามารถยืนยันได้ว่าแม้กระเทียมแต่ละสายพันธุ์จะมีองค์ประกอบหลักในสารระเหยเหมือนกันแต่ก็มีในปริมาณที่แตกต่างกัน หรืออาจกล่าวได้ว่าความแตกต่างของสัดส่วนขององค์ประกอบเคมีในกระเทียมแต่ละพันธุ์นั้นเป็นลักษณะเฉพาะของสายพันธุ์นั้น ๆ

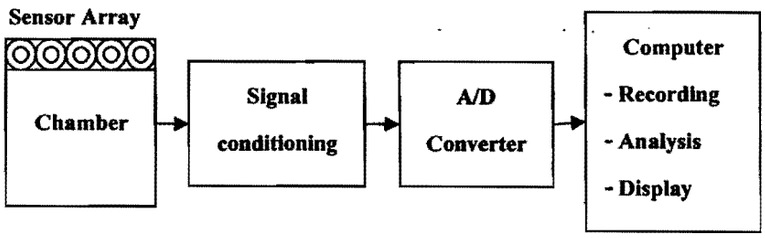
บทที่ 4

ระบบวัดกลิ่นและจำแนกพันธุ์กระเทียม

ในบทนี้จะกล่าวถึงระบบวัดและจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ โดยเริ่มจากการรวบรวมพันธุ์กระเทียมตัวอย่าง การวัดกลิ่นกระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์และการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิค PCA โดยใช้ผลตอบสนองของเซนเซอร์ต่อกลิ่นกระเทียม

4.1 ระบบวัดด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์

ระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์จะใช้กลุ่มของเซนเซอร์ (Sensor array) เพื่อตรวจรู้หรือจำแนกกลิ่น โดยจะพิจารณาจากรูปแบบของตอบสนองของเซนเซอร์ทุกตัวในกลุ่มไม่เฉพาะตัวใดตัวหนึ่ง ในงานวิจัยนี้เลือกใช้จมูกอิเล็กทรอนิกส์ในการตรวจรู้กลิ่นของกระเทียมชนิดทินออกไซด์ (SnO_2) 7 ตัว ที่มีโดเมนความจำเพาะต่อกลิ่นของสารระเหยแตกต่างกันได้แก่ MQ-2, MQ-3, MQ-6, MQ135 (Hanwei Inc., China), TGS2602, TGS2611 และ TGS2620 (Figaro Inc., Japan) ซึ่งค่าความต้านทานของเซนเซอร์เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของก๊าซตัวอย่างที่ทำการวัดดังแสดงในตารางที่ 4.1 ระบบที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบไปด้วยส่วนวงจรวัดและส่วนวิเคราะห์ผลดังแสดงในรูปที่ 4.1

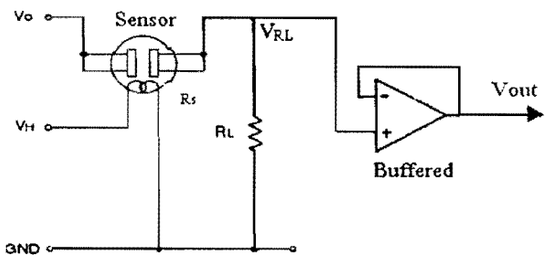


รูปที่ 4.1 ระบบวัดด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์

ตารางที่ 4.1 ชนิดของเซนเซอร์

Sensor	Applications
MQ-2	H_2, LPG, Methane, CO, Alcohol, Smoke, Propane
MQ-3	Alcohol, Benzene, Hexane, LPG, CO
MQ-6	LPG, H_2, Methane, CO, Alcohol
MQ-135	CO_2, NH_3, NO_x, Alcohol, Benzene, Smoke
TGS2602	CH_3, Ethanol, NH_3, Hydrogen sulphide
TGS2611	Methane, Iso-butane, Hydrogen, Ethanol
TGS2620	Ethanol, Hydrogen, Iso-butane, CO, Methane

ในระบบวัดนี้จะวัดสัญญาณตอบสนองของเซนเซอร์เป็นค่าแรงดันจากวงจรแบ่งแรงดัน ซึ่งดังรูปที่ 4.2



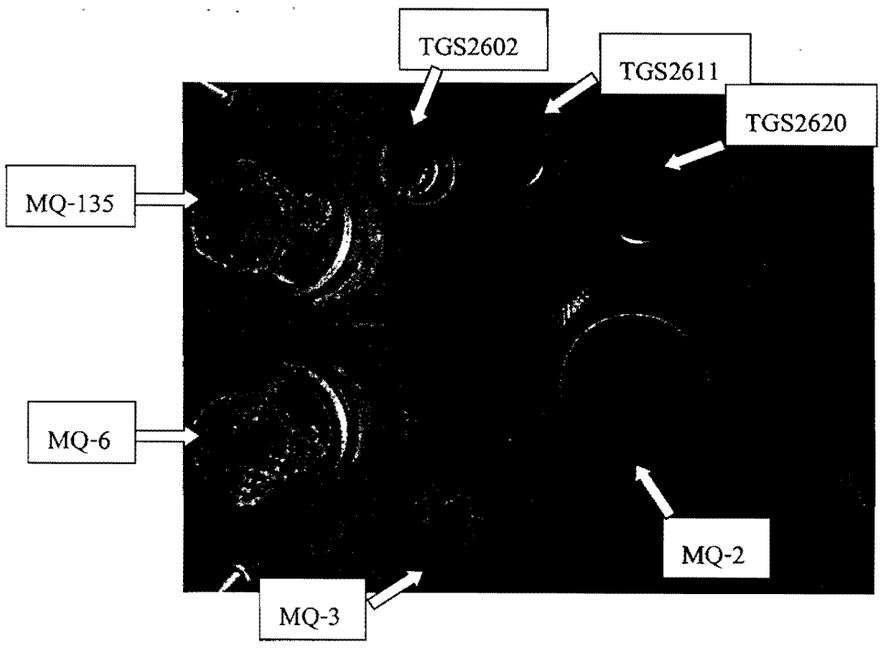
รูปที่ 4.2 วงจรแบ่งแรงดัน

จากรูปที่ 4.2 สัญญาณที่วัดได้คือแรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมความต้านทานโหลด R_L (V_{RL}) ซึ่งความสัมพันธ์ของ V_{RL} กับแรงดันขาเข้า (V_C) จะเป็นไปตามสมการ 4.1

$$V_{RL} = R_L V_C /(R_L + R_S) \quad (4.1)$$

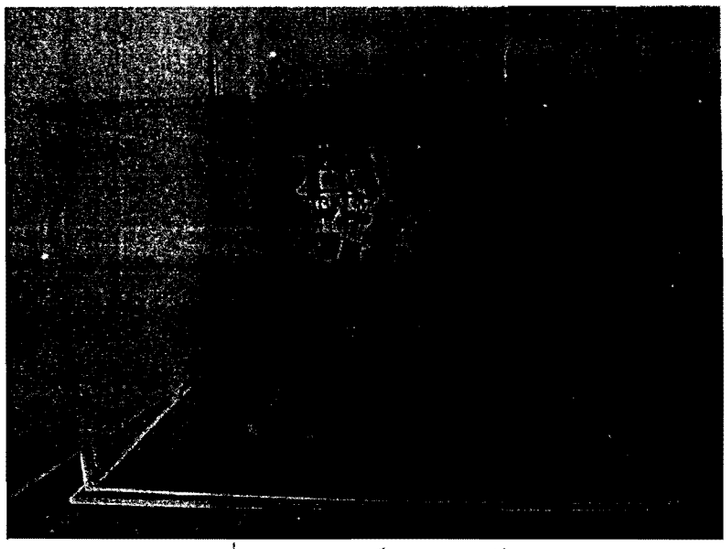
โดยที่ R_S คือความต้านทานภายในของเซนเซอร์ และ R_L คือความต้านทานโหลดที่ต่อในวงจร ในระบบวัดนี้จะวัดสัญญาณตอบสนองของเซนเซอร์เป็นค่าแรงดันจากวงจรแบ่งแรงดัน

การออกแบบวงจรวัดที่ประกอบไปด้วยเซนเซอร์ทั้ง 7 ตัวบนแผ่น PCB ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 วงจรวัดที่ออกแบบ

ในการทดลองจะทำให้ระบบปิดโดยมีแชมเบอร์ (Chamber) สำหรับบรรจุกระเทียมซึ่งประกอบขึ้นจากแผ่นอะคริลิกใสโดยมีขนาดกว้าง 0.15 m ยาว 0.15 m และ สูง 0.10 m โดยมีเซนเซอร์ติดอยู่ที่ฝาด้านบน ดังรูปที่ 4.4 สัญญาณที่ได้จากวงจรวัดจะถูกแปลงเป็นสัญญาณดิจิตอลโดย A/D card (USB6009, National Instrument Inc.) ซึ่งมีความละเอียด 14 บิต ข้อมูลจะถูกเก็บและแสดงผลบนคอมพิวเตอร์ทุกวินาทีตลอดช่วงเวลา 15 นาที ซึ่งควบคุมการทำงานด้วยโปรแกรมที่พัฒนาบน LabView



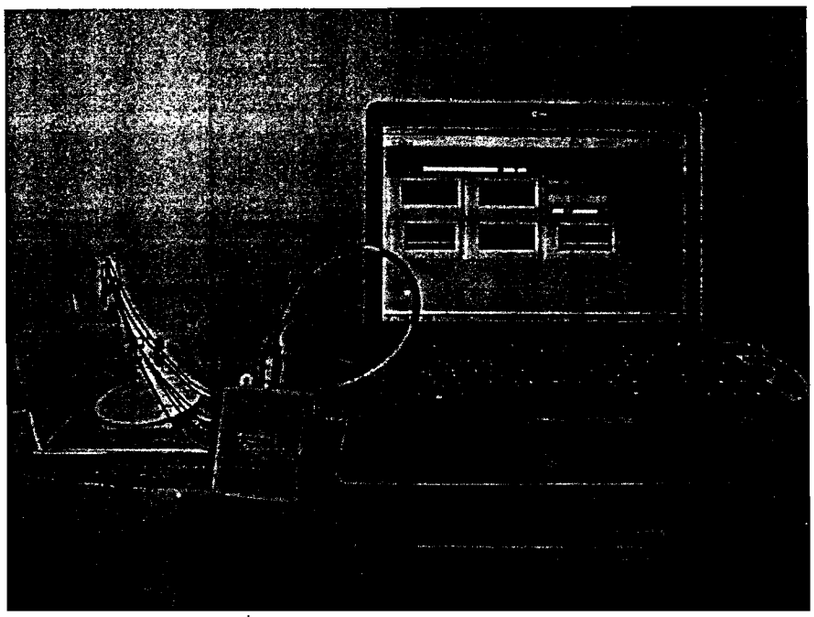
รูปที่ 4.4 แชมเบอร์บรรจุกระเทียม

จากนั้นเทคนิคการประมวลผลสัญญาณและการวิเคราะห์ทางสถิติ (MATLAB) จะถูกนำมาใช้ในการหาคุณลักษณะเฉพาะของผลตอบสนองทางไฟฟ้าที่ได้จากจมูกอิเล็กทรอนิกส์ของกระเทียมแต่ละชนิด ค่าคุณลักษณะที่ได้นั้นจะนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิคการจัดกลุ่มโดยวิธี Principal component analysis (PCA) การทำงานของระบบวัด การจัดเก็บข้อมูล และระบบประมวลผลทั้งหมดจะทำการเชื่อมต่อและควบคุมด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่พัฒนาขึ้นเองบนโปรแกรม LabVIEW

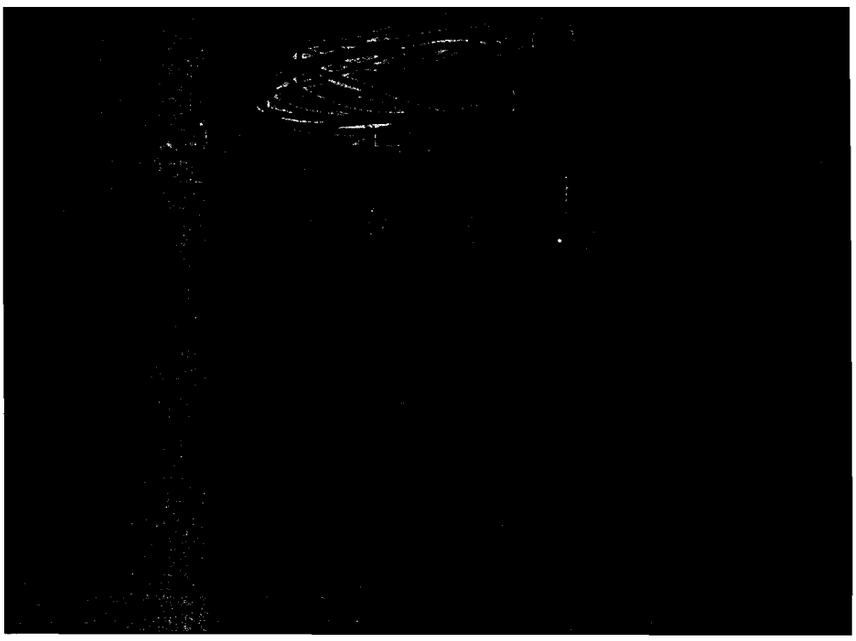
4.2 การทดลองวัดกลิ่นกระเทียม

4.2.1 ขั้นตอนการทดลอง

1. ลอกเปลือกและบดกระเทียม
2. ชั่งกระเทียมที่บดแล้วน้ำหนัก 1 g
3. ตั้งค่าในโปรแกรม LabView กำหนดเวลาในการวัด 15นาที และอัตราสุ่มข้อมูล 1 ครั้งต่อวินาที โดยทำการทดสอบระบบวัดให้อยู่ในสภาวะพร้อมที่จะวัดใช้งานดังรูปที่ 4.6
4. นำกระเทียมที่บดแล้วใส่เข้าไปในระบบวัด ตามรูปที่ 4.7
5. บันทึกและแสดงค่าแรงดันจากเซนเซอร์บนโปรแกรม LabView



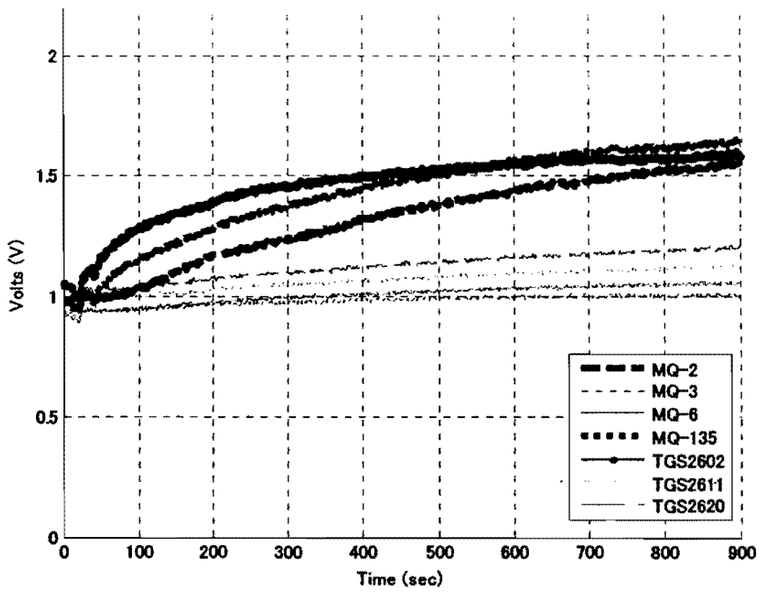
รูปที่ 4.5 ระบบวัดในสภาวะพร้อมใช้งาน



รูปที่ 4.6 ตำแหน่งการวางกระเทียมที่บดแล้ว

4.2.2 ผลการทดลอง

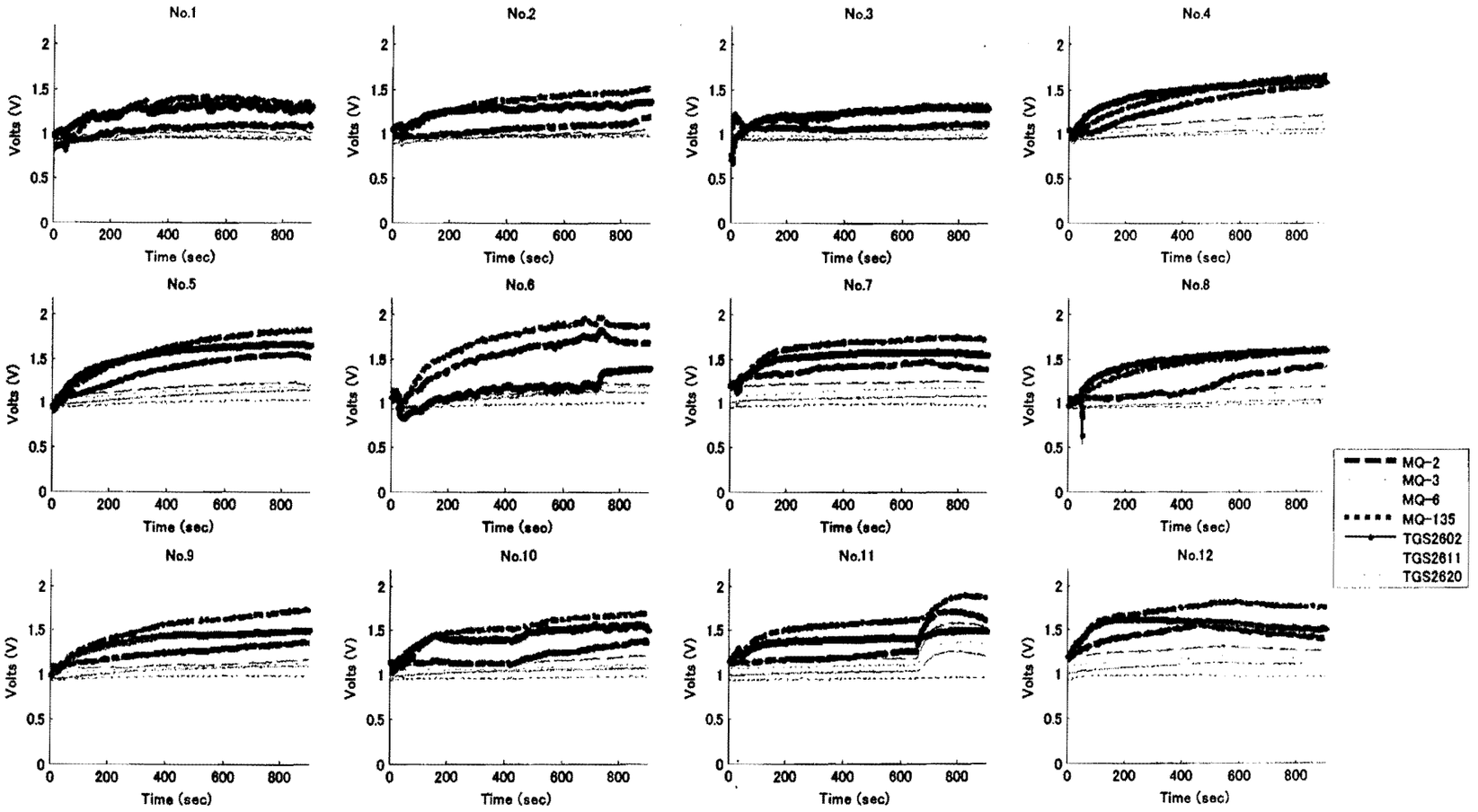
รูปที่ 4.7 แสดงตัวอย่างผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ทั้ง 7 ตัวต่อกลิ่นของกระเทียมศรีสะเกษ จะเห็นว่าเซนเซอร์แต่ละตัวมีความไวในการตอบสนองต่อกลิ่นของกระเทียมต่างกัน สำหรับกลุ่มเซนเซอร์ที่ตอบสนองต่อกลิ่นของกระเทียมสูงคือ TGS2602, MQ-135 และ MQ-2 ตามลำดับ เมื่ออ้างอิงจากตารางที่ 4.1 จะพบว่า TGS2602 และ MQ-135 นั้นแตกต่างจากเซนเซอร์ตัวอื่น ๆ ที่มีการตอบสนองต่อแอมโมเนีย ในขณะที่ MQ-2 เป็นตัวเดียวที่ตอบสนองต่อ Propane ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเซนเซอร์ที่ตอบสนองต่อแอมโมเนียและโพรเพนจะตอบสนองต่อกลิ่นของกระเทียมได้ดี



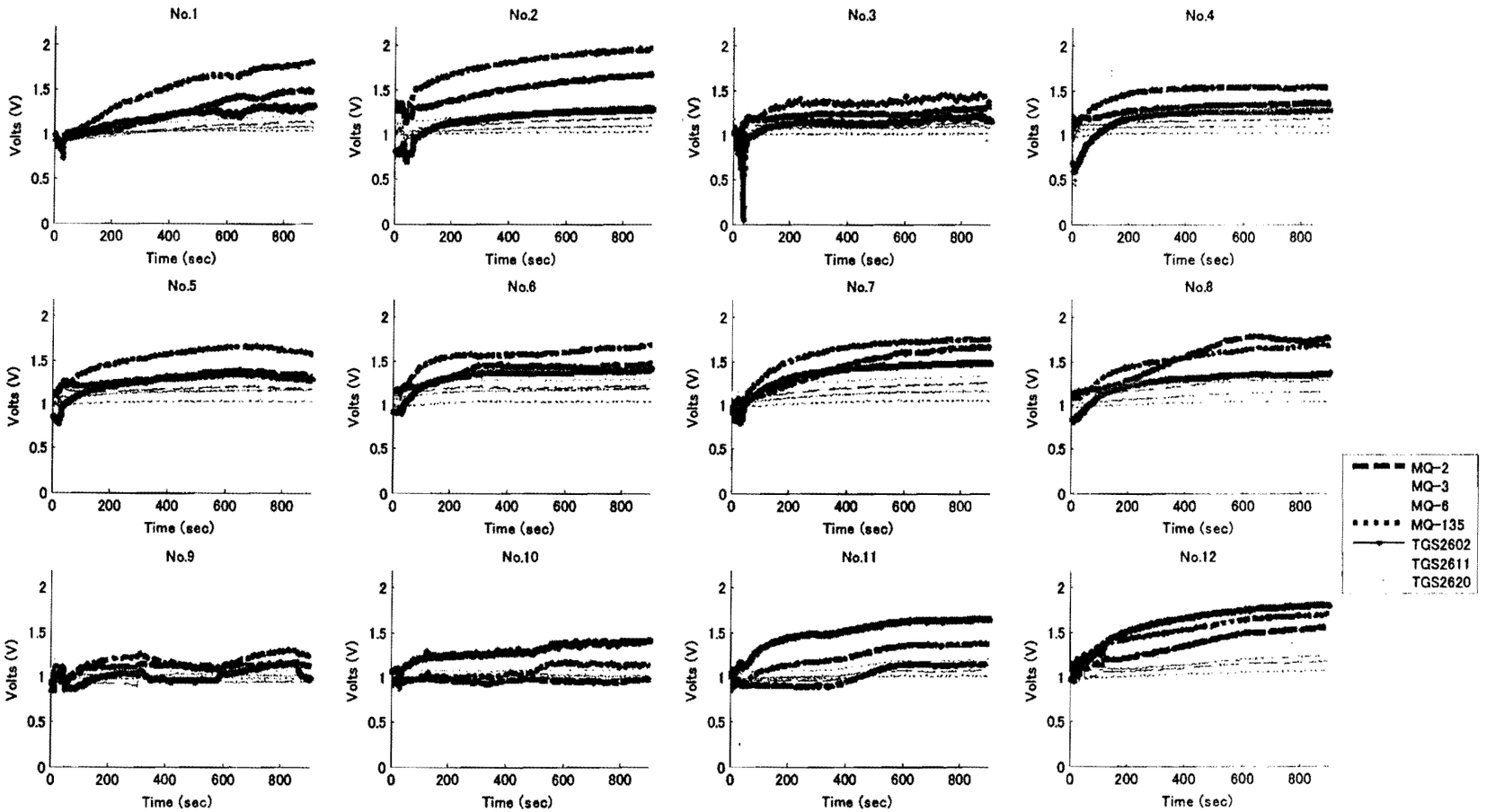
รูปที่ 4.7 ตัวอย่างผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ในการวัดกระเทียมศรีสะเกษ

รูปที่ 4.8 – 4.10 แสดงผลตอบสนองของจมูกอิเล็กทรอนิกส์ทั้ง 7 ตัวต่อกลิ่นของกระเทียมศรีสะเกษ อุตรดิตถ์และลำพูน ตามลำดับ โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัดซ้ำ 12 ครั้ง

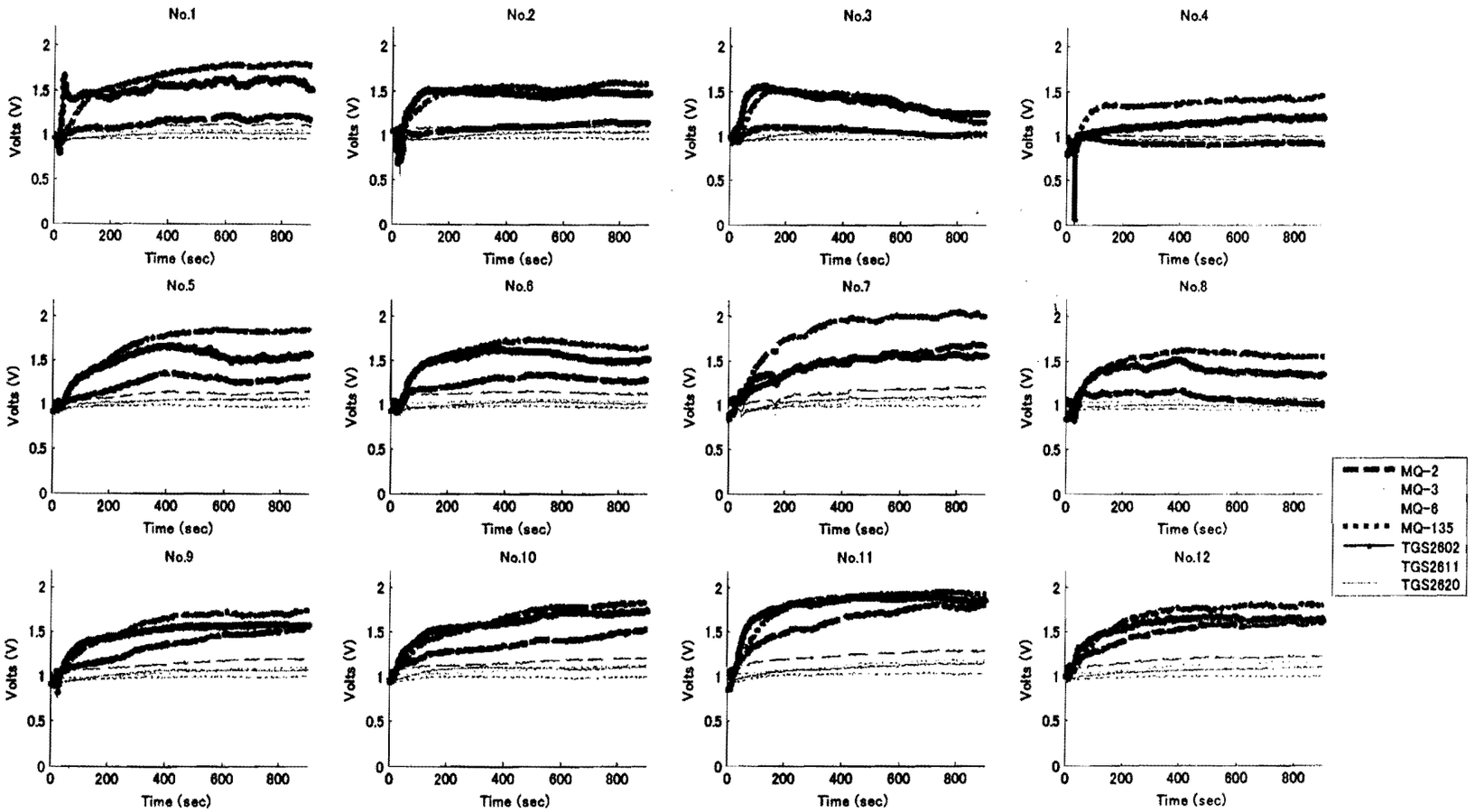
เป็นที่ทราบกันดีว่าความไวของการวัดกลิ่นด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์นั้นจะได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิ ด้วยเหตุนี้ จึงพิจาณาผลตอบสนองสัมพัทธ์ระหว่างกลุ่มของเซนเซอร์ซึ่งทำให้ละเลยการพิจารณาผลของอุณหภูมิได้



รูปที่ 4.8 ผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ในการวัดกระเทียมศรีสะเกษวัดซ้ำ 12 ครั้ง



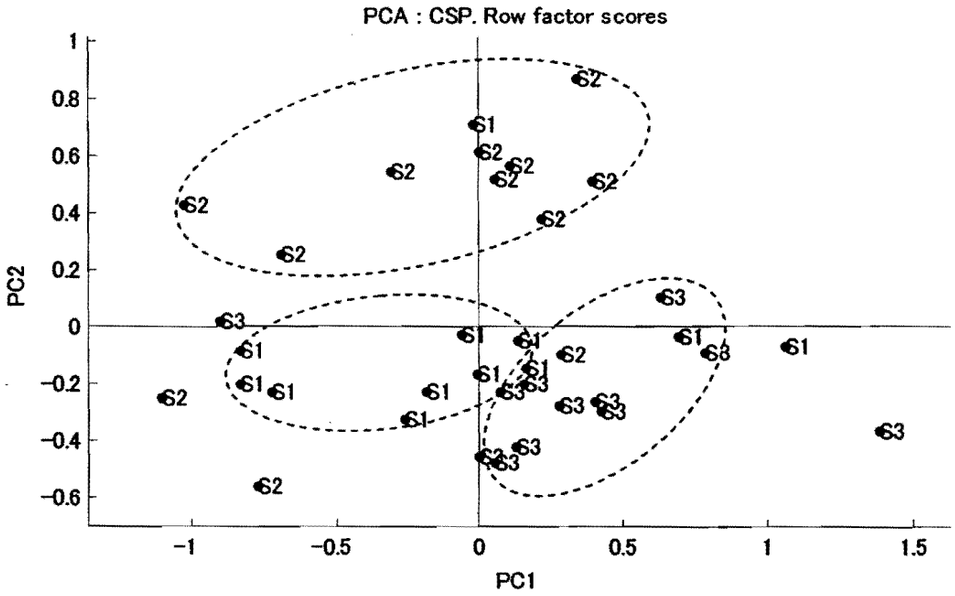
รูปที่ 4.9 ผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ในการวัดกระเทียมอุตรดิตถ์วัดซ้ำ 12 ครั้ง



รูปที่ 4.10 ผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ในการวัดกระเทียมลำพูนวัดซ้ำ 12 ครั้ง

4.3 การวิเคราะห์จำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิค PCA

เทคนิค PCA เป็นการแปลงเชิงตั้งฉาก (Orthogonal transformation) เทคนิคหนึ่งซึ่งจะทำการแปลงตัวแปรจากการสังเกตหรือการวัดไปยังพิกัดใหม่หรือองค์ประกอบมุขสำคัญ (Principal component) ที่เป็นอิสระต่อกัน โดยที่องค์ประกอบมุขสำคัญหลักตัวแรก (First principal component : PC1) จะมีค่าความแปรปรวน (Variance) สูงที่สุดและตัวแปรหลักตัวถัดไปจะมีค่าความแปรปรวนลดหลั่นกันลงไป เทคนิค PCA นี้นิยมใช้ในการจำแนกข้อมูลแบบ Unsupervised และใช้ในการลดขนาดของข้อมูลก่อนนำไปประมวลผลต่อไปอีกด้วย ข้อมูลที่นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCA นี้เป็นค่าแรงดันจากวงจรวัดของเซ็นเซอร์ทั้ง 7 ตัวที่ได้จากการวัดกลิ่นของกระเทียมพันธุ์ละ 12 ครั้ง โดยใช้ข้อมูล ณ เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 นาที ในการวิเคราะห์จำแนก



รูปที่ 4.11 ผลการจำแนกด้วย PCA โดยใช้ข้อมูลจากเซ็นเซอร์ทั้ง 7 ตัว

เมื่อนำแรงดันที่ได้จากการวัดกลิ่นของกระเทียมแต่ละพันธุ์มาทำการจัดกลุ่มด้วยเทคนิค PCA โดยกำหนดให้ชุดแรงดันที่ได้จากการวัดดังนี้

S1 แทนกลุ่มตัวอย่างที่ 1 หรือกระเทียมพันธุ์ศรีสะเกษ

S2 แทนกลุ่มตัวอย่างที่ 2 หรือกระเทียมพันธุ์อุตรดิตถ์

S3 แทนกลุ่มตัวอย่างที่ 3 หรือกระเทียมพันธุ์ลำพูน

ผลการจัดกลุ่มค่าแรงดันที่นาทีที่ 1 ถึง 6 ด้วยเทคนิค PCA แสดงในรูปที่ 4.11 โดยใช้องค์ประกอบมุขสำคัญที่ 1 และ 2 (PC1 และ PC2) ซึ่งครอบคลุมค่าแปรปรวน 57.01% และ 23.95% ตามลำดับ แม้ว่าจะพบการซ้อนทับระหว่างกลุ่ม แต่จะเห็นว่าข้อมูลของแต่ละพันธุ์เกาะกลุ่ม

อยู่ใกล้ ๆ กัน ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นความสามารถในการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์

อย่างไรก็ตามระบบที่พัฒนาขึ้นยังต้องการการปรับปรุงเพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่เป็นผลจากอุณหภูมิ รวมถึงการเลือกใช้เซนเซอร์ตัวอื่น ๆ และในส่วนของการวิเคราะห์ยังสามารถเลือกใช้เฉพาะข้อมูลจากเซนเซอร์ที่มีผลตอบสนองสูงเท่านั้น ส่งผลให้ใช้หน่วยความจำในการเก็บข้อมูลลดลงและลดภาระของหน่วยประมวลผลด้วย ซึ่งเป็นประเด็นสำคัญสำหรับการพัฒนาระบบขนาดเล็กเคลื่อนย้ายได้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

งานวิจัยนี้นำเสนอการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ โดยทำการยืนยันความแตกต่างของพันธุ์กระเทียมที่นำมาจาก 3 แหล่ง ได้แก่ อ.ยางชุมน้อย จ.ศรีสะเกษ, อ.น้ำปาด จ. อุตรดิตถ์ และ อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน ด้วยการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอหรือไฟโลจีเนติกซึ่งสามารถยืนยันได้ว่ากระเทียมที่นำมาทดสอบเป็นกระเทียมต่างชนิดกัน และจากการหาองค์ประกอบทางเคมีของกลิ่นกระเทียมจากไอออนโครมาโตกราฟที่ได้จากเทคนิค GC-MS พบว่ากระเทียมแต่ละพันธุ์มีสัดส่วนขององค์ประกอบในสารระเหยมีความแตกต่างกัน โดยจากผลการทดลองทั้งสองเทคนิคแสดงให้เห็นกระเทียมลำพูนและอุตรดิตถ์มีความใกล้ชิดกันมากกว่ากระเทียมศรีสะเกษ และอาจกล่าวได้ว่ากระเทียมจากแหล่งปลูกที่ต่างกันจะมีสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันสอดคล้องกับสมมติฐานได้ตั้งไว้ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ ระบบวัดกลิ่นกระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์หรือก๊าซเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นนั้นประกอบไปด้วยก๊าซเซนเซอร์ที่มีความไวต่อสารต่างกันทั้งหมด 7 ตัว และเมื่อทำการทดลองวัดกลิ่นของกระเทียมพบว่าก๊าซเซนเซอร์ที่ตอบสนองต่อสารในกลุ่มแอลกอฮอล์จะมีความไวในการตอบสนองต่อกลิ่นของกระเทียมไม่สูงนัก ในขณะที่ก๊าซเซ็นเซอร์ที่ตอบสนองต่อแอมโมเนียและโพรเพนมีความไวต่อกลิ่นกระเทียมสูงกว่าก๊าซเซนเซอร์ชนิดอื่น ๆ และเมื่อนำข้อมูลที่ได้วัดกระเทียม 3 ชนิด ๆ ละ 12 ครั้ง มาวิเคราะห์จำแนกพันธุ์โดยเทคนิค PCA พบว่าข้อมูลของตัวอย่างกระเทียมชนิดเดียวกันมีแนวโน้มกระจายตัวอยู่ในช่วงค่าองค์ประกอบหลักที่ใกล้เคียงกัน ถึงแม้จะพบการซ้อนกันระหว่างกลุ่มบ้างแต่ก็เห็นแนวโน้มของแต่ละกลุ่มพันธุ์กระเทียมได้อย่างชัดเจน ผลการทดลองนี้ยืนยันความสามารถในการจำแนกพันธุ์กระเทียมจากกลิ่นของกระเทียมด้วยระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์ซึ่งเป็นระบบที่ง่ายและมีค่าใช้จ่ายต่ำเหมาะที่จะพัฒนาเป็นเครื่องมือในการเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรต่อไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การสกัดสารในกระเทียมให้อยู่ในรูปของเหลวแล้วทำการวิเคราะห์ด้วย GC-MS จะมีองค์ประกอบทางเคมีบางอย่างที่ไม่ปรากฏในไอออนโครมาโตกราฟ หากปราศจากเงื่อนไขในเรื่องความจำกัดของอุปกรณ์และงบประมาณ และสามารถการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากกระเทียมโดยใช้ Head space ก็จะนำไปสู่ข้อสรุปอื่น ๆ ที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น
2. การวิเคราะห์ด้วย GC-MS จะทำได้สะดวกรวดเร็วมากขึ้นหากสามารถจัดหาไลบรารีของสารได้ครบถ้วน
3. หากสามารถสร้างไฟโลจีเนติกของพันธุ์กระเทียมทั้งประเทศได้ก็จะได้ฐานข้อมูลที่มีคุณค่าต่อประเทศอย่างมาก แต่การดำเนินการต้องใช้ทั้งเวลาและงบประมาณจำนวนมาก และต้องการผู้เชี่ยวชาญในการดำเนินการวิจัยต่อไป

4. ก๊าซเซนเซอร์ที่จัดซื้อได้ที่มีจำหน่ายภายในประเทศเท่านั้น หากสามารถดำเนินการจัดซื้อก๊าซเซนเซอร์ที่ไม่มีจำหน่ายในประเทศเพิ่มเติมได้ ก็จะทำให้ได้ข้อสรุปที่กว้างขวางมากขึ้น นอกจากนี้แล้วในการศึกษาต่อไปจะพิจารณาถึงปฏิกิริยาระหว่างวัสดุตรวจรู้ในตรวจก๊าซเซนเซอร์กับสารองค์ประกอบหลักแต่ละชนิดของกลิ่นกระเทียม ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาระบบที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. K. Tamaki, S. Sonoki, T. Tamaki, and K. Ehara, "Measurement of odour after in vitro or in vivo ingestion of raw or heated garlic, using electronic nose, gas chromatography and sensory analysis," International Journal of Food Science & Technology **43**, 130-139 (2008).

2. T. H. Yu, C. M. Wu, and Y. C. Liou, "Volatile compounds from garlic," Journal of Agricultural and Food Chemistry **37**, 725-730 (1989).

3. H. Amagase, B. L. Petesch, H. Matsuura, S. Kasuga, and Y. Itakura, "Intake of Garlic and Its Bioactive Components," The Journal of Nutrition **131**, 955S-962S (2001).

4. H. Amagase, "Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlic," The Journal of Nutrition **136**, 716S-725S (2006).

5. Vernin, G, Metzger, J, Fraisse, D, Scharff, and C, *GC-MS (EI, PCI, NCI) computer analysis of volatile sulfur compounds in garlic essential oils. Application of the mass fragmentometry SIM technique* (Thieme, Stuttgart, ALLEMAGNE, 1986).

6. G. Mazza, S. Ciaravolo, G. Chiricosta, and S. Celli, "Volatile flavour components from ripening and mature garlic bulbs," Flavour and Fragrance Journal **7**, 111-116 (1992).

7. S. Muñoz-Aguirre, A. Yoshino, T. Nakamoto, and T. Moriizumi, "Odor approximation of fruit flavors using a QCM odor sensing system," Sensors and Actuators B: Chemical **123**, 1101-1106 (2007).

8. T. Nakamoto, and H. Hiramatsu, "Study of odor recorder for dynamical change of odor using QCM sensors and neural network," Sensors and Actuators B: Chemical **85**, 263-269 (2002).

9. T. Yamanaka, R. Matsumoto, and T. Nakamoto, "Fundamental study of odor recorder for multicomponent odor using recipe exploration method based on singular value decomposition," Sensors Journal, IEEE **3**, 468-474 (2003).

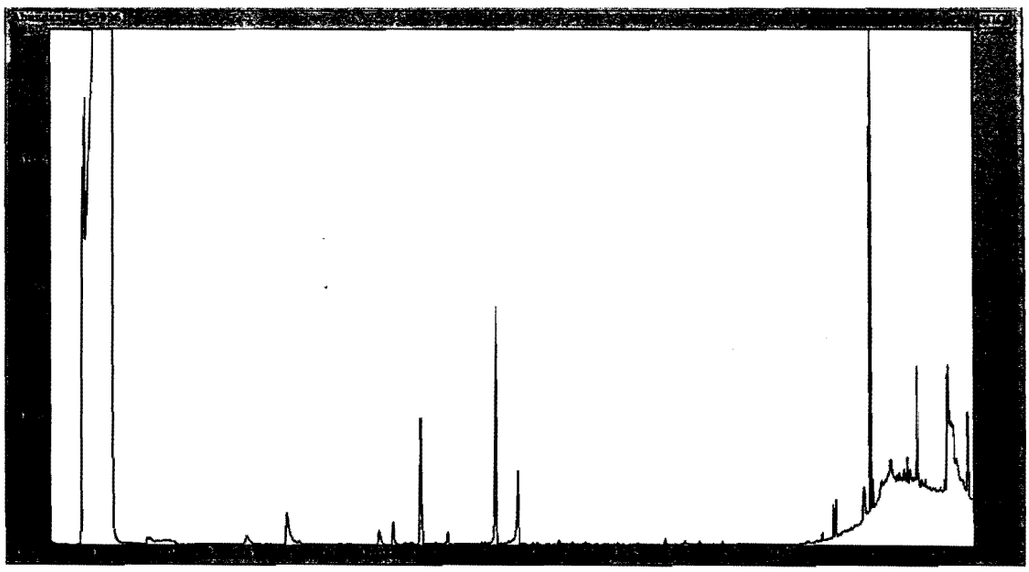
10. T. Maekawa, K. Suzuki, T. Takada, T. Kobayashi, and M. Egashira, "Odor identification using a SnO2-based sensor array," Sensors and Actuators B: Chemical **80**, 51-58 (2001).

11. A. Szczurek, and M. Maciejewska, "Relationship between odour intensity assessed by human assessor and TGS sensor array response," Sensors and Actuators B: Chemical **106**, 13-19 (2005).

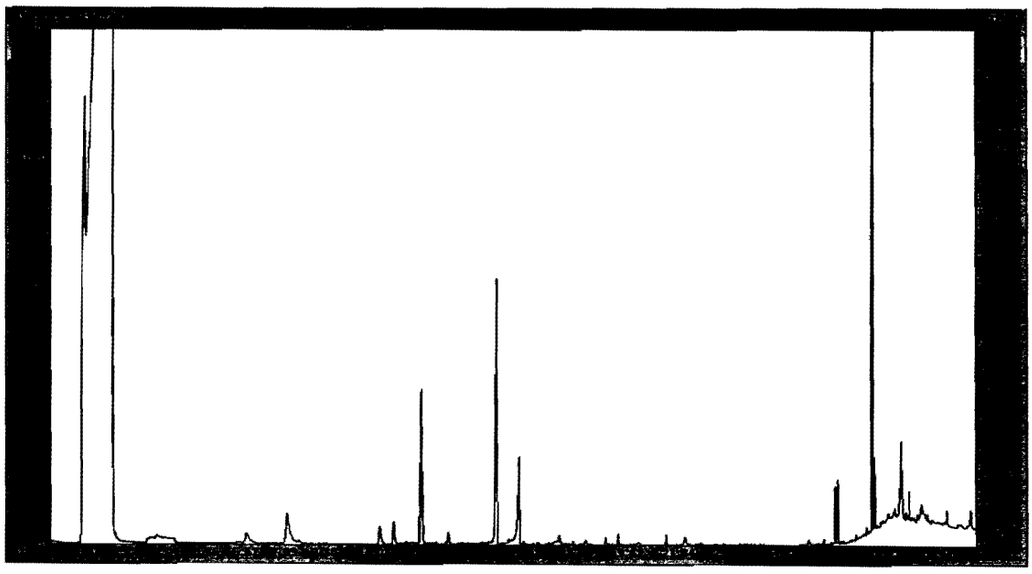
12. G. Echeverría, T. Fuentes, J. Graell, I. Lara, and M. L. López, "Aroma volatile compounds of [`]Fuji' apples in relation to harvest date and cold storage technology: A comparison of two seasons," Postharvest Biology and Technology **32**, 29-44 (2004).
13. K. Almora, J. A. Pino, M. Hernández, C. Duarte, J. González, and E. Roncal, "Evaluation of volatiles from ripening papaya (Carica papaya L., var. Maradol roja)," Food Chemistry **86**, 127-130 (2004).
14. M. Penza, G. Cassano, F. Tortorella, and G. Zaccaria, "Classification of food, beverages and perfumes by WO3 thin-film sensors array and pattern recognition techniques," Sensors and Actuators B: Chemical **73**, 76-87 (2001).
15. GC-MS (Gas Chromatography - Mass Spectrometry) http://www.gpo.or.th/rdi/html/gc.html retrieved on 2012/07/19.
16. สุชาดา สุขหร่อง, "ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ: หลักฐานทางพันธุกรรมในการพิสูจน์เอกลักษณ์สมุนไพร," วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ **19**(1), 75-85 (2005).

ภาคผนวก ก

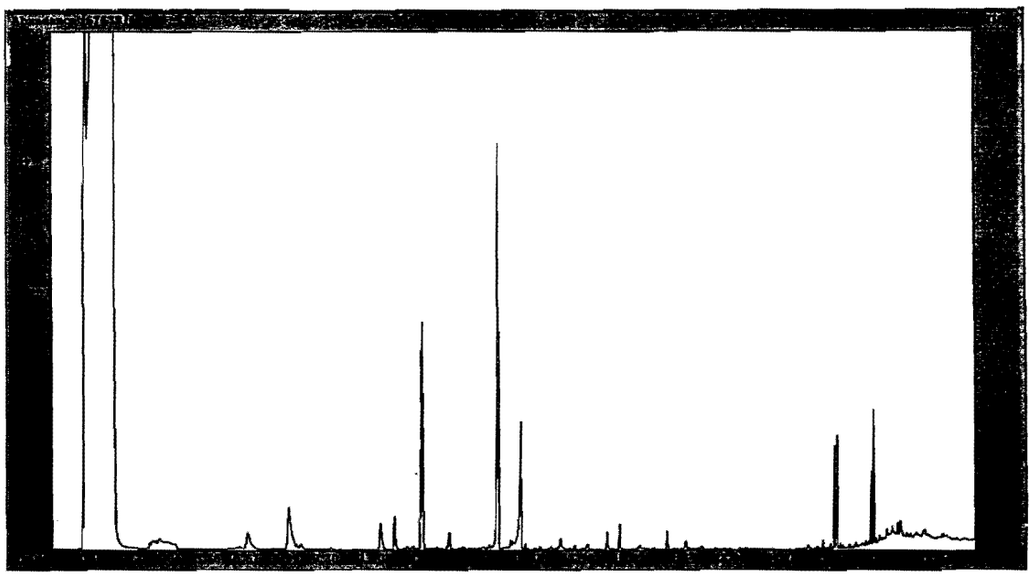
ในการทดลองด้วย GC-MS ได้ทำการทดลองเพิ่มเติมโดยวัดตัวอย่างกระเทียมจาก 5 แหล่งปลูก ได้แก่ ศรีสะเกษ 2 แหล่งปลูก เชียงใหม่ ลำพูน และอุตรดิตถ์ แต่ละแหล่งปลูกวัดซ้ำ 3 ตัวอย่าง ๆ ละ 2 ครั้งเพื่อเป็นการตรวจสอบความถูกต้องของระบบ GC-MS โดยใช้เงื่อนไขการวัดดังอธิบายในบทที่ 3 ในที่นี้ขอแสดงเพียงแค่ไอออนโครมาโตรแกรมเพื่อใช้ในการอ้างอิงต่อไป



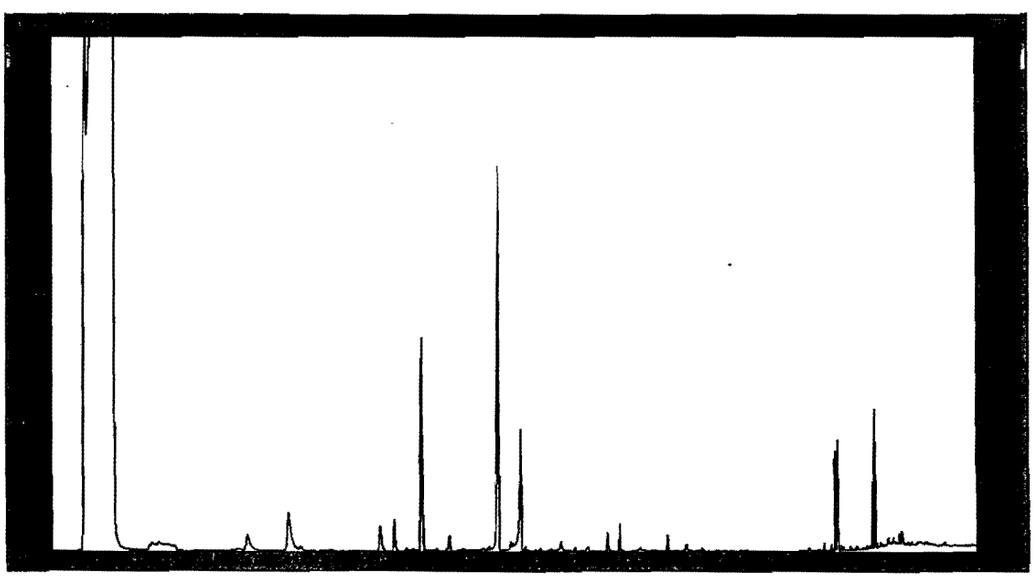
รูปที่ ก.1 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 1



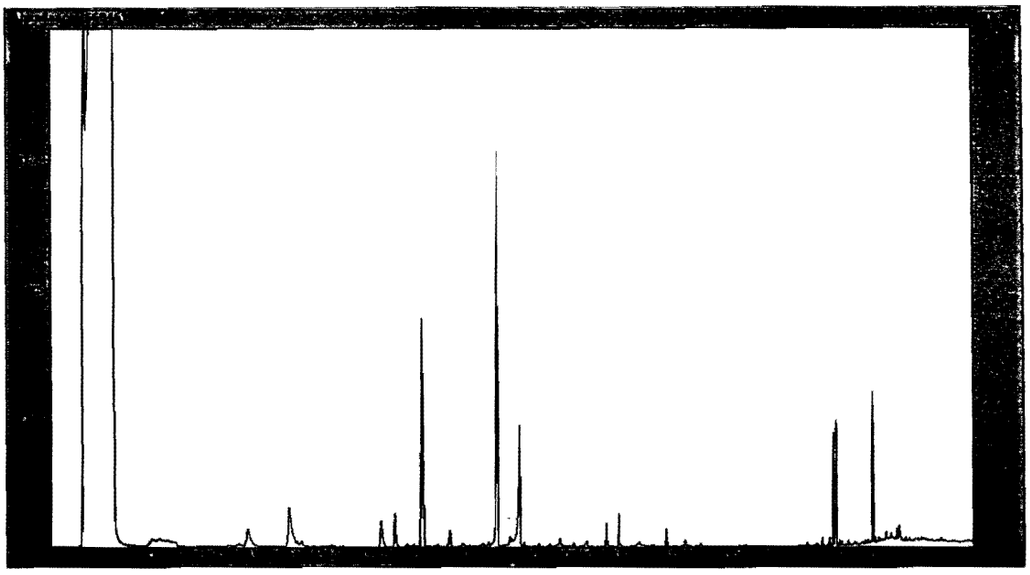
รูปที่ ก.2 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 2



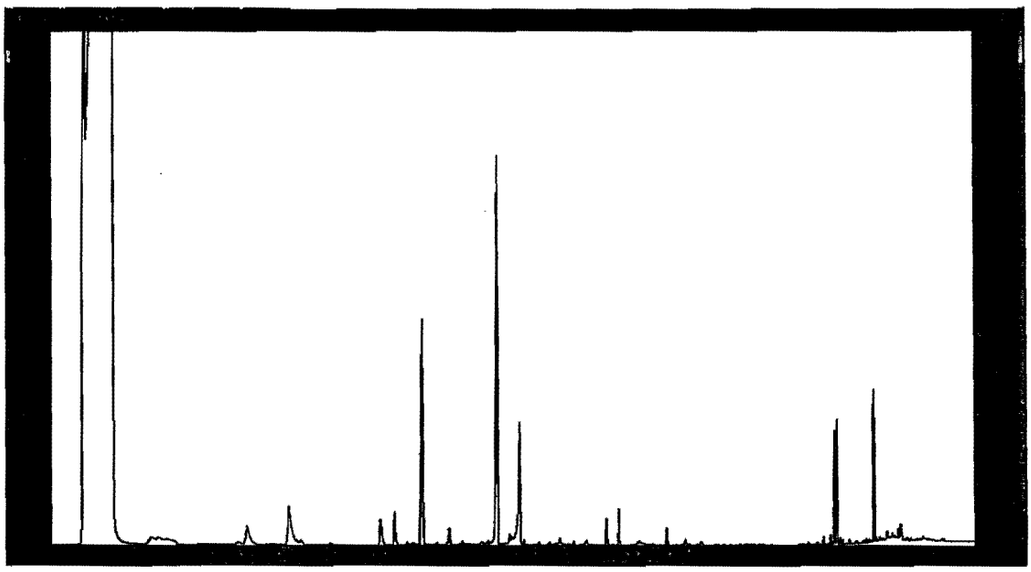
รูปที่ ก.3 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 1



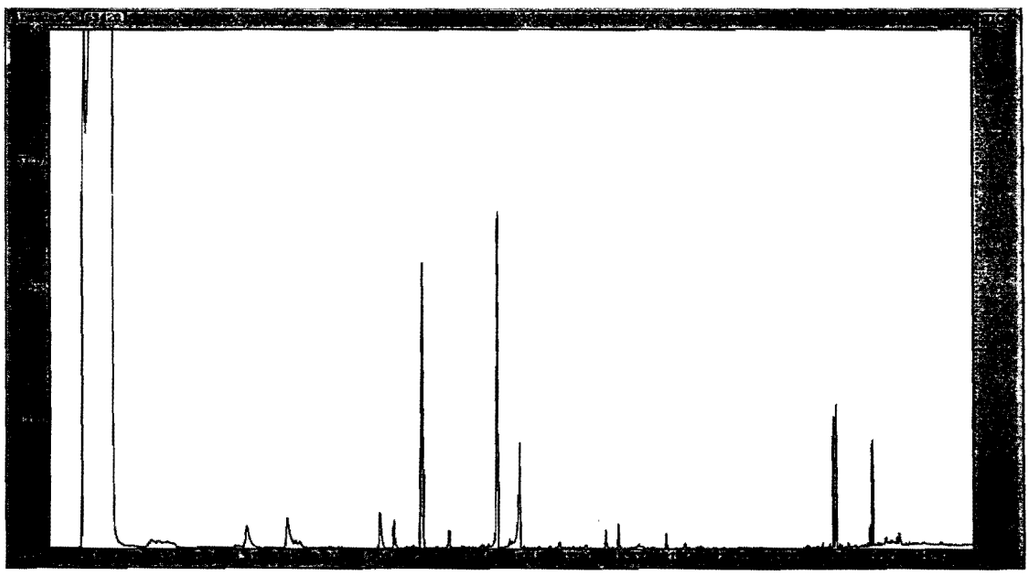
รูปที่ ก.4 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 2



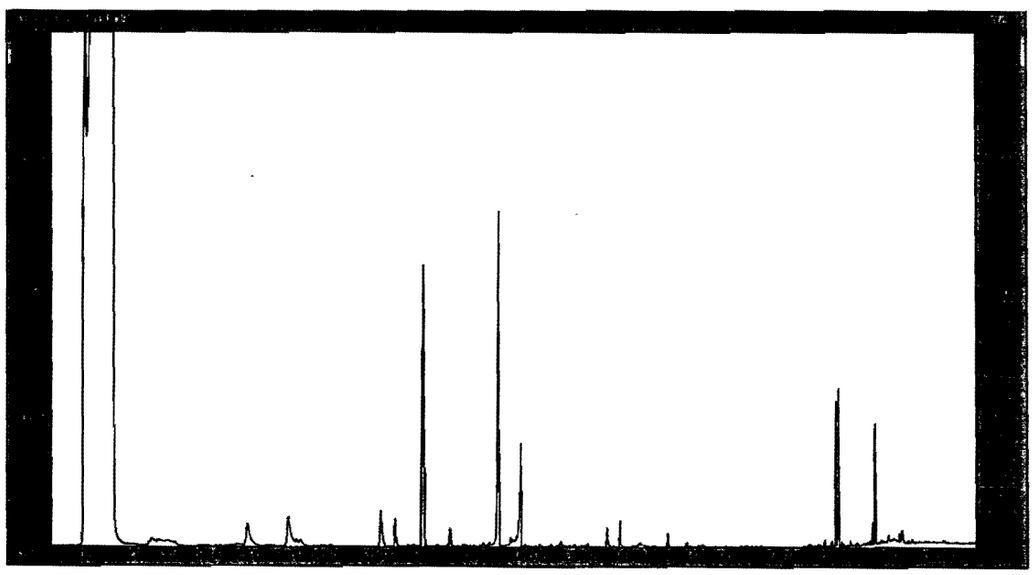
รูปที่ ก.5 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 1



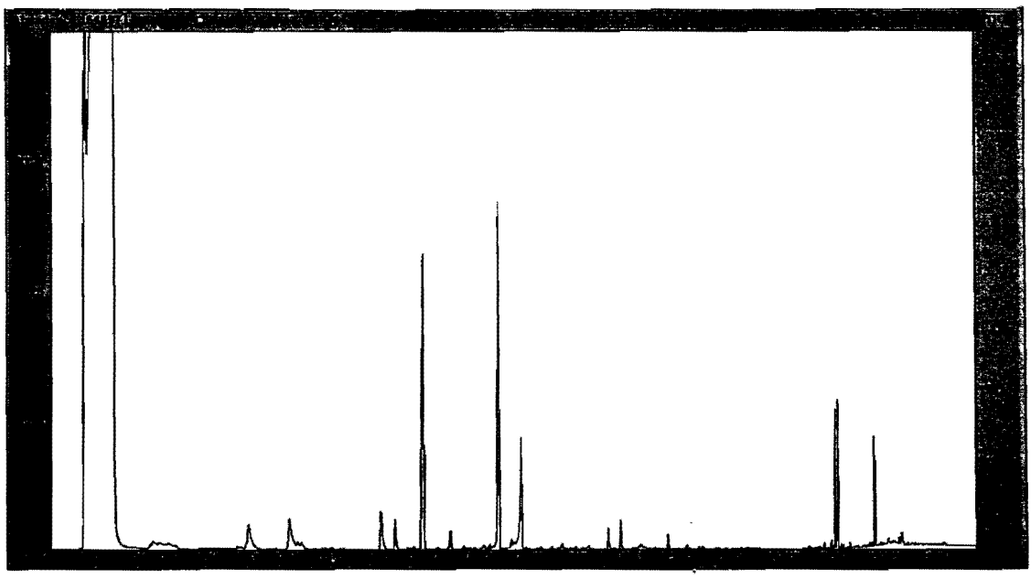
รูปที่ ก.6 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 2



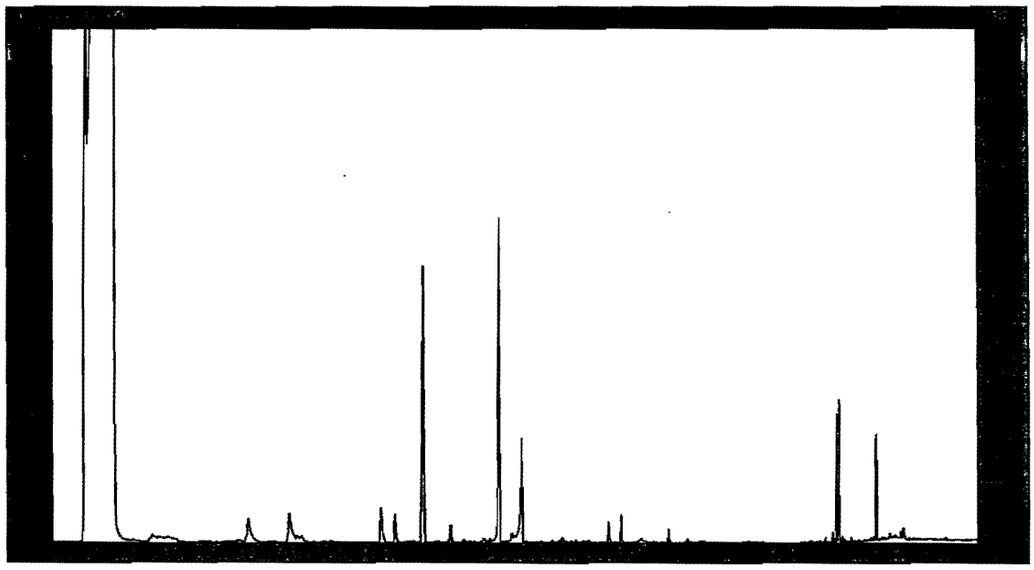
รูปที่ ก.7 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษแหล่งปลูกที่ 2 ตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 1



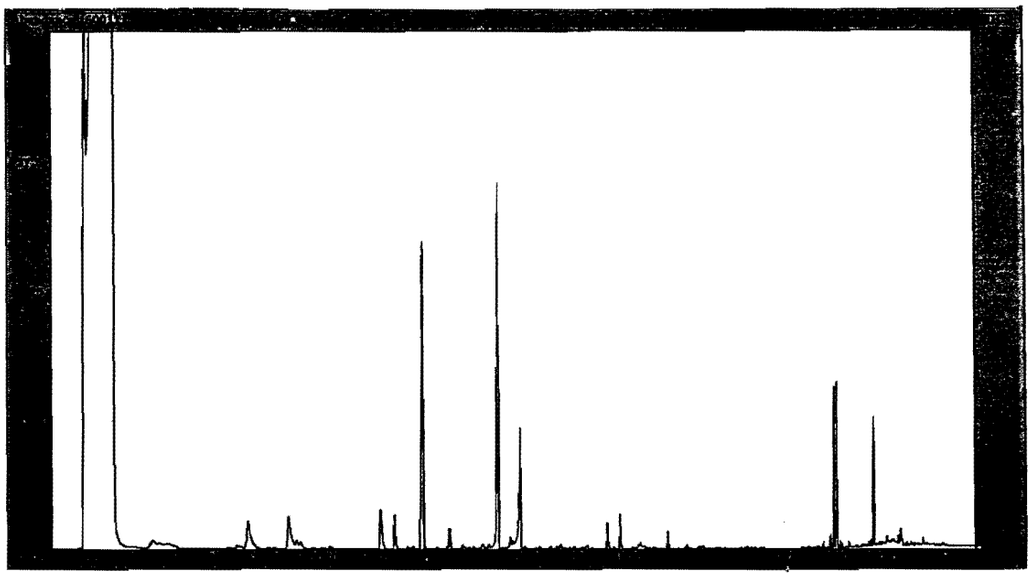
รูปที่ ก.8 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษแหล่งปลูกที่ 2 ตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 2



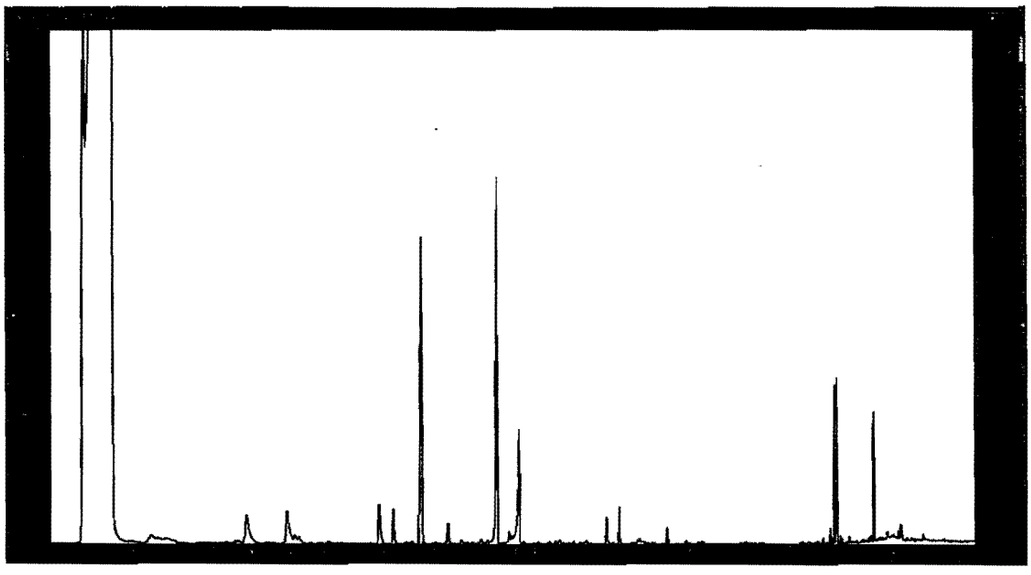
รูปที่ ก.9 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษแหล่งปลูกที่ 2 ตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 1



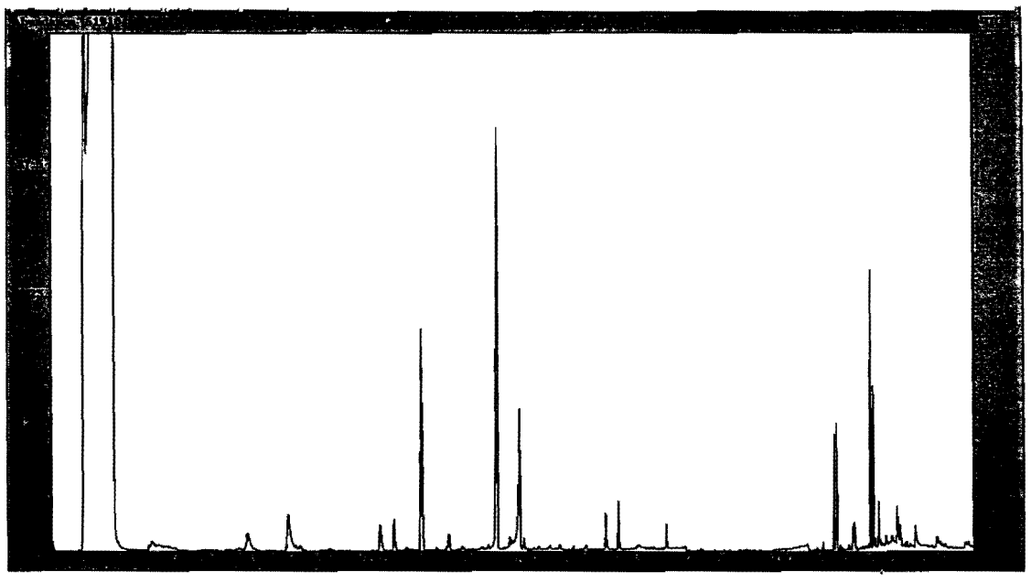
รูปที่ ก.10 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษแหล่งปลูกที่ 2
ตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 2



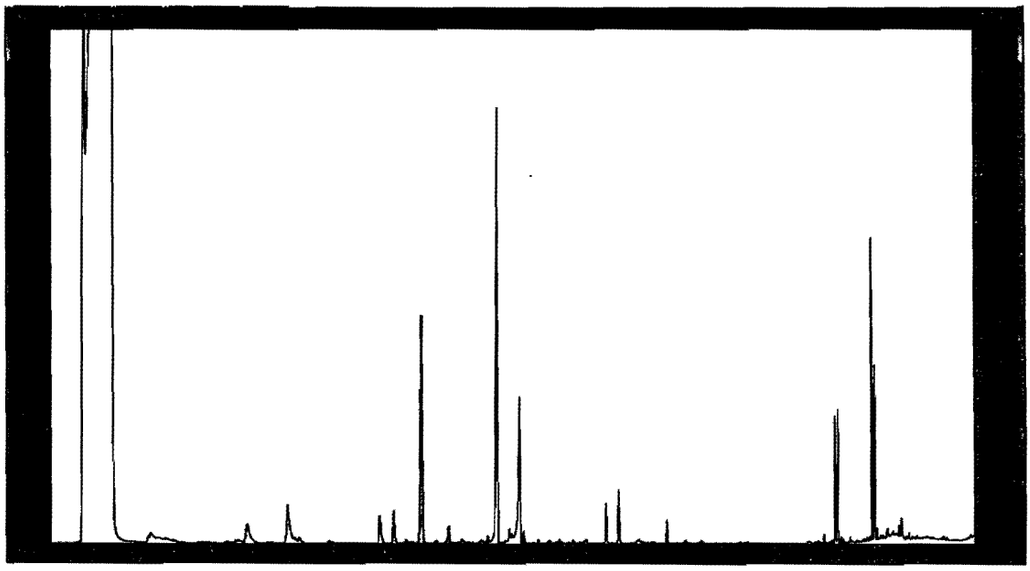
รูปที่ ก.11 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษแหล่งปลูกที่ 2
ตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 1



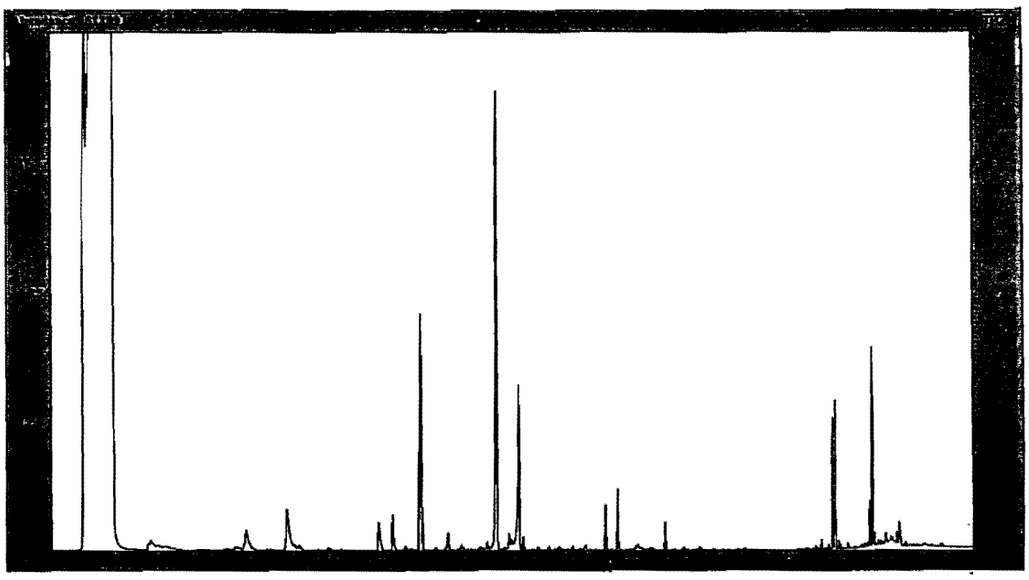
รูปที่ ก.12 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากศรีสะเกษแหล่งปลูกที่ 2
ตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 2



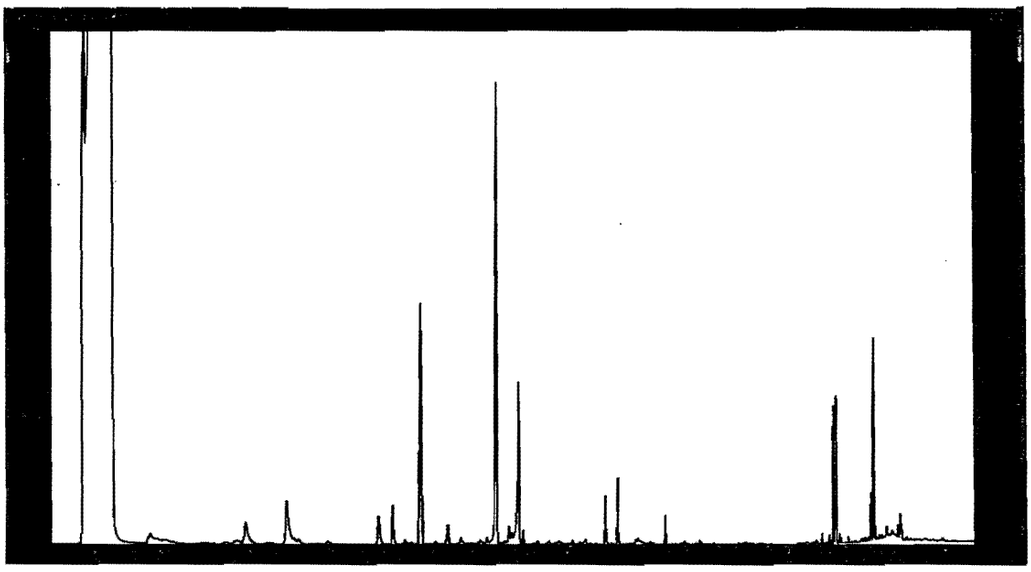
รูปที่ ก.13 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากเชียงใหม่ตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 1



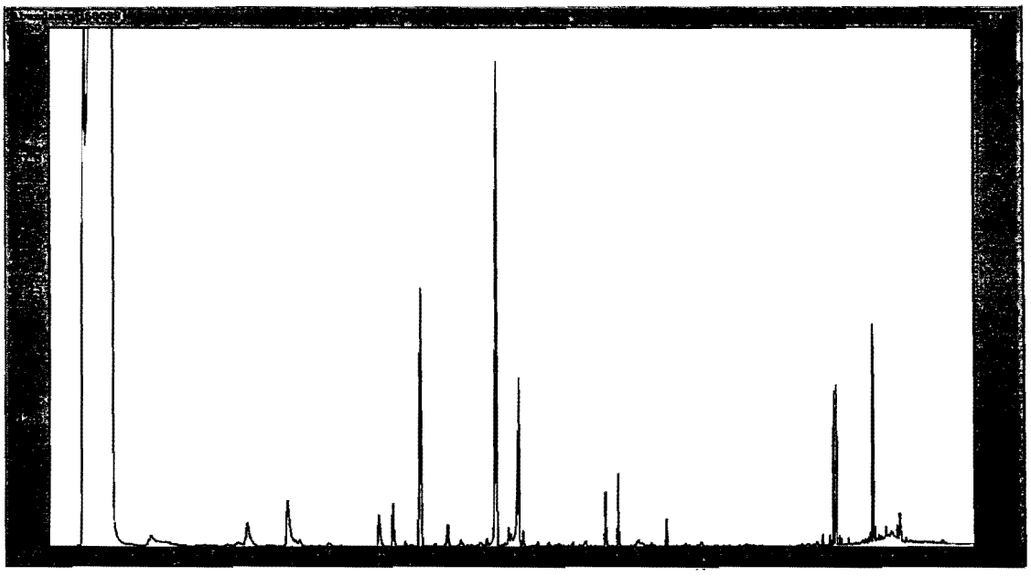
รูปที่ ก.14 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากเชียงใหม่ตัวอย่างที่ 1ครั้งที่ 2



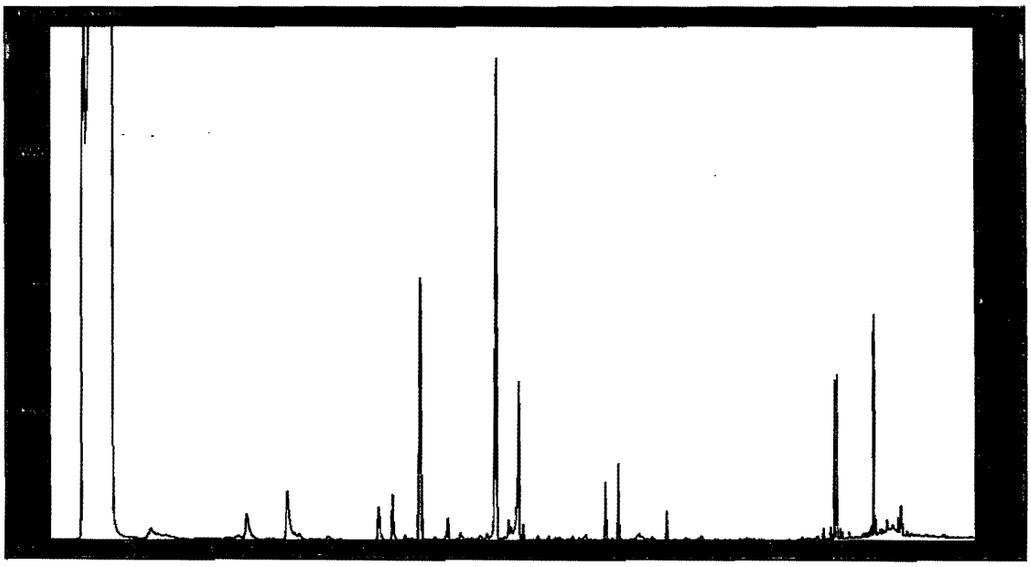
รูปที่ ก.15 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากเชียงใหม่ตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 1



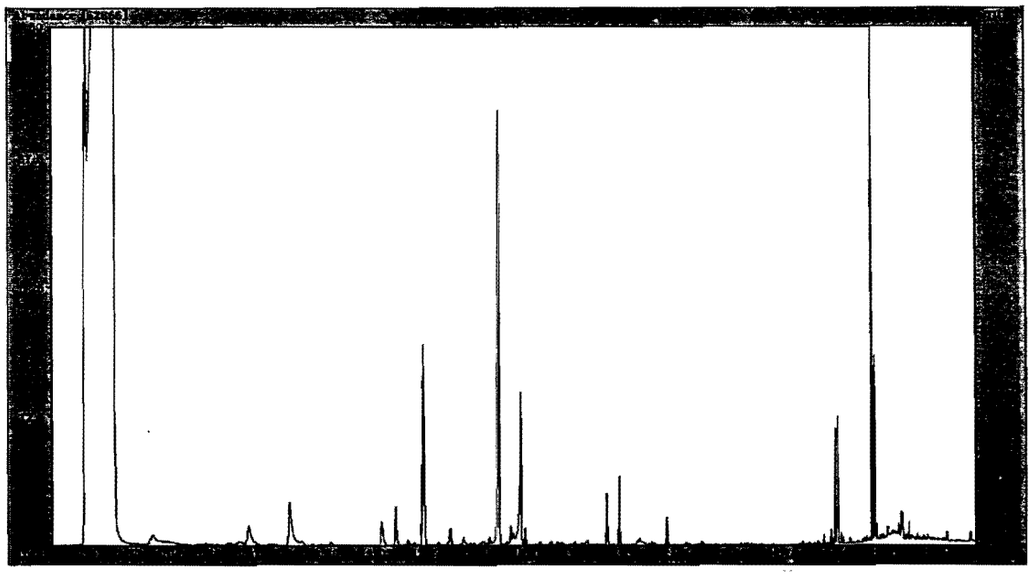
รูปที่ ก.16 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากเชียงใหม่ตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 2



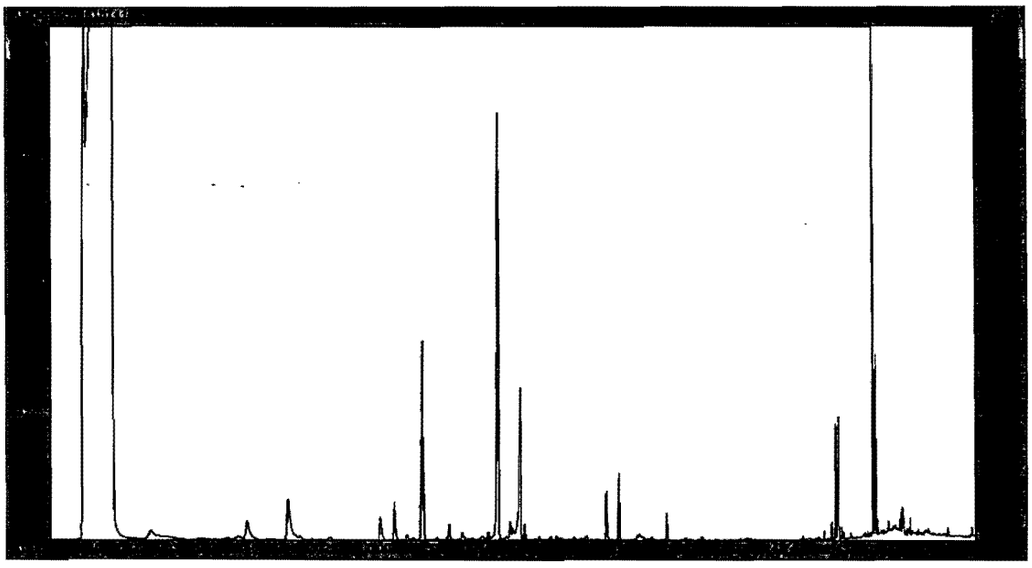
รูปที่ ก.17 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากเชียงใหม่ตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 1



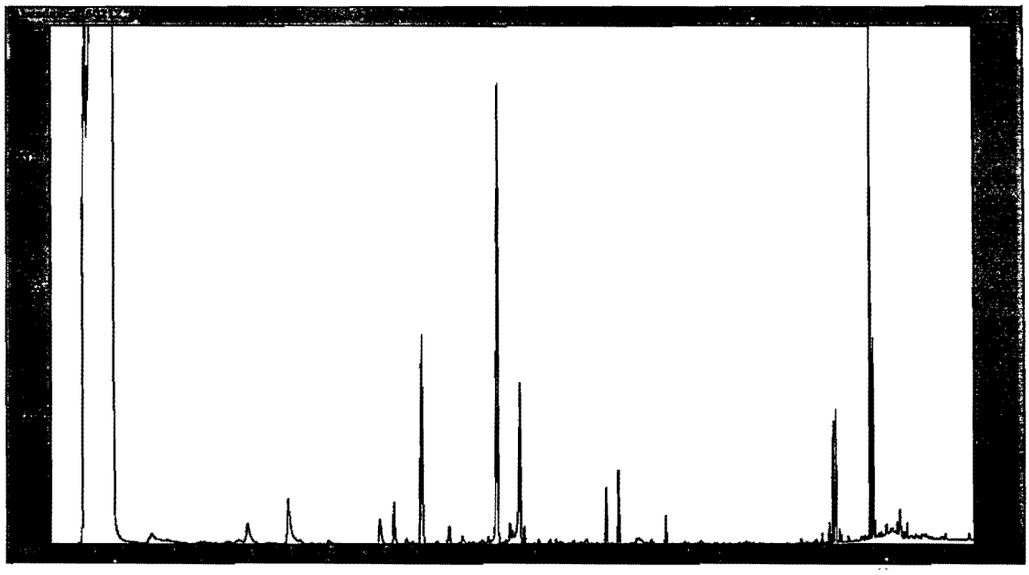
รูปที่ ก.18 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากเชียงใหม่ตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 2



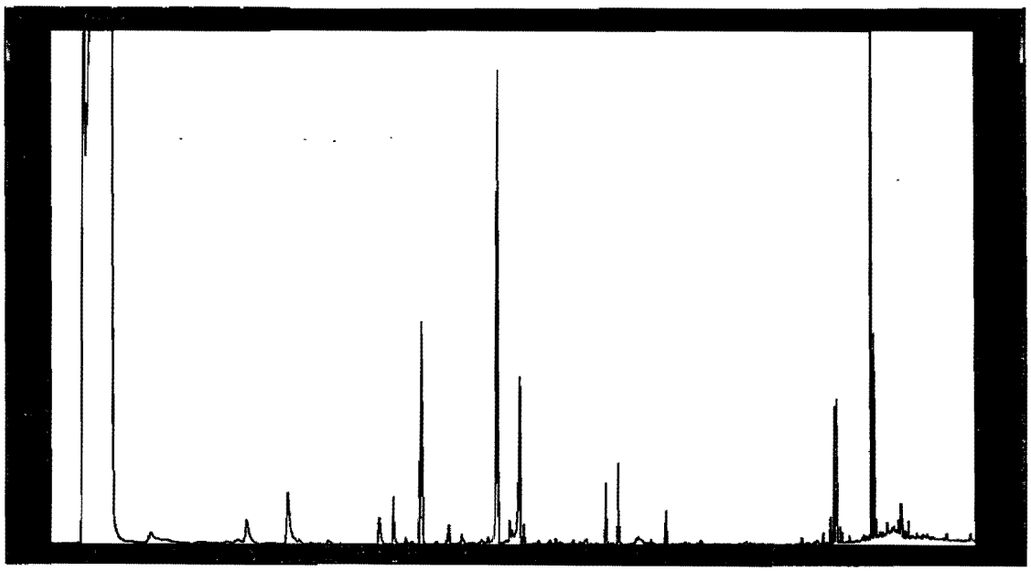
รูปที่ ก.19 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 1



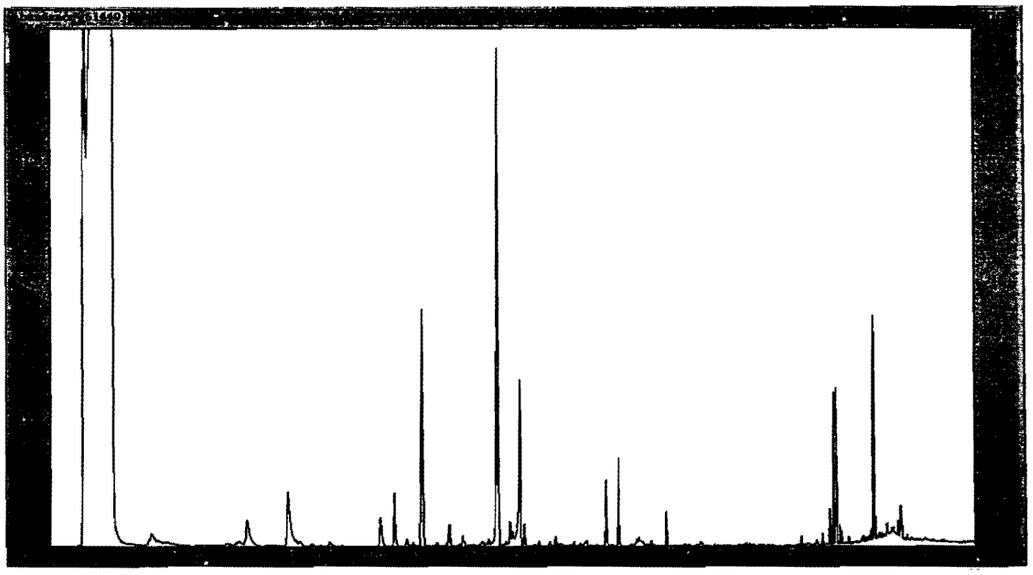
รูปที่ ก.20 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 2



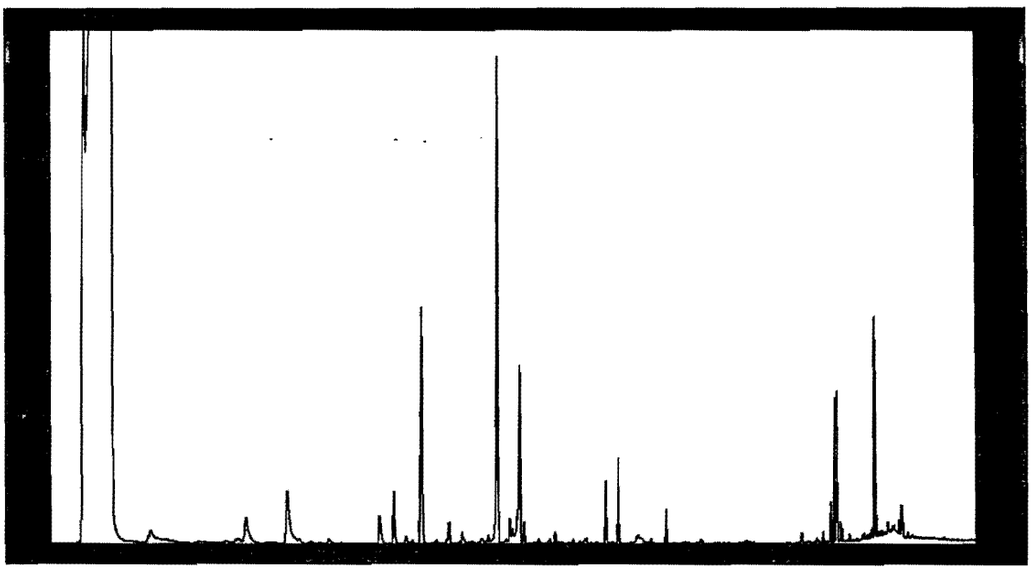
รูปที่ ก.21 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 1



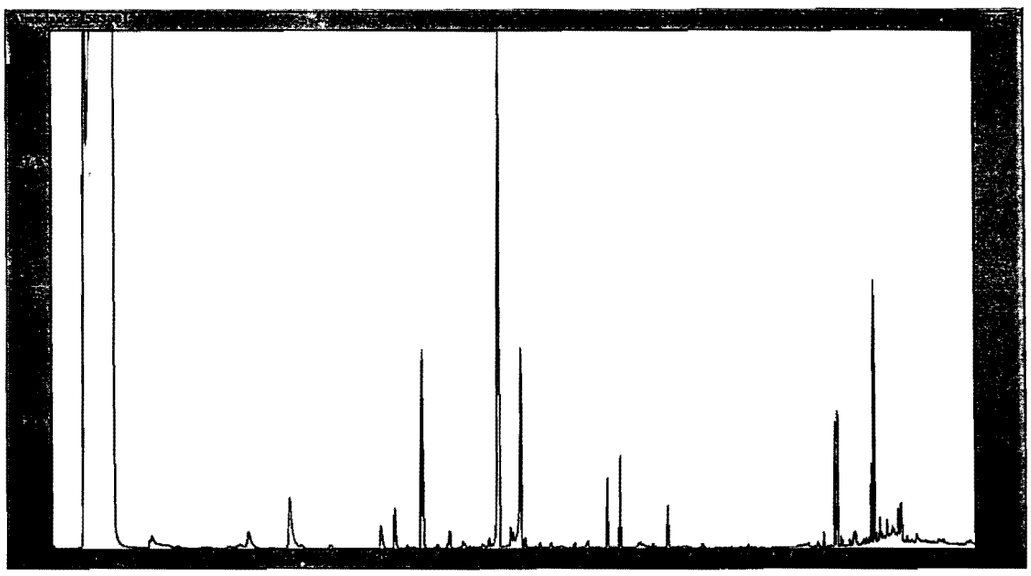
รูปที่ ก.22 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 2



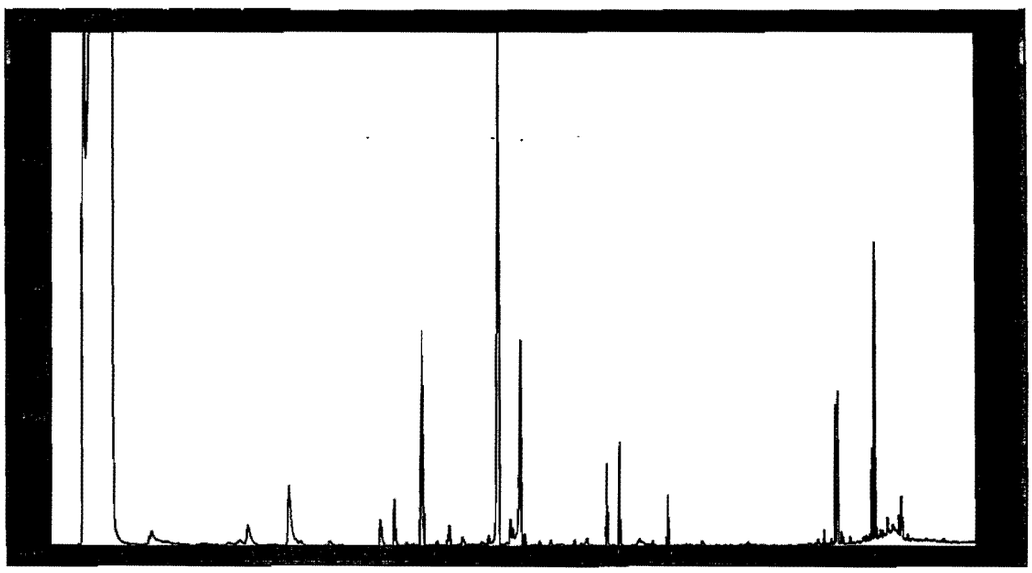
รูปที่ ก.23 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 1



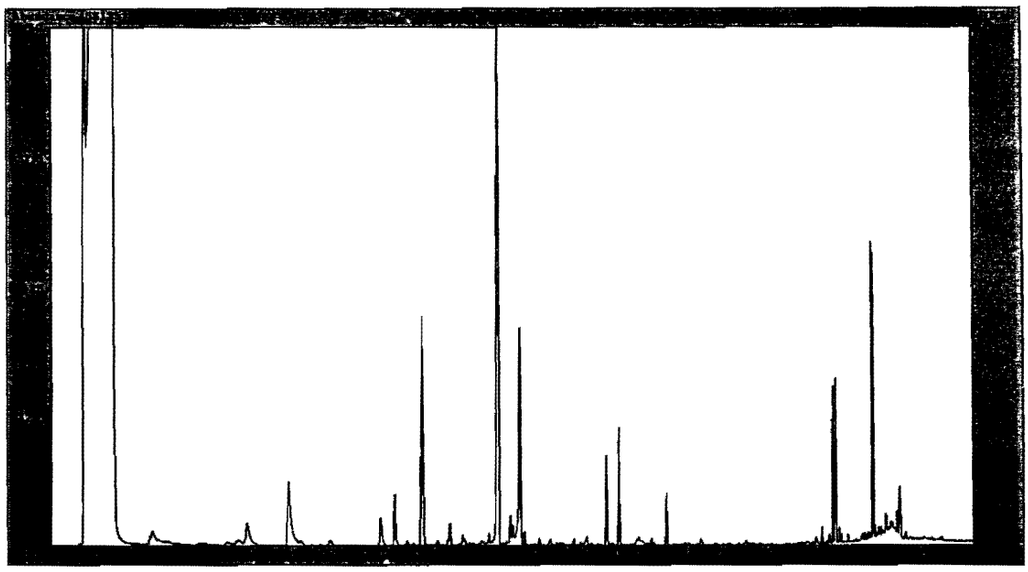
รูปที่ ก.24 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากลำพูนตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 2



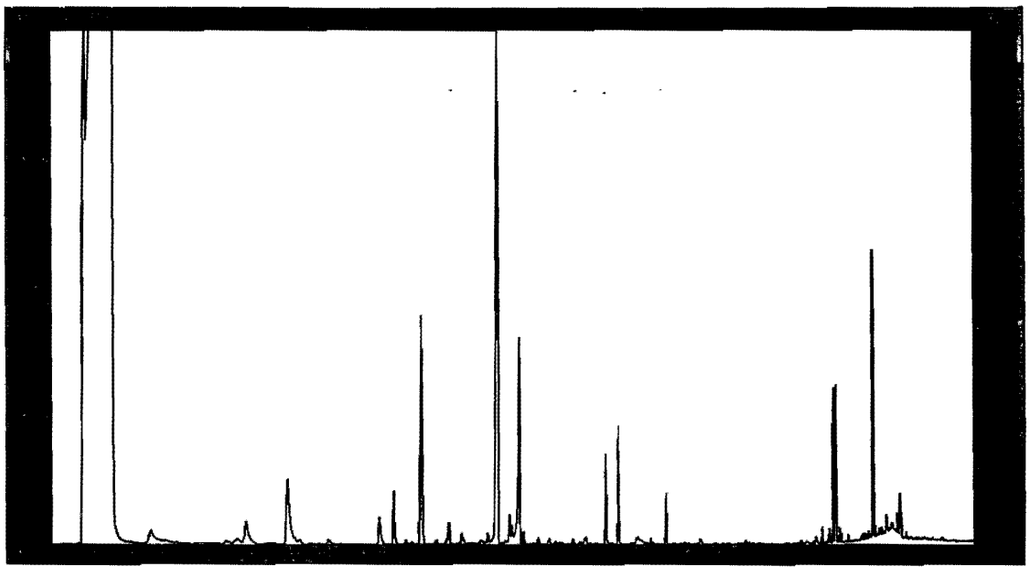
รูปที่ ก.25 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 1



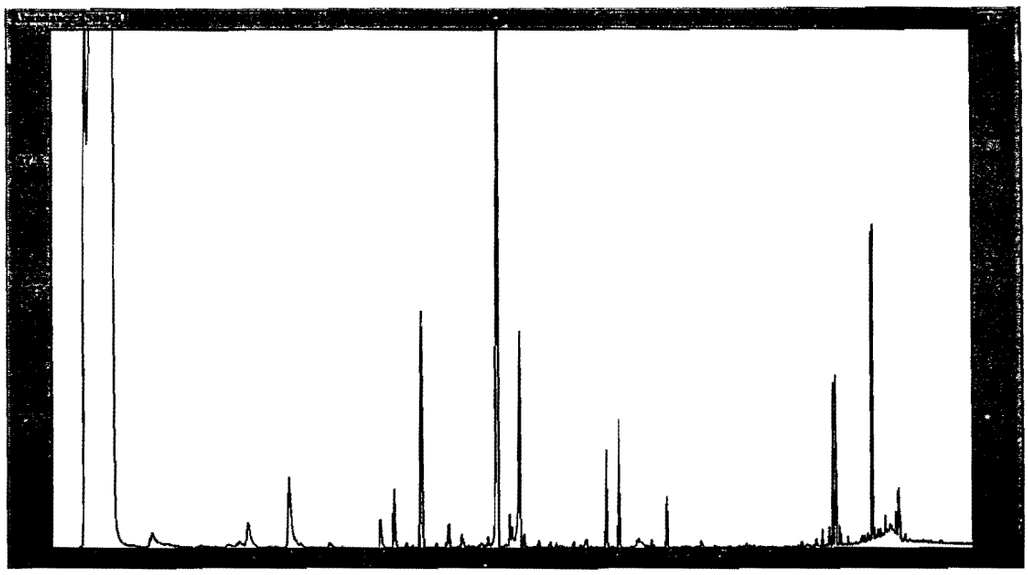
รูปที่ ก.26 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ตัวอย่างที่ 1 ครั้งที่ 2



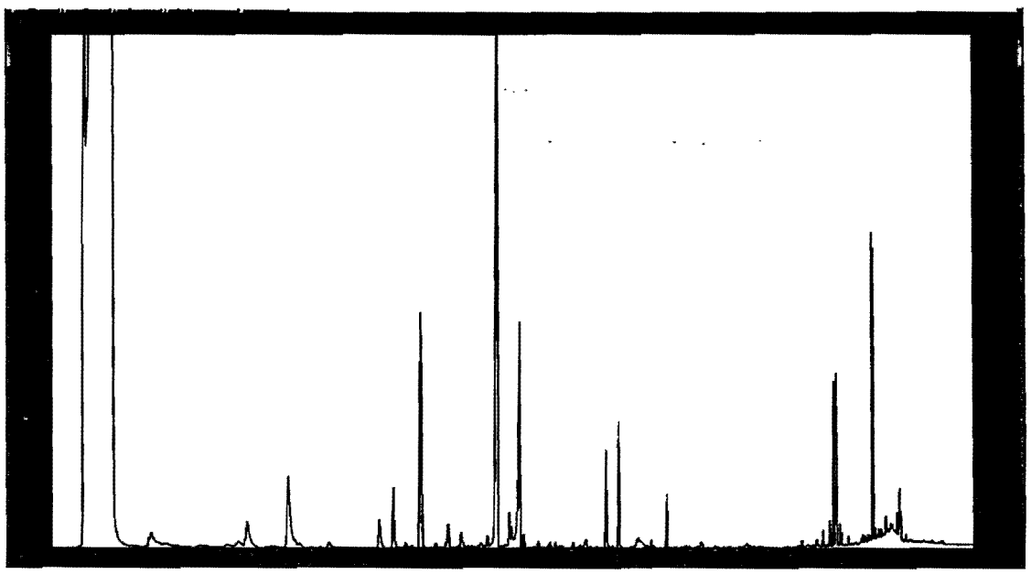
รูปที่ ก.27 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 1



รูปที่ ก.28 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ตัวอย่างที่ 2 ครั้งที่ 2



รูปที่ ก.29 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 1



รูปที่ ก.30 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมจากอุตรดิตถ์ตัวอย่างที่ 3 ครั้งที่ 2