บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระเทียม

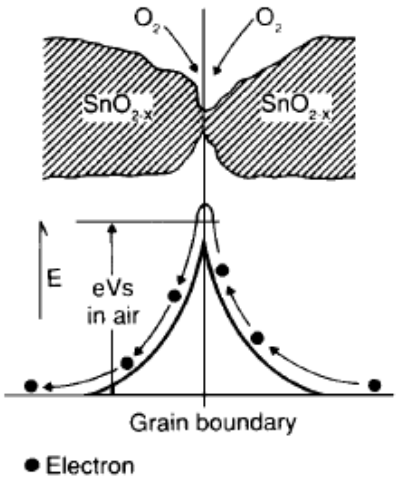
กระเทียม (*Allium sativum* L.) เป็นพืชประเภทหัวที่ทั้งถูกนำไปบริโภคและใช้ในการรักษาโรค กระเทียมอุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและสารประกอบซัลเฟอร์จำนวนมาก (Warade and Shinde, 1998) ลักษณะเฉพาะของกลิ่นกระเทียมนั้นเกิดจากสารอัลลิซิน (Allicin) เมื่อกระเทียมสดถูกบดหรือทุบ สารอัลลิอิน (Alliin) ซึ่งเป็นรูปหนึ่งของกรดอะมิโนซีสเตอีน (Amino acid cysteine) ที่อยู่ภายในกระเทียมจะถูกเปลี่ยนเป็นอัลลิซินอย่างรวดเร็วด้วยเอนไซม์อัลลิเนส (Allinase) แต่สารอัลลิซินและสารประกอบพวกไธโอซัลฟิเนตส์ (Thiosulfinates) ตัวอื่น ๆ นั้นที่เกิดขึ้นนั้นจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายและกลายเป็นสารระเหยในรูปสารประกอบต่าง ๆ (Lanzotti, 2006) เช่น hydrogen sulphide, methyl sulphide, dimethyl sulphide และ allyl sulphide ซึ่งสารประกอบซัลเฟอร์เหล่านี้เป็นสาเหตุของกลิ่นฉุนของกระเทียม (Tamaki et al., 2008) นอกจากนี้แล้ว ไวนิลไดอีน (vinyldithiins) ซึ่งมีสรรพคุณทางยาก็ได้มาจากสารอัลลิซิน (Sticher, 1991) เช่นกัน โดยพบว่าประมาณ 70% ของสารอัลลิซินถูกเปลี่ยนไปเป็นไวนิลไดอีน 2-vinyl-4*H*-1,3-dithiin และ 3-vinyl-4*H*-1,2-dithiin ในตัวทำละลายอินทรีย์แบบไม่มีขั้ว (non-polar organic solvent) (Block et al., 1986) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าปริมาณทั้งหมดของไวนิลไดอีนสามารถบ่งบอกถึงปริมาณสารอัลลิซินในกระเทียมได้ สำหรับกระเทียมในประเทศไทยนั้นจะแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทตามอายุการเก็บเกี่ยว ได้แก่ พันธุ์เบา อายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วง 75 - 90 วัน ได้แก่ พันธุ์ศรีสะเกษ, พันธุ์กลางอายุการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วง 100 - 120 วัน ได้แก่ พันธุ์บางช้าง และพันธุ์เชียงใหม่และพันธุ์หนัก อายุการเก็บเกี่ยว 150 วันขึ้นไป ได้แก่ พันธุ์พม่าและพันธุ์แม่สาย

2.2 จมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Gas Sensor)

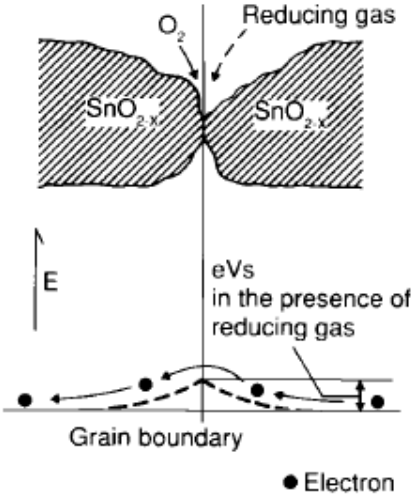
จมูกอิเล็กทรอนิกส์เป็นเซนเซอร์ทางเคมี (Chemical sensor) ซึ่งมีหลายชนิดด้วยกัน โดยแต่ละชนิดจะมีหลักการทำงานและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณทางฟิสิกส์หรือเคมีที่แตกต่างกันออกไป ยกตัวอย่างเช่น ชนิด Quartz crystal microbalance (QCM) ที่ใช้หลักการของเซนเซอร์วัดมวล (Mass sensor) ที่มีความถี่ของการสั่นของผลึกควอทซ์ (Quartz) เปลี่ยนแปลงตามปริมาณสารเคมีที่ถูกดูดซับบนผิวของควอทซ์ (Muñoz-Aguirre et al., 2007; Nakamoto and Hiramatsu, 2002; Yamanaka et al., 2003) หรือชนิดสารกึ่งตัวนำ (semiconductor type) จะมีความต้านทานภายในแปรผันตามปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารกึ่งตัวนำกับความเข้มข้นของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในก๊าซที่ตรวจวัด เป็นต้น (Almora et al., 2004; Echeverría et al., 2004; Maekawa et al., 2001; Szczurek and Maciejewska, 2005)

โดยในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะหลักการทำงานของจมูกอิเล็กทรอนิกส์ชนิดสารกึ่งตัวนำซึ่งมีความไวในการวัดสูง แต่ไม่ค่อยได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม สำหรับวัสดุ

ตรวจรู้ (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) (Figaro USA Inc.)



รูปที่ 2.2 โมเดลของศักย์ไฟฟ้าบริเวณรอยต่อ (เมื่อมีก๊าซรีดิวซ์) (Figaro USA Inc.)

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

ดังนั้นความต้านทานของตัวตรวจรู้ก็จะมีค่าลดต่ำลง ซึ่งกล่าวได้ว่า ค่าความต้านทานที่เปลี่ยนไปนี้จะเป็นสัดส่วนผกผันกับความเข้มข้นของก๊าซเป้าหมาย ดังสมการ (2.2)

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

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

จากคุณสมบัติในการตรวจรู้สารเคมีของจมูกอิเล็กทรอนิกส์นี้ นอกจากจะถูกนำมาใช้ในการตรวจรู้กลิ่นหรือสารระเหยจากผลไม้แล้ว ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย เช่น การวัดปริมาณแอลกอฮอล์หรือกลิ่นในอาหารและเครื่องดื่ม (Penza et al., 2001) เป็นต้น

2.3 ก๊าซโครมาโตรกราฟีและแมสสเปกโตรมิทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry: GC-MS) (http://www.gpo.or.th/rdi/html/gc.html retrieved on 2012/07/19.)

GC-MS เป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบในสารตัวอย่างโดยอาศัยการเปรียบเทียบ Fingerprint ของเลขมวล (Mass number) กับข้อมูลที่มีอยู่ในไลบารี (Library) โดยสามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (Quantitative analysis) และเชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) GC-MS ประกอบด้วย 2 ส่วน คือก๊าซโครมาโตรกราฟี (Gas chromatography, GC) และแมสสเปกโตรมิทรี (Mass spectrometry, MS)

2.3.1 ก๊าซโครมาโตรกราฟีทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารตัวอย่างที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (Volatile organic compounds) ได้เมื่อถูกความร้อน โดยอาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อ Stationary phase และ Mobile phase องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องก๊าซโครมาโตรกราฟีสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่

1) หัวฉีด (Injector) คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่อง และระเหยเป็น gas พร้อมกับถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนที่จะเข้าสู่คอลัมน์ (Column) อุณหภูมิที่เหมาะสมของหัวฉีดควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้แต่ต้องไม่ถูกทำให้สลายตัว (Decompose)

2) เตาอบ (Oven) คือ ส่วนที่บรรจุคอลัมน์และควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ถูกฉีด

3) เครื่องตรวจจับ (Detector) คือส่วนที่จะใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องตรวจจับที่เลือกใช้

2.3.2 แมสสเปกโตรมิทรีเป็นเครื่องตรวจจับชนิดหนึ่งที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบในสารตัวอย่าง โดยโมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกไอออนไนซ์ในสภาวะสุญญากาศแล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิงและแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ

การวิเคราะห์องค์ประกอบในสารตัวอย่างด้วยเครื่อง GC-MS แม้จะมีข้อดีหลายประการ แต่ก็ยังเป็นเทคนิคที่มีราคาแพงและค่าใช้จ่ายในการบำรุงรักษาเครื่องสูง

2.4 การสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (สุชาดา, 2005)

2.4.1 ดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอ (DNA, Deoxyribonucleic acid) เป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต สามารถจำลองตัวเองได้ 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 เพราะในที่สุดจะเป็นตัว

กำหนดการแปลความหมายออกมาในรูปของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตต่างๆ 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 รวมทั้งเครื่องมือและเทคนิคที่ใช้ก็เป็นปัจจัยหนึ่งในการกำหนดรูปแแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้ 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