

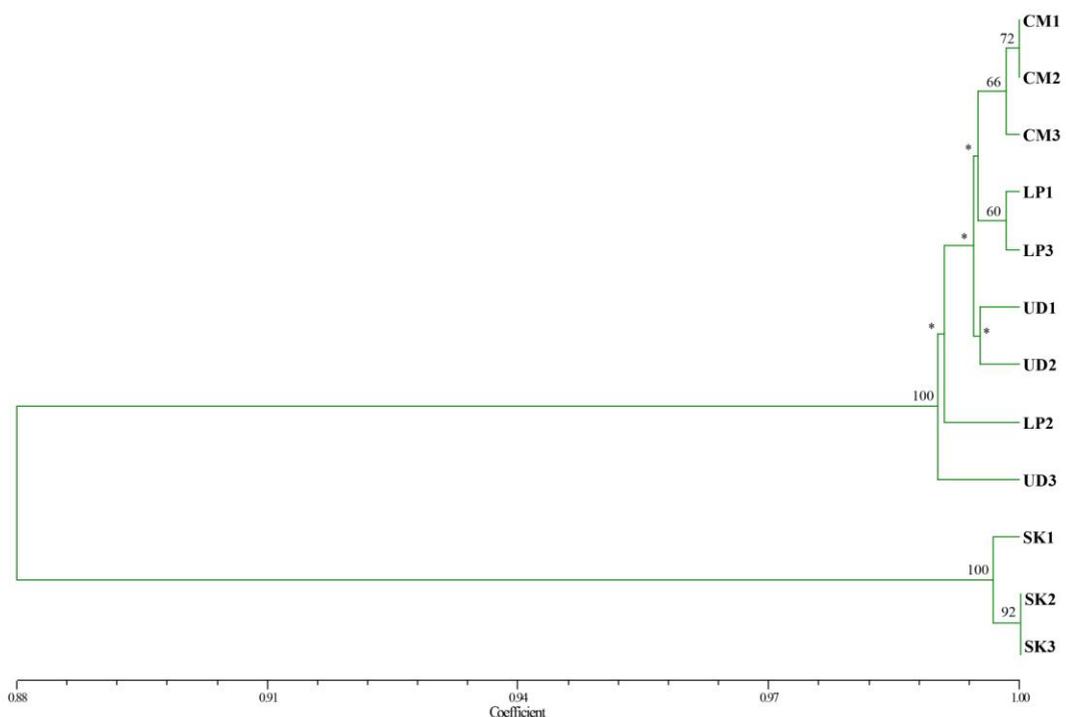
บทที่ 4

ผลการทดลอง

ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการทดลองด้วยเทคนิควิธีต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวถึงในบทที่ 3 และอภิปรายถึงความสัมพันธ์ระหว่างผลการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิควิธีต่าง ๆ นอกจากนี้แล้วในส่วนสุดท้ายจะแสดงให้เห็นถึงจุมกอีเล็กทรอนิกส์ที่เหมาะสมกับการวัดกลิ่นกระเทียมจากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCA

4.1 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

กระเทียมที่ใช้ในการทดลองนี้ นำมาจาก 4 แหล่งปลูก ได้แก่ กระเทียมศรีสะเกษ (SK) กระเทียมเชียงใหม่ (CM), กระเทียมลำพูน (LP) กระเทียมอุดรดิตถ์ (UT) โดยจะใช้กระเทียมจากแต่ละแหล่งปลูกจำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งจะแสดงเลขกำกับแต่ละตัวอย่างกระเทียม ยกตัวอย่างเช่น SK1 หมายถึงกระเทียมศรีสะเกษตัวอย่างที่ 1 การประเมินความคล้ายระหว่างพันธุกรรมของตัวอย่างกระเทียมจะอ้างอิงจากสัมประสิทธิ์ความคล้ายของ Jaccard (Jaccard's similarity coefficient) (Jaccard, 1908) ผลการทดลองที่ได้สามารถนำมาสร้างไฟโลจีเนติกทรีแบบมีรากโดยวิธี UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmetic averages) โดยใช้โปรแกรม NTSYS-Pc version 2.2k (Rohlf, 2005) ได้ดังรูปที่ 4.1

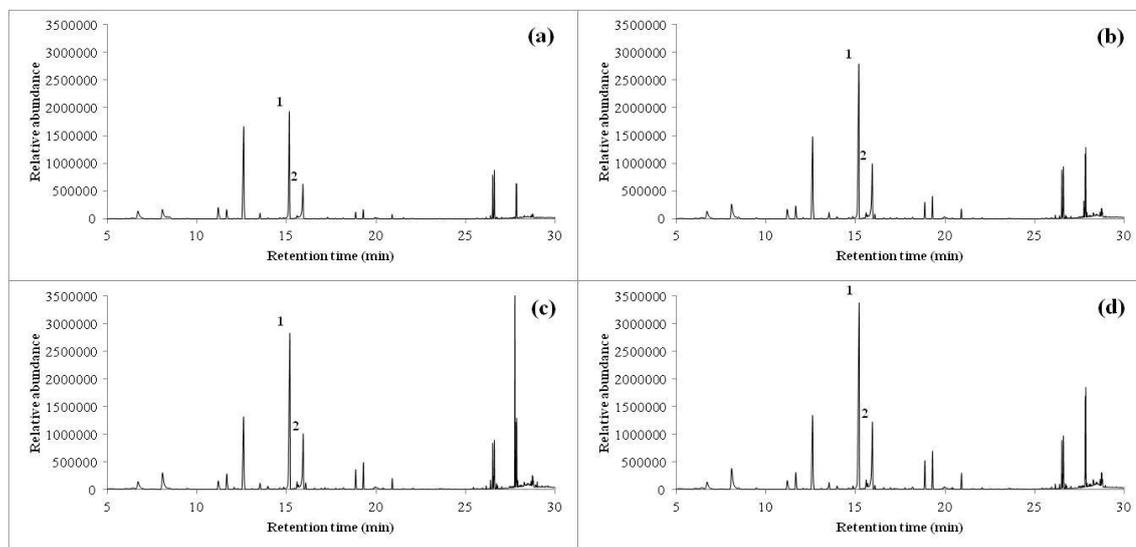


รูปที่ 4.1 ไฟโลจีเนติกทรีแบบมีรากโดยวิธี UPGMA สำหรับกระเทียม 12 ตัวอย่าง (4 แหล่งปลูก; ศรีสะเกษ, SK; เชียงใหม่, CM; ลำพูน, LP; และ อุดรดิตถ์, UD) ค่ากำกับที่โน้ตแสดงค่า second bootstrap สำหรับ Maximum Likelihood โดยที่ * หมายถึงมีค่าน้อยกว่า 50

จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าตัวอย่างกระเทียมถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ กระเทียมจากศรีสะเกษ และกระเทียมจากแหล่งปลูกอื่น ๆ หรือกล่าวได้ว่ากระเทียมศรีสะเกษมีพันธุกรรมต่างจากกระเทียมจากพื้นที่ภาคเหนือ เมื่อพิจารณากระเทียมในกลุ่มภาคเหนือ กระเทียมจากแหล่งปลูกเชียงใหม่และลำพูนจะจัดไว้ในกลุ่มเดียวกัน แม้จะมีความใกล้เคียงกันในระดับที่สังเกตได้ แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นชนิดเดียวกัน ในขณะที่กระเทียมจากแหล่งปลูกอุดรดิตถ์สามารถแยกเป็นกลุ่มย่อยได้ โดยความห่างระหว่างพันธุกรรม (Genetic distance) ของกระเทียมแต่ละแหล่งปลูกอยู่ในช่วง 0.88 – 1.00 แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างกระเทียมจากแต่ละแหล่งปลูกมีค่าค่อนข้างสูง

4.2 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ GC-MS

จากการทดลองฉีดสารละลายที่สกัดจากกระเทียมเข้าเครื่อง GC-MS ตามขั้นตอนที่กล่าวในหัวข้อที่ 3.3 ผลการทดลองที่ได้จะแสดงด้วยไอออนโครมาโตแกรม (Ion chromatogram) โดยแกนนอนแสดงลำดับเวลาและแกนตั้งแสดงเปอร์เซ็นต์ Abundance ขององค์ประกอบในสารละลาย โดยแต่ละองค์ประกอบในสารละลายจะมีตำแหน่งพีก (Peak) ที่แตกต่างกัน และพื้นที่ใต้กราฟของพีกจะแสดงถึงปริมาณขององค์ประกอบนั้น รูปที่ 4.2 แสดงไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียมทั้ง 4 แหล่งปลูก



รูปที่ 4.2 ไอออนโครมาโตแกรมของตัวอย่างกระเทียม
(a) ศรีสะเกษ (b) เชียงใหม่ (c) ลำพูน (d) อุดรดิตถ์

จากรูปแบบของไอออนโครมาโตแกรมที่ได้สามารถกล่าวได้ว่ากระเทียมจากแต่ละแหล่งปลูกจะมีองค์ประกอบหลักในสารสกัดได้จากกระเทียมสดชนิดเหมือนกันแต่ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยจะสังเกตเห็นพีก (Peak) ของสารประกอบซัลเฟอร์ซึ่งสามารถระบุได้ว่าพีก 1 คือ 3,4-dihydro-3-vinyl-

1,2-dithiin (ที่เวลา 15.2 min) และสารประกอบซัลเฟอร์ที่พีค 2 คือ 2-vinyl-4H-1,3-dithiin (ที่เวลา 15.9 min) อ้างอิงตามไลบรารีของ Wiley 7th MS ด้วยค่าคุณภาพของความตรงกัน (Match quality) ดีกว่า 90%

สารประกอบไวนิลไดอินเหล่านี้จะได้มาจากการเปลี่ยนรูปของอัลลิซิน ดังนั้นปริมาณทั้งหมดของไวนิลไดอินจะบ่งบอกถึงปริมาณอัลลิซินในกระเทียมของแต่ละแหล่งปลูกได้ ตารางที่ 4.1 แสดงผลการคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟต่อน้ำหนักตัวอย่างของกระเทียมจากแต่ละแหล่งปลูก โดยแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของไวนิลไดอินทั้งหมดของกระเทียมจากอุตรดิตถ์ที่มีค่าสูงสุด นอกจากนี้แล้วยังแสดงสัดส่วนของสารประกอบ 3,4-dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin และ 2-vinyl-4H-1,3-dithiin ของกระเทียมแต่ละแหล่งปลูก โดยค่าทั้งหมดเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทำไอออนโครมาโตแกรม 6 ครั้ง

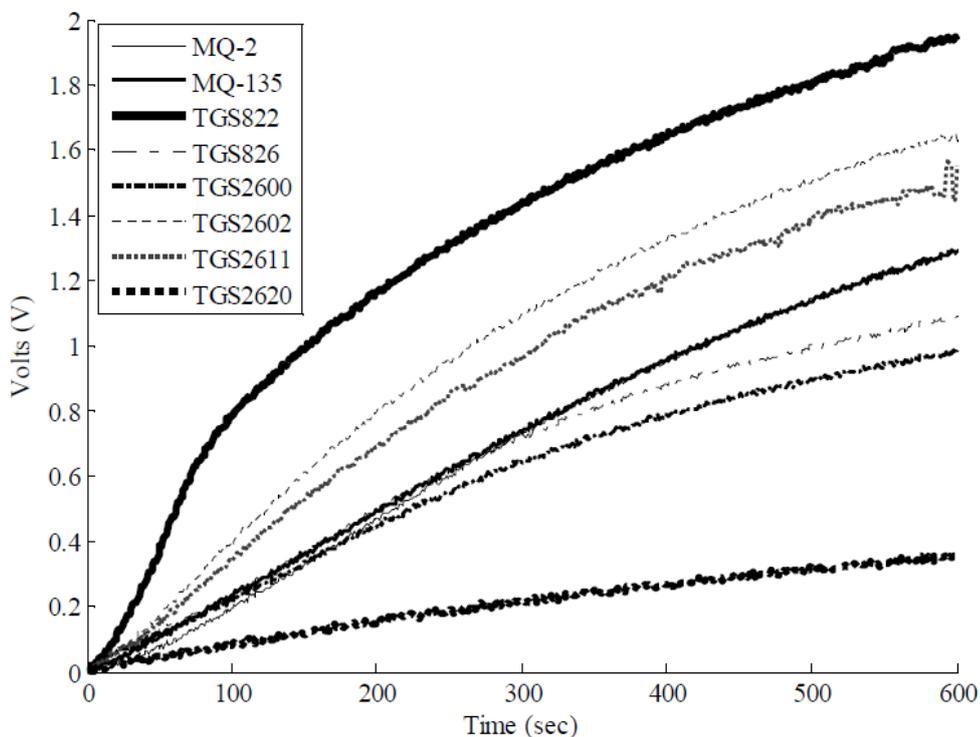
ตารางที่ 4.1 พื้นที่ใต้กราฟของสารประกอบซัลเฟอร์ทั้งหมดเทียบกับของกระเทียมอุตรดิตถ์และเปอร์เซ็นต์สัดส่วนของสารประกอบซัลเฟอร์ทั้งสองชนิด (N=6)

Sample	%Total	% 3,4-Dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin	% 2-Vinyl-4H-1,3-dithiin
อุตรดิตถ์	100 ± 1.96	74.43 ± 0.72	25.57 ± 0.72
ลำพูน	76.58 ± 2.64	72.69 ± 0.65	27.31 ± 0.65
เชียงใหม่	75.14 ± 1.97	71.81 ± 2.30	28.19 ± 2.30
ศรีสะเกษ	62.70 ± 2.07	71.24 ± 1.78	28.76 ± 1.78

จากตารางจะเห็นว่ากระเทียมจาก 4 แหล่งปลูกสามารถจัดแบ่งตามปริมาณไวนิลไดอินได้ออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มอุตรดิตถ์ กลุ่มเชียงใหม่และลำพูน กลุ่มศรีสะเกษ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ ดีเอ็นเอ ในหัวข้อ 4.1 ที่สามารถแบ่งตัวอย่างกระเทียมได้ออกเป็นสามกลุ่ม และจะเห็นว่ากระเทียมจากเชียงใหม่และลำพูนที่นำมาทดลองในครั้งนี้มีความใกล้เคียงทั้งทางด้านพันธุกรรมและปริมาณสารประกอบซัลเฟอร์

4.3 ผลการทดลองและวิเคราะห์การวัดกลิ่นด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์

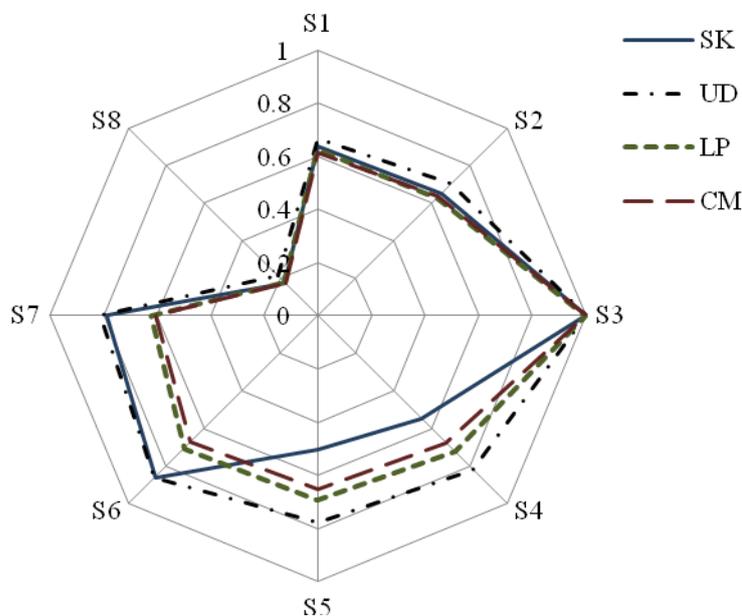
การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารระเหยจากกระเทียมส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ แต่เนื่องจากแรงดันเริ่มต้นหรือเบสไลน์ของเซนเซอร์แต่ละตัวมีค่าแตกต่างกัน เพื่อให้ง่ายต่อการพิจารณาต่อไป แรงดันเบสไลน์นี้จะถูกนำมาหักลบออกจากแรงดันขาออกที่วัดได้จากเซนเซอร์แต่ละตัว รูปที่ 4.3 แสดงตัวอย่างผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ทั้ง 8 ตัวต่อกลิ่นของกระเทียมศรีสะเกษในช่วงเวลา 600 วินาที จะพบว่าเซนเซอร์แต่ละตัวมีความไวในการตอบสนองต่อกลิ่นของกระเทียมต่างกัน



รูปที่ 4.3 ตัวอย่างผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ที่กำจัดระดับสัญญาณเบสไลน์ของการวัดกระเทียมศรีสะเกษ

เนื่องจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น ส่งผลต่อการตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์เช่นกัน เพื่อที่จะกำจัดผลกระทบจากปัจจัยแวดล้อมเหล่านี้จึงทำการพิจารณาผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์แบบสัมพัทธ์ ในการวิเคราะห์ข้อมูลนั้นสามารถเลือกพิจารณาในช่วงเวลาที่สังเกตเห็นการแยกชัดได้ดี โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ข้อมูลที่วินาทีที่ 600 รูปที่ 4.4 แสดงกราฟแปดเหลี่ยมของผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ทั้ง 8 ตัวที่วินาทีที่ 600 ซึ่งถูกนอร์มอลไลซ์ด้วยผลตอบสนองสูงสุดของเซนเซอร์ S3 (TGS822) จากรูปแบบผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ต่อกระเทียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ จะสังเกตเห็นว่าผลตอบสนองของเซนเซอร์ S4 และ S5 ต่อกระเทียมจากแต่ละแหล่งปลูกจะมีระดับสอดคล้องกับปริมาณของไวโนลไดอินของกระเทียมจากแหล่งปลูกนั้น กล่าวคือ กระเทียมจากแหล่งปลูกอุตรดิตถ์มีปริมาณไวโนลไดอินสูงที่สุด ผลตอบสนองของเซนเซอร์ S4 และ S5 ก็สูงกว่ากระเทียมจากแหล่งปลูกอื่น ๆ เช่นกัน นอกจากนี้แล้วจะสังเกตเห็นว่าผลตอบสนองของเซนเซอร์ S1 S2 และ S8 ต่อกระเทียมแต่ละแหล่งปลูกมีความแตกต่างกันไม่มากนัก จากข้อมูลคุณลักษณะของเซนเซอร์ S1 จะพบว่าสามารถตอบสนองต่อก๊าซหลายชนิดรวมถึงมีเทนด้วย แต่เนื่องจากมีความจำเพาะต่อก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่งต่ำส่งผลให้เกิดความทับซ้อนของผลตอบสนอง ทำนองเดียวกัน แม้เซนเซอร์ S2 และ S4 ต่างสามารถตอบสนองต่อแอมโมเนียได้ แต่เนื่องจากเซนเซอร์ S2 นั้นมีความจำเพาะต่ำจึงเกิดการทับซ้อนของผลตอบสนองเช่นเดียวกัน ในขณะที่เซนเซอร์ S7 และ S8 จะตอบสนองต่อก๊าซในกลุ่มเดียวกันแต่จะพบว่าความไวในการตอบสนองของเซนเซอร์ S7 ต่อมมีเทนสูงกว่า S8 (Morsi and

Mostafa, 2013) ซึ่งอาจจะเป็นผลให้สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของผลตอบสนองของเซนเซอร์ S7 ได้



รูปที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยของผลตอบสนองของก๊าซเซนเซอร์ทั้ง 8 ชนิดที่นอมอลไลซ์แล้ววัดกระเทียม (N=5)
SK = ศรีสะเกษ, CM = เชียงใหม่, LP = ลำพูน, UD = อุตรดิตถ์

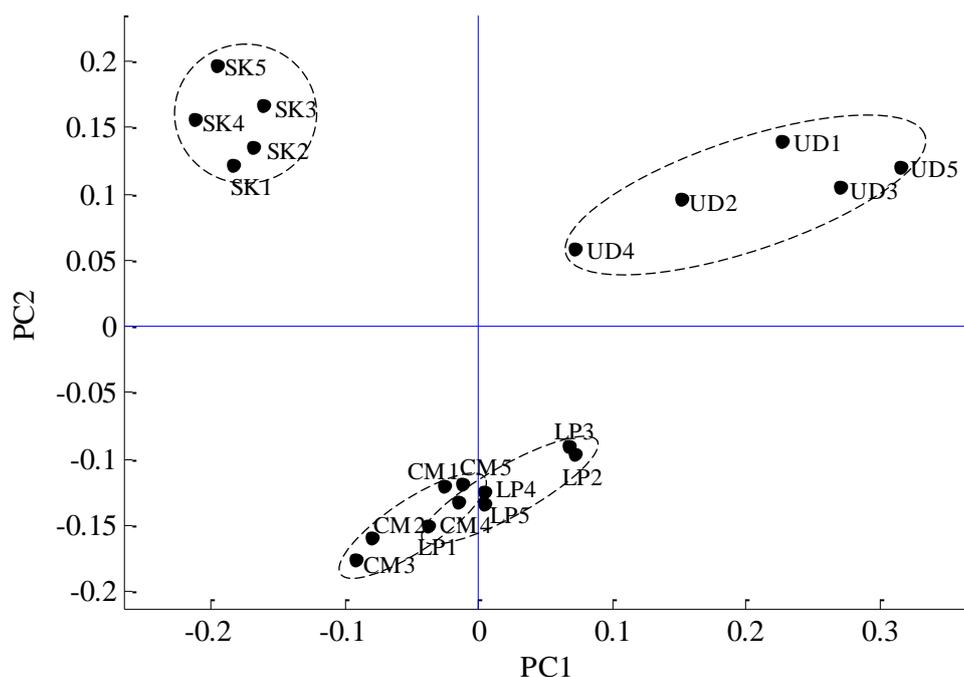
จากรูปแบบที่ต่างกันระหว่างผลตอบสนองต่อกลิ่นกระเทียมแต่ละแหล่งปลูก เมื่อใช้ผลตอบสนองของเซนเซอร์ S4 และ S5 เป็นเกณฑ์ สามารถจัดกลุ่มกระเทียมจาก 4 แหล่งปลูกได้เป็น 3 กลุ่ม (1: อุตรดิตถ์, 2: เชียงใหม่และลำพูน, 3: ศรีสะเกษ) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ และ GC-MS ในหัวข้อ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม จะเห็นว่ามีค่าความแตกต่างเพียงเล็กน้อยระหว่างกลิ่นกระเทียมจากเชียงใหม่และลำพูนที่วัดได้จากระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์นี้ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่มีพื้นที่ติดกันจึงมีความเป็นไปได้ว่ากระเทียมที่นำมาปลูก จะมีแหล่งที่มาเดียวกัน

จากผลการทดลองพบว่าเซนเซอร์แต่ละตัวมีความไวต่อก๊าซหลายชนิดและกระเทียมจากบางแหล่งปลูกไม่สามารถจำแนกได้โดยง่าย ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดความยุ่งยากในการจำแนกเทคนิค Principle component analysis (PCA) จึงถูกนำมาใช้ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป

4.4 การวิเคราะห์จำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยเทคนิค PCA

เทคนิค PCA เป็นการแปลงเชิงตั้งฉาก (Orthogonal transformation) เทคนิคหนึ่งซึ่งจะทำการแปลงตัวแปรจากการสังเกตหรือการวัดไปยังพิกัดใหม่หรือองค์ประกอบสำคัญ (Principal component) ที่เป็นอิสระต่อกัน โดยที่องค์ประกอบสำคัญหลักตัวแรก (First principal component : PC1) จะมีค่าความแปรปรวน (Variance) สูงที่สุดและตัวแปรหลักตัวถัดไปจะมีค่าความแปรปรวนลดหลั่นกันลงไป เทคนิค PCA นี้นิยมใช้ในการจำแนกข้อมูลแบบ Unsupervised

และใช้ในการลดขนาดของข้อมูลก่อนนำไปประมวลผลต่อไปอีกด้วย ข้อมูลที่นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCA นี้เป็นค่าแรงดันจากวงจรวัดของเซ็นเซอร์ทั้ง 8 ตัวที่ได้จากการวัดคลื่นของกระเทียมแหล่งปลูก 5 ครั้ง โดยใช้ข้อมูล ณ วินาทีที่ 600

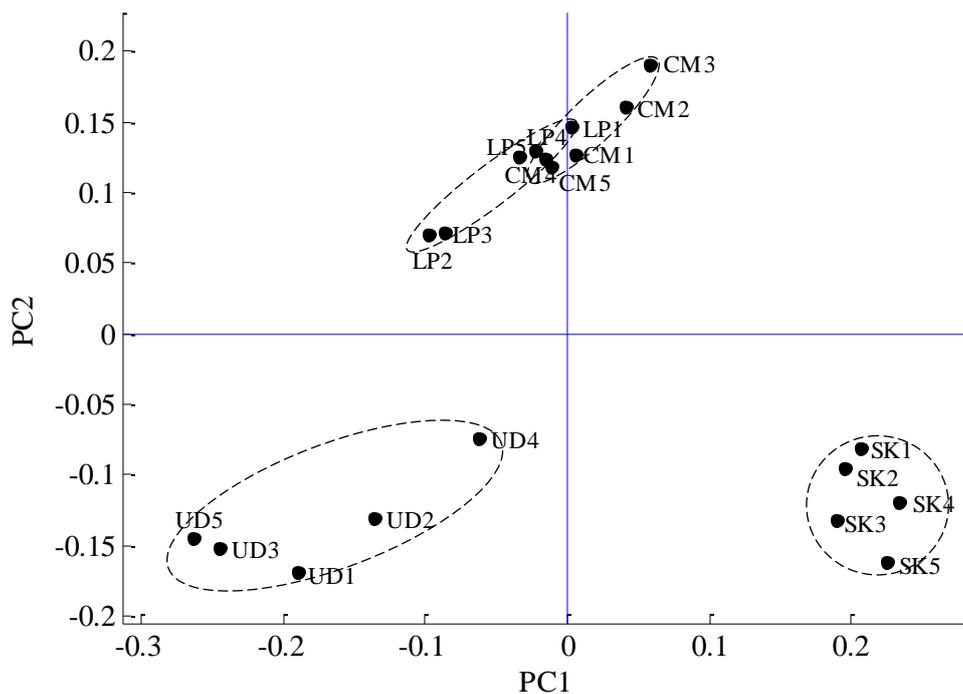


รูปที่ 4.5 ผลการจำแนกด้วย PCA 2 มิติของผลตอบสนองเซ็นเซอร์ทั้ง 8 ตัว โดยที่ SK = ศรีสะเกษ, CM = เชียงใหม่, LP = ลำพูน, UD = อุตรดิตถ์

ผลการจัดกลุ่มด้วย PCA แสดงในรูปที่ 4.5 โดยมีองค์ประกอบमुखสำคัญที่ 1 และ 2 (PC1 และ PC2) ครอบคลุมค่าแปรปรวนของอินพุต 53.69% และ 42.43% ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลการทดลองที่ผ่านมา PCA จัดกลุ่มกระเทียมจาก 4 แหล่งปลูกออกเป็น 3 กลุ่ม โดยจะพบการซ้อนทับระหว่างกระเทียมเชียงใหม่และลำพูน ซึ่งผลที่ได้ช่วยยืนยันความสามารถในการจำแนกพันธุ์กระเทียมด้วยจมูกอิเล็กทรอนิกส์

เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพของระบบจมูกอิเล็กทรอนิกส์ที่พัฒนาขึ้น การเลือกใช้เฉพาะข้อมูลจากเซ็นเซอร์ที่มีผลตอบสนองสูงจะช่วยให้การใช้หน่วยความจำในการเก็บข้อมูลลดลงและลดภาระของหน่วยประมวลผลด้วย จากที่กล่าวมาข้างต้นว่าเซ็นเซอร์ S1 S2 และ S8 มีความไวและความเจาะเพาะต่ำ ดังนั้นเมื่อไม่ใช้ข้อมูลของเซ็นเซอร์ทั้งสามตัวนี้ทำให้ข้อมูลเหลือเพียงผลตอบสนองของเซ็นเซอร์ 5 ตัวเท่านั้น และเมื่อทำการจำแนกด้วยเทคนิค PCA อีกครั้ง จะได้ผลดังรูปที่ 4.6 โดยมี

องค์ประกอบमुखสำคัญที่ 1 และ 2 (PC1 และ PC2) ครอบคลุมค่าแปรปรวนของอินพุต 55.65% และ 43.77% ตามลำดับ และได้ผลการจัดกลุ่มเช่นเดียวกับการใช้เซนเซอร์ 8 ตัว ซึ่งแสดงให้เห็นถึงว่าสามารถลดจำนวนเซนเซอร์ในระบบจุ่มกือเล็กทรอนิกส์สำหรับจำแนกแหล่งปลุกกระเทียมลงเหลือเพียง 5 ตัว (S3 - S7) ได้ โดยไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการจำแนก



รูปที่ 4.6 ผลการจำแนกด้วย PCA 2 มิติของผลตอบสนองเซนเซอร์ทั้ง 5 ตัว โดยที่ SK = ศรีสะเกษ, CM = เชียงใหม่, LP = ลำพูน, UD = อุตรดิตถ์