NU Science Journal 2010; 7(1): 38 - 49

การตรวจสอบจีเอ็มโอในผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองและข้าวโพด ในจังหวัดพิษณุโลก

เกศสุนี ชมชื่น ดวงจันทร์ บุตราศรี และ มลิวรรณ นาคขุนทด*

Detection of GMOs in food products from soybean and corn in Phitsanulok

Kessunee Chomchuen, Kessunee Chomchuen, and Maliwan Nakkuntod*

หน่วยวิจัยพันธุศาสตร์และชีววิทยาโมเลกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000
*Corresponding author. E-mail: lotharmali@yahoo.com

บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบดีเอ็นเอในผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองและข้าวโพดที่สุ่มจากตลาดสดและห้างสรรพสินค้าในจังหวัดพิษณุโลก ทั้งสิ้น 26 ตัวอย่าง พบว่าวิธีสกัดดีเอ็นเอแบบดัดแปลง CTAB method สามารถใช้สกัดดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยไพรเมอร์สำหรับยีน lectin และยีน zein พบว่ามีดีเอ็นเอถั่วเหลืองและข้าวโพดจำนวน 19 ผลิตภัณฑ์ และจากการตรวจสอบหาการปนเปื้อนของถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ 2 คู่ในการตรวจหา CaMV 35S promoter พบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง จำนวน 5 ตัวอย่าง และในผลิตภัณฑ์ข้าวโพดจำนวน 5 ตัวอย่าง ขณะที่การตรวจสอบหา *nos*-terminator พบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ข้าวโพดจำนวน 2 ตัวอย่าง แต่ไม่พบในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง จึงไม่สามารถยืนยันการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองได้ ขณะที่ผลิตภัณฑ์ข้าวโพดพบว่ามีการปนเปื้อนของข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมที่ชัดเจนจำนวน 2 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นที่ไม่มีการติดฉลาก และเครื่องดื่มธัญญาหารที่มีการติดฉลากแล้ว

คำสำคัญ : ถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม จีเอ็มโอ

Abstract

Twenty-six food products of soybean and corn from markets and supermarkets in Phitsanulok were collected randomly. Modified CTAB method is suitable for DNA extraction in this study. The lectin and zein genes were found in 19 products. PCR-base method for the detection of genetically modified soybean and corn was used. CaMV 35S promoter was found in 5 soybean products and 5 corn products. Besides, *nos*-terminator was detected in 2 products of corn but not in all products of soybean. Therefore, soybean products were not confirmed for GMOs. The result showed that 2 products of corn were genetically modified corn: popcorn seed (not labeled) and corn beverage (labeled).

Keywords: Genetically modified soybean and corn, GMOs

บทนำ

ปัจจุบันนี้เทคโนโลยีชีวภาพเจริญก้าวหน้ารวดเร็ว โดยเฉพาะการนำเอายีนหรือหน่วยพันธุกรรมที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ พืช สัตว์ มาถ่ายฝากในสิ่งมีชีวิตอื่นเพื่อต้องการปรับปรุงให้มีลักษณะดีกว่าเดิม สิ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้นใหม่นี้เรียกว่า GMOs (Genetically Modified Organisms) (ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร, 2544) ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้นมีความสามารถในการต้านทานโรคและแมลง ผลผลิตและคุณภาพดีขึ้น เป็นต้น ซึ่งการปลูกพืช GMOs มีการขยายตัวขึ้นอย่างรวดเร็วในประเทศสหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา บราซิล แคนาดา จีน ปารากวัย อินเดีย และแอฟริกาใต้ (Jame, 2005) ปัจจุบันพบพืช GMOs มากกว่า 40 ชนิด ที่รู้จักกันแพร่หลาย เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด ฝ้าย และคาโนลา สำหรับประเทศไทย รัฐบาลได้ออกกฎระเบียบห้ามนำพืช GMOs มากระจายพันธุ์ในประเทศ ทำให้ประเทศไทยอยู่ในฐานะปลอดจากการปลูกพืช GMOs แต่ก็มีการนำเข้าวัตถุดิบถั่วเหลืองและข้าวโพดในปริมาณมาก เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์และอาหารแปรรูป ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้มีต้นทุนราคาต่ำกว่าที่ผลิตในประเทศและมีโอกาสปะปนด้วยผลิตภัณฑ์ดัดแปลงพันธุกรรมในระดับที่สูง ดังนั้นในบางประเทศจึงมีการออกมาตรการมาบังคับใช้สำหรับอาหารทีมีส่วนผสมของ GMOs โดยจะต้องแสดงในฉลากที่ผลิตภัณฑ์บรรจุ เพื่อให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภคในการเลือกซื้อ เช่น ในออสเตรเลียและนิวซีแลนด์กำหนดให้มีการติดฉลากเมื่อมี GMOs ปนเปื้อนอยู่ตั้งแต่ 1% ขึ้นไป ส่วนในประเทศเกาหลีและญี่ปุ่นกำหนดมาตรฐานไว้ที่ 3% และ 5% ตามลำดับ (Knut *et al.,* 2008) ขณะนี้ก็ยังไม่มีผลการศึกษาในระยะยาวจากนักวิทยาศาสตร์ว่าอาหารดัดแปลงพันธุกรรมมีอันตรายต่อสุขภาพหรือไม่ ในขณะที่อาหารที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมถูกผลิตออกมาวางจำหน่ายอย่างต่อเนื่องในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทยด้วย

การตรวจสอบว่าพืชชนิดใดหรืออาหารชนิดใดเป็น GMOs หรือไม่นั้น ไม่สามารถกระทำได้ด้วยตาเปล่า จำเป็นจะต้องใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพและการตรวจสอบภายในห้องปฏิบัติการเข้ามาช่วย ซึ่งโดยส่วนใหญ่การตรวจสอบ GMOs ของทั่วโลกจะตรวจจากดีเอ็นเอ 3 บริเวณ คือ cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter, nopaline synthase (*nos*) terminator และ kanamycin-resistance marker genes (nptII) (Ahmed, 2002) ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงนำเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction: PCR) เข้ามาช่วยตรวจสอบการปนเปื้อนของถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมจากผลิตภัณฑ์อาหารในจังหวัดพิษณุโลกโดยใช้ CaMV 35S promoter และ *nos*-terminator ในการตรวจสอบ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ซื้อมาจากตลาดสดและห้างสรรพสินค้าจังหวัดพิษณุโลกรวม 26 ตัวอย่าง แบ่งเป็น

1.1 ผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองจำนวน 14 ตัวอย่าง ได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองดิบ (3 ตัวอย่าง), แป้งถั่วเหลือง (1 ตัวอย่าง) ซอสถั่วเหลือง (1 ตัวอย่าง) ซีอิ๊วถั่วเหลือง (1 ตัวอย่าง) เต้าเจี้ยว (1 ตัวอย่าง) เต้าหู้ (4 ตัวอย่าง) น้ำมันถั่วเหลือง (1 ตัวอย่าง) และนมถั่วเหลือง (2 ตัวอย่าง)

1.2 ผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวโพด จำนวน 12 ตัวอยาง เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์น (2 ตัวอย่าง) ข้าวโพดหวานจากฝักข้าวโพดสด (2 ตัวอย่าง) ข้าวโพดอ่อน (1 ตัวอย่าง) ซุปข้าวโพดกระป๋อง (1 ตัวอย่าง) แป้งข้าวโพด (2 ตัวอย่าง) ข้าวโพดอบกรอบ (2 ตัวอย่าง) น้ำนมข้าวโพด (1 ตัวอย่าง) และเครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด (1 ตัวอย่าง)

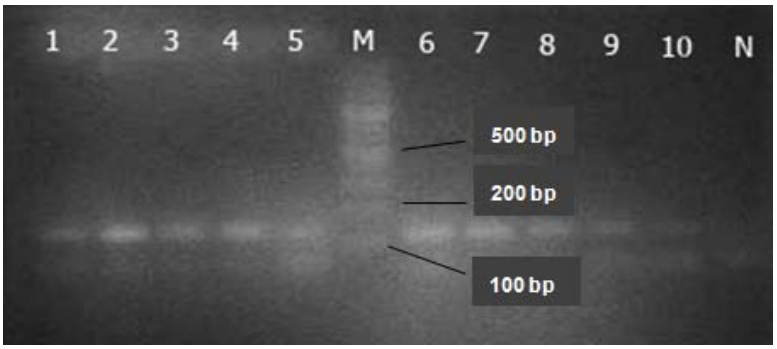
2. สกัดดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองและข้าวโพด โดยใช้วิธีดัดแปลง CTAB (Tinker *et al*., 1993; Meyer, 1999) โดยทั้ง 2 วิธีใช้ปริมาณตัวอย่าง 300 มิลลิกรัม ยกเว้นอาหารแปรรูปที่เป็นของเหลวจะใช้วิธีการสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี CTAB ของ Yoshimitsu and Hori (2003) ซึ่งใช้ตัวอย่าง 400 ไมโครลิตร ทำการสกัดดีเอ็นเอจำนวน 10 ซ้ำ โดยนำตัวอย่างมาบดให้ละเอียดแล้วเติม CTAB buffer 700-1,000 ไมโครลิตร จากนั้นตกตะกอนโปรตีนด้วย Phenol : Chloroform : Isoamyl Alcohol (25:24:1) ไมโครลิตร ทำการตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย Isopropanol และ 5 M NaCl หลังจากนั้นล้างตะกอนด้วย 70% ethanol 500 ไมโครลิตร และขั้นตอนสุดท้ายละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 30-50 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส

3. ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟริซิสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 0.8% ใน 1X TAE buffer กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ส่วนในการตรวจสอบดีเอ็นเอที่ผ่านการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ จะใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5% ใน 1X TAE buffer กระแสไฟฟ้า 50 โวลต์ แล้วนำไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ จากนั้นนำมาส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตและถ่ายภาพด้วยเครื่อง Gel Document (BIO RAD)

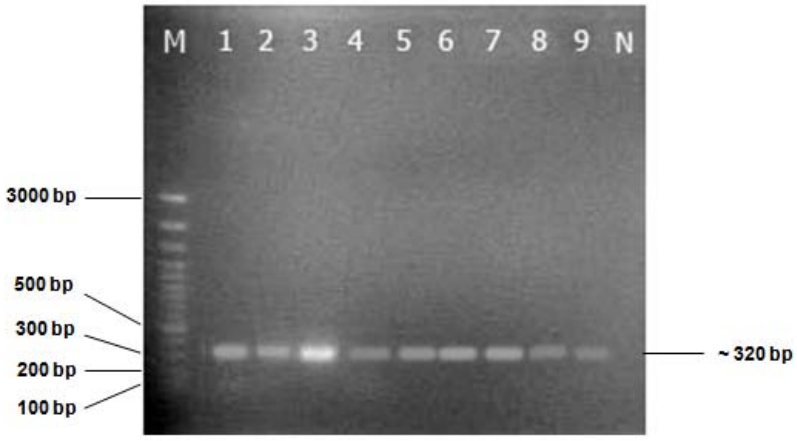
4. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบหายีน lectin และยีน zein ในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองและข้าวโพดตามลำดับ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ le-1/le-2 และ ze-1/ze-2 ตามลำดับ จากนั้นตรวจสอบส่วนของ CaMV 35S promoter ด้วยไพรเมอร์ 2 คู่ คือ35S-1/35S-2 และ p35S-cf3/p35S-cr4 แล้วทำการตรวจสอบส่วนของ *nos*-terminator ด้วยไพรเมอร์ 1 คู่ คือ HA-*nos*118-f/HA-*nos*118-r ด้วยสภาวะต่างๆ ของ Cardarelli *et al.* (2005)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารของถั่วเหลืองและข้าวโพด รวม 26 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีดัดแปลง CTAB method และนำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์สำหรับยีน lectin พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขนาดประมาณ 120 คู่เบส จำนวน 10 ตัวอย่างจาก 14 ตัวอย่าง (71.4%) (รูป 1) โดยที่ซอสถั่วเหลือง น้ำมันถั่วเหลือง และ แป้งถั่วเหลือง ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ขณะที่ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์ข้าวโพดจำนวน 12 ตัวอย่าง สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสำหรับยีน zein ได้ขนาดประมาณ 320 คู่เบสจำนวน 9 ตัวอย่าง (75%) (รูป 2) โดยที่แป้งข้าวโพดและน้ำนมข้าวโพดไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ผ่านกระบวนการแปรรูปมาหลายขั้นตอนไม่ว่าจะเป็นการต้ม การอบแห้งจึงทำให้เกิดการสูญหายหรือแตกหักของชิ้นส่วน ดีเอ็นเอ ทำให้ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีนดังกล่าวได้ (Cardarelli *et al*., 2005) แต่ Pauli และคณะ (1998) ได้เสนอแนะว่าการสกัดดีเอ็นเอจากอาหารแปรรูปในกลุ่มถั่วเหลืองและข้าวโพดสามารถใช้ guanidine HCl และเรซินสังเคราะห์เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณมากและบริสุทธิ์ แต่ราคาค่อนข้างแพง

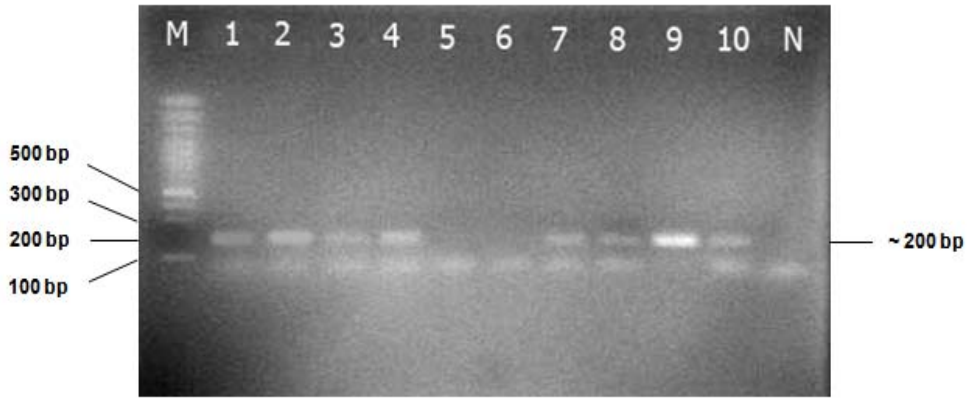


รูป 1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน lectin จากดีเอ็นเอที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์อาหารของถั่วเหลือง; M คือ 100 bp marker; 1-3 คือ เมล็ดถั่วเหลืองดิบจากแหล่งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ; 4 คือ เต้าเจี้ยว; 5-8 คือ เต้าหู้จากแหล่งที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ; 9-10 คือ นมถั่วเหลืองจากแหล่งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ และ N คือ Negative control



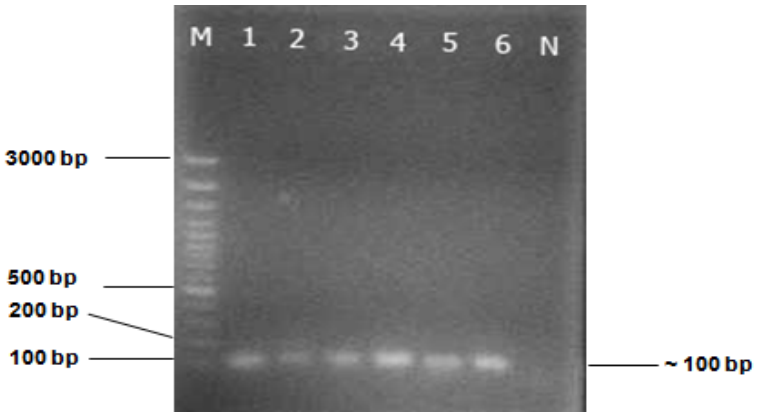
รูป 2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน zein จากดีเอ็นเอที่สกัดได้จากผลิตภัณฑ์อาหารของข้าวโพด; M คือ 100 bp marker; 1-2 คือ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ; 3-4 คือ เมล็ดข้าวโพดหวานจากแหล่งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ; 5 คือ ซุปข้าวโพด; 6-7 คือ ข้าวโพดอบกรอบจากแหล่งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ; 8 คือ เครื่องดื่มธัญญาหาร; 9 คือ ข้าวโพดอ่อน และ N: Negative control

จากนั้นตรวจสอบหาการปนเปื้อนของถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมโดยใช้ไพรเมอร์ 3 คู่ ได้แก่ ไพรเมอร์ 35S-1/35S-2 และไพรเมอร์ p35S-cf3/p35S-cr4 สำหรับตรวจสอบส่วน CaMV 35S promoter และ ไพรเมอร์ HA-*nos* 118-f/HA-*nos* 118-r สำหรับตรวจสอบส่วน *nos*-terminator พบว่าในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของถั่วเหลืองด้วยคู่ไพรเมอร์ 35S-1/35S-2 สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้ขนาดประมาณ 200 คู่เบส ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 3 ตัวอย่าง ได้แก่ เต้าหู้จากแหล่งที่ 2 และ เมล็ดถั่วเหลืองดิบจากแหล่งที่ 2 และ 3 และผลิตภัณฑ์ข้าวโพด 5 ตัวอย่าง ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 1 และ 2 เมล็ดข้าวโพดหวานจากแหล่งที่ 1 ซุปข้าวโพด และเครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด (รูป 3)

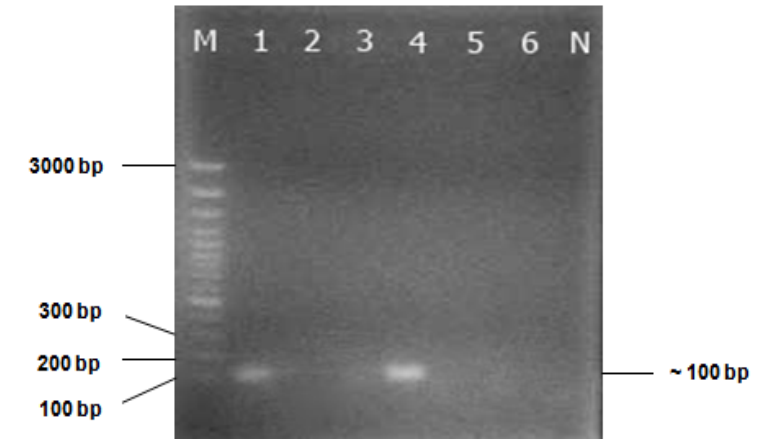


รูป 3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วนของ CaMV 35S promoter ด้วยไพรเมอร์ 35S-1/35S-2; M คือ 100 bp marker; 1-2 คือ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ; 3 คือ เมล็ดข้าวโพดหวานจากแหล่งที่ 1; 4 คือ ซุปข้าวโพด; 5 คือ ข้าวโพดอ่อน; 6 คือ นมถั่วเหลืองจากแหล่งที่ 1; 7 คือ เต้าหู้จากแหล่งที่ 2; 8 คือ เครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด; 9-10 คือ เมล็ดถั่วเหลืองดิบจากแหล่งที่ 2 และ 3 ตามลำดับ และ N คือ Negative control

ผลการตรวจสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยคู่ไพรเมอร์ p35S-cf3/p35S-cr4 สำหรับ CaMV 35S promoter อีกหนึ่งตำแหน่ง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขนาดประมาณ 100 คู่เบสในตัวอย่างถั่วเหลือง 5 ตัวอย่าง และตัวอย่างข้าวโพด 2 ตัวอย่าง (รูป 4) โดยที่ตัวอย่างเต้าหู้จากแหล่งที่ 2 ไม่ได้แสดงผลในรูป และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยคู่ไพรเมอร์ HA-*nos* 118-f/HA-*nos* 118-r สำหรับตรวจสอบบริเวณ *nos*-terminator พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ขนาดประมาณ 100 คู่เบสในตัวอย่างข้าวโพด 2 ตัวอย่างเท่านั้น ขณะที่ในตัวอย่างถั่วเหลืองไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ *nos*-teminator ได้ (รูป 5) ผลการศึกษาทั้งหมดแสดงดังตาราง 1 และ 2



รูป 4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วนของ CaMV 35S promoter ด้วยไพรเมอร์ p35S-cf3/p35S-cr4; M คือ 100 bp marker; 1 คือ เครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด; 2 คือ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 1; 3 คือ เต้าเจี้ยว; 4-5 คือ เมล็ดถั่วเหลืองจากแหล่งที่ 2 และ 3; 6 คือ เต้าหู้จากแหล่งที่ 3 และ N คือ Negative control



รูป 5 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วนของ *nos*-terminator ด้วยไพรเมอร์ HA-*nos* 118-f/HA-*nos* 118-r; M คือ 100 bp marker; 1 คือ เครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด; 2 คือ เมล็ดถั่วเหลืองจากแหล่งที่ 1; 3-4 คือ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 2 และ 1 ตามลำดับ; 5 คือเต้าเจี้ยว; 6 คือ เต้าหู้จากแหล่งที่ 3 และ N คือ Negative control

ตาราง 1 ผลการตรวจสอบยีน lectin, CaMV 35S promoter และ *nos*-terminator ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลือง

ลำดับ	ตัวอย่าง	Lectin (~120 bp)	35S (~200 bp)	p35S (~100 bp)	*nos* (~100 bp)
1	เมล็ดถั่วเหลือง 1	+	-	-	-
2	เมล็ดถั่วเหลือง 2	+	+	+	-
3	เมล็ดถั่วเหลือง 3	+	+	+	-
4	นมถั่วเหลือง 1	+	-	-	-
5	นมถั่วเหลือง 2	+	-	-	-
6	เต้าหู้ 1	+	-	-	-
7	เต้าหู้ 2	+	+	+	-
8	เต้าหู้ 3	+	-	+	-
9	เต้าหู้ 4	+	-	-	-
10	เต้าเจี้ยว	+	-	+	-
11	ซอสถั่วเหลือง 1	-	-	-	-
12	ซอสถั่วเหลือง 2	-	-	-	-
13	น้ำมันถั่วเหลือง	-	-	-	-
14	แป้งถั่วเหลือง	-	-	-	-
	รวม	10	3	5	0

จากผลการตรวจสอบยีน lectin, CaMV 35S promoter และ *nos*-terminator ในตัวอย่างถั่วเหลือง (ตาราง 1) พบว่าไม่สามารถยืนยันได้ว่าผลิตภัณฑ์ของถั่วเหลืองในการศึกษาครั้งนี้มีการปนเปื้อนจากถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรม เนื่องจากไม่สามารถตรวจพบส่วนของ *nos*-terminator ได้ที่อาจเป็นเช่นนี้เพราะในขบวนการผลิต GMOs ใช้เทอร์มิเนเตอร์ชนิดอื่น หรือไม่มีการปนเปื้อน GMOs ก็ได้ ส่วนการตรวจสอบพบบริเวณ CaMV 35S promoter นั้นอาจเนื่องมาจากมีการปนเปื้อนจากธรรมชาติของพืชพวก *Cruciferae* เช่น กะหล่ำดอก บร็อคโคลี ดังนั้นในการตรวจพบบริเวณ CaMV 35S promoter เพียงบริเวณเดียวจึงยังไม่สามารถยืนยันได้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองและข้าวโพดนั้นมาจากการดัดแปลงพันธุกรรม (Carolyn *et al*., 1999; Anklam *et al*, 2002) จำเป็นต้องมีการตรวจสอบบริเวณยีนอื่นอีก เพื่อให้ผลถูกต้องแม่นยำมากขึ้น

ตาราง 2 ผลการตรวจสอบยีน zein, CaMV 35S promoter และ nos-terminator ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวโพด

ลำดับ	ตัวอย่าง	zein (~320 bp)	35S (~200 bp)	p35S (~100 bp)	*nos* (~100 bp)
1	เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์น 1	+	+	+	+
2	เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์น 2	+	+	-	-
3	เมล็ดข้าวโพดหวาน 1	+	+	-	-
4	เมล็ดข้าวโพดหวาน 2	+	-	-	-
5	ข้าวโพดอ่อน	+	-	-	-
6	เครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด	+	+	+	+
7	ซุปข้าวโพด	+	+	-	-
8	ข้าวโพดอบกรอบ 1	+	-	-	-
9	ข้าวโพดอบกรอบ 2	+	-	-	-
10	แป้งข้าวโพด 1	-	-	-	-
11	แป้งข้าวโพด 2	-	-	-	-
12	น้ำนมข้าวโพด	-	-	-	-
	รวม	9	5	2	2

จากผลการตรวจสอบยีน zein, CaMV 35S promoter และ *nos*-terminator ในข้าวโพด (ตาราง 2) สามารถยืนยันได้ว่าพบผลิตภัณฑ์อาหารที่มีการปนเปื้อนข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมแน่ชัด 2 ตัวอย่าง ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 1 และเครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด โดยตรวจสอบพบ CaMV 35S promoter และ *nos*-terminator ทั้ง 2 ส่วน ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว *Agrobacterium tumefaciens* ที่พบในดินจะไม่เป็นพิษและไม่สามารถส่งถ่าย Ti plasmid สู่ธรรมชาติได้ ดังนั้นยีน *nos* จึงไม่ปรากฏในธรรมชาติ (Anklam *et al*., 2002) จึงสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์ 2 ตัวอย่างนี้มีการผลิตมาจากข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมโดยเกิดจากการตัดต่อยีน *nos* เป็นเทอร์มิเนเตอร์ในการทำข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม โดยเครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพดนั้นได้มีการติดฉลากไว้แล้วว่าผลิตมาจากข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม พร้อมทั้งได้ระบุเปอร์เซ็นต์ของการปนเปื้อนและสามารถวางขายได้ในท้องตลาดได้อย่างถูกต้อง ขณะที่เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นจากแหล่งที่ 1 ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่นำเข้ามา

จากประเทศสหรัฐอเมริกายังไม่ได้มีการติดฉลาก นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวโพดอื่นอีก 3 ตัวอย่างที่ไม่สามารถยืนยันแน่ชัดได้ว่ามีการปนเปื้อนของข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมหรือไม่ เนื่องจากมีการตรวจพบเพียงส่วนของ CaMV 35S promoter แต่ไม่สามารถตรวจพบส่วนของ *nos*-terminator ซึ่งเป็นไปได้ว่าเทอร์มิเนเตอร์ที่ตัดต่อเข้าไปไม่ใช่ยีน *nos* อาจใช้เทอร์มิเนเตอร์ตัวอื่นในการตัดต่อยีน ซึ่งมีเทอร์มิเนเตอร์หลายตัวที่นำมาตัดต่อเข้ากับเวกเตอร์หรือพลาสมิด เช่น T-35S, Bacterial (Gamze, 2004) หรือผลิตภัณฑ์อาหารที่นำมาตรวจสอบไม่ได้มาจากการดัดแปลงพันธุกรรม ดังนั้นต้องมีการตรวจสอบเพื่อยืนยันในอีกหลายบริเวณ เช่น การตรวจสอบหายีนที่ต้านทานยาปฏิชีวนะ เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้ได้ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีดัดแปลง CTAB method จากผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองและข้าวโพด พบว่าอาหารจำพวกวัตถุดิบ ได้แก่ เมล็ดถั่วเหลือง และเมล็ดข้าวโพด สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ปริมาณมากกว่าส่วนที่เป็นผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปแบบอื่นเช่น นมถั่วเหลือง เต้าหู้ เต้าเจี้ยว เครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด ข้าวโพดอ่อน ซุปข้าวโพด ข้าวโพดอบกรอบ ขณะที่ผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปที่ไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ คือ ซอสถั่วเหลือง น้ำมันถั่วเหลือง แป้งถั่วเหลือง แป้งข้าวโพด และน้ำนมข้าวโพด ในการทดลองครั้งนี้ได้ตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำ และความน่าเชื่อถือด้วยการประเมินจากความจำเพาะในรูปของไพรเมอร์ และความน่าเชื่อถือในรูปของการทำซ้ำ 5 ซ้ำที่ได้ผลออกมาเหมือนกัน จากผลการตรวจสอบความจำเพาะของถั่วเหลืองด้วยยีน lectin พบว่ามีดีเอ็นเอถั่วเหลืองที่สกัดได้ 10 ตัวอย่าง จาก 14 ตัวอย่าง เพื่อเป็นการยืนยันว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้เป็นดีเอ็นเอถั่วเหลืองจริง เช่นเดียวกับการตรวจสอบความจำเพาะของข้าวโพดจะตรวจหาบริเวณยีน zein พบว่ามีดีเอ็นเอข้าวโพดที่สกัดได้ 9 ตัวอย่างจาก 12 ตัวอย่าง แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้เป็นดีเอ็นเอของข้าวโพดจริง แม้ว่าปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างจะมีปริมาณน้อยแต่เทคนิคพีซีอาร์ก็ช่วยยืนยันถึงการมีดีเอ็นเอ

การตรวจหาบริเวณ CaMV 35S promoter นั้น เป็นบริเวณที่นิยมใช้ในการตัดต่อดีเอ็นเอสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมกันอย่างกว้างขว้าง ดังนั้นบริเวณนี้จึงเป็นบริเวณที่นิยมตรวจสอบกันมาก แต่ในความเป็นจริงแล้วในการตัดแต่งพันธุกรรมอาจใช้โปรโมเตอร์ชนิดอื่นก็ได้ จากผลการทดลองสามารถตรวจพบบริเวณ CaMV 35S promoter ในผลิตภัณฑ์อาหาร 10 ตัวอย่าง เป็นถั่วเหลือง 5 ตัวอย่าง และข้าวโพดอีก 5 ตัวอย่าง เป็นไปได้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารทั้ง 10 ตัวอย่างน่าจะผลิตมาจากถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมเพราะดีเอ็นเอในธรรมชาติจะไม่มีบริเวณ CaMV 35S promoter แต่การตรวจสอบพบเฉพาะ CaMV 35S promoter นั้นยังไม่สามารถยืนยันได้ 100% ว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีการ

ปนเปื้อนจากถั่วเหลืองและข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม ดังนั้นจะต้องมีการตรวจตำแหน่งเทอร์มิเนเตอร์ด้วย จากการตรวจสอบพบบริเวณของ *nos*-terminator ในผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวโพด จำนวน 2 ตัวอย่าง ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อบคอร์น จากแหล่งที่ 1 และเครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพด แต่ไม่พบในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง ดังนั้นเมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นที่มาจากสหรัฐอเมริกาและเครื่องดื่มธัญญาหารผสมข้าวโพดที่มีฉลากติดว่ามีข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมเป็นส่วนประกอบจึงสามารถยืนยันได้ว่า 2 ตัวอย่างนี้ผลิตมาจากข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม แต่อย่างไรก็ตามมีอีก 3 ตัวอย่างคือ เมล็ดข้าวโพดหวาน เมล็ดข้าวโพดดิบป๊อปคอร์นที่ผลิตในประเทศไทย และซุปข้าวโพดนั้นยังไม่สามารถยืนยันว่ามีการปนเปื้อน ขณะที่ในถั่วเหลืองไม่มีผลิตภัณฑ์อาหารใดที่ยืนยันแน่ชัดว่ามีส่วนของถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรม แต่มี 5 ตัวอย่าง คือ เมล็ดถั่วเหลืองจาก 2 แหล่ง เต้าหู้จาก 2 แหล่ง และเต้าเจี้ยว ที่สามารถตรวจพบบริเวณ CaMV 35S promoter แต่ไม่พบบริเวณ *nos*-terminator จึงไม่สามารถยืนยันได้ว่าผลิตจากถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรมหรือไม่ จึงต้องมีการตรวจสอบเพื่อยืนยันผลต่อไป โดยการใช้โปรโมเตอร์หรือเทอร์มิเนเตอร์ชนิดอื่นหรือใช้ยีนอื่นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ได้ให้ทุนบางส่วนในการทำวิจัยครั้งนี้ พร้อมทั้งอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ สถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณบุคลากรในภาควิชาทุกท่านที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือในการวิจัยนี้อย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร. (2544). จีเอ็มโอ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพมหานคร.

Ahmed, F.E. (2002). Detection of genetically modified organisms in food. *Trends in Biotechnology*. 20: 215-223.

Anklam, E., Gadani, F., Heinze, P., Pijinenburg, H., and Van Den Eede, G. (2002). Analytical methods for detection and determination of genetically modified organisms in agricultural crops and plant-derived food products. *European Food Research and Technology*. 214: 3–26.

Cardarelli, P., Branquinho, M.R., Renata, T.B.F., Fernanda, P.C. and Andre, L.G. (2005). Detection of GMO in food products in Brazil: the INCQS experience. *Food Control*. 16: 859-866.

Carolyn, D.H., Knight, A. and Ian, J.B. (1999). PCR detection of genetically modified soya and maize in foodstuffs. *Molecular Breeding*. 5: 579-586.

Gamze, A. (2004). *Detection and quantification of genetically modified maize via polymerase chain reaction*. A Thesis submitted to the graduate school of natural and applied sciences of Middle East Technical University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biotechnology.

James, C. (2005). *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: International service for the acquisition of agri-biotech applications (ISAAA)*. No. 34 – 2005.

Knut, G. B., Charlotte, B., Torstein, T. and Arne, H.J. (2008). A statistical approach for evaluation of PCR results to improve the practical limit of quantification (LOQ) of GMO analyses (SIMQUANT) .*European Food Research and Technology*. 227: 1149–1157.

Meyer, R. (1999). Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food control*. 10: 391-399.

Pauli, U., Liniger, M., and Zimmermann, A. (1998). Detection of DNA in soybean oil. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A (Berlin).* 207: 264-267.

Tinker, N.A., Fortin, M.G. and Mather, D.E. (1993). Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. *Theoretical and Applied Genetics.* 85:976-984.

Yoshimitsu, M., and Hori, S. (2003). Comparison of the DNA extraction methods from potato in snacks and detection of genetically modified potato in snacks. *Food chemistry*. 10: 165-170.