การพัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ของไก่ หมู และวัวในอาหารด้วยวิธี Real-time PCR

Development and validation method for identification of chicken, pork and beef DNA in foodstuffs by Real-time PCR

สุพัฒตา ท้าวมา* ชุตินันท์ พุมดวง ศุรีมาศ สีสัจจา

Supatta towma*, Chutinun Pumduang, Sureemas Seesasja

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปเป็นที่นิยมบริโภคกันทั่วไป ส่วนใหญ่ผลิตมาจากไก่ หมู หรือวัว หลังจากเนื้อสัตว์เหล่านี้ถูกแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว ผู้บริโภคไม่สามารถแยกแยะได้ว่ามีการปะปนจากเนื้อสัตว์อื่นหรือไม่ ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารได้สำรวจและตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอโดยวิธี Conventional PCR ในผลิตภัณฑ์ข้างต้น พบว่ามีการปลอมปนของเนื้อสัตว์อื่นซึ่งไม่ตรงตามที่ฉลากระบุไว้ ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนในกระบวนการผลิตหรือจากความตั้งใจของผู้ผลิต อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของวิธีนี้คือ ส่วนของ post-PCR ในขั้นตอน gel electrophoresis ซึ่งใช้เวลานาน และมีการเปิดหลอดตัวอย่างอาจทำให้เกิดการปนเปื้อน ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและลดข้อจำกัดดังกล่าวในการตรวจวิเคราะห์ จึงพัฒนาวิธีตรวจเอกลักษณ์โดยวิธี Real-time PCR และทดสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่าขีดจำกัดของการตรวจพบดีเอ็นเอไก่ หมู และวัวในอาหาร ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 50 pg/Rxn ตามลำดับ โดยมีความไวและความจำเพาะร้อยละ 100 ไม่มีการรบกวนจากสารอื่น มีความคงทนของวิธี วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถลดขั้นตอน ระยะเวลา ลดการปนเปื้อนจากวิธี PCR อีกทั้งยังสามารถปรับวิธีให้ตรวจได้หลายยีนในหลอดเดียวกัน ทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้นวิธี Real-time PCR จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ Real-time PCR, validation method, เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ, ปลอมปน

Abstract

Processed meat products are commonly favorable by consumers. Mostly, they were produced from chicken, pork, or beef. After the production process, consumers cannot identify what kinds of meat are in these processed meat products. In recent years, The Bureau of Quality and Safety of Food has surveyed these products using the conventional PCR technique and found that there was an adulteration. It is probably caused by contamination in the production process or the intention of the producers. However, the conventional PCR has limitations; the gel electrophoresis in the post-PCR process is time-consuming, and it could be contaminated during opening PCR tubes. Therefore, to reduce these limitations and increase the effectiveness of detection, a real-time PCR (qPCR) method was developed and evaluated. The results showed that the limit of detection (LOD) of the qPCR assay was 10, 20, and 50 pg/Rxn for chicken, pork, and beef, respectively. Sensitivity and specificity for the determination of each species were 100%. The cross- reactivity between species was not found and the robustness was satisfied. This developed method reduced process steps, time-consuming, and cross-contamination. Furthermore, it can be developed to detect multiple genes in the same tube which makes it cost-effective. Consequently, the real-time PCR method is suitable for use in the laboratory.

Keywords: Real-time PCR, validation method, DNA identity, contaminate

Corresponding author: supatta.t@dmsc.mail.go.th