บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

กระบวนการแปรรูปอาหารมีผลโดยตรงต่อโมเลกุลต่างๆ ที่มีอยู่ในเนื้ออาหาร ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อรสชาติ กลิ่น และปริมาณสารอาหารต่างๆ ในทางปฏิบัติโมเลกุลที่อยู่ในเนื้ออาหารใช้เป็นดัชนีหลักในการตรวจสอบอาหารได้

วิธีการในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหารดัดแปรพันธุกรรมเช่นเดียวกัน ใช้ดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลชี้วัด และที่ผ่านมาแม้มีรายงานถึงภาวะการแปรรูซึ่งรวมถึงกระบวนการทางความร้อน และการไฮโดรไลซิสที่ภาวะความเป็นกรด การหมัก ว่ามีผลโดยตรงต่อดีเอ็นเอ แต่ไม่ได้ให้รายละเอียดถึงผลกระทบต่อดีเอ็นเอนั้นให้เห็นชัดเจน

Meyer (1999) ได้เสนอคำคุณภาพของดีเอ็นเอ (DNA quality) ที่แสดงให้เห็นถึงระดับของการย่อยสลายจนมีขนาดเล็กลงของดีเอ็นเอ โดยให้ภาพรวมไว้ว่าดีเอ็นเอจะลดลงต่ำกว่า 400 นิวคลีโอไทด์ในอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูป โดยเสนอหลักการว่าปกติจะไม่สามารถตรวจดีเอ็นเอได้ในอาหารที่ผ่านความร้อนจัด หรือแม้กระทั่งในอาหารที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส เช่นการทำซอสหรือซีอิ้ว Pauli และคณะ (1998) รายงานถึงกระบวนการผลิตน้ำมันจากถั่วเหลืองที่มีผลต่อดีเอ็นเอ ทำให้ไม่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้ด้วยเทคนิค PCR

ดังนั้นเพื่อตอบปัญหารายละเอียดของกระบวนการผลิตที่มีต่อคุณภาพของดีเอ็นเอ การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงได้ทำการพัฒนาระบบการตรวจสอบดีเอ็นเอโดยใช้ระบบถั่วเหลืองเป็นหลัก ระบบการตรวจสอบดังกล่าวสามารถตรวจสอบขนาดที่ลดลงของดีเอ็นเอในอาหารที่มีถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบบนพื้นฐานของการใช้ยีนในธรรมชาติที่พบในทุกเมล็ดของถั่วเหลืองซึ่งคือยีน *lectin* โดยออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะกับขนาดดีเอ็นเอที่ต่างกันสำหรับตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอในอาหาร ในทางปฏิบัติได้นำข้อมูลลำดับพันธุกรรมของยีน *lectin* (Vodkin และคณะ, 1983) ซึ่งเป็น house keeping gene มาใช้เป็นยีนหลักในการสร้างระบบตรวจสอบมาเข้าโปรแกรม primer3 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) ในการทดลองแม้ว่าจะพยายามออกแบบให้สามารถตรวจสอบขนาด 100, 300 และ 800 นิวคลีโอไทด์ได้ก็ตาม แต่ในทางปฏิบัติไม่สามารถออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะโดยตรงกับดีเอ็นเอเหล่านั้นได้ จึงคัดเลือกข้อมูลไพรเมอร์ที่ให้ขนาดใกล้เคียงเป็นตัวแทน คือ 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเนื้ออาหาร 2 รูปแบบ ซึ่งคือถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านกระบวนการและจากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200 ถึง 230°ซ พบว่าสามารถตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอขนาด 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ได้เป็นอย่างดี และสนับสนุนให้เห็นถึงศักยภาพในการนำระบบตรวจสอบดังกล่าวไปใช้ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอในเนื้ออาหารในทางปฏิบัติได้

อย่างไรก็ดีในการพัฒนาระบบการตรวจด้วยเทคนิค PCR จำเป็นต้องมีโมเลกุลที่เป็นบวกและลบเพื่อช่วยควบคุมไม่ให้เกิดผลที่เป็น false positive หรือ false negative อันเกิดจากความผิดพลาดในการวิเคราะห์ได้ (Andras, 1995) จึงได้พัฒนาโมเลกุลมาตรฐานเพื่อใช้เป็น DNA standard control ขึ้นประกอบ ซึ่งในการศึกษาวิจัยนี้ได้สร้างโมเลกุลมาตรฐานพลาสมิดชื่อ p35Slectin800 โดยภายในโครงสร้างประกอบด้วยส่วนของยีนที่ใช้ในการคัดเลือกเซลล์ คือ ยีนที่ต้านทานยาปฏิชีวนะกานามัยซิน และส่วนของยีนเป้าหมายที่มีทั้งส่วนของโปรโมเตอร์ (35S promoter) และส่วนของยีน (*lectin* gene) ที่สามารถใช้เป็นลำดับพันธุกรรมหลักในการอ้างอิงขณะตรวจด้วยเทคนิค PCR

ลำดับพันธุกรรมหลักที่ใช้อ้างอิงมีบริเวณเกาะของไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบ 35S promoter ที่รายงานไว้ในวิธีมาตรฐานต่างๆ ของรัฐบาลเยอรมัน (Meyer, 1999) หรือวิธีมาตรฐานของรัฐบาลสวิตเซอร์แลนด์ (Spoth และ Strauss, 2000) รวมถึงไพรเมอร์ Bis5′ และ Bis3′ ที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ยังประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *lectin* ยาว 800 นิวคลีโอไทด์ คลอบคลุมบริเวณเกาะของไพรเมอร์มาตรฐานที่รายงานไว้ในวิธีการของรัฐบาลสวิตเซอร์แลนด์ (Meyer และคณะ, 1996) และทุกคู่ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอในการทดลองอีกด้วย

การตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ อยู่บนสมมติฐานเดิมที่ว่าอิทธิพลของกระบวนการแปรรูปโดยเฉพาะภาวะการแปรรูปที่รุนแรง เช่น ความร้อน ความดันสูง และความเป็นกรดเป็นด่างในกระบวนการหมักมีผลทำให้ขนาดของดีเอ็นเอลดลง (Hemmer, 1997; Parkes, 1999) ดังนั้นเมื่อนำเอาระบบการตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อขนาดดีเอ็นเอ 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์มาตรวจสอบอาหารและวัตถุดิบอาหารที่ผ่านภาวะในกระบวนการแปรรูปก็จะสามารถตรวจสอบและระบุขนาดของดีเอ็นเอที่ลดลงได้

ปกติดีเอ็นเอมีความเสถียรภาพที่ดีกว่าโมเลกุลชนิดอื่น เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปต่างๆ ดีเอ็นเอยังคงอยู่ แม้ว่าจะมีปัจจัยภายใน เช่น nuclease และภาวะต่างๆ ในกระบวนการ

แปรรูป เช่น ความร้อนทำให้ดีเอ็นเอมีขนาดเล็กลง โดยอุณหภูมิที่สูงเพิ่มขึ้นมีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการแตกหักของดีเอ็นเอก็ตาม ทำให้การตรวจวิเคราะห์ทางดีเอ็นเอมักนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบหลายๆ ด้าน เช่น ในอดีตมีผู้นำเทคนิค PCR มาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอในหลายด้านเช่นทดสอบการกลายพันธุ์ (Meyer, 1995) หรือบางกรณีใช้โพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงสูงเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณที่มีความแปรปรวนโดยอาศัยหลักการที่ว่าไพรเมอร์ที่มีความเป็นคู่สมในระดับร้อยเปอร์เซ็นต์ ณ บริเวณ 3′ เท่านั้นในรูปของ anchor PCR ทำให้สามารถตรวจสอบชนิดของดีเอ็นเอแม่แบบได้ (Erlich, 1989) ซึ่งที่กล่าวมาเอื้ออำนวยต่อการตรวจวินิจฉัยการปนเปื้อนของเชื้อหรือใช้จำแนกสายพันธุ์ได้ (Allmann และคณะ, 1995 และ Candrian, 1995) อย่างไรก็ตามการใช้ความจำเพาะเจาะจงของดีเอ็นเอขนาดต่างกันดังกล่าวเพื่อทดสอบการสลายตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำมาใช้ร่วมกันเพื่อบ่งบอกข้อมูลการสลายตัวของดีเอ็นเอในอาหารซึ่งเป็นระบบที่พัฒนาได้ แม้จะอาศัยหลักการง่ายๆ แต่สามารถตอบคำถามการมีอิทธิพลต่อการแปรรูปอาหารต่างๆ ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้เทคนิค PCR ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงและสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในระดับเฟรมโตกรัมได้ (fg) (Thoreson และคณะ, 1995) ทำให้เห็นได้ชัดถึงประสิทธิรูปของระบบการตรวจที่พัฒนาขึ้น

การนำเทคนิค PCR ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ สามารถตอบคำถามได้ว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเอแบบใดมีความเหมาะสม กระบวนการแปรรูปใดมีภาวการณ์วิกฤตอยู่ที่ระดับใดได้โดยง่าย

ในการทดลองจะพิจารณาการลดลงของขนาดดีเอ็นเอตามทฤษฎีโดยคาดว่าการสลายตัวของดีเอ็นเอในภาวการณ์ต่างๆ เป็นไปด้วยอัตราเดียวกัน กล่าวคือ ดีเอ็นเอที่เป็นจีโนมิกดีเอ็นเอในธรรมชาติ หรือดีเอ็นเอในส่วนที่มาจากแคสเสตที่ตัดต่อเข้าสู่พืช GMOs ซึ่งเป็นยีนแปลกปลอม (foreign DNA) ต่างก็ได้รับปัจจัยทางกายภาพ และปัจจัยทางเคมีภายใต้ภาวะเดียวกัน เช่น การให้ความร้อนกับถั่วเหลือง ความร้อนจากภายนอกถั่วเหลืองจะค่อยๆ เข้าสู่ถั่วเหลืองภายในจนถึงจุดๆ หนึ่งอุณหภูมิภายนอกและภายในจะเท่ากัน มีผลต่อการสลายตัวของดีเอ็นให้มีขนาดลดลงด้วยอัตราที่เท่ากันทุกโมเลกุลและเท่ากันในแต่ละบริเวณของดีเอ็นเอในโมเลกุลเดียวกัน ดังนั้นในภาวะที่ตรวจพบว่ายีน *lectin* ที่ตรวจพบในอาหารและผลิตภัณฑ์แปรรูปจากถั่วเหลืองมีขนาดของดีเอ็นเอที่สั้นลงกว่า 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ ย่อมแสดงให้เห็นว่าชิ้นส่วนของยีนที่เป็นโครงสร้างมาตรฐานที่ใส่เข้าสู่พืชหรือยีนในธรรมชาติอื่นใดก็จะย่อยสลายจนมีขนาดที่เล็กลงตามที่ระบุได้เช่นเดียวกัน ในอดีตการวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอภายหลังกระบวนการแปรรูปทำได้โดยการใช้เทคนิค Southern hybridization ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก และ

ความไวทางทฤษฎีของเทคนิคนี้จัดอยู่ในระดับนาโนกรัม (ng) เท่านั้น ซึ่งชี้ให้เห็นข้อดีของเทคนิค PCR อย่างเห็นได้ชัดเจนขึ้นอีกด้วย

ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เมื่อพิจารณาถึงรูปแบบของกระบวนการแปรรูปที่มีผลต่อการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบในเนื้ออาหาร สามารถจำแนกกระบวนการแปรรูปที่มีผลได้ดังนี้

1. **ความร้อน**

รูปแบบของการให้ความร้อนในกระบวนการแปรรูปที่ใช้ศึกษาวิจัยในครั้งนี้คือ

1.1 การอบแห้ง

การอบแห้งที่อุณหภูมิและระยะที่สูงขึ้นมีผลต่อการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบในเนื้ออาหาร อุณหภูมิสูงเกินกว่า 200, 210 และ 220°ซ จะไม่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอในขนาด 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ได้ตามลำดับ (โดยดูจากยีน *lectin*) แม้จะอบแห้งเพียง 5 นาทีก็ตาม หรือในกรณีที่อุณหภูมิสูงเกินกว่า 220°ซ ก็จะไม่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอแม่แบบที่มีขนาดสูงกว่า 119 นิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค PCR ได้เลย

Chiueh และคณะ (2002) ศึกษาผลของความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 121°ซ กับตัวอย่างข้าวโพดสดโดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีน *zein* ขนาด 329 นิวคลีโอไทด์ พบว่าการให้ความร้อน 100°ซ 60 นาที สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอ 329 นิวคลีโอไทด์ได้ในปริมาณที่ไม่ต่างจากภาวะปกติ แต่ถ้าเวลานานขึ้นถึง 120 นาทีปริมาณผลิตภัณฑ์ PCR ของยีน *zein* ดังกล่าวจะลดลง แสดงให้เห็นถึงการสลายตัวของดีเอ็นเอขนาดดังกล่าวได้ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 121°ซ เกิน 20 นาทีจะไม่สามารถตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอ 329 นิวคลีโอไทด์ได้ ผลการทดลองของ Chiueh และคณะ (20002) นี้ต่างไปจากการทดลองในถั่วเหลืองในครั้งนี้ กล่าวคือไม่สามารถตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอ 329 นิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างข้าวโพดสดที่ผ่านการอบ 121°ซ 20 นาทีนี้ได้ ขณะที่การทดลองในงานการศึกษาวิจัยครั้งนี้ พบว่าถั่วเหลืองเมื่ออบที่อุณหภูมิ 120°ซ 60 นาทียังสามารถตรวจอบดีเอ็นเอขนาด 826 นิวคลีโอไทด์ได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในข้าวโพดสดมีปริมาณความชื้นสูงและมีองค์ประกอบของเอนไซม์ต่างๆ รวมถึงเอนไซม์นิวคลีเอสที่ย่อยสลายดีเอ็นเอ ขณะที่ในเมล็ดถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลองมีความชื้นต่ำกว่ามาก

เมื่อพิจารณาจากหลักการของทฤษฎี โดยไม่คำนึงถึงปัจจัยทางชีวภาพ ผลของการให้ความร้อนเป็นไปตามทฤษฎีของปริมาณความร้อนที่ให้กับวัตถุที่มีมวล m เพื่อให้

วัตถุนั้นมีอุณหภูมิสูงขึ้นจากอุณหภูมิ T_1 ไปเป็นอุณหภูมิ T_2 ดังสมการ $Q = mc\Delta T$ เมื่อ Q= ปริมาณความร้อน m= มวลของวัตถุ c = ความจุความร้อนจำเพาะ และ ΔT=อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป

โดยทั่วไปความจุความร้อนจำเพาะของมวลสารแต่ละชนิดจะมีค่าคงที่ และในการทดลองนี้เป็นการให้ปริมาณความร้อนของการอบถั่วเหลืองเมื่ออยู่ในระดับหนึ่งอุณหภูมิของภายนอกและภายในถั่วเหลืองจะเท่ากันคือจะคงที่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ อีกทั้งมวลสารของถั่วเหลืองบดที่ใช้ในแต่ละการทดลองคงที่เท่ากันทุกการทดลองจึงทำให้การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลโดยตรงต่อเมล็ดถั่วเหลืองที่นำไปให้ความร้อน นอกจากนี้การให้ความร้อนนั้นก็ยังไปมีผลต่อการสั่นสะเทือนของโมเลกุลภายในเมล็ดถั่วเหลืองด้วย

การอบแห้งในกระบวนการผลิตอาหารนั้น โดยปกติแล้วจะนิยมใช้แปรรูปอาหารที่ทำจากวัตถุดิบในกลุ่มของขนมขบเคี้ยว แม้ว่าที่ผ่านมาผลการตรวจสอบขนมขบเคี้ยวพบว่าสามารถตรวจสอบ GMOs ได้ (ปิยะศักดิ์, สัมภาษณ์เป็นการส่วนตัว) แสดงให้เห็นว่ากระบวนการผลิตรูปแบบการสลายตัวของดีเอ็นเอเนื่องจากการอบแห้งนี้ สามารถนำมาใช้ร่วมเพื่อพัฒนาวิธีการแปรรูป และ/หรือใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงก่อนการตรวจผลิตภัณฑ์ GMOs ด้วยเทคนิค PCR ได้

1.2 การนึ่งความดัน

สำหรับโมเลกุลดีเอ็นเอบริสุทธิ์การนึ่งความดันนั้นมีผลทำให้ขนาดของดีเอ็นเอลดลงต่ำกว่าขนาด 826 และ 327 นิวคลีโอไทด์ เมื่อนึ่งความดันเป็นเวลา 30 และ 60 นาที ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มเวลาสูงถึง 120 นาทีนั้นดีเอ็นเอจะมีขนาดลดลงต่ำกว่า 119 นิวคลีโอไทด์ เนื่องจากไม่สามารถตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR ได้ ความดันที่สูงขึ้นมีผลต่อโมเลกุลของดีเอ็นเอโดยจะไปเร่งกระบวนการสลายตัวทางกายภาพให้โมเลกุลของดีเอ็นเอมีขนาดเล็กลง ในกรณีของเมล็ดถั่วเหลืองที่นำไปนึ่งความดันนั้น ขนาดของดีเอ็นเอจะมีขนาดลดลงต่ำกว่า 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ เมื่อนึ่งความดันเป็นเวลา 10, 15 และ 60 นาทีตามลำดับ ผลการทดลองดังกล่าวเป็นไปในทิศทางเดียวกับ Hemmer และคณะ (1997) ที่ได้กล่าวไว้ว่าองค์ประกอบของดีเอ็นเอที่ย่อยสลายจนมีขนาดลดลงในเนื้ออาหารที่ผ่านการนึ่งความดันเป็นเวลา 15 นาที จะมีชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 300 นิวคลีโอไทด์

อย่างไรก็ดีจะพบว่าเมื่อตัดปัจจัยทางชีวภาพทิ้ง โดยพิจารณาในกรณีดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์จะพบว่า การนึ่งความดันเพียง 15 นาที ดีเอ็นเอยังคงมีขนาดเกินกว่า 826 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งตรวจสอบโดยยีน *lectin* ได้ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าในการแปรรูป ปัจจัยทางชีวภาพในเนื้ออาหารมีผลกระทบโดยตรงต่อภาวะการย่อยสลายของดีเอ็นเอมากเช่นกัน

Hemmer (1997); Hupfer และคณะ (1998); Pauli และคณะ (1998); และ Parkes (1999) อธิบายการแตกหักของดีเอ็นเอในกระบวนการผลิตอันเนื่องมาจากความร้อนและระยะเวลาซึ่งปัจจัยทางกายภาพ เอนไซม์ nuclease ซึ่งเป็นปัจจัยทางชีวภาพ และสารเคมีที่พบในอาหารเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการแตกหักของดีเอ็นเอ อย่างไรก็ดียังไม่มีผู้ทำการทดลองให้เห็นอย่างแท้จริงว่า การแตกหักของดีเอ็นเอนั้นมีขอบเขตเป็นอย่างไร

ปกติในกระบวนการผลิตอาหารภาวะที่มีความรุนแรงทั้งทางกายภาพและเคมี มีผลต่อความสามารถในการตรวจ GMOs ได้ Hemmer (1997) และ Pauli (1998) พบว่า อาหารในบางจำพวก เช่น ซอสมะเขือเทศ หรือ tomato puree ผ่านกระบวนการแปรรูปที่ซับซ้อนจนไม่สามารถตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR นี้ได้

1.3 การต้มเป็นระยะเวลานาน ๆ

กรรมวิธีการผลิตนอกเหนือจากการให้ความร้อน และ ความดันกับอาหารแล้ว กระบวนการแปรรูปที่ทำมาจากถั่วเหลืองอีกชนิดหนึ่งที่มีการผลิตกันมากในประเทศทางเอเชีย คือ กระบวนการต้มเป็นระยะเวลานานๆ เช่น การทำน้ำนมถั่วเหลือง ซึ่งที่ผ่านมายังไม่มีรายงานผลการต้มเป็นระยะเวลานานๆ มาก่อน การทดลองสามารถสรุปได้ว่า จุดวิกฤตของกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองนั้น คือ ภายหลังจากทำการอุ่นเป็นเวลา 2,5 และ 15 ชั่วโมง ดีเอ็นเอจะมีขนาดลดลงต่ำกว่า 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการทดลองเพื่อหาจุดวิกฤตของการลดลงของขนาดดีเอ็นเอ ซึ่งในความเป็นจริงการต้มน้ำนมถั่วเหลืองที่ขายบนท้องตลาดนั้นอาจกระทำการอุ่นไม่ถึง 15 ชั่วโมง อีกทั้งการสุ่มเก็บตัวอย่างวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตจริงของอุตสาหกรรมการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากกระบวนการสุดท้ายของการผลิตยังสามารถตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่มีขนาด 119 นิวคลีโอไทด์ได้ นั่นอาจจะกล่าวโดยสรุปได้ว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่วางขายในท้องตลาดนั้นยังสามารถตรวจสอบ GMOs ได้ อีกทั้งในส่วนของการทดลองตรวจสอบการลดลงของขนาดยีน *lectin* จากตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตจริงนั้น สามารถสรุปได้ดังนี้คือ จุดวิกฤตของกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจะอยู่ขั้นภายหลังการทำโฮโมจีไนซ์สำหรับขนาดยีน *lectin*

826 นิวคลีโอไทด์ ส่วนขนาด 119 และ 327 นิวคลีโอไทด์นั้นยังสามารถตรวจสอบได้จนสิ้นสุดกระบวนการ ซึ่งในขนาดของยีน *lectin* เหล่านี้นั้นเป็นขนาดเดียวกับที่ใช้ในการตรวจสอบ GMOs ในอาหารที่เป็นมาตรฐานของรัฐบาลสวิตเซอร์แลนด์ แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงที่อาจเป็นไปได้ในการจะตรวจพบ GMOs ในน้ำนมถั่วเหลืองที่ผลิตขึ้นในอุตสาหกรรม โดยผลการทดลองทั้งสองนี้สอดคล้องกับการทดลองของนายเมธี ขำดวง (2542) ที่ทำการสุ่มตัวอย่างเก็บน้ำนมถั่วเหลืองที่ขายในท้องตลาดทุกเขตของกรุงเทพมหานคร ที่พบว่าภายหลังการตรวจสามารถตรวจสอบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่ขายในท้องตลาดปะปนด้วยถั่วเหลือง GMOs เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับของ Hubfer (1997) พบว่ามีความแตกต่างกันในแง่ของการต้ม โดย Hubfer ใช้แป้งที่ได้จากข้าวโพด (polenta) ต้มในน้ำเกลือง 0.4% จนมีเนื้ออาหารที่หนืดมากขึ้น อย่างไรก็ดีผลการทดลองมีความสอดคล้องกันอยู่บ้างโดยการต้มที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 30 นาที ดีเอ็นเอมีขนาดลดลงต่ำกว่า 1914 นิวคลีโอไทด์ ขณะที่เมื่อต้มนานมากขึ้นถึง 105 นาทียังคงตรวจพบดีเอ็นเอขนาด 211 นิวคลีโอไทด์

2. **การหมัก**

ในอดีตได้มีการรายงานว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการหมักเป็นระยะเวลานานๆ จะไม่สามารถตรวจสอบได้นั้น (Hemmer, 1997) ซึ่งต่างจากผลการทดลองในครั้งนี้ กล่าวคือเมื่อทำการหมักเป็นระยะเวลานานถึง 6 เดือน ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ซีอิ้ว และเต้าเจี้ยวยังสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอที่มีขนาด 119 นิวคลีโอไทด์ได้ด้วยเทคนิค PCR อาจเป็นเพราะกระบวนการหมักในการทดลองนี้สิ้นสุดกระบวนการในการเก็บตัวอย่างมาทดสอบเพียงแค่การหมัก 6 เดือนเท่านั้น แต่ในอุตสาหกรรมหรือการผลิตผลิตภัณฑ์ซีอิ้วและเต้าเจี้ยวนั้นจะต้องผ่านกระบวนการต่างๆ ต่อไปอีกมากมาย เช่น กระบวนการทำให้ปลอดเชื้อแล้วจึงบรรจุขวดขายต่อไป ซึ่งดีเอ็นเอขนาด 119 นิวคลีโอไทด์ที่การทดลองตรวจสอบได้นั้นเมื่อผ่านกระบวนการดังกล่าวเหล่านี้ต่อไปอีกก็จะมีผลทำให้ดีเอ็นเอมีขนาดต่ำกว่า 119 นิวคลีโอไทด์จนไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยคู่ไพรเมอร์ที่ออกแบบไว้ในขนาด 119 นิวคลีโอไทด์นี้ได้

จากการทดลองพบว่าเมื่อถั่วเหลืองผ่านกระบวนการแปรรูปมากขึ้นด้วยภาวะที่รุนแรงจะมีผลต่อปริมาณดีเอ็นเอรวมที่สกัดได้ โดยภาวะที่ส่งผลต่อการลดลงดีเอ็นเอมากที่สุดคือการนึ่งความดัน รองลงมาคือ การหมัก การอบแห้ง ตามลำดับ โดยภาวะการต้มเป็นระยะเวลานานนั้นมีผลต่อการลดลงของดีเอ็นเอน้อยที่สุด

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีอุปสรรคและปัญหาทางด้านการตรวจสอบกระบวนการให้ความร้อนแบบการอบแห้งเมื่อทำการทดลองกับดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลือง เนื่องจากไม่สามารถทำได้ในอุณหภูมิอบแห้งที่สูงเกินกว่า 150°ซ ขึ้นไป เพราะเกิดการระเหยของสารละลายดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่นำไปอบแห้ง ดังนั้นในส่วนของผลการทดลองการให้ความร้อนแบบอบแห้งของดีเอ็นเอบริสุทธิ์เพื่อเปรียบเทียบผลกับถั่วเหลืองที่นำไปอบแห้งนั้นจึงไม่สามารถทำได้ และในการตรวจหายีน *lectin* ของถั่วเหลืองในขนาดต่างๆ กันนั้นบางครั้งการแสดงผลในแต่ละการทดลองอาจไม่สอดคล้องกัน เป็นผลสืบเนื่องมาจากความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้ในขณะการสกัดดีเอ็นเอ หรือในขั้นตอนของการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ดังนั้นในการทำการทดลองแต่ละการทดลองควรที่จะมีการทำซ้ำอย่างน้อย 3 ซ้ำของการทดลองแต่ละการทดลองเพื่อพิสูจน์ และยืนยันผลที่ได้

ข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คือขั้นตอนของการอบแห้งดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลืองที่ใช้ในการเปรียบเทียบนั้น น่าจะมีระบบในการป้องกันไม่ให้เกิดการระเหยของสารละลายดีเอ็นเอบริสุทธิ์เพื่อจะได้ทราบข้อมูลที่ละเอียดกว่านี้ และในการออกแบบไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่มีดีเอ็นเอขนาดต่างๆ กันนั้น หากจะใช้ให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ หลายๆ รูปแบบมากขึ้น ก็น่าที่จะมีการออกแบบให้มีความจำเพาะในช่วงขนาดต่างๆ ที่ละเอียดเพิ่มมากขึ้น เพื่อจะได้นำมาตรวจสอบผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้ละเอียดดียิ่งขึ้นต่อไป

ดังนั้นจากผลการทดลองพบว่าด้วยระบบตรวจสอบที่พัฒนาขึ้น ทำให้ทราบถึงขอบเขตของการสลายตัว หรือจุดวิกฤตต่างๆ และรูปแบบที่ทำให้ดีเอ็นเอมีขนาดลดลงภายใต้ภาวการณ์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้ออาหารที่แปรรูปจากเมล็ดถั่วเหลืองซึ่งเป็นอิทธิพลโดยตรงของกระบวนการแปรรูปในรูปแบบต่างๆ เช่น ความร้อน ความดัน และการหมัก ในวิธีมาตรฐานส่วนใหญ่ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบผลิตภัณฑ์มักสร้างจากดีเอ็นเอเป้าหมายที่ขนาดระหว่าง 200-500 นิวคลีโอไทด์เท่านั้น แต่การพัฒนาระบบตรวจสอบนี้ใช้ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีขนาดระหว่าง 100-800 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งครอบคลุมมากกว่าและจากการพัฒนาชุดตรวจสอบจะทำให้สามารถบอกได้ว่าวิธีการใดตรวจสอบได้อย่างมีประสิทธิรูปมากน้อยเพียงใด ด้วยขอบเขตเท่าใดได้ เมื่อทราบวิธีการและรูปแบบนั้นก็สามารถนำไปพัฒนาชุดตรวจสอบ พร้อมๆ กับการปรับปรุงวิธีการการแปรรูปอาหารให้เหมาะสมอีกต่อไปด้วย ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นพื้นฐานที่นำไปใช้ได้กับถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร และอุตสาหกรรมต่างๆ มากมายต่อไป