บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการพัฒนาทางเทคโนโลยีชีวภาพก้าวหน้าไปมากและเข้ามามีบทบาททั้งในแง่การศึกษากระบวนการทางชีววิทยา และการใช้ประโยชน์ในแง่การปรับปรุงหรือพัฒนาพันธุ์ เนื่องจากปัญหาผลผลิตทางการเกษตรที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการทั้งในด้านคุณภาพ และปริมาณของผลผลิต ซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของประชากรโลก การลดลงของพื้นที่เพาะปลูก และสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปไม่เหมาะสมต่อการเพาะปลูก รวมทั้งปัญหาจากโรค และแมลงศัตรูพืช พืชดัดแปรพันธุกรรม (transgenic plants) จึงเริ่มเข้ามามีบทบาทสำคัญ โดยเป้าหมายในระยะแรกอยู่ที่การปรับปรุงเพื่อให้ได้พันธุ์พืชที่ให้ผลผลิตต่อเนื้อที่สูง คงทนต่อสภาพดิน ฟ้าอากาศ และความแห้งแล้ง คงทนต่อศัตรูพืชทั้งโรค แมลง และยากำจัดวัชพืชได้ดี ดังนั้นการนำเทคโนโลยีชีวภาพโดยเฉพาะพันธุวิศวกรรมมาประยุกต์ใช้ในการตัดต่อยีนจากสิ่งมีชีวิตหนึ่งเข้าสู่อีกสิ่งมีชีวิตหนึ่งให้เกิดลักษณะใหม่ที่สามารถทำได้ง่ายขึ้น จึงช่วยตอบสนองวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี เปิดยุคใหม่ของการเกษตรในปี 2000

สหรัฐอเมริกาเป็นประเทศแรกที่ผลิตพืชดัดแปรพันธุกรรม โดยนำมาทดสอบในสภาพธรรมชาติเป็นครั้งแรกในปี 2529 และเพื่อการค้าเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2537 คือ มะเขือเทศพันธุ์สุกช้าซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า Flavar Savar พัฒนาขึ้นมาโดยบริษัทคาลยีน (Calgene) ของประเทศสหรัฐอเมริกา (สาโรจน์ เกษมสุขโชติกุล, 2543) และในช่วง 3-4 ปีที่ผ่านมา พื้นที่เพาะปลูกพืช GMOs ได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในปี 2543 มีพื้นที่ในการเพาะปลูกพืช GMOs สูงถึง 187.5 ล้านไร่ โดยพืช GMOs ที่ปลูกมากที่สุดได้แก่ ถั่วเหลืองต้านทานสารกำจัดวัชพืช 161.25 ล้านไร่ รองลงมาคือ ข้าวโพดบีที (ต้านทานแมลง) 42.5 ล้านไร่ (เมธินี ศรีวัฒนกุล, 2544) ซึ่งถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรมเหล่านี้ได้แพร่กระจายเข้าสู่วงจรการตลาดในระดับตลาดโลก

สำหรับประเทศไทย ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งเนื่องจากสามารถนำมาใช้บริโภคโดยตรงในรูปอาหารแล้ว ยังสามารถนำมาแปรรูปเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมผลิตน้ำมันถั่วเหลือง อุตสาหกรรมต้นตอเพื่อการผลิตวัตถุดิบอาหารชนิดต่างๆ หรือใช้สำหรับเป็นวัตถุดิบโดยตรงในการผลิตอาหารหรือบริโภค เช่น เต้าหู้ น้ำนมถั่วเหลือง ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว ฯลฯ นอกจากนี้กากถั่วเหลืองที่เป็นผลพลอยได้ยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารสัตว์เป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมเกษตร (ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์, 2544)

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2546) รายงานว่าในแต่ละปีปริมาณการผลิตถั่วเหลืองเพื่อการบริโภคสดและนำมาแปรรูปเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มีไม่เพียงพอต่อความต้องการ โดยประมาณการตัวเลขนำเข้าในปี 2544 พบว่าประเทศไทยนำเข้าเมล็ดถั่วเหลืองสูงถึง 1.5 ล้านตัน และส่วนใหญ่มาจากประเทศสหรัฐอเมริกา จึงทำให้เป็นไปได้สูงที่จะปะปนด้วยถั่วเหลือง GMOs ทำให้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแปรรูปที่จะส่งออกมีโอกาสที่จะผลิตจากถั่วเหลือง GMOs เช่นเดียวกัน ภาวการณ์เช่นนี้ย่อมส่งผลกระทบต่อการเลือกใช้วัตถุดิบและผลิตภัณฑ์แปรรูปอาหารทั้งที่ใช้บริโภคในประเทศและเพื่อการส่งออก และส่งผลกระทบโดยตรงต่อการบริโภคของผู้บริโภคในแต่ละประเทศคู่ค้า

ในช่วง 4-5 ปีที่ผ่านมาสหภาพยุโรปได้ออกกฎระเบียบกำหนดให้มีการติดฉลากสินค้าอาหารบางชนิดที่ผลิตจาก GMOs โดยใช้บังคับกับประเทศสมาชิก 15 ประเทศตั้งแต่ 1 กันยายน 2541 และให้ออกใบกำกับสินค้าอาหารและส่วนประกอบของอาหารซึ่งผลิตจากถั่วเหลืองหรือข้าวโพด GMOs ทั้งหมด หรือเพียงบางส่วน (หิรัญ หิรัญประดิษฐ์, 2543) อีกทั้งประเทศในเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น และเกาหลีใต้ได้ออกข้อกำหนดและมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารนำเข้า โดยใช้มาตรการเข้มงวดเพื่อตรวจสอบ GMOs และการขอให้ออกหนังสือรับรองว่าสินค้านั้นปลอด GMOs หรือไม่ได้ใช้ GMOs เป็นวัตถุดิบในการผลิต ทำให้ประเทศไทยต้องประสบปัญหาและอุปสรรคมากเป็นพิเศษในการส่งออกสินค้าเกษตรไปยังประเทศต่างๆ เหล่านี้ การตรวจสอบ GMOs ในอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารจึงมีความจำเป็น และเป็นมาตรการรองรับผลกระทบที่จะเกิดขึ้นเพียงมาตรการเดียวที่สามารถทำได้เพื่อให้เกิดความอุ่นใจ และเพื่อป้องกันการสูญเสียจากการปฏิเสธสินค้าและมาตรการการกีดกั้นทางการค้าในระยะยาว

ในปัจจุบันการตรวจสอบ GMOs ในอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารแบ่งเป็น 2 วิธีใหญ่ๆ แยกตามโมเลกุลเป้าหมายที่ใช้ในการทดสอบ วิธีแรกเป็นการทดสอบหาความจำเพาะต่อโปรตีนเป้าหมายที่เรียกว่า Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และวิธีที่สองเป็นการตรวจสอบหายีนหรือลำดับของเบสบนดีเอ็นเอที่ตัดต่อเข้าไปในพืชดัดแปรพันธุกรรมโดยตรง โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543)

วิธีตรวจสอบ GMOs ในอาหารและผลิตภัณฑ์โดยเทคนิค PCR มีขั้นตอนหลักอยู่ 2 ขั้นตอนคือ การสกัดดีเอ็นเอจากอาหาร และการตรวจสอบ GMOs จากดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ การสกัดดีเอ็นเอจากอาหารเป็นขั้นตอนขั้นแรกและจัดว่าเป็นขั้นตอน

ที่มีความสำคัญที่สุด เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาหารมีลักษณะของเนื้ออาหารที่แตกต่างกันออกไป และผ่านกระบวนการแปรรูปที่มีความเฉพาะจึงเป็นขั้นตอนที่ยาก วิธีที่นิยมใช้ในการสกัดดีเอ็นเอในปัจจุบันได้แก่ การสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ CTAB buffer (Meyer, 1999) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของรัฐบาลเยอรมัน และการใช้ Wizard® Resin ที่เป็นวิธีมาตรฐานของรัฐบาลสวิตเซอร์แลนด์ (Spoth และ Strauss, 2000)

ความสำเร็จในการตรวจขึ้นกับความบริสุทธิ์และความสมบูรณ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยความสมบูรณ์ของดีเอ็นเอจะลดลงเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น Salami เมื่อผ่านกรรมวิธีแปรรูปแล้ว ขนาดของดีเอ็นเอมีขนาดลดลงเหลือเพียง 100-15,000 นิวคลีโอไทด์ หรือมะเขือเทศกระป๋อง ขนาดลดลงเหลือต่ำกว่า 400 นิวคลีโอไทด์ เป็นต้น (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543)

Hemmer (1997) ได้กล่าวไว้ว่าผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปส่วนใหญ่จะผ่านกระบวนการผลิตหลายรูปแบบและหลายขั้นตอน เช่น ความร้อน ความดัน ความเป็นกรดด่าง กระบวนการเหล่านี้มีผลต่อสภาพของสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอในวัตถุดิบนั้น เช่น ทำให้เกิดการแตกหักของดีเอ็นเอและทำให้ขนาดของดีเอ็นเอมีขนาดลดลง เป็นต้น

Gilbert (1999) ได้กล่าวถึงความสามารถในการตรวจสอบและการพัฒนาวิธีการตรวจสอบ GMOs ในอาหารว่าจะต้องคำนึงถึงชนิดของวัตถุดิบ และกระบวนการแปรรูปว่าเป็นแบบใดเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของการตรวจวิเคราะห์ และหลีกเลี่ยงระดับของความเสี่ยงที่อาจทำให้เกิดการวิเคราะห์ตรวจสอบที่ผิดพลาด

สำหรับประเทศไทยนั้น อาหารและผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปถั่วเหลืองเพื่อการส่งออกส่วนใหญ่มีกระบวนการผลิตที่เกี่ยวข้องกับความร้อนในรูปแบบต่างๆ ความดัน และกระบวนการหมักเป็นหลัก ทั้งหมดจัดเป็นกระบวนการแปรรูปที่มีความรุนแรง และมีผลกระทบโดยตรงต่อคุณภาพของดีเอ็นเอแม่แบบที่พบในเนื้ออาหารที่ใช้เป็นโมเลกุลเป้าหมายโดยตรงในการทดสอบได้ และที่ผ่านมาแม้จะมีผู้รายงานถึงภาวะต่างๆ ในกระบวนการผลิตหรือการแปรรูปที่รุนแรงมาบ้างแล้วก็ตาม แต่การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและความดันที่สูงที่มักนิยมใช้ในกระบวนการผลิต ตลอดจนภาวะในกระบวนการหมักต่อประสิทธิภาพในการตรวจสอบอาหารด้วยเทคนิค PCR ไม่เคยมีการรายงานมาก่อน นอกจากนี้รายงานการศึกษาส่วนใหญ่ใช้ผลิตภัณฑ์ทดสอบของต่างประเทศ (Meyer และคณะ, 1996) ซึ่งต่างจากเนื้ออาหารที่พบในประเทศ จึงทำ

ให้ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งมุ่งเน้นการตรวจสอบไปที่ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปมากกว่าการมุ่งเน้นการตรวจสอบไปที่กระบวนการผลิต

ดังนั้นในการศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาระบบโดยศึกษาอิทธิพลเหล่านั้นต่อการตรวจด้วยเทคนิค PCR และศึกษาการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากถั่วเหลืองในกระบวนการผลิตตั้งแต่ขั้นตอนแรกจนสิ้นสุดกระบวนการเป็นหลัก โดยมีหลักการและสมมติฐานคือ อิทธิพลของภาวะต่างๆ ในกระบวนการผลิตที่มีผลต่อคุณภาพของดีเอ็นเอแม่แบบโดยทำให้มีขนาดที่ลดลง ซึ่งขนาดที่ลดลงของดีเอ็นเอแม่แบบยังไปมีผลต่อประสิทธิภาพในการตรวจด้วยเทคนิค PCR อีกด้วย

โดยปกติการตรวจสอบตามวิธีมาตรฐานที่หลายประเทศได้ดำเนินการมุ่งเน้นการตรวจดีเอ็นเอที่มีขนาด 300 ถึง 500 นิวคลีโอไทด์ การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งตรวจสอบโมเลกุลที่มีขนาดต่างๆ ครอบคลุมการตรวจสอบในขนาด 100, 300 และ 800 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับด้วยเทคนิค PCR โดยนำข้อมูลของยีน *lectin* ซึ่งเป็นยีนในธรรมชาติที่พบในเมล็ดถั่วเหลืองเป็นโมเลกุลอ้างอิง มาพัฒนาระบบตรวจสอบที่สามารถศึกษาอิทธิพลของการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบดังกล่าวได้ และนำระบบตรวจสอบนี้ไปใช้ศึกษาผลของภาวะในกระบวนการแปรรูปโดยเน้นความร้อน และการหมักที่มีผลต่อคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ และความสามารถในการตรวจสอบ GMOs เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสามารถนำไปพัฒนาวิธีการตรวจ GMOs และพัฒนาวิธีการแปรรูปอาหารให้มีความเหมาะสมมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลดีต่อการส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารของประเทศไทยในระยะยาว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. พัฒนาระบบการตรวจสอบที่สามารถบ่งบอกถึงขนาดของดีเอ็นเอแม่แบบที่สามารถตรวจสอบได้ เพื่อนำไปใช้ศึกษาภาวะการสลายตัวของขนาดดีเอ็นเอในระหว่างกระบวนการผลิตภายใต้ภาวการณ์ของการผลิตที่รุนแรง

2. ตรวจสอบอิทธิพลของภาวะในกระบวนการแปรรูปเป็นหลัก อันได้แก่ความร้อน ความดัน และกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารส่งออกของไทยต่อประสิทธิภาพในการตรวจสอบ GMOsในผลิตภัณฑ์บางชนิดที่แปรรูปมาจากถั่วเหลืองโดยวิธี PCR

ขอบเขตของการวิจัย

1. พัฒนาระบบการตรวจสอบบนพื้นฐานความจำเพาะต่อดีเอ็นเอต้นแบบขนาดต่างๆ กันบนพื้นฐานของวิธีการตรวจด้วย PCR

2. ศึกษาวิธีการผลิตของผลิตภัณฑ์บางชนิดที่แปรรูปมาจากถั่วเหลือง และศึกษาภาวะในกระบวนการแปรรูปถั่วเหลืองโดยใช้ความร้อนและการหมักที่มีต่อความสามารถในการตรวจสอบและวิเคราะห์ผลจากดีเอ็นเอที่สกัดได้เชิงคุณภาพโดยใช้เทคนิค PCR

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ระบบการตรวจสอบภาวะการของการสลายตัวของดีเอ็นเอแม่แบบที่สามารถช่วยพัฒนาต่อยอดไปสู่การทดสอบ GMOs ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

2. ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปพัฒนาวิธีการตรวจผลิตภัณฑ์อาหารที่แปรรูปมาจากถั่วเหลืองดัดแปรพันธุกรรม และพัฒนาวิธีการแปรรูปอาหารให้มีความเหมาะสมเพื่อช่วยในการส่งออกของประเทศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย