

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างรูปแบบ Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP Pattern) ของเนื้อหมู ไก่ และวัว เพื่อนำมาเปรียบเทียบและใช้เป็นรูปแบบอ้างอิงสำหรับการตรวจสอบที่มาของเนื้อทั้ง 3 ชนิดในอาหาร จากนั้นจึงศึกษาความสามารถสูงสุดรูปแบบ PCR-RFLP ที่ได้โดยการตรวจวัดปริมาณเนื้อหมูในเนื้อผสมทั้งที่อยู่ในรูปวัตถุดิบและในรูปที่ผ่านการให้ความร้อน โดยผสมเนื้อหมูกับเนื้อไก่ และเนื้อหมูกับเนื้อวัวในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน คือ 0.05%, 0.075%, 0.1%, 0.5%, 1%, 10%, และ 25% ตามลำดับ และประยุกต์ใช้รูปแบบ PCR-RFLP ที่ได้ในการจำแนกเนื้อหมูในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยแบ่งตามกระบวนการแปรรูปเป็น 2 แบบ คือ precook และ cook จำนวน 17 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า ได้รูปแบบ PCR-RFLP ดังนี้ ผลิตภัณฑ์ PCR ในบริเวณยีนไซโทโครม บี ของหมู ซึ่งใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu I* และ *BsaI* ได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาด 360, 131 และ 115 คู่เบส ตามลำดับ สำหรับผลิตภัณฑ์ PCR ในบริเวณยีนไซโทโครม บี ของไก่ ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Rsa I* และ *Hinf I* พบว่า ได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาด 360, 210, 149 และ 70 คู่เบส ตามลำดับ และผลิตภัณฑ์ PCR ในบริเวณยีนไซโทโครม บี ของวัว ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu I* และ *Hinf I* พบว่า ได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาด 250, 198, 196, 190, 117 และ 70 คู่เบส ตามลำดับ เนื่องจากการสร้างรูปแบบ PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะหลายชนิดได้แถบดีเอ็นเอที่ยังไม่ชัดเจนและค่อนข้างยุ่งยากจึงเลือกใช้เอนไซม์ *BsaI* เพียงชนิดเดียวเพื่อศึกษาความสามารถสูงสุดรูปแบบ PCR-RFLP ที่ใช้วิเคราะห์เนื้อหมูในเนื้อผสม พบว่า สามารถตรวจพบเนื้อหมูในเนื้อผสม วิธีนี้ยังสามารถวิเคราะห์เนื้อหมูในเนื้อผสมที่อัตราส่วน 0.05 % โดยดีเอ็นเอหมูที่ได้มีขนาด 131 และ 228 คู่เบส แต่ไม่พบดีเอ็นเอหมูผสมกับไก่ในรูปที่ผ่านการให้ความร้อน 121 °C 15 นาที สำหรับผลการจำแนกเนื้อหมูในผลิตภัณฑ์อาหาร พบว่าสามารถสกัดดีเอ็นเอได้ในทุกตัวอย่าง ยกเว้น ผลิตภัณฑ์อาหารแบบ precook คือ แหนมไก่ และผลิตภัณฑ์อาหารแบบ cook ที่อุณหภูมิสูงกว่า 121°C คือ หมูทอดกระเทียม ไก่ทอดกระเทียม พะแนงหมู และพะแนงเนื้อไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ จากนั้นนำสกัดดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้ไปเพิ่มปริมาณสาร พบว่าได้แถบดีเอ็นเอขนาด 359 คู่เบส ทำการจำแนกความแตกต่างระหว่างเนื้อชนิดต่างๆ โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *BsaI* พบว่า ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภท precook สามารถแยกความแตกต่างระหว่างอาหารที่มีเนื้อไก่เป็นส่วนประกอบ ออกจากอาหารที่มีเนื้อหมูและเนื้อวัวเป็นส่วนประกอบได้ สำหรับอาหารประเภท cook เอนไซม์ตัดจำเพาะสามารถตัดผลผลิตจากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมได้แต่เกิดเป็นดีเอ็นเอที่มีลักษณะ smear จึงไม่สามารถใช้แยกความแตกต่างได้ อย่างไรก็ตามเทคนิค polymerase chain reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR - RFLP) ยังเป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการนำมาใช้จำแนกผลิตภัณฑ์อาหารที่มีเนื้อหมูเป็นส่วนประกอบออกจากผลิตภัณฑ์อาหารอื่นกันอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัด รวดเร็วและเชื่อถือได้

The objective of this study is to construct polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) pattern of pork, chicken and beef. This pattern will be applied to determine the species origin of raw meat. The detection limit of PCR-RFLP technique for determining the species region of pork (*Sus scrofa*) in raw meat and heat treated meat mixture was studied. Pork was mixed with chicken or cow at ratios 0.05%, 0.075%, 0.1%, 0.5%, 1%, 10%, and 25%, respectively. And this technique was applied to identify pork in 17 processed foods (precook and cook). The PCR-RFLP patterns were shown as following; the *cyt b* PCR product amplified from pork was cut with REs *Alu* I and *Bsa*II. It generated 3 fragments of 360, 131 and 115 bp.; the *cyt b* PCR product amplified from chicken was cut with REs *Rsa* I and *Hinf* I. It generated 4 fragments of 360, 210, 149 and 70 bp. ; and the *cyt b* PCR product amplified from beef was cut with REs *Alu* I and *Hinf* I. It generated 6 fragments of 250, 198, 196, 190, 117 and 70 bp. Because of PCR-RFLP patterns using more than one restriction enzyme is unclear pattern. Then only *Bsa*II was performed and determined the species region of pork (*Sus scrofa*) in raw meat and heat treated meat mixture. All meat mixtures at 0.05% were detected and they generated the 131 bp and 228 bp. In contrast, the heated mixture of pork and chicken (121°C 15 min) was not detected. In 17 processed foods, all DNA of the food products were successfully extracted except in precook (fermented chicken) and cook at 121°C (fried pork, fried chicken, and curry pork and curry beef). The extracted genomic DNA was then subjected to PCR and cut with *Bsa*II In precook, PCR products of processed foods from chicken can distinguish from port and beef. Contrast to cook product, shear and small fragment of PCR product was shown. However, this method was popular for the identification of pork derivatives in food products because it is saving, rapid and potentially reliable.