

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในระดับจีโนมในสินค้าปศุสัตว์

ด้วยเทคนิค Targeted next-generation sequencing

นายพิเชษฐ กุมภาว์ นางสาวสุภาพร วงศ์ศรีไชย นางสาวจรรยาภรณ์ มาเอียด นางกลอยใจ พลเสนา
นายธารินทร์ ศรีวิโรจน์ นางสาวกิตติลักษณ์ ไม้เลี้ยง นางสาวศรัณญา โกตะคาร

บทคัดย่อ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์จากสัตว์เติบโตอย่างรวดเร็ว โดยมีการค้าทั่วโลกมากกว่าร้อยละ 15 ของตลาดเกษตรและอาหารทั้งหมด ในขณะที่ผลิตภัณฑ์จากสัตว์กำลังได้รับความนิยมมากขึ้นเรื่อยๆ ยังมีผู้ผลิตบางรายที่ต้องการลดต้นทุนการผลิต โดยการนำวัตถุดิบบางอย่างที่มีความใกล้เคียงมาผสมปลอมปนเพื่อปลอมแปลงผลิตภัณฑ์ โดยไม่คำนึงถึงความปลอดภัย และมาตรฐานของสินค้า ด้วยเหตุนี้ กรมปศุสัตว์ จึงได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของการตรวจวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในสินค้าปศุสัตว์ จึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในระดับจีโนมในสินค้าปศุสัตว์ ด้วยเครื่อง Ion Torrent เป็น Next-Generation Sequencing (NGS) platform ที่ใช้หลักการตรวจจับไอออน (proton) แทนการตรวจจับแสง มีความแม่นยำสูง ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ใช้เทคนิค Targeted next-generation sequencing ซึ่งเป็นเทคนิคในการหาลำดับเบสดีเอ็นเอแบบพุ่งเป้า ที่เน้นเฉพาะส่วนของสารพันธุกรรมที่สนใจเท่านั้น โดยใช้ตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จำนวน 50 ตัวอย่าง จากผลการศึกษารังนี้ พบว่าตัวอย่างประเภทโคทั้ง 13 ตัวอย่างได้ผลทดสอบเป็น *Bos taurus* ตัวอย่างประเภทสุกรทั้ง 16 ตัวอย่าง ได้ผลทดสอบเป็น *Sus scrofa* ตัวอย่างประเภทไก่ทั้ง 16 ตัวอย่าง ได้ผลทดสอบเป็น *Gallus gallus* ตัวอย่างประเภทแกะ 1 ตัวอย่าง ได้ผลทดสอบเป็น *Ovis aries* และตัวอย่างผสมของโค สุกร ไก่ ให้ผลเป็น *Bos taurus*, *Sus scrofa*, *Gallus gallus* ทั้ง 4 ตัวอย่าง ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ทั้งหมด 50 ตัวอย่างด้วยเทคนิค Targeted next-generation sequencing ให้ผลการวิเคราะห์สปีชีส์ถูกต้อง คิดเป็นร้อยละ 100 ของตัวอย่างทั้งหมด

คำสำคัญ : Targeted next-generation sequencing, NGS, สิ่งปลอมแปลง

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

Development of Detection method for adulteration of Livestock Products by Targeted Next Generation Sequencing Technique.

Pichet Koompa Supaporn Wongsrichai Jaroonluk Mareiad Kloyjai Ponsena

Tarin Srewiroj Kitilak Mailieng Sarunya Kotakharn

Abstract

Livestock products share more than fifteen percent of total agri-foods traded worldwide. But some producers seek to reduce production costs by mixing and adulterating certain similar raw materials to falsify products, disregarding safety and product standards. For this reason, Department of Livestock Development has recognized the importance of analyzing adulterants in livestock products. The method for analyzing adulterants at the genomic level in livestock products using the Ion Torrent as a Next-Generation Sequencing (NGS) platform. That uses the principle of detecting ions (protons) instead of light detection, which has high accuracy. Targeted next-generation sequencing technique, which is a DNA sequencing method that focuses specifically on the desired parts of the genetic. This study used 50 samples of meat and meat products, and found that sample type of bovine 13 samples were identified as *Bos taurus*, sample type of porcine 16 samples were identified as *Sus scrofa*, sample type of chicken 16 samples were identified as *Gallus gallus*, mixed samples of bovine porcine and chicken were identified as *Bos taurus*, *Sus scrofa*, *Gallus gallus* for all 4 samples and a sample of the Ovine type was identified as *Ovis aries*. Therefore, from the analysis of all 50 samples using targeted next-generation sequencing, The species analysis results are accurate, at 100% of all samples.

Keywords: Targeted next-generation sequencing, NGS, Adulteration

Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products,
Department of Livestock Development

รายงานความก้าวหน้าการพัฒนาวิธีและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์
รอบ 12 เดือน (ตุลาคม 2567 – กันยายน 2568)

1. ชื่อโครงการ

(ภาษาไทย) การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในระดับจีโนมในสินค้าปศุสัตว์ ด้วยเทคนิค Targeted next-generation sequencing

(ภาษาอังกฤษ) Development of Detection method for adulteration of Livestock Products by Targeted Next-Generation Sequencing Technique.

ผู้รับผิดชอบโครงการ

1. นายพิเชษฐ์	กุ่มภาว์	ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ
2. นางสาวสุภาพร	วงศ์ศรีไชย	ตำแหน่ง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ
3. นางสาวจรรยาฤกษ์	มาเอียด	ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
4. นางกลอยใจ	พลเสนา	ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
5. นายธารินทร์	ศรีวิโรจน์	ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
6. นางสาวกิตติลักษณ์	ไม้เลียง	ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
7. นางสาวศรัญญา	โกตะคาร	ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ

หลักการ และความสำคัญ

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์และอาหารแปรรูปไม่ว่าจะเป็นสินค้าส่งออกและนำเข้าล้วนแล้วแต่เป็นสินค้าที่มีความต้องการทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งเป็นตัวแปรสำคัญในการกระตุ้นและการกำหนดทิศทางที่สำคัญทางเศรษฐกิจทั้งในระดับประเทศจนถึงไประดับนานาชาติ การตรวจสอบการปลอมแปลงผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์และอาหารแปรรูปในปัจจุบันมีกระบวนการและวิธีการตรวจสอบอยู่หลายวิธี แต่วิธีการตรวจสอบในปัจจุบันยังมีความรวดเร็วและความแม่นยำของผลการทดสอบไม่เพียงพอ ซึ่งอาจทำให้สินค้าที่รอการส่งออกหรือนำเข้าเสียหาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสินค้าเกษตรประเภทอาหารสด ดังนั้นสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์เล็งเห็นและเข้าใจถึงปัญหาที่เกิดขึ้นจึงได้มีบริการทดสอบและเผื่อระวังสำหรับผลิตภัณฑ์ปศุสัตว์และอาหารแปรรูปเพื่อป้องกันการปลอมแปลงของสินค้าให้แก่หน่วยงานต่างๆ รวมทั้งผู้ประกอบการที่ต้องการนำเข้าและส่งออกเพื่อไม่ให้เกิดความเสียหาย

ปัจจุบันมีการใช้ชุดวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในอาหารระดับจีโนมที่มีความรวดเร็ว และแม่นยำ เป็นเครื่องมือที่ใช้เทคนิคเรียกว่า Next Generation Sequencing (NGS) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีการหาลำดับเบสที่มีความสามารถในการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ได้จำนวนมาก และเป็นเทคนิคที่นิยมใช้การอย่างแพร่หลายในงานด้านการตรวจวิเคราะห์เชิงลึก เนื่องจากให้ผลการทดสอบที่น่าเชื่อถือและได้จำนวนชุดข้อมูลจำนวนมากสำหรับการตรวจสอบในแต่ละครั้ง นอกจากนั้นเทคนิคนี้ยังถูกนำมาใช้สำหรับงานวิจัย เช่น การใช้เทคนิค Whole genome sequencing ในการศึกษาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในการศึกษาทางด้านจีโนมิกส์ (Genomic) เป็นต้น

2. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในระดับจีโนมในสินค้าปศุสัตว์ ด้วยเทคนิค Targeted next-generation sequencing

3. ขอบข่าย

ตรวจวิเคราะห์หาสิ่งปลอมแปลงในตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จำนวน 50 ตัวอย่าง โดยใช้ชุดน้ำยาสำหรับแยกชนิด (สปีชีส์) ของเนื้อสัตว์ (SGS All Species ID Meat DNA Analyzer kit)

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการวิเคราะห์ และผลการวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงในระดับจีโนมในสินค้าปศุสัตว์ ด้วยเทคนิค Targeted next-generation sequencing

5. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

5.1.1 เครื่องชั่ง

5.1.2 กรรไกรและปากคีบ

5.1.3 หลอดสำหรับบดตัวอย่าง

5.1.4 หลอด Microcentrifuge tube ขนาด 0.2 และ 1.5 มิลลิลิตร

5.1.5 เครื่องบด Homogenizer

5.1.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

5.1.7 เครื่อง Heating block

5.1.8 Vortex Mixer

5.1.9 Micropipette ขนาด 0.5-10, 10-100, 20-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร

5.1.10 Pipette tip ขนาด 10, 100, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

5.1.11 เครื่องวัดปริมาณดีเอ็นเอ (Qubit Assay)

5.1.12 PCR racks

5.1.13 ถุงมือยาง (แบบไม่มีแป้ง)

5.1.14 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง

5.1.15 หลอดสำหรับเครื่องวัดปริมาณดีเอ็นเอ (Qubit Assay Tubes)

5.2 สารเคมี

5.2.1 ชุดน้ำยา GMO Extraction Kit

5.2.2 Nuclease Free Water

5.2.3 ชุดน้ำยา Qubit dsDNA BR Assay Kit

5.2.4 น้ำยา SGS All Species ID Meat DNA Analyzer kit

5.2.5 PCR water

6. วิธีดำเนินการ

6.1 การบดตัวอย่าง (Sample homogenization)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในหลอดสำหรับบดตัวอย่าง จากนั้นบดตัวอย่างด้วยเครื่องบดโดยตั้งค่าที่ความเร็ว 6,000-9,000 rpm เป็นเวลา 90 วินาที ย้ายตัวอย่างที่บดแล้ว 200 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ไมโครลิตร เพื่อนำไปสกัดสารพันธุกรรม

6.2 การสกัดสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA extraction)

6.2.1 ขั้นตอนก่อนสกัดสารพันธุกรรม

เปิด Heat box และตั้งอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นำสารละลาย Proteinase K ที่เตรียมไว้ วางที่ Ice block จากนั้นนำ Nuclease Free Water จากชุดน้ำยา GMO Extraction Kit ใส่ Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

6.2.2 การสกัดสารพันธุกรรม

6.2.2.1 เติมน้ำยา Lysis Buffer 1 ปริมาตร 550 ไมโครลิตร ลงในหลอดที่บรรจุตัวอย่างข้อ 6.1

6.2.2.2 เติมสารละลาย Proteinase K ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน

(Spin down) และนำหลอดไปปั่นที่ heat block อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

6.2.2.3 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.4 ดูดส่วนใสใส่ Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำยา Lysis Buffer 2 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

6.2.2.5 นำไปปั่นใน heat block อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

6.2.2.6 เติม Absolute Ethanol ปริมาตร 420 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำ filter tube วางบน Collection tube

6.2.2.7 ดูดส่วนใส 600 ไมโครลิตร ลงใน filter tube ที่วางบน Collection tube ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.8 เทสารที่อยู่ใน Collection tube ทั้ง จากนั้นนำ Collection tube ไปวางบน Filter tube ตามเดิม ปิดตัวอย่างที่เหลือทั้งหมดใส่ใน Filter tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.9 ย้าย Filter tube วางบน Collection tube อันใหม่ เติมน้ำยา Wash Buffer 1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.10 เทสารละลายใน Collection tube ทั้ง นำหลอดไปสวมกับ Filter tube ปิดน้ำยา Wash Buffer 2 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.11 เทสารละลายใน Collection tube ทั้ง แล้วนำหลอดไปสวมกับ Filter tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.12 ย้าย Filter tube ไปใส่ใน Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

6.2.2.13 เติม Nuclease Free Water ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที

6.2.2.14 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 xg เป็นเวลา 1 นาที

6.2.2.15 ย้าย Filter tube เก็บดีเอ็นเอที่ได้จะอยู่ในหลอดทดลอง Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

6.3 การวัดปริมาณและเจือจางสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA quantification and dilution)

6.3.1 เตรียมน้ำยา dsDNA BR working solution โดยนำ Qubit dsDNA BR reagent, Qubit dsDNA BR Buffer, standard 1 และ standard 2 ในชุดน้ำยา Qubit dsDNA BR Assay kit

ออกจากกล่องวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 5 นาทีก่อนเริ่มใช้งาน จากนั้นเตรียม Qubit working solution โดยเจือจาง Qubit dsDNA BR reagent : Qubit dsDNA BR Buffer ในสัดส่วน (1 reaction ใช้ 1 ไมโครลิตร Qubit dsDNA BR reagent + 199 ไมโครลิตร Qubit dsDNA BR Buffer) ผสมให้เข้ากันโดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ

6.3.2 การวัดค่า Standard (Assay calibration) โดยใช้ Qubit working solution ปริมาตร 190 ไมโครลิตร จำนวน 2 หลอด จากนั้นเติม standard 1 และ standard 2 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร อย่างละหลอดบ่มอุณหภูมิห้องและในที่มืด เป็นเวลา 2 นาที เมื่อครบ 2 นาที ให้ทำการ Read standard 1 และ 2 ตามลำดับ หน้าจอเครื่องแสดงผลการอ่านค่า standard เป็นกราฟ

6.3.3 วัดปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่าง โดยใช้ Qubit working solution ปริมาตร 198 ไมโครลิตร ผสมกับตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดปริมาตร 2 ไมโครลิตร ลงในหลอด แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 2-3 วินาที หลีกเลี่ยงการเกิดฟองอากาศ บ่มที่อุณหภูมิห้องและในที่มืด เป็นเวลา 2 นาที เมื่อครบเวลาวัดค่าความเข้มข้น โดยเลือกเมนู Read sample และเลือกหน่วยความเข้มข้นเป็น นาโนกรัม/ไมโครลิตร

6.3.4 จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างให้เป็นความเข้มข้น 2 ng/ไมโครลิตร ในปริมาตร 50 ไมโครลิตร เมื่อทำการเจือจางแต่ละตัวอย่างให้ได้ค่าที่กำหนดแล้ว ให้ทำการผสมด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 10 วินาที จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในขั้นตอนต่อไป

6.4 การเตรียมดีเอ็นเอไลบรารี (Library preparation)

6.4.1 นำน้ำยา SGS All Species ID Meat DNA Analyzer kit ออกมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 30 นาทีก่อนการใช้งาน

6.4.2 เตรียม PCR mix

ตารางที่ 1 PCR Mix composition

Component	Volume (ไมโครลิตร/reaction)
Master Mix	10
PCR water	8.75
Total	18.75

6.4.3 เมื่อผสมปฏิกิริยาแล้ว ให้ปิเปตแบ่ง PCR mix สำหรับ 1 ปฏิกิริยา 18.75 ไมโครลิตร ลงหลอดทดลอง PCR

6.4.4 เติม Barcoded primer 1.25 ไมโครลิตร จากนั้นเติมดีเอ็นเอที่ทำการเจือจางไว้ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร

6.4.5 เตรียม Positive Control (PC) และ Negative Control (NC)

ตารางที่ 2 PCR Positive/Negative Control composition

Component	Volume (ไมโครลิตร/reaction)
Master Mix	10
NC / PC	14
Total	24

จากนั้นผสมให้เข้ากันและปั่นเหวี่ยงเล็กน้อย

6.4.6 เมื่อเตรียมปฏิกิริยาครบแล้ว ให้นำหลอด PCR เข้าเครื่อง Thermal Cycler เพื่อทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ตามโปรแกรมด้านล่าง โดยปริมาตรรวม คือ 25 ไมโครลิตร

ตารางที่ 3 PCR Cycles

Holding	Amplification Stage			Final Extension
1X	35X			1X
95 °C	95 °C	52 °C	72 °C	72 °C
2 min	30 sec	30 sec	30 sec	5 min

6.4.7 เมื่อปฏิกิริยา PCR เสร็จสิ้น ให้นำ Library ของตัวอย่าง PC และ NC ไปรันเจลอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส เพื่อนำผลการอ่านเจล ไปใช้ในการรวมดีเอ็นเอไลบรารี โดยกำหนดความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ เข้มที่สุด (1 ไมโครลิตร) เข้มปานกลาง (2 ไมโครลิตร) และ เข้มน้อยสุด (3 ไมโครลิตร)

6.5 การรวมดีเอ็นเอไลบรารี (Library pool preparation)

ในขั้นตอนนี้ เป็นการนำแต่ละดีเอ็นเอไลบรารีมารวมกัน (Pool) เพื่อให้ได้ Library pool โดยปริมาตรที่ใช้ของแต่ละดีเอ็นเอไลบรารี ซึ่งได้จากการรันเจลอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส จากนั้นนำ Library pool มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย Agencourt AMPure PCR Purification Kit จากนั้นวัดปริมาณ Library pool ด้วยเครื่อง Qubit และเจือจาง Library pool เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ 60 pM (Final dilution) สำหรับการนำไปวิเคราะห์ลำดับเบส (Sequencing)

6.6 การเตรียมต้นแบบและหาลำดับเบสด้วยเครื่องอัตโนมัติ (Chip preparation and DNA Sequencing)

6.6.1 เตรียมอีเอ็นเอต้นแบบอัตโนมัติ (Automated template preparation) และโหลดดีเอ็นเอต้นแบบลงใน Chip (Chip loading) อัตโนมัติด้วยเครื่อง Ion Chef™ Food protection เมื่อเครื่องทำงานเสร็จสิ้นให้นำ Chip ออกจากเครื่อง เพื่อนำไปหาลำดับสารพันธุกรรม (Sequencing)

6.6.2 นำ Chip จากข้อ 6.6.1 ไปหาลำดับสารพันธุกรรม (Sequencing) ด้วยเครื่อง Ion Genestudio S5 system โดยสร้าง Planned run ใน Torrent Suite™ Software เริ่มต้นทำการ Sequencing

6.7 การวิเคราะห์ผล (Data analysis)

6.7.1 หลังจากการวิเคราะห์ผลเสร็จสิ้นให้จัดเก็บไฟล์ FASTQ บน Server หน่วยความจำภายนอก (External memory) หรือ Cloud

6.7.2 ให้ดาวน์โหลดไฟล์ .fastq ที่สร้างไฟล์โดยระบบของ Ion Genestudio S5 Food protection โดยเปิด Torrent Suite ผ่าน Internet Browser เลือก plugins และคลิกเพื่อดาวน์โหลดไฟล์ .fastq

6.7.3 เมื่อให้ดาวน์โหลดไฟล์ .fastq เสร็จสมบูรณ์แล้ว การประมวลผลจะเริ่มขึ้นขึ้นด้วยการทำในซอฟต์แวร์ SGS All Species ID โดยเลือกบาร์โค้ด และ Target Database สำหรับประมวลผลให้ตรงกับตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (MEAT, FISH, PLANT)

6.7.4 เมื่อดำเนินการเสร็จสิ้นจะแสดงหน้าต่างข้อความ “Process completed” ให้เลือก “OK” เพื่อหยุดกระบวนการ

6.7.5 การรายงานผลเป็นไฟล์ Excel จะถูกนำเสนอเป็นชื่อทางวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ระบุสายพันธุ์ (Species) และจำนวนของ Read ของตัวอย่างแต่ละชนิด แต่เป็นผลเชิงคุณภาพเท่านั้น ซึ่งไม่ควรนำการระบุจำนวน Read ที่ได้ มาใช้ในการประเมินปริมาณส่วนผสมในตัวอย่างอาหาร ดังรูปภาพที่ 1

Run:	R_2023_05_24_23_37_45_user_GSS5-0718-1-Food_F SGS Molecular Portugal		
Analysis Date:	25-05-23 14:27		
Application Version	v3.0.8		
Pipeline Version:	Pipeline 8.1		
Database Version:	FISH : Version 5. MEAT : Version 6. PLANT : Version 7		
Target	Barcode	Species	Number Of Reads
	001	Bos_taurus	56618
	002	Bos_taurus	107721

รูปภาพที่ 1 รูปภาพแสดงตัวอย่างหน้ารายงานผล

7. ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ 50 ตัวอย่าง ให้ผลการทดสอบสปีชีส์ถูกต้อง 100 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 4
ตารางที่ 4 สรุปผลการทดสอบด้วยชุดวิเคราะห์สิ่งปลอมแปลงระดับจีโนมในสินค้าปศุสัตว์

ประเภทตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ผลการทดสอบ		ความถูกต้อง (ร้อยละ)
		สปีชีส์	จำนวนของผลที่ตรงกับ ประเภทตัวอย่าง	
สุกร	16	<i>Sus scrofa</i>	16	100
โค	13	<i>Bos taurus</i>	13	100
ไก่	16	<i>Gallus gallus</i>	16	100
แกะ	1	<i>Ovis aries</i>	1	100
ตัวอย่างผสม (โค+สุกร+ไก่)	4	<i>Bos taurus</i>	4	100
		<i>Sus scrofa</i>		
		<i>Gallus gallus</i>		
รวม	50		50	100

8. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่พิจารณาให้ดำเนินการ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการงานสุขศาสตร์และจุลชีววิทยา กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

9. เอกสารอ้างอิง

คู่มือการใช้งาน Thermo Science™ NGS Food Authenticity (Multi-species Screening and Identification)

Patel, A.S., Brahmbhatt, M.N., Bariya, A.R., NayakV, J.B. and Singh, K. 2023. Blockchain technology in food safety and traceability concern to livestock products. *Heliyon*. 9(6): e16526.

Primrose, S., Woolfe, M. and Rollinson, S. 2010. Food forensics: methods for determining the authenticity of foodstuffs. *Trends Food Sci & Technology*. 21(12): 582–590.