

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วิธีการตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ด้วยวิธีต่าง ๆ

2.1.1 ลักษณะลักษณะของสีของเนื้อสัตว์

การสังเกตสีของเนื้อสัตว์สดแต่ละชนิดด้วยตาเปล่าทำให้สามารถแยกชนิดเนื้อสัตว์ได้ เนื่องจากสารสีในกล้ามเนื้อ (Myoglobin) ของสัตว์แต่ละชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน โดยกล้ามเนื้อที่มีปริมาณไมโอโกลบินสูงจะมีสีเข้มมากกว่ากล้ามเนื้อที่มีปริมาณไมโอโกลบินน้อย เช่น เนื้อแกะเนื้อแพะมีปริมาณไมโอโกลบินสูงกว่าเนื้อสุกร เนื้อไก่ ดังนั้นเนื้อแกะ เนื้อแพะจึงมีสีแดงอ่อนถึงแดงอิฐ ส่วนเนื้อสุกรมีสีชมพูเทา และเนื้อไก่มีสีขาวเทาถึงแดงด้าน ๆ รวมทั้งการที่สัตว์อายุมากจะมีสีเนื้อเข้มมากกว่าสัตว์อายุน้อยกว่า เนื่องจากสัตว์อายุมากมีไมโอโกลบินสูงกว่า เช่น เนื้อโคมีสีแดงสดและเข้มเหมือนผลเชอร์รี่ ส่วนเนื้อลูกโคมีสีชมพูออกน้ำตาล²⁵⁻²⁶

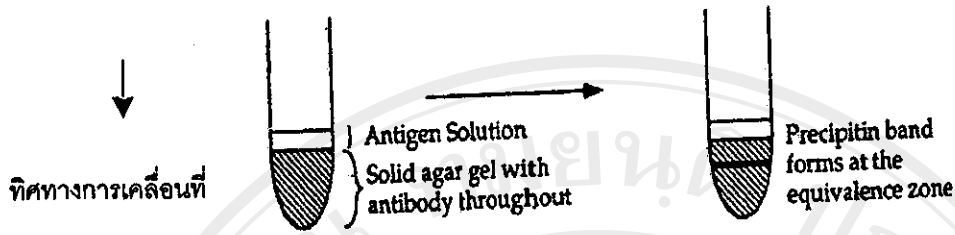
2.1.2 Gel diffusion technique

เป็นการทดสอบที่ใช้ปฏิกิริยาการตกตะกอน โดยแอนติบอดีและแอนติเจนที่อยู่ในรูปสารละลายทำปฏิกิริยากัน แพร่ผ่านตัวกลางที่เป็นเจล เมื่อถึงไว้ระยะหนึ่งเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี เกิดตะกอน (Precipitin band) ให้เห็น¹⁸⁻¹⁹ และสามารถนำเทคนิคนี้มาใช้พิสูจน์ชนิดของเนื้อสัตว์ได้ โดยเทคนิค Gel diffusion สามารถแบ่งได้ดังนี้

2.1.2.1 Single gel diffusion (Oudin technique) ในหลอดทดลอง

จากอดีตถึงปัจจุบันมีการพิสูจน์แยกชนิดของเนื้อสัตว์ เริ่มตั้งแต่ คริสตวรรษที่ 19 ใน ค.ศ. 1901 พิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์โดยวิธีการทางระบบภูมิคุ้มกัน อาศัยความจำเพาะระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีเริ่มจากการใช้เทคนิค Single gel diffusion เพื่อแยกพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์สดและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านความร้อนบางส่วน²⁷ เช่นเดียวกับ ใน ค.ศ. 1946 โดย Oudin ได้เตรียมเจลที่มีแอนติบอดีผสมอยู่ด้วยแล้วบรรจุในหลอดทดลอง เมื่อเจลแข็งตัว จึงใส่แอนติเจนที่อยู่ในรูป

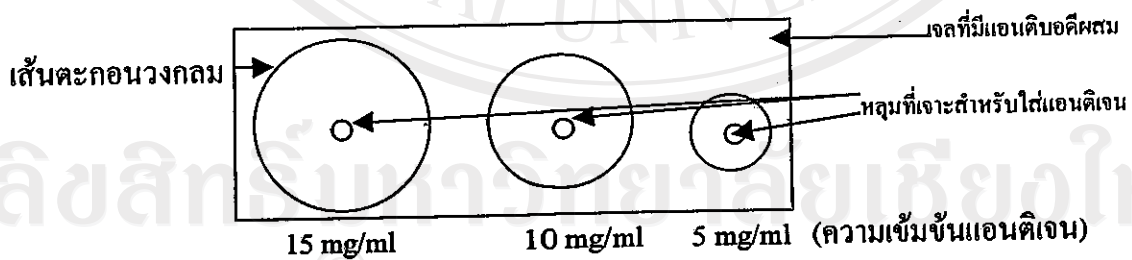
สารละลายลงไป เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่ง เกิดสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดีสามารถสังเกตเห็นเป็นวงแหวนในหลอดทดลอง²⁸ ตามรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 วิธีการทดสอบ Oudin technique (Single gel diffusion) ในหลอดทดลอง
 ที่มา: Miller L.E., Ludke H.R., Peacock J.E., Tomar R.H. Manual of Laboratory Immunology. 2 nd ed. Philadelphia : Lea&Febiger, 1991: 42 .

2.1.2.2 Single gel diffusion บนแผ่นสไลด์

วิธี single gel diffusion methods ใช้ตรวจหาแอนติเจน เริ่มจากเจาะรูบนเจลสำหรับใส่แอนติเจนแล้วแอนติเจนจะกระจายแพร่ผ่านเจลรอบหลุมเพื่อทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีซึ่งกระจายอยู่สม่ำเสมอในเจล เมื่อถึงเวลาไว้ระยะหนึ่ง จะเกิดเส้นตะกอนวงกลมให้เห็นบนแผ่นสไลด์ โดยขนาดของวงกลมเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของแอนติเจน วิธีนี้จึงช่วยให้ทราบปริมาณแอนติเจน¹⁸ (ตามรูปที่ 2.2) ดังเช่น Rekha และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1997 ว่าวิธีนี้ใช้พิสูจน์การปลอมปนปลาเนื้อสีขาวในกลุ่มปลาทะเลกระดูกแข็ง หรือพิสูจน์โปรตีนจากถั่วเหลือง น้ำมัน หรือไขรวมทั้งหาปริมาณการปลอมปนของเนื้อสัตว์ได้เช่นกัน⁶

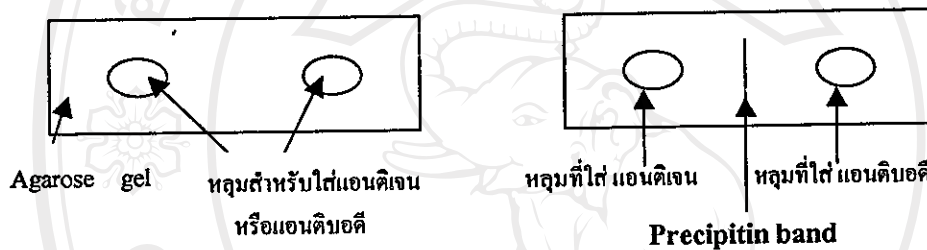


รูปที่ 2.2 วิธีการทดสอบ Single gel diffusion บนสไลด์

ที่มา: นภธร บานชื่น. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. ใน: สุทธิพันธ์ สารสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพฯ : เค พี พรินติ้ง, 2532: 66.

2.1.2.3 Double gel diffusion

Double gel diffusion test โดย Ouchterlony ซึ่งเป็นผู้เริ่มต้นการศึกษาวิธี Double gel diffusion test เมื่อ ค.ศ. 1948 อาศัยการเคลื่อนที่ของแอนติเจนกับแอนติบอดีออกจากหลุม โดยรอบเข้ามาในเนื้อเจลทั้งในทิศทางขนานและตั้งฉากกับแนวระหว่างหลุม 2 หลุม บน Semisolid agar gel เป็นผลให้เกิดเส้นตะกอน (precipitin band)^{18, 29-33} ตามรูปที่ 2.3 สำหรับเทคนิคนี้ Hayden รายงานใน ค.ศ. 1977 ว่าใช้ตรวจพิสูจน์การปลอมปนเนื้อม้าในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ การปลอมปนเนื้อสุกรหรือเนื้อไก่ในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์²⁹ และรายงานใน ค.ศ. 1979 ว่าใช้พิสูจน์การปลอมปนเนื้อไก่ในไส้กรอกโคได้ตั้งแต่ 1 เปอร์เซ็นต์ การปลอมปนเนื้อแกะ สุกร ม้า ในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านความร้อน 70 องศาเซลเซียสได้³¹



รูปที่ 2.3 วิธีการ Ouchterlony technique (Double gel diffusion test)

ที่มา: Miller L.E., Ludke H.R., Peacock J.E., Tomar R.H. Manual of Laboratory Immunology. 2 nd ed. Philadelphia : Lea&Febiger, 1991: 45 .

Patterson และ Jones รายงานใน ค.ศ.1985 ว่าการใช้กระดาษผลิตแอนติซีรัมต่อเนื้อแกะ และเนื้อม้า เพื่อพิสูจน์การปลอมปนเนื้อแกะและเนื้อม้าในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้แพะผลิตแอนติซีรัมต่อเนื้อสุกร เพื่อพิสูจน์การปลอมปนเนื้อสุกรในเนื้อโคที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน 70 องศาเซลเซียส ได้ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์⁷

Janssen และคณะรายงานใน ค.ศ. 1990 ว่าสามารถใช้เทคนิคนี้พิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ต่าง ๆ ได้ ตั้งแต่ 5-10 เปอร์เซ็นต์ในไส้กรอกที่ผ่านความร้อนที่มีอุณหภูมิใจกลาง 71 องศาเซลเซียส รวมถึงมีการพัฒนาแอนติซีรัมเพื่อใช้พิสูจน์เนื้อสัตว์ป่าหรือสัตว์เศรษฐกิจที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน³⁴

Pomeranz และ Meloan รายงานใน ค.ศ. 1994 ว่า ปฏิกิริยาการตกตะกอน สามารถใช้พิสูจน์ชนิดโปรตีนจากไข่ขาวกับไข่แดง การตรวจหาไข่ปลาสดเคอเจียน (caviar) น้ำผึ้งบริสุทธิ์ ถั่วหรือโปรตีนในขนมปัง เนื้อสด เนื้อแช่แข็ง เนื้อตากแห้ง เนื้อรมควัน เป็นต้น⁸

Hashimoto และ Yasui รายงานใน ค.ศ. 1957 ว่าเทคนิคนี้ใช้ตรวจพิสูจน์การปลอมปนเนื้อแกะในเนื้อวัวได้ตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ เนื้อสุกรในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ เนื้อม้าในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ เนื้อไก่หรือเนื้อไก่งวงปลอมปนในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 15 เปอร์เซ็นต์ เนื้อจิ้งจอกในเนื้อโคได้ตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ เนื้อโคในเนื้อสุกรได้ตั้งแต่ 2 เปอร์เซ็นต์³⁰

Hayden รายงาน ใน ปี ค.ศ. 1979 ว่าเตรียมแอนติเจนจาก Myoglobin 66 มิลลิกรัมในสารละลาย Phosphate buffered saline 10 มิลลิลิตร ที่ผสมรวมกับ Complete Freund's Adjuvant 10 มิลลิลิตร แล้วฉีดเข้าผ่านเท้ากระต่ายข้างละ 0.3 มิลลิลิตร จำนวน 2 ข้าง และฉีดเข้าผิวหนังตรงส่วนหลังคอ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 1 แห่ง โดยฉีดแอนติเจนในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัม 16-36 Units/20 ไมโครลิตร³¹

Pinto รายงาน ใน ปี ค.ศ. 1961 ว่าเตรียมแอนติเจนจากซีรัม 0.7 กรัมในสารละลายน้ำเกลือ 0.85 % จำนวน 70 มิลลิลิตร แล้วฉีดเข้าเยื่อช่องท้อง โดยฉีดแอนติเจนในสัปดาห์ที่ 0, 1 และ 2 ในปริมาตร 5, 10, 15 มิลลิลิตรตามลำดับ ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัม 200 Units/25 ไมโครลิตร³²

Yasuji และ Kiyoshi รายงานใน ปี ค.ศ. 1968 ว่าเตรียมแอนติเจนจากซีรัม 100 มิลลิลิตร รวมกับ 10 % Potassium aluminium sulphate 10 มิลลิลิตร แล้วฉีดเข้ากล้ามเนื้อกระต่าย 2 มิลลิลิตร/ครั้ง ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 2 และ 3 ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัม 1,600-2,800 Units / 25 ไมโครลิตร³⁵

Richard รายงานใน ค.ศ. 1998 ว่าเตรียมแอนติเจนจากซีรัม 25 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ที่ผสมกับ 10 % Potassium aluminium sulphate 10 มิลลิลิตร แล้วฉีดเข้ากล้ามเนื้อขากระต่าย ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร/ครั้ง ในสัปดาห์ที่ 0, 2 ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัม 10 Units / 20 ไมโครลิตร³⁶

โสมทัดและคณะ รายงานใน พ.ศ. 2526 ว่าเตรียมแอนติเจนจากซีรัมที่ผสมกับ 10 % Potassium aluminium sulphate แล้วฉีดเข้ากล้ามเนื้อจากกระต่าย ในสัปดาห์ที่ 0, 4, 7 ในปริมาตร 5, 10, 15 มิลลิลิตรตามลำดับ ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัม 1,000–5,000 Units/20 ไมโครลิตร²¹

Polyclonal antibody ที่ผลิตขึ้นไม่สามารถใช้พิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ที่มีความใกล้เคียงระหว่างวิวัฒนาการพันธุกรรมของสัตว์ เนื่องจากแอนติเจนที่ใช้ผลิต Polyclonal antibody มี Epitope บางส่วนที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นแอนติบอดีที่ได้จากการกระตุ้นด้วยแอนติเจนชนิดหนึ่งอาจทำปฏิกิริยากับแอนติเจนอื่นด้วยจึงมีผลให้เกิดปฏิกิริยาข้าม และการตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์มีความจำเพาะต่ำลง ดังนั้นการแยกแอนติบอดีเฉพาะส่วนที่ต้องการออกมาโดยใช้แอนติเจนบริสุทธิ์ที่เกิดปฏิกิริยาข้ามจับกับแอนติบอดี จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ลดปฏิกิริยาข้าม³⁷ เช่น รายงานของ Patterson และ Jones ใน ค.ศ. 1990 ที่กล่าวว่าไม่สามารถใช้พิสูจน์แยกแยะเนื้อแกะกับเนื้อแพะ หรือเนื้อม้ากับเนื้อลา²⁷ เช่นเดียวกับรายงานของ Hsieh และคณะใน ค.ศ. 1999 ที่กล่าวว่าไม่สามารถใช้พิสูจน์แยกแยะเนื้อโคกับเนื้อกระบือ เนื้อไก่กับเนื้อไก่งวง เนื้อโลกับเนื้อแกะ⁵ หรือ Janssen และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1990 ว่าไม่สามารถใช้พิสูจน์ Ovalbumin จากไข่เป็ดกับแอนติบอดีของ albumin จากไข่ไก่³⁴

สำหรับประเทศไทย มีรายงานใน พ.ศ. 2526 โดยชาติรี ว่าการตรวจพิสูจน์เนื้อสัตว์ที่ได้จากตลาดในเขตกรุงเทพมหานครพบเนื้อกระบือถูกแอบอ้างขายเป็นเนื้อโคทุกตัวอย่างที่ศึกษา³⁸ และโสมทัด รายงานใน พ.ศ. 2526 พบเห็บซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกร มีการปลอมปนเนื้อม้าในเนื้อสุกร 1 ตัวอย่าง และพบเนื้อโคถูกแอบอ้างขายเป็นเนื้อกระบือ 17.78 เปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งพบเนื้อกระบือถูกแอบอ้างขายเป็นเนื้อโค 50.87 เปอร์เซ็นต์²¹

ปัจจุบันมีการพัฒนาเป็นชุดทดสอบสำเร็จรูป โดยชุดทดสอบประกอบด้วยแผ่นกระดาษ เจล อุปกรณ์ในการเจาะกับแอนติบอดีต่อเนื้อสัตว์ ซีรัมที่เป็นแอนติเจนของเนื้อสัตว์ตามชนิด เนื้อสัตว์ของชุดทดสอบนั้น ๆ ผู้ทดสอบต้องเตรียมเจลใส่ลงบนแผ่นกระดาษ แล้วทำการเจาะเจลหลังจากนั้นใส่ตัวอย่างเพื่อทดสอบเทียบกับซีรัมที่เป็นแอนติเจนจากบริษัท ตั้งเกตเส้น ตะกอนจากปฏิกิริยาการตกตะกอน ซึ่งชุดทดสอบมีราคาไม่แพง และสามารถปฏิบัติได้ง่าย สามารถปฏิบัติเป็นงานประจำสำหรับตรวจการปลอมปน ชุดทดสอบที่ผลิตขึ้นมีประสิทธิภาพแตกต่างกันในการพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ หรือจำนวนเนื้อสัตว์ เช่น บางบริษัทสามารถตรวจพิสูจน์การปลอมปนชนิดเนื้อสัตว์ได้มากกว่า 1 ชนิด พร้อมทั้งสามารถตรวจปริมาณเปอร์เซ็นต์การปลอมปน

ของเนื้อสัตว์ได้ต่าง ๆ กัน³⁹ (ตามภาคผนวก ค)

2.1.3 Hemagglutination inhibition

การทดสอบ Hemagglutination inhibition เป็นวิธีการตรวจหาแอนติเจน มีหลักการคือ เมื่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาในสิ่งส่งตรวจ (เนื้อสัตว์) ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่จำเพาะต่อกันก่อน เพื่อให้แอนติบอดีนั้นหมดความสามารถในการรวมกลุ่มกับแอนติเจนที่จำเพาะซึ่งเคลือบบนผิวเม็ดเลือดแดงที่เติมลงไปภายหลัง ปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกจะไม่มีการรวมกลุ่มเกิดขึ้น⁴⁰

Kamiyama และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1978 เทคนิคนี้มีความไวในการทดสอบสูงมาก แยกชนิดเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ ได้ดี ตรวจพบการปลอมปนได้ตั้งแต่ 0.2 เปอร์เซ็นต์⁴⁰

2.1.4 Electrophoresis

Electrophoresis มีหลักการ ใช้การเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุ ผ่านตัวกลาง ภายใต้อิทธิพลของสนามไฟฟ้า โดยที่อนุภาคซึ่งมีประจุบวกจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วไฟฟ้าลบ (cathode) และอนุภาคซึ่งมีประจุลบจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วไฟฟ้าบวก (anode) รวมทั้งอนุภาคที่มีประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ไปในสนามไฟฟ้าได้ในความเร็วต่างกันจึงสามารถแยกสารที่ผสมกันอยู่ออกจากกันได้

เทคนิคนี้ใช้สำหรับตรวจผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารละลายโปรตีนจากเนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ โดยศึกษาารูปแบบแถบที่พบบนเจล ซึ่งบางครั้งแถบนั้นอาจสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า โดยการย้อมสีธรรมชาติ หรือใช้เอนไซม์ หรือแอนติบอดีต่อเนื้อสัตว์ชนิดนั้น นอกจากนี้การแยกแถบบางครั้งต้องใช้ homogenous gel หรือ concentration gradient gel หรือ pH gradient gel โดยใช้ urea หรือ detergent เพื่อทำลายโครงสร้าง tertiary protein structure โดยทั่วไปใช้เทคนิคนี้สำหรับแยกชนิดปลา ซึ่งต่างประเทศมีมาตรการให้ระบุชนิดเนื้อปลานอนฉลากบรรจุภัณฑ์ หรือน้ำมัน ไข่ขาว ถั่วเหลือง รวมถึงเนื้อไม้ สุก ร แกะ ไก่ ไก่วง เป็นต้น²⁷ โดยที่วิธี Electrophoresis สามารถแบ่งได้เป็นหลายชนิด เช่น

2.1.4.1 Polyacrylamide gel Electrophoresis

การใช้เทคนิค Polyacrylamide gel electrophoresis ใช้ในการตรวจพิสูจน์เนื้อสดและ

เนื้อแข็ง ศึกษาความแตกต่างของเนื้อโค แกะ กวาง และกระท่าย หรือตรวจพิสูจน์โปรตีนจาก ถั่วเหลือง น้ำมัน เนื้อปู กุ้ง ในอาหารแปรรูป รวมทั้งเนื้อสัตว์กระป๋องและพืชที่ผ่านการแปรรูป ด้วยความร้อน³⁴

2.1.4.2 Polyacrylamide gel isoelectric focusing Electrophoresis

Polyacrylamide gel isoelectric focusing มีหลักการ คือ เป็นวิธีที่แยกโปรตีนในแผ่น เจลที่มี pH แตกต่างกัน ในสภาวะนี้โปรตีนจะเคลื่อนตามปริมาณประจุในโปรตีนจนกระทั่งเคลื่อน ไปยังช่วงที่มี pH เข้าใกล้ค่า pI ของโปรตีน จึงหยุดการเคลื่อนที่

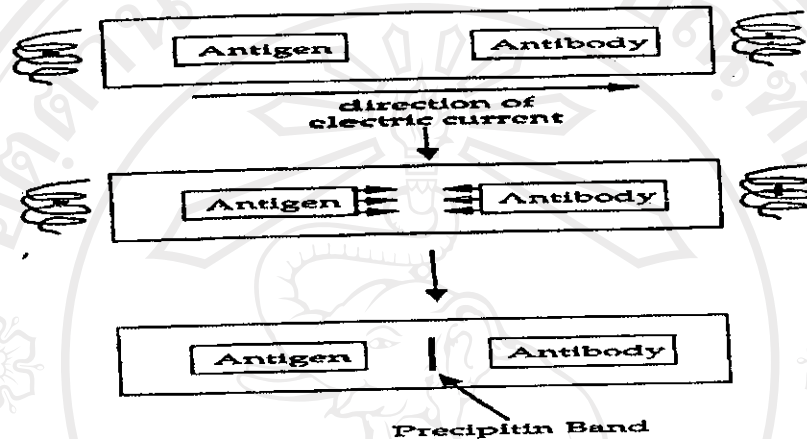
การใช้เทคนิค Polyacrylamide gel isoelectric focusing (PAGIF) ใช้ตรวจพิสูจน์เนื้อ โค สุกร แพะ แกะ ม้า กวาง หรือเนื้อกุ้งสดกับเนื้อกุ้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ปลา เนื้อ ปลาดิบผ่านความร้อนในน้ำมัน หรือผลิตภัณฑ์สุราหมักจากปลา ผลิตภัณฑ์อาหารจากไข่ขาว โปรตีนถั่วเหลือง และตรวจพิสูจน์เนื้อสัตว์ป่า เช่น Impala และ South African antelope ออก จาก roebuck และ กวางในท้องถิ่น หรือแยกเนื้อโคออกจากกวาง เลียงผา และละมั่งเล็กหรือสัตว์ ที่ได้จากเกมการล่าสัตว์ป่า ออกจากสัตว์เศรษฐกิจ โดยเฉพาะใช้แยกเนื้อสัตว์ทะเลจากเนื้อปลาวาฬ การปลอมปนเนื้อแกะในโค รวมทั้งการพิสูจน์ชนิดเนื้อปลากลุ่มปลาแซลมอน วิธีนี้ใช้สีย้อม เอนไซม์ หรือ silver หรือบางครั้งใช้สีย้อม Coomassie Brilliant Blue ย้อมโปรตีน โดยเฉพาะไมโอ โกลบิน แต่วิธีนี้ไม่สามารถใช้ตรวจเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณไมโอโกลบินต่ำ เช่น เนื้อไก่ ไก่วง หรือตัว อย่างที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนหลากหลายวิธี รวมถึงแถบที่ได้จากตัวอย่างที่นำมาพิสูจน์อาจ มาซ้อนทับรวมกันให้แปลผลผิดพลาด⁴¹

2.1.4.3 Counter Immunoelectrophoresis (CIEP)

วิธีการทดสอบนี้มีชื่อเรียกอีกหลายอย่างได้แก่ countercurrent electrophoresis, electroprecipitation, immuno-osmo-electrophoresis, crossed electrophoresis, crossover electrophoresis, one-dimensional double electroimmunodiffusion, electroosmodiffusion

Counter electrophoresis อาศัยหลักการใช้กระแสไฟฟ้าช่วยเร่งให้แอนติเจนและแอนติบอดี เคลื่อนที่มาพบกันในเจลได้เร็วขึ้น ร่วมกับปฏิกิริยาการตกตะกอนระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี ในเนื้อเจล โดยมีการเจาะหลุมสำหรับใส่แอนติเจน และหลุมสำหรับใส่แอนติบอดีในเนื้อเจลให้

อยู่ในแนวเส้นตรงเดียวกันระหว่างขั้วไฟฟ้าลบและขั้วไฟฟ้าบวก (ตามรูปที่ 2.4) ใสแอนติเจนใน หลุมที่อยู่ทางขั้วไฟฟ้าลบและใสแอนติบอดีในหลุมที่อยู่ขั้วไฟฟ้าบวก เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้า แอนติเจนจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วไฟฟ้าบวกได้รวดเร็วกว่าแอนติบอดี ในขณะที่แอนติบอดีซึ่งเคลื่อนที่ ไปได้ช้านั้นก็กลับถูกพามาทางด้านขั้วไฟฟ้าลบทำให้เคลื่อนมาพบแอนติเจนและสามารถเกิดเส้น ตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี โดยวิธีนี้มีความไวกว่าวิธี Double gel diffusion ที่ไม่ใช้กระแสไฟฟ้า 10 ถึง 20 เท่า¹⁹



รูปที่ 2.4 วิธีการทดสอบ Counter Immunoelectrophoresis

ที่มา: Miller L.E., Ludke H.R., Peacock J.E., Tomar R.H. Manual of Laboratory Immunology. 2nd ed. Philadelphia : Lea&Febiger, 199: 47.

Counter immunoelectrophoresis ใช้วิเคราะห์แยกแยะโปรตีนจากเนื้อสัตว์ เพื่อประกอบการพิจารณาโรคเกี่ยวกับอาหารของสาละยุคิธรรม และสำหรับตรวจสอบชนิดเนื้อสัตว์เบื้องต้นที่นำเข้าประเทศอังกฤษ วิธีนี้จะใช้ทั้งหลักการ double gel immunodiffusion ร่วมกับ electrophoresis ใช้เวลาในการทดสอบไม่นานและเป็นเทคนิคไม่ยุ่งยาก²⁷

Patterson และ Jones รายงานใน ค.ศ. 1990 เทคนิค Counter Immunoelectrophoresis สามารถพิสูจน์ปริมาณการปลอมปนตั้งแต่ 2 เปอร์เซ็นต์ หรือตรวจสอบเนื้อสัตว์ที่ผสมกับไขมันปริมาณมาก และใช้ระยะเวลาพร้อมทั้งปริมาณแอนติเจนและแอนติบอดีน้อยกว่าเทคนิค double gel diffusion แต่ราคาค่าใช้จ่ายมากกว่าเทคนิค double gel diffusion²⁷

Singhal และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1997 ว่าเทคนิค Counter Immunoelectrophoresis สามารถใช้พิสูจน์กระดูกบด ถ้าใส่หรือไขมันจากสัตว์ที่ปลอมปนในผลิตภัณฑ์อาหาร⁴¹

2.1.5 Immunoassay

Immunoassay เป็นการทดสอบหาแอนติเจนหรือแอนติบอดีในสิ่งส่งตรวจ โดยสารที่นำมาติดฉลากแอนติเจนหรือแอนติบอดีเพื่อใช้ในการทดสอบ คือ สารกัมมันตรังสีหรือเอนไซม์นอกจากนี้อาจมีการใช้สารเรืองแสงคังเช่น วิธี Radioimmunoassay ซึ่ง Johnston รายงานใน ค.ศ. 1985 ว่ามีการใช้ไอโอดีนกัมมันตรังสี 125 เป็น labeled immunoreagent สามารถพิสูจน์ปริมาณการปลอมปนเนื้อสัตว์ ได้ตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถทดสอบทั้งทางตรงจากการใช้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับ specific antisera ที่ติดฉลากด้วยไอโอดีนกัมมันตรังสี 125 และการทดสอบทางอ้อมใช้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับ specific antisera แล้วจึงทำปฏิกิริยากับ protein A ที่ติดฉลากกับ ไอโอดีนกัมมันตรังสี 125⁴²

Hamm, รายงานใน ค.ศ. 1977 ว่าการใช้ Immunoassay สามารถตรวจพบการผสมเนื้อสัตว์กับเนื้อเยื่อปอดโดยสามารถตรวจพบการปลอมปนเนื้อเยื่อปอดได้ตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์⁴³

ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคเพื่อพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์และชนิดพืชในรูปแบบเชิงการค้า โดยใช้เทคนิค Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ใช้ในกรณี Large-scale screening และ field tests ใช้เวลาถึง 3 ชั่วโมง ยกตัวอย่างการใช้ alkaline phosphate หรือ glucose oxidase ติดฉลากแอนติเจนหรือแอนติบอดี ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ต้องให้ high enzyme activity ที่ low substrate concentration และไม่ให้คุณสมบัติของแอนติเจนหรือแอนติบอดีเสียไป ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถตรวจสอบโดยการใส่ Substrate ซึ่งทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่ติดฉลากไว้ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ (Product) ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยาเคมี จะปรากฏสีสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าหรือวัดความเข้มของสีด้วยเครื่อง Spectrophotometer ทำให้หาปริมาณหรือชนิดของสารที่ต้องการทราบได้ในแต่ละขั้นตอนนี้ต้องมีการล้างเพื่อแยกเอาสารส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาออกไป^{40-42, 44-45}

Pomeranz และ Meloan รายงานใน ค.ศ. 1994 ว่าเทคนิค ELISA ใช้ตรวจพิสูจน์ปริมาณการปลอมปนเนื้อโค ม้า จิงโจ้ แกะ แพะ สุนัข ลา ได้น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์⁸

Stevenson และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1994 ว่าเทคนิค ELISA ใช้ตรวจพิสูจน์การปลอมปนโปรตีนจากถั่วเหลืองหรือโปรตีนจากน้านมได้ รวมทั้งใช้พิสูจน์การปลอมปนเนื้อสัตว์สดหรือเนื้อสัตว์ที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน เทคนิคนี้มีความจำเพาะสูง ง่ายในการปฏิบัติการ ใช้เวลาไม่นาน⁴⁶

Hsieh⁴⁷ พร้อม Morales และคณะ⁴⁸ รายงานใน ค.ศ.1994 ว่าปัจจุบันมีการผลิต Monoclonal antibodies จาก Stable hybridoma cell line เพื่อมาผลิต Monoclonal antibody ที่จำเพาะกับการตรวจพิสูจน์เนื้อสัตว์ชนิดต่าง ๆ เช่น เนื่องจากสัตว์ทะเลที่มีเปลือกแข็ง เนื่องจากเต่าทะเล พิสูจน์แยกแยะปลาในกลุ่มแซลมอนออกจากปลาน้ำจืดชนิดอื่น ๆ วิธี ELISA มีหลายแบบ ดังนี้

2.1.5.1 Double antibody sandwich

Double antibody sandwich เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นให้มีความจำเพาะ ความไวกับปริมาณสารความเข้มข้นน้อย โดยให้ specific antibody เกาะกับพลาสมาแล้วเติมตัวอย่างเนื้อ (แอนติเจน) ลงไปทำปฏิกิริยาแล้วล้างส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาออก แล้วจึงเติม species – specific antibodies ตัวที่สองที่เชื่อมด้วยเอนไซม์ แล้วจึงเติม substrate เพื่อดูสีที่ปรากฏ เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูงมาก สามารถทดสอบปริมาณการปลอมปนได้ตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (ตามรูปที่ 2.6 ก)

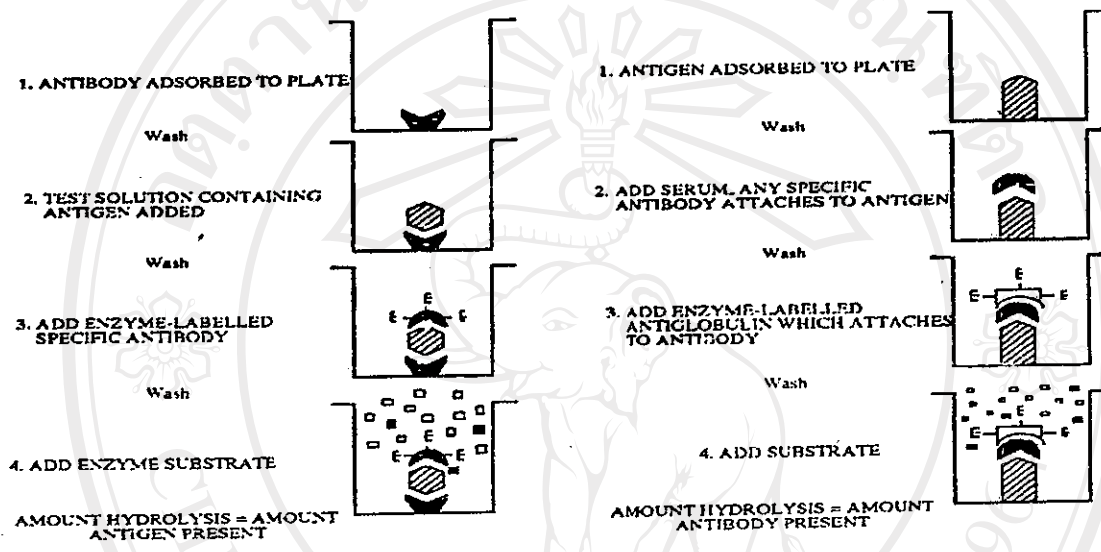
Martin และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1988 ว่าปัจจุบันมีการผลิตเป็นชุดทดสอบ สำหรับตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรม เช่น แกะกับแพะ และม้ากับลา⁴⁴

Whittaker และคณะ รายงานในปี ค.ศ.1983 ในประเทศออสเตรเลียและอังกฤษมีการใช้เทคนิคนี้ตรวจพิสูจน์เนื้อไก่ สุกรที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน⁴⁵

2.1.5.2 Indirect Enzyme linked immunosorbent assay

Indirect ELISA เป็นเทคนิค ELISA ที่ใช้ครั้งแรกเพื่อตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ โดยใช้โปรตีนที่ละลาย (soluble protein) ในเนื้อสัตว์ เริ่มจากเติมตัวอย่าง (แอนติเจน) ที่ต้องการทดสอบ ให้เกาะบน ELISA plate แล้วเติมแอนติบอดีที่จำเพาะกับชนิดตัวอย่างที่ต้องการทราบลงไป เพื่อเป็นแอนติบอดีสำหรับสืบหาแอนติเจนตัวแรก แล้วเติมแอนติบอดีต่ออิมมูโนโกลบูลินซึ่งติดฉลากด้วยเอนไซม์เพื่อเป็นแอนติบอดีตัวที่สองซึ่งจำเพาะกับแอนติบอดีตัวแรก ต่อมาจึงเติม Substrate เป็นขั้นตอนสุดท้าย (ตามรูปที่ 2.5 ข)

Patterson และ Jones รายงานใน ค.ศ. 1990 ว่าเทคนิคนี้สามารถใช้พิสูจน์การปลอมปนเนื้อโค เนื้อสุกร ได้ตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ และตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสุกรที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อปลาซาร์ดีนกระป๋อง ตรวจการปลอมปนเนื้อม้าในเนื้อสัตว์สดอื่น ๆ และมีการพัฒนาเทคนิค Indirect ELISA ควบคู่กับการใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดี สำหรับพิสูจน์เนื้อสุกร โค แกะ ม้า กระต่าย ไพรตินจากถั่วเหลือง เกลาตินหรือวิเคราะห์ห่อหุ้มของไก่หรือเนื้อสัตว์ที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน²⁷



ก. Double antibody sandwich

ข. Indirect method

รูปที่ 2.5 วิธี Enzyme linked immunosorbent assay

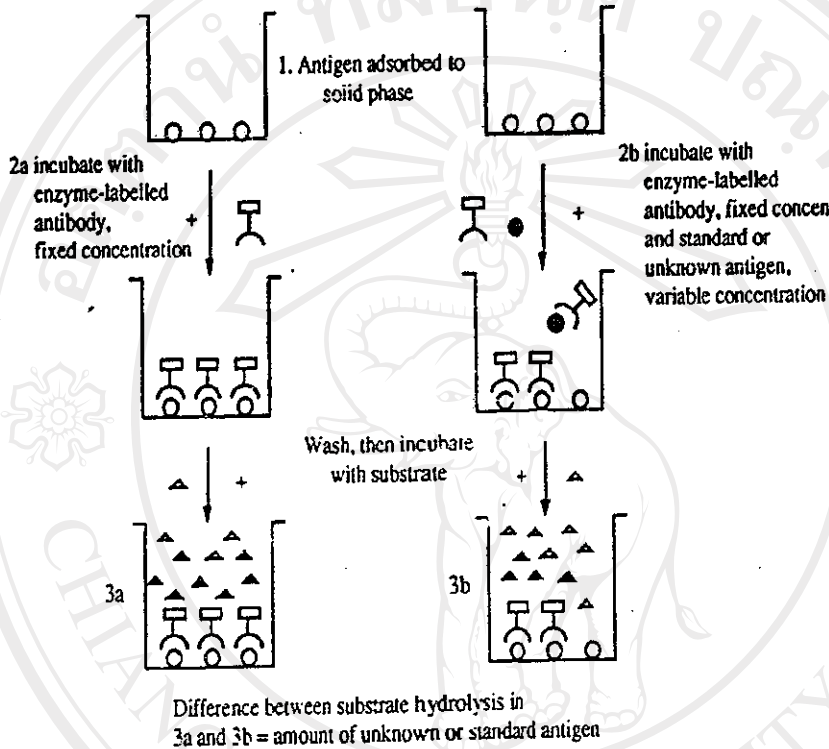
ที่มา: นภาพร บานชื่น. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี. ใน: สุทธิพันธ์ สารสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : เค พี พรินติ้ง, 2532: 17.

2.1.5.3 Competitive Enzyme linked immunosorbent assay

Competitive ELISA มีหลักการคือ เริ่มเตรียมแอนติเจนมาติดกับเพลท แล้วเติมตัวอย่าง (แอนติเจน) ที่ต้องการทดสอบเพื่อให้แข่งจับกับแอนติบอดีที่ติดผลลากด้วยเอนไซม์ซึ่งเติมลงไป ถ้าแอนติเจนที่นำมาทดสอบมีปริมาณมากจะยับยั้งการจับแอนติบอดีติดผลลากกับแอนติเจนบนพื้นผิวเพลทได้มาก ทำให้แอนติบอดีติดผลลากจับกับแอนติเจนบนพื้นผิวเพลทได้น้อยลง แล้วล้างเพลท ขั้นตอนมาจึงเติม Substrate ลงไป ถ้าสีเข้มชัดเจนบ่งชี้ถึงว่ามีการปลอมปนในระดับต่ำ ถ้าสี

จากแสดงถึงการปลอมปนสูง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของ Substrate จึงเป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณ แอนติเจน (เนื้อสัตว์) ที่ต้องการพิสูจน์⁵ (ตามรูปที่ 2.6)

Patterson และ Jones รายงานใน ค.ศ. 1990 ว่าเทคนิค Competitive ELISA ใช้ตรวจ โปรตีนในเลือดและตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ โดยสามารถแปลผลได้ใน 1 ชั่วโมง²⁷



รูปที่ 2.6 วิธี Competitive enzyme linked immunosorbent assay เพื่อตรวจหาแอนติเจน
ที่มา: นกักร บานชื่น. หลักการทดสอบในห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติเจนและ
แอนติบอดี. ใน: สุทธิพันธ์ สารสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4.
กรุงเทพฯ : เค พี พรินติ้ง, 2532: 17.

2.1.6 Nucleic acid hybridization

การตรวจหาสายยีนคู่สมโดยใช้ Nucleic hybridization ใช้พื้นฐานความรู้ที่ว่า DNA จะมีการเรียงลำดับเบสต่างกันเป็นสิ่งมีชีวิต ฉะนั้นการเรียงลำดับเบสจึงมีความจำเพาะในสิ่งมีชีวิต รวมทั้งเนื้อสัตว์แต่ละชนิด หลักการของการตรวจนี้จะคัดเลือกส่วนของ DNA ที่มีลำดับเบส

จำเพาะสำหรับเนื้อสัตว์มาทำเป็นตัวทดสอบที่เรียกว่า DNA probe หรือ nucleic acid probe เป็น specific oligonucleotide probes ซึ่งคิดค้นจากด้วยสารรังสีหรือเอนไซม์ สำหรับแยกแยะเนื้อที่ผสมกันอยู่ทั้งเนื้อสดและเนื้อที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน ใช้ตรวจหา DNA จากเนื้อสัตว์ที่ต้องการพิสูจน์ ถ้าตัวอย่างมีเนื้อสัตว์ที่ต้องการพิสูจน์อยู่จะมีลำดับเบสของนิวคลีโอติกที่มีคู่สมมูลกับ probe ก็จะจับคู่กันได้อย่างเหมาะสม (Complementary base pair) แต่ถ้าลำดับของเบสต่างกันก็ไม่จับคู่กัน ผลการทดสอบที่ใช้กับสารรังสีได้จากการประกบฟิล์มเอกซเรย์แล้วตรวจลักษณะสีค่าบนฟิล์มที่เรียกว่า autoradiography ส่วนผลจากเอนไซม์จะแสดงโดยการดูสีที่เกิดจากปฏิกิริยาของ substrate ที่เติมลงในปฏิกิริยา ผลของการวินิจฉัยด้วยวิธีการตรวจหาชิ้นคู่สมที่เหมาะสมนี้ให้ผลที่น่าเชื่อถือมาก เนื่องจากมีความจำเพาะและความไวสูงมาก ตัวอย่างที่ทดสอบถึงแม้ว่าเป็นเนื้อสัตว์ที่สูญเสียความเป็นแอนติเจน (antigenicity) ก็ยังใช้ได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถตรวจได้ทั้งของเหลวและชิ้นเนื้อ การทดสอบนี้ยังสามารถทำได้โดยตรงบนเซลล์หรือชิ้นเนื้อตัดบางแล้วแช่แข็งโดยตรงเรียกว่า *in situ* hybridization แต่ถ้าตรวจจาก DNA ที่สกัดออกมาจากตัวอย่าง แล้วนำมาหยดให้ตรึงกับกระดาษกรอง และตรวจหา DNA บนกระดาษกรองเรียกว่า Dot blot hybridization^{41, 49}

Singhal และคณะ รายงานใน ค.ศ. 1997 ว่าเทคนิคนี้ใช้ตรวจพิสูจน์เนื้อสัตว์ ในเนื้อไก่ กระบือ เนื้อโค กระบือ และเนื้อสุกร กระบือ⁴¹

2.1.7 Polymerase chain reaction (PCR)

เทคนิคนี้อาศัยหลักการที่ว่าสารพันธุกรรมหรือกรดนิวคลีโอติกของเนื้อสัตว์แต่ละชนิดจะมีการเรียงตัวที่แตกต่างกัน การทำ PCR เป็นการเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วน DNA ที่จำเพาะนั้น ๆ ในหลอดทดลอง การแสดงผลทำได้โดยการแสดงชิ้นส่วนของ DNA ที่เพิ่มปริมาณแล้ว โดยการใช้กระแสไฟฟ้าผ่าน DNA ให้เคลื่อนที่ผ่านใน agarose gel หรือ polyacrylamide gel แล้วทำการเปรียบเทียบขนาดของชิ้นส่วน DNA ที่ได้กับ DNA มาตรฐาน โดยมีองค์ประกอบดังนี้ คือ DNA แม่พิมพ์ (template DNA) เอนไซม์ทนความร้อนที่จำเพาะ (thermostable DNA polymerase) deoxyribonucleotide primers ซึ่งต้องการออกแบบให้จำเพาะต่อชิ้นส่วน DNA ที่ต้องการเพิ่มจำนวนปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะเกิดต่อเนื่องซ้ำกันเป็นวงจรลูกโซ่ ซึ่งในแต่ละรอบจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ Denaturation, Annealing และ Extension การสังเคราะห์จะดำเนินไปตามขั้นตอนเป็นลำดับทำให้ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็น DNA สายใหม่ซ้ำซึ่งเหมือนกับ DNA แม่พิมพ์ ขึ้นเป็นจำนวนมาก เทคนิคนี้มีความไวสูงมากเนื่องจากสามารถตรวจพบ DNA ในปริมาณเป็น

nanogram (ng) ได้ แต่เนื่องจากมีความไวสูงหากมีชิ้นส่วน DNA อื่นปนเปื้อนจากภายนอกด้วย เพียงเล็กน้อยก็จะได้ผลที่ผิดพลาด อีกทั้งต้องอาศัยเครื่องมือจำเพาะและสารเคมีที่มีราคาสูง เทคนิคนี้จึงมีเฉพาะในห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่⁴⁹

เทคโนโลยีที่ก้าวหน้า ณ ปัจจุบันเริ่มใช้เทคนิค Hybridization to satellite probes และ Polymerase Chain Reaction by restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP) of mitochondrial DNA เพื่อพิสูจน์ species-specific DNA sequences เพื่อตรวจโปรตีนที่ผ่านการแปรรูปหรือผ่านการให้ความร้อนได้ โดยมีความจำเพาะและความไวสูง ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับชนิดเนื้อสัตว์อื่นแต่ยังมีราคาค่อนข้างแพงในปัจจุบัน⁵⁰ ซึ่ง Abdulmawjood รายงานใน ค.ศ. 2003 ว่าเทคนิคนี้ใช้ตรวจพิสูจน์เนื้อสุนัขและเนื้อแมวพร้อมทั้งการปลอมปนเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ ในอาหารสัตว์ได้⁵¹

2.1.8 การตรวจวิเคราะห์ Acid phosphatase test

การวิเคราะห์หา Acid phosphatase เป็นการตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์วิธีหนึ่ง เนื่องจาก Acid phosphatase เป็นเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โดยพบในสัตว์แต่ละชนิดมีปริมาณแตกต่างกัน จึงสามารถใช้ตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์ได้ เช่น การตรวจพิสูจน์การปลอมปนเนื้อแพะในเนื้อโค แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าเอนไซม์ Acid phosphatase จะมีน้อยลงอย่างช้า ๆ ตามอายุสัตว์ และพบว่าปริมาณ Acid phosphatase มีค่าเปลี่ยนแปลงไปในระหว่างเก็บรักษา⁴¹

2.1.9 การตรวจวิเคราะห์ Pentoses และ pentosan

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต เช่น Pentoses และ pentosan ในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เป็นการตรวจพิสูจน์ว่ามีการผสมรัญพืช ผัก ในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์วิธีหนึ่ง เนื่องจาก pentoses และ pentosan ในเนื้อสัตว์มีน้อยมาก (น้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์) เช่น การใช้พิสูจน์การปลอมปนถั่วเหลืองในเนื้อสัตว์หรืออาหารสัตว์⁴¹

2.1.10 การตรวจวิเคราะห์ Fat analysis

การตรวจวิเคราะห์ Fat analysis เป็นการตรวจพิสูจน์ชนิดเนื้อสัตว์วิธีหนึ่ง เนื่องจากเนื้อสัตว์แต่ละชนิดมีปริมาณและองค์ประกอบ phospholipid ต่างกัน จึงสามารถใช้พิสูจน์ชนิด

เนื้อสัตว์ได้ เช่น ใช้ตรวจพิสูจน์เนื้อม้า และเนื้อจิงโจ้ในประเทศออสเตรเลีย หรือใช้พิสูจน์ชนิดเนื้อโค แพะ สุกร และการปลอมปนไขมันสุกรในไขมันโค เป็นต้น⁴²

2.1.11 Immunohistochemical

เทคนิค Immunohistochemical เป็นวิธีการทดสอบที่ใช้ตรวจหาแอนติเจนที่อยู่ในเนื้อเยื่อ โดยที่เนื้อเยื่อสัตว์ที่ต้องการทดสอบต้องตัดเป็นชิ้นเนื้อบาง ๆ จึงนำไปติดบนแผ่นสไลด์แก้ว แล้วเติมแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยสารสี ดังนั้นถ้าแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยสารสีมีความจำเพาะกับแอนติเจน จะสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่เทคนิคนี้ต้องอาศัยความชำนาญในการตัดชิ้นเนื้อ และใช้เครื่องมือที่มีราคาค่อนข้างสูง

Pickering และ Bazeley รายงานใน ค.ศ. 1992 ว่าเทคนิคนี้ใช้พิสูจน์เพื่อยืนยันว่ามีโปรตีนจากถั่วเหลืองปลอมปนในเนื้อสัตว์ได้⁵²

ปัจจุบันการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่มาวิเคราะห์ตัวอย่างอาหาร (ตามภาคผนวก ค) เพื่อตอบสนองข้อกำหนดและงานวิจัย ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์วิธีต่าง ๆ การใช้ immunodiagnostic ยังสามารถตรวจพิสูจน์ได้เร็ว คู่คุณค่าทางเศรษฐกิจ มีความจำเพาะและความไวซึ่งสัมพันธ์กับตัวอย่าง โดยมีการพัฒนา immunoreagent กับเทคโนโลยีใหม่ ๆ อย่างต่อเนื่องเพื่อสามารถทำงานประจำวันได้และรวดเร็ว สามารถทดสอบกับตัวอย่างหลายตัวอย่างไม่เฉพาะการปลอมปนเนื้อสัตว์ หรือปลอมปนอวัยวะในต่างๆของสัตว์ เช่น การปลอมปนน้ำมันในเนื้อโค แต่รวมถึงการปลอมปนโปรตีนจากพืชในเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ หรืออาหารสัตว์⁵³ ซึ่งแม้การปลอมปนบางครั้งไม่ได้ลดคุณค่าทางโภชนาการหรือมีผลต่อเนื้อสัมผัส แต่ก็เป็นการหลอกลวงผู้บริโภค และส่งผลกับผู้แพ้อาหารบางอย่าง ดังนั้นการพิสูจน์ชนิดอาหารจึงเป็นสิ่งที่ต้องศึกษาและร่วมมือกันทั้งภาครัฐบาลและเอกชนเพื่อค้นคว้าเทคโนโลยีใหม่ ๆ และเทคนิคที่เหมาะสม เพื่อพัฒนาเทคนิคสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการต่อไป⁵⁴