บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิด ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหาร

ในปัจจุบันมีสินค้าหรือผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดที่มีการติดฉลากไม่ถูกต้องและไม่ตรงตามส่วนประกอบจริงที่ระบุไว้ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากเนื้อปลา เช่น อาหาร Palombo ของประเทศอิตาลี ซึ่งทำจากเนื้อปลาฉลามชนิด *Mustelus mustelus* หรือ *M. asterias* พบว่ามีการปลอมแปลงชนิดของเนื้อปลาฉลามชนิดอื่นซึ่งมีราคาถูกกว่า ซึ่งถือเป็นการหลอกลวงผู้บริโภค (Barbuto et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบมีรายงานการแทนที่เนื้อปลาในผลิตภัณฑ์อาหารซูชิปลาทูน่าชนิด *Thunnus alalunga* ซึ่งพบการนำเนื้อปลาหมอเทศชนิด *Oreochromis mossambicus* ที่มีราคาถูกกว่ามากมาใช้ทดแทน (ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์, 2556) ปัญหาที่น่าเป็นห่วงอีกประการคือปลาบางชนิดที่นำมาทดแทนอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค เช่น เนื้อปลาปักเป้า มีผลทำให้ผู้บริโภคได้รับพิษ Tetrodotoxin ซึ่งทำให้มีอาการชารอบริมฝีปาก กล้ามเนื้ออ่อนแรง และอาจทำให้เสียชีวิตได้ (ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์, 2556)

ผลิตภัณฑ์อาหารซูชิหรือข้าวปั้น ที่มีอาหารทะเลสดชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะเนื้อปลาเป็นส่วนประกอบ (อภิชัย อารยะเจริญ, 2549) เป็นอาหารประเภทหนึ่งที่พบว่ามีรายงานถึงปัญหาการแทนที่เนื้อสัตว์ในผลิตภัณฑ์ (Faisal, Azizah & Darlina, 2012) อย่างไรก็ตาม เนื้อสัตว์ในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ไม่สามารถตรวจสอบหรือระบุชนิดได้จากลักษณะทางสัณฐานภายนอก เนื่องจากผ่านการแปรสภาพไปจนมีความคล้ายคลึงกันมาก ดังนั้นข้อมูลทางพันธุกรรมจึงถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือสำคัญในการตรวจสอบชนิดของเนื้อสัตว์ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาในหลาย ๆ ประเทศทั่วโลก เช่น อเมริกา อิตาลี แอฟริกาใต้ ไต้หวัน และมาเลเซีย เป็นต้น ได้นำข้อมูลทางพันธุกรรมมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบชนิดของเนื้อสัตว์ในผลิตภัณฑ์อาหาร (Cawthorn, Steinman & Witthuhn, 2012) โดยพบว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคในประเทศได้เป็นอย่างดี

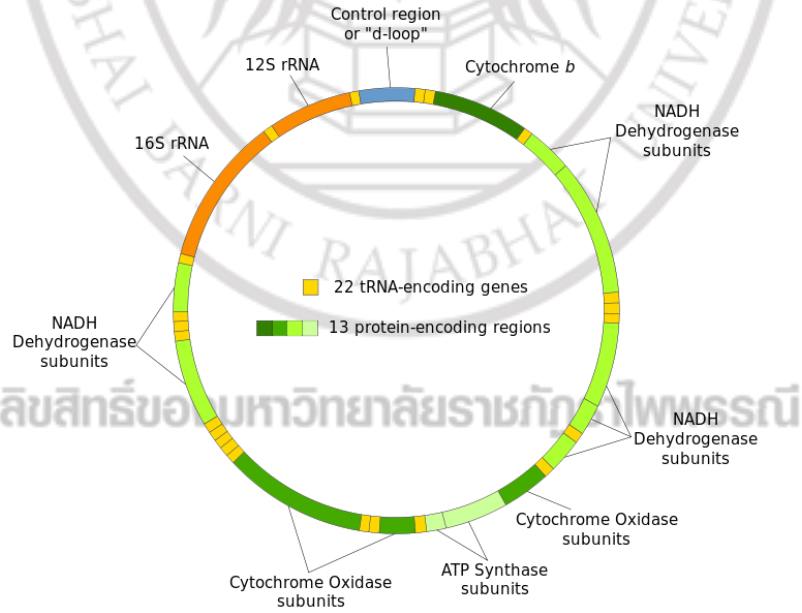
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

สารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ (DNA) เป็นสารชีวโมเลกุล ใช้เป็นรหัสสำหรับการสร้างโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิต สารพันธุกรรมทั้งหมดที่อยู่ภายในเซลล์ (Genome) เป็นข้อมูลทางพันธุกรรม ที่ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้นดำรงชีพอยู่ได้อย่างเป็นระบบ พบภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ได้แก่ พืช สัตว์ มนุษย์ และจุลินทรีย์ ในเซลล์สัตว์พบดีเอ็นเอได้ 2 แหล่ง คือ ดีเอ็นเอในนิวเคลียสหรือนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (Nuclear DNA) และดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียหรือไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Mitochondrial DNA) ซึ่งไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอนั้น มีกระบวนการจำลองตัวเองและถ่ายทอด

ข้อมูลทางพันธุกรรมเป็นอิสระจากกระบวนการของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ แต่ผลผลิตที่ได้ระหว่างดีเอ็นเอทั้งสองแหล่งทำหน้าที่ร่วมกันคือ ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้น ๆ สามารถดำรงชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพและปกติ (ศิวพร อินต๊ะหล่อ, 2555) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอพบว่ามีศักยภาพสูงในการนำมาใช้จัดจำแนกชนิดของสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีนไซโตโครม ออกซิเดส วัน ที่นำมาใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่เรียกว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ (Mitochondrial DNA ; mtDNA)

ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอเป็นดีเอ็นเอที่อยู่ในไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งผลิตพลังงานสำหรับนำมาใช้ภายในเซลล์จากกระบวนการหายใจในระดับเซลล์ (Cellular Respiration) ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นวงกลมปลายปิดสายคู่ (Circular Double-Stranded) (ภาพที่ 2.1) มีจำนวนนิวคลีโอไทด์ประมาณ 16,000 คู่เบส หรือ ประมาณร้อยละ 0.001 ของดีเอ็นเอทั้งหมดในเซลล์หนึ่งเซลล์ที่มีคู่เบสทั้งหมดประมาณ 3 ล้านคู่เบส โดยไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ 1 วง มีทั้งบริเวณที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัสยีนที่ทำหน้าที่ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์และส่วนที่ไม่มีการถอดรหัส ที่เรียกว่า D-loop หรือ คอนโทรล รีเจียล (Control region) ในส่วนของยีนที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัสนั้น สามารถถอดรหัสได้ทั้งหมด 37 ยีน ในจำนวนนี้มี 13 ยีน ที่สามารถแปลรหัสไปเป็นโปรตีน เช่น ยีนไซโตโครม บี (Cytochrome b) ไซโตโครมออกซิเดส (Cytochrome oxidase) และเอทีพี ซินเทส (ATP synthase) เป็นต้น (สุทัศน์ ดวงจิตร, 2554)



ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏไพศรณี

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ

ที่มา: สุทัศน์ ดวงจิตร, 2554

ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (Nuclear DNA) หลายประการ ซึ่งในไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ มีความแปรผันสูงกว่านิวเคลียร์ดีเอ็นเอจึงพบความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ในไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอสูงระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน ในขณะเดียวกันความผันแปรเหล่านั้นเกิดขึ้นน้อยมากระหว่างสมาชิกของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน เนื่องจากกลไกธรรมชาติในการควบคุมความผันแปรในลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนนี้ เพื่อรักษาสภาพและองค์ประกอบของโปรตีนให้คงที่และไม่ให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งชีวิต คุณสมบัติดังกล่าวนับว่ามีความสำคัญในการนำมาใช้จำแนกสิ่งมีชีวิตต่างชนิดออกจากกันได้อย่างน่าเชื่อถือ นอกจากนี้ ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอมีจำนวนชุดต่อเซลล์ปริมาณมาก ในขณะที่นิวเคลียร์ดีเอ็นเอมีเพียง 2 ชุด (Diploid Cell) ทั้งนี้จำนวนชุดของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ ในแต่ละเซลล์ยังมีความแตกต่างกันด้วย ขึ้นอยู่กับประเภทของเซลล์นั้น ๆ ในเซลล์ที่ต้องการพลังงานมากจะมีไมโตคอนเดรียมาก ส่งผลให้จำนวนไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอมากขึ้นเป็นสัดส่วน เช่น เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย จำนวนไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอมีมากกว่า 100,000 ชุด เซลล์ร่างกายมีประมาณ 200-1,700 ชุด เป็นต้น แต่โดยเฉลี่ยแล้วในเซลล์หนึ่ง ๆ จะมีจำนวนไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอประมาณ 400-500 ชุด ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายนอกมากกว่านิวเคลียร์ดีเอ็นเอ จึงถูกรักษาสภาพได้ดีกว่าและมีอัตราการเสื่อมสภาพน้อยกว่า ทั้งนี้ เนื่องจากโครงสร้างของไมโตคอนเดรียที่เป็นเยื่อหุ้มสองชั้นช่วยในการป้องกันการเสื่อมสภาพของไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ (ฐิติกา กิจพิพิธ และภูวดล ธนะเกียรติไกร, 2556)

ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นวิธีการทางชีววิทยาระดับโมเลกุลที่ถูกพัฒนาขึ้น เพื่อใช้ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต เกิดจากแนวคิดที่ต้องการสร้างรหัสประจำตัวของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งเปรียบได้กับบาร์โค้ดที่ปรากฏบนสินค้าบรรจุหีบห่อที่ทำให้ผู้ขายสามารถแยกประเภทและระบุราคาของสินค้าได้อย่างรวดเร็วผ่านเครื่องอ่านรหัสสินค้า โดยดีเอ็นเอบาร์โค้ด อาศัยหลักการวิเคราะห์การเรียงตัวของลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอที่สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะต้องมีความแตกต่างกันไปบ้างไม่มากก็น้อย ดังนั้น หากนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันมาเปรียบเทียบกันจะพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกันหรือแตกต่างกันน้อยมากจนไม่มีนัยสำคัญ ส่วนสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันจะมีการเรียงตัวของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ผันแปรแตกต่างกันไป ความแตกต่างของการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอจึงเปรียบเสมือนความแตกต่างของรหัสบนแถบบาร์โค้ดของสินค้านั่นเอง (วุฒิพงศ์ มหาคำ, 2554)

ลำดับนิวคลีโอไทด์จากดีเอ็นเอที่จะนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ด ต้องมีการประเมินแล้วว่ามีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งเรียกดีเอ็นเอบริเวณนี้ว่าดีเอ็นเอมาตรฐาน (Standardized DNA) วิธีการศึกษาทำได้โดยนำดีเอ็นเอมาตรฐานที่เพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิค

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอในบริเวณเดียวกันในฐานข้อมูลพันธุกรรม ซึ่งเป็นข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตที่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์แล้ว วิธีการนี้จะทำให้ระบุตัวอย่างสิ่งมีชีวิตได้อย่างรวดเร็ว สำหรับดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสัตว์ได้ถูกพัฒนาขึ้นโดย Hebert และคณะ (2003) ซึ่งพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนทางด้านปลาย 5’ ของยีนไซโตโครมออกซิเดส วัน (Cytochrome oxidase I; COI) บนไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ มีความแปรผันมากเพียงพอที่จะใช้ในการระบุชนิดของสัตว์ที่นำมาทดสอบได้หลายกลุ่ม โดยเฉพาะกลุ่มผีเสื้อ (Order Lepidoptera) ปัจจุบันยีน COI ยังคงเป็นยีนที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดสำหรับการสร้างดีเอ็นเอบาร์โค้ดของสัตว์ เพราะนอกจากจะมีความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์เพียงพอที่จะใช้ในการระบุชนิดของสัตว์ได้แล้ว การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนนี้ด้วยเทคนิค PCR ยังทำได้ค่อยข้างง่าย เนื่องจากยีนนี้มีขนาดไม่ใหญ่มากนัก บริเวณที่มีความแปรผันมีความยาวโดยเฉลี่ย 600-700 คู่เบส และมีไพรเมอร์ที่เป็น Universal primers ซึ่งได้รับการออกแบบมาให้มีความจำเพาะสูง และสามารถใช้ได้กับสัตว์หลากหลายกลุ่ม โดยทั่วไปแล้วการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดด้วยยีนยีนไซโตโครม ออกซิเดส วัน ในสัตว์ให้ความถูกต้องในการระบุชนิดสูงกว่า 95% แม้วิธีนี้จะให้ผลไม่ดีนักในสัตว์บางกลุ่ม เช่น แมลงในอันดับ Diptera และปะการัง แต่ก็นับว่าการสร้างดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสัตว์ประสบความสำเร็จค่อนข้างมาก ปัจจุบันมีการนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธาน รวมถึงมีการนำมาใช้ตรวจสอบชนิดของเนื้อสัตว์จากผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย (พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ และอรุณรัตน์ ฉวีราช, 2554; วุฒิพงศ์ มหาคำ, 2554; ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์, 2556)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR)

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือเทคนิค PCR เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอในหลอดทดลองให้มีปริมาณมากเป็นล้าน ๆ เท่าในระยะเวลาอันรวดเร็ว โดยอาศัยหลักการจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอ (DNA Replication) ซึ่งเป็นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่จากดีเอ็นเอต้นแบบในหลอดทดลอง

สารเคมีที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา PCR

สารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR (มีณญา บุญเจริญ, 2555) มีดังต่อไปนี้

1. Deoxynucleotides (dNTPs) เป็นนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นหน่วยย่อยสำหรับนำไปสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่

2. DNA polymerase เป็นเอนไซม์สำหรับสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยช่วยเร่งปฏิกิริยาการเชื่อมต่อนิวคลีโอไทด์ใหม่เข้ากับไพรเมอร์

3. Primer เป็นดีเอ็นเอเริ่มต้นสายสั้น ๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบของการสังเคราะห์ ในการทำ PCR จึงต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอที่ต้องการจะเพิ่มจำนวนเพื่อใช้ในการสร้างไพรเมอร์จำเพาะ

4. PCR buffer เป็นสารละลายที่ควบคุมสภาวะของการทำปฏิกิริยาให้เหมาะสม เช่น pH และเกลือต่าง ๆ ซึ่งจะต้องมีอนุมูลแมกนีเซียม (Mg^{2+}) อยู่ด้วย

5. Template คือ ดีเอ็นเอต้นแบบที่ต้องการเพิ่มปริมาณ

หลักการพื้นฐานของ PCR คล้ายกับการจำลองโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในเซลล์ โดยใช้ดีเอ็นเอทั้งสองสายของโมเลกุลที่เป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ ซึ่งเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ DNA polymerase ซึ่งปฏิกิริยา PCR ใน 1 รอบจะประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. Denaturation เป็นขั้นตอนการทำให้ดีเอ็นเอสายคู่แยกเป็นสายเดี่ยว โดยอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิสูงประมาณ 94-95 องศาเซลเซียส

2. Annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงมาที่ประมาณ 45-60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ Primer สามารถเข้าเกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบสายเดี่ยวตรงบริเวณลำดับเบสคู่สม

3. Extension เป็นขั้นตอนการขยายสายดีเอ็นเอ โดยการต่อนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3’ ของ Primer แล้วมีการขยายสายดีเอ็นเอสายใหม่จากทิศทาง 5’ ไป 3’ โดยอาศัยเอนไซม์ DNA polymerase ซึ่งปกติใช้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 70-75 องศาเซลเซียส

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบัน ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นข้อมูลที่ได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำสูงในการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจสอบสินค้าหรือผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำมาจากเนื้อสัตว์ เนื่องจากมีรายงานพบว่าผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภทมีการติดฉลากที่ไม่เป็นจริงและไม่ตรงตามส่วนประกอบจริงที่ได้ระบุไว้ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากเนื้อปลา ดังนั้นเพื่อเป็นการคุ้มครองสิทธิ และความปลอดภัยของผู้บริโภค ในหลาย ๆ ประเทศ จึงมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ข้อมูลรหัสทางพันธุกรรมในรูปแบบดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์หลายชนิด ดังตัวอย่างรายงานวิจัยดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร (2552) รายงานว่า ในปี ค.ศ. 2008 มีนักเรียนหญิง 2 คน ของ Trinity school คือ Kate Stoeckle และ Louisa Strauss ได้นำเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากปลา จากการสำรวจเนื้อปลาที่ซื้อมาจำนวน 56 ตัวอย่าง จากภัตตาคารและตลาดปลา จำนวน 14 แห่ง ในเมืองแมนฮัตตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยจำแนกชนิดของเนื้อปลาตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบข้อมูลทางพันธุกรรมของตัวอย่างกับรหัสดีเอ็นเอจากฐานข้อมูล Barcode of Life Database (BOLD) ผลการตรวจสอบพบว่า

มี 13 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 23 มีการติดฉลากไม่ตรงกับที่ระบุบนผลิตภัณฑ์ เช่น เนื้อปลาดิบสำหรับทำข้าวปั้นซูชิ (Sushi) ที่ติดฉลากว่าเป็นปลาทูน่า (White tuna) เมื่อตรวจสอบพบว่า แท้จริงแล้วเป็นปลานิล (*Mozambique tilapia*) ซึ่งกรณีนี้เป็นการติดฉลากชนิดปลาที่มาวางจำหน่ายจากปลาที่มีราคาถูกให้มีราคาที่แพงขึ้น โดยสาเหตุนี้จึงนำไปสู่การเรียกร้องให้มีการคุ้มครองสิทธิและผลประโยชน์ของผู้บริโภค รวมไปถึงด้านความปลอดภัย เช่น อาจมีการนำเนื้อปลาปักเป้ามาวางจำหน่ายโดยติดฉลากให้เป็นปลาชนิดอื่น ซึ่งอาจส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับสารพิษจากปลาปักเป้าและอาจมีอันตรายถึงชีวิตได้

Lowenstein, Amato และ Kolokotronis (2009) ศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือรหัสพันธุกรรมในส่วนของยีน COI เพื่อระบุชนิดของปลาทูน่าที่ได้จากผลิตภัณฑ์ซูชิจำนวน 68 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างจากร้านอาหาร 31 แห่ง ในเมืองแมนฮัตตัน รัฐนิวยอร์กและเมืองเดนเวอร์ รัฐโคโรลาโด แล้วนำรหัสพันธุกรรมของแต่ละตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank และ BOLD เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ด้วยวิธี Neighbor-Joining (NJ) ผลการตรวจสอบพบว่ามีร้านอาหาร 19 แห่ง มีการปลอมแปลงชนิดของปลาทูน่า โดยพบว่ามีการใช้ปลาชนิด Escolar (*Lepidocybium flavorunneum*) และปลาชนิด Gempylid ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคถูกนำมาทดแทนปลาทูน่าชนิด White tuna หรือ Albacore (*Thunnus alalunga*) และพบอีกว่ามีการลักลอบนำปลาทูน่าที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ คือ *Thunnus thynnus* และ *T. maccoyii* มาใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ซูชิ

Laura และคณะ (2010) ศึกษาการนำดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือรหัสพันธุกรรมในส่วนของยีน COI ความยาวประมาณ 900 คู่เบส มาตรวจสอบผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาที่มีการจำหน่ายในประเทศอิตาลีในช่วงปี 2008 จำนวน 69 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่าเป็นปลากระดูกแข็ง 27 ชนิด โดยพบว่ามีการติดฉลากผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นจริง 22 ตัวอย่าง หรือคิดเป็น 32%

Faisal, Azizah และ Darlina (2012) ศึกษาการนำเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาใช้ในการระบุชนิดปลาจากผลิตภัณฑ์ประเภทซูชิ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ซูชิประเภทปลาดิบส่วนใหญ่ มีการติดฉลากเฉพาะชื่อสามัญของปลา เช่น ทูน่า แซลมอน และบัตเตอร์ฟิช แต่ไม่มีการติดฉลากชื่อวิทยาศาสตร์ซึ่งเป็นการระบุชนิดของปลา โดยเก็บตัวอย่าง 7 ตัวอย่าง จากร้านอาหารซูชิ 2 แห่ง ในประเทศมาเลเซีย เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีน COI กับฐานข้อมูล GenBank และ BOLD ผลจากการศึกษาพบว่าไม่มีการแทนที่และการติดฉลากที่ไม่เป็นจริงของผลิตัณฑ์ซูชิทุกประเภท โดยตัวอย่างปลาแซลมอนระบุได้เป็น *Salmo salar* ปลาทูน่าระบุชนิดได้เป็น *T. albacares* และปลาบัตเตอร์ฟิชระบุได้ว่าเป็นชนิด *Lepidocybium flavobrunneum* ดังนั้นการนำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบชนิดปลาในอาหารที่ผ่านการแปรรูปจนเป็นผลิตภัณฑ์นั้นเป็นการคุ้มครองสิทธิและความปลอดภัยของผู้บริโภคได้เป็นอย่างดี

Cline (2012) ศึกษาการนำดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในส่วนของยีน COI มาใช้ระบุชนิดปลาแซลมอนแอตแลนติกราคาถูกที่ใช้ทดแทนปลาแซลมอนแปซิฟิกที่มีราคาแพง โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 99 ตัวอย่าง จากร้านค้าและร้านอาหารในรัฐวอชิงตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลการตรวจสอบพบว่าปลาแซลมอนแอตแลนติกถูกมาใช้ทดแทนปลาแซมอนแปซิฟิก 11% และมีการระบุชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ถูกต้อง 38% ที่ได้มาจากร้านอาหาร และอีก 7% ที่ได้จากร้านค้า

Cawthorn, Steinman และ Witthuhn (2012) ศึกษาการนำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาใช้ในแอฟริกาใต้ โดยใช้ข้อมูลพันธุกรรรมในส่วนของยีน COI ความยาวประมาณ 650 คู่เบส ในการเปรียบเทียบกับข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ในฐานข้อมูล Barcode of Life Database (BOLD) และฐานข้อมูล GenBank พบว่าสามารถระบุชนิดปลาได้ 235 ตัวอย่าง ในจำนวนนี้พบว่ามีผลิตภัณฑ์ที่มีการติดฉลากไม่ตรงตามจริงจำนวน 53 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่าง จากร้านอาหารทะเล 10 ตัวอย่าง และเป็นตัวอย่างจากร้านค้าทั่วไป 43 ตัวอย่าง

Liu และคณะ (2013) ศึกษาการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือรหัสพันธุกรรมในส่วนของยีน COI ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ในการระบุชนิดของปลาฉลามจากผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดของประเทศไต้หวัน จากจำนวนตัวอย่างเนื้อปลาฉลามทั้งหมด 548 ตัวอย่าง เมื่อนำมาวิเคราะห์รหัสพันธุกรรม และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) สามารถแบ่งกลุ่มปลาฉลาม ออกเป็น 20 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มเป็นปลาฉลามต่างชนิดกัน รวม 20 ชนิด โดยพบว่าจำนวน 80% ของตัวอย่างทั้งหมด ได้แก่ ปลาฉลาม 4 ชนิด ได้แก่ *Alopias pelagicus*, *Carcharhinus falciformis*, *lsurus oxyrinchus* และ *Prionace glauca* และพบว่า 5% เป็นปลาฉลามที่อยู่ในอนุสัญญาไซเตสบัญชีหมายเลข 2 ประกอบไปด้วยปลาฉลาม จำนวน 2 ชนิด ที่อยู่ในสกุล *Sphyrna* และอีก 2 ชนิด คือ *Carchrodon longimanus* และ *Carchrodon carcharias*

Jabado และคณะ (2015) ศึกษาการใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด และข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา มาใช้ในการตรวจหาสินค้าที่เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปปลาฉลามในประเทศสหรัฐอาหรับเอมิเรตส์ ที่ได้จากการประมงทางเหนือของมหาสมุทรอินเดีย จากตัวอย่างจำนวน 655 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งหมดที่นำมาตรวจสอบมีทั้งหมด 37 สกุล โดยอยู่ในวงศ์ Sphyrnidae 9.3% วงศ์ Lamnidae 9% วงศ์ Alopiidae 5.9% และอีก 45.3% เป็นปลาฉลามที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ดังนั้นการนำเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยามาใช้ตรวจสอบสินค้าที่เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปเพื่อระบุชนิดผลิตภัณฑ์ พบว่าสามารถระบุชนิดของผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นการวางแผนอนุรักษ์ปลาฉลามได้ในอนาคต