

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

.....

1. ชุดโครงการวิจัย : การลดการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลังเก็บเกี่ยว
2. โครงการวิจัย : การจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี
กิจกรรม : การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราด้วยสารสกัดจากพืช
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การใช้สารสกัดกระเทียมควบคุมเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้ง และพริกป่น
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Utilization of Galic extract controlling fungi and aflatoxin in dried chilli and chilli powder
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : อมรา ชินภูติ
ผู้ร่วมงาน : สุพี วนศิริกุล เนตรา สมบูรณ์แก้ว บุญญวดี จิระวุฒิ
หน่วยงาน : สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
5. บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากพริกสดเช่นพริกแห้ง และพริกป่น พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อรา และสารแอฟลาทอกซินซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในปริมาณที่เกินมาตรฐาน (20 พีพีบี) เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวสำหรับผู้บริโภคได้ทำการทดลองป้องกันและลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งและพริกป่นโดยใช้น้ำคั้นกระเทียม สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างปี 2554-2555 โดยศึกษาสารสำคัญในกระเทียมที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยใช้วิธี TLC ร่วมกับวิธี Inhibition plate method พบว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือสาร allicin ซึ่งมีค่า Rf= 0.812 ตรงกับสาร allicin มาตรฐาน นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสารสำคัญในน้ำคั้นกระเทียมสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ เชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้ภายใน 24 ชั่วโมง ในการทดลองแปรรูปพริกสดเป็นพริกแห้งโดยทำการคัดเลือกพริกสดที่มีคุณภาพมาแช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75, 50 และ 25%เป็นระยะ 10, 20 และ 30 นาที พบว่าสารแอฟลาทอกซินในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแสดงว่าการคัดเลือกพริกที่มีคุณภาพมาแปรรูปสามารถป้องกันเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินได้ แต่เมื่อแช่พริกในน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 20 นาที อบแห้ง แล้วเก็บนาน 4

เดือน สามารถลดปริมาณการเกิดสารแอฟลาทอกซินได้ทุกกรรมวิธีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การทดลองนำพริกแห้งที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินก่อนการทดลอง มาแช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75,50 และ 25% แล้วเก็บไว้เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งลดลง 56.6, 39.13 และ 17.39% ตามลำดับในพริกแห้งผลใหญ่ และลดลง 73.75%ในพริกแห้งผลเล็กที่แช่ใน 50% น้ำคั้นกระเทียม พริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซิน 78.3 พีพีบี นำมาคลุกน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100, 75, 50 และ 25% ในอัตราส่วน 1:0.5 (w/v) ผลการทดลองพบว่าปริมาณสารแอฟลาทอกซินในพริกป่นลดลงจากชุดควบคุม 73.67, 67.67, 38.12 และ 17.02% ตามลำดับ น้ำคั้นกระเทียมที่ใช้แล้วความเข้มข้น 75% เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วัน ยังคงมีประสิทธิภาพในการทำลายสารแอฟลาทอกซินได้ถึง 87.41 %

6. คำนำ

แอฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. tamarii* และ *A. nomius* พบมากในเมล็ดธัญพืชและพืชน้ำมันชนิดต่างๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาเลย์ ถั่วลิสง พริก มะพร้าว เครื่องเทศ สมุนไพร กุ้งแห้ง น้ำมันพืช นม เนย ไข่ ขนมหที่ทำจากถั่วลิสงชนิดต่างๆ เบียร์และกาแฟ เป็นต้น ในประเทศไทยมีการตรวจพบสารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรดังกล่าวเช่นกัน และในผลิตภัณฑ์แปรรูปแทบทุกชนิดที่ไว้วัตถุดิบจากผลิตผลเกษตรที่มีเชื้อราชนิดนี้ปนเปื้อนอยู่ก่อน (อมรา และคณะ 2547) สารแอฟลาทอกซินที่พบตามธรรมชาติมีอยู่ 4 ชนิดคือ แอฟลาทอกซิน B₁, B₂, G₁, G₂ โดย แอฟลาทอกซิน B₁ จะมีความเป็นพิษสูงสุด รองลงมาได้แก่ แอฟลาทอกซิน B₂, G₁ และ G₂ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีแอฟลาทอกซิน M₁ และ M₂ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ B₁ และ B₂ ปนเปื้อนอยู่น้ำมันด้วย (Van Egmond, 1994) สารแอฟลาทอกซินมีความสำคัญมากเพราะเกี่ยวข้องกับสุขภาพของมนุษย์และสัตว์โดยตรงและยังปัญหาทางการค้าอีกด้วย เนื่องจากสารแอฟลาทอกซินเป็นสารที่มีความเป็นพิษรุนแรง เพราะเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) สารก่อลูกვიรูป (Tetratogen) และเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (Mutagen) ในปัจจุบัน IARC (International Association Research Cancer) ได้จัดสารแอฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็ง Class I (IARC, 1993) แอฟลาทอกซินสามารถจับกับ DNA หรือ RNA และ Albumin ได้ง่าย โดยจะไปจับกับ DNA ที่ตำแหน่ง ของ Guanine ทำให้เกิดเซลล์ผิดปกติโตขึ้น กลายเป็นเนื้องอกและเป็นมะเร็งในที่สุด ซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตับ (Busby and Wogan, 1986)

ผลิตผลเกษตรที่เป็นอาหารและพบว่ามีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินมากที่สุดได้แก่ ถั่วลิสง และพริกป่น (อมรา และคณะ 2547) ปริมาณการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในอาหารที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 อนุญาตให้มีได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (20 พีพีบี) (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2539) ขณะที่ประเทศอื่น ๆ จะมีการกำหนดปริมาณไม่เท่ากัน เช่นประเทศเยอรมันระบุให้มีการปนเปื้อนได้ไม่เกิน 5 พีพีบี ประเทศจีน อินเดีย มาเลเซีย อิตาลี ยอมให้มีได้ มากกว่า 20 พีพีบี (30-50 พีพีบี)

สารแอฟลาทอกซินมักพบปนเปื้อนในอาหารและอาหารสัตว์ ดังนั้นวิธีการป้องกันกำจัดสารพิษนี้จะต้องเป็นวิธีการที่ปลอดภัยกับผู้บริโภคด้วย หลักการประเมินการเลือกใช้วิธีการลดปริมาณสารพิษควรต้องพิจารณาด้วย

ว่าวิธีการนั้นสามารถทำลาย ลดความเป็นพิษ หรือทำให้สารพิษหมดไปหรือไม่ วิธีการนั้นต้องไม่ทิ้งสิ่งที่เป็นพิษ อย่างอื่นไว้ทั้งในอาหาร และอาหารสัตว์ วิธีการนั้นต้องยังคงทำให้คุณค่าทางโภชนาการของอาหารเหมือนเดิมหรือ ยอมรับได้ และวิธีการนั้นต้องทำลายสปอร์ของเชื้อราได้ (Park,1993) เพื่อลดการใช้สารเคมี การใช้สารสกัดจาก พืชในการป้องกันกำจัดเชื้อราและสารแอฟลาทอกซินเป็นทางเลือกหนึ่ง Chinaphuti et al., (2007) ได้รายงาน ถึงประสิทธิภาพของสมุนไพร พบว่าสารสกัดจากกระเทียมและกานพลู สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้ 100% แต่สารสกัดกานพลูไม่สามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินขณะที่สารสกัด กระเทียม กระเพรา โหระพา และข่าสามารถยับยั้งการสร้างสารแอฟลาทอกซินได้ 80-90% นอกจากนี้สารสกัด กระเทียมสามารถทำลายสารแอฟลาทอกซินได้โดยตรงถึง 95.1%

กระเทียม (*Allium sativum*) จัดอยู่ในตระกูล Alliaceae เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ประชาชนนิยม บริโภคกันเป็นเวลายาวนาน ส่วนของกระเทียมที่นำมาใช้บริโภคคือส่วนหัว (Bulb) โดยใช้เป็นทั้งอาหารและยา รักษาโรค มีรายงานว่า กระเทียมสามารถป้องกันโรคหัวใจ ลดไขมันในเส้นเลือด รักษาโรคกลากเกลื้อน และ โรคมะเร็งได้ (University of Maryland Medical Center, 2011) นอกจากนี้ยังมีการทดลองทางคลินิก พบว่า คนไข้ที่ได้รับน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม 0.25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 10 เดือน สามารถ ลดปริมาณ Cholesterol ลงอย่างชัดเจน และสารที่มีฤทธิ์ในการลด Cholesterol คือสาร allicin (เพ็ญญา และ พรทิพย์ , 2545) ในหัวกระเทียมสดมีน้ำมันหอมระเหยอยู่ประมาณ 0.1-0.4 % และมีสาระสำคัญกลุ่มซัลเฟอร์อยู่ หลายชนิดเช่น alliin, allicin, diallyl disulfides, methyl n-propyl (เพ็ญญา และพรทิพย์ , 2545) ซึ่ง allicin จะสร้างขึ้นเมื่อกระเทียมสดได้รับการบดทุบ หรือเคี้ยวในขณะเดียวกันก็จะเกิดสารตัวอื่น ๆ ด้วย ได้แก่ ajoene, และ vinyl dithiols ได้มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับสาร Allicin ในกระเทียมที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ ของเชื้อรา หลายชนิด รวมทั้ง *Aspergillus flavus* (Bilgrami et al., 1992 ,Sandoskumar et al.,2006) และ *A. niger* (Irhin and Korukluoglu 2007) ซึ่งเป็นราที่สร้างสารพิษ โดยเฉพาะสารแอฟลาทอกซินซึ่งเป็น สารก่อมะเร็ง ในการทดลองนี้จึงได้นำคั้นกระเทียมซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่ประชาชนนิยมบริโภคมาทดสอบ ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราและลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในพริกสด พริกแห้ง และพริกป่น

7. วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุเกษตร ได้แก่ พริกสด พริกแห้ง พริกป่น กระเทียม
2. เครื่องคั้นน้ำผลไม้
3. เครื่องกวนผสมอาหาร
4. เครื่องแก้ว ได้แก่ กระบอกตวง ฟาส์ก บีกเกอร์ ขวดแก้วดูแรน
6. อาหารเลี้ยงเชื้อรา,จานเลี้ยงเชื้อรา
8. แผ่น TLC aluminum sheets ขนาด 20X20 ซม. (Silica gel 60 F254)
9. ถาดอลูมิเนียมสำหรับอบ

10. ตู้อบความร้อน
11. ถุงพลาสติก PE (Polyethylene)
12. เครื่อง MicroELISA Reader
13. เครื่องระเหิดแห้ง (Freeze Dry)
14. ชุดตรวจสอบสารแอฟลาทอกซิน DOA Aflatoxin ELISA Test Kit
15. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1 การศึกษาสารออกฤทธิ์ในกระเทียมที่ควบคุมการเจริญของเชื้อรา

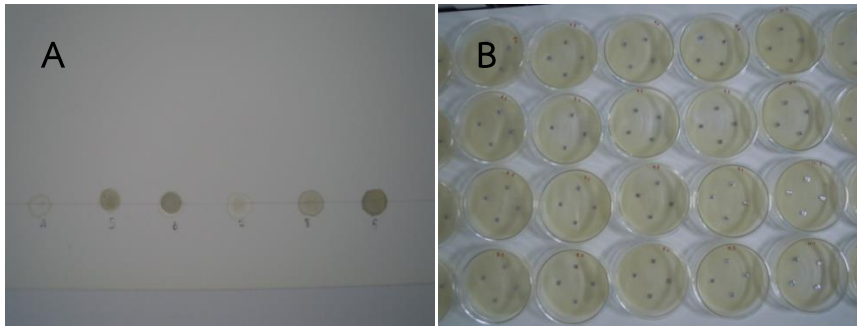
1.1 การเตรียมตัวอย่างกระเทียมสำหรับทดสอบ: การทดลองใช้กระเทียม 3 รูปแบบ และสารมาตรฐานคือ

1. กระเทียมผงที่ได้จากการนำน้ำคั้นกระเทียมไปทำเป็นผงโดยการระเหิดแห้ง ด้วยเครื่อง freeze dry มาละลายน้ำมีความเข้มข้น 10% (W/V)
2. น้ำคั้นกระเทียมสด เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 75 %
3. น้ำมันกระเทียมที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล
4. สาร allicin มาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอลเป็นสารเปรียบเทียบ

1.2 การเตรียมแผ่น TLC: นำแผ่น TLC aluminum sheets ขนาด 20X20 ซม. (Silica gel 60 F254) มากำหนดจุดสำหรับหยดสารทดสอบด้านหน้าและด้านหลัง ของแผ่น TLC ระยะห่างระหว่างจุด 1 ซม. จำนวน 8 จุด ส่วนด้านหลังแผ่น TLC จะทำการขีดเส้นตรงจนสุดแผ่น TLC โดยขีดเส้นห่างจากจุดเดิมข้างละ 0.25 ซม. ทุกจุด และแต่ละเส้นขีดตัดขนาด 0.5 ซม. ตั้งแต่จุดล่างสุดไปถึงปลายแผ่น TLC

1.3 การหยดตัวอย่างกระเทียม: นำตัวอย่างที่เตรียมทั้ง 4 แบบ มาหยดลงบนแผ่น TLC ด้านหน้าตามจุดที่เตรียมไว้ โดยแต่ละตัวอย่างจะหยด 2 จุด คือปริมาณ 5 และ 10 ไมโครลิตร ปล่อยให้สารระเหยจนแห้งจึงนำแผ่น TLC ไปใส่ในโถแก้วที่มีสารตัวพา คือ hexane: isopropanol = 3:1 (v/v) เมื่อสารละลายเคลื่อนที่ไปจนถึงจุดห่างจากด้านปลายแผ่นประมาณ 3 ซม. จึงนำแผ่น TLC ออกมาผึ่งให้แห้ง

1.4 การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดกระเทียม : นำแผ่น TLC มาตัดตามรอยที่ขีดเส้นแต่ละเส้น และใน 1 เส้นก็ตัดเป็นขนาด 0.5X0.5 ซม. ได้ชิ้นส่วน TLC จำนวน 36 ชิ้นต่อจุด นำชิ้นส่วน TLC ไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ ที่มีสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ผสมอยู่ โดยวางด้านที่เป็น silica คว่ำบนอาหารจำนวน 4 ชิ้น/จานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. (ภาพที่ 1) หลังจากนั้นทำการวัดขนาดของ Clear Zone ที่เกิดขึ้นรอบชิ้นส่วน TLC ที่มีสารออกฤทธิ์



ภาพที่ 1 A. แผ่น TLC ที่ทำการหดยาสารทดสอบจุดต่าง ๆ
 B . แผ่น TLC ที่ถูกตัดมีขนาด 0.5X0.5 ซม.และนำมาวางคว่ำบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ผสมอยู่

2 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำคั้นกระเทียมต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*

2.1 ทดสอบการเจริญของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ

เตรียมน้ำคั้นกระเทียมที่ความเข้มข้นระดับ 100% 50% 25% และ 12.5% สำหรับการทดลอง เตรียมอาหาร PDA ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อผสมกับน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 9:1 จานเลี้ยงเชื้อที่ใส่อาหาร PDA อย่างเดียว และใส่ PDA+ น้ำ อัตราส่วน 9: 1 เป็นชุดควบคุม นำกระดาษกรองที่ตัดเป็นวงกลมขนาด 0.5 เซนติเมตร จุ่มสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Aspergillus flavus* แล้วนำมาวางที่ตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง และเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราที่ 48 ชั่วโมงหลังการทดลอง

2.2 ทดสอบ การงอกของสปอร์

นำอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ใส่ในสไลด์หลุม (depress slide) 100 μ l แล้วใส่ spore suspension ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ปริมาณ 20 μ l ลงในสไลด์หลุม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 6 ชั่วโมง

3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ฟริกสด

เม็ดใหญ่เพื่อแปรรูปเป็นพริกแห้ง

วางแผนการทดลองแบบ factorial in RCB จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี โดยมี 2 ปัจจัยคือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียม 3 ระดับคือ 75% 50% และ 25% ปัจจัยที่ 2 คือระยะเวลาในการแช่พริกสด คือ 10, 20 และ 30 นาที.กรรมวิธีการทดลองดังนี้

- 1.ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 75% แช่พริกสดนาน 10 นาที
- 2.ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 75% แช่พริกสดนาน 20 นาที
- 3.ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 75% แช่พริกสดนาน 30 นาที
- 4.ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 50% แช่พริกสดนาน 10 นาที
- 5.ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 50% แช่พริกสดนาน 20 นาที

6. ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 50% แช่พริกสดนาน 30 นาที
7. ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 25% แช่พริกสดนาน 10 นาที
8. ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 25% แช่พริกสดนาน 20 นาที
9. ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม 25% แช่พริกสดนาน 30 นาที
10. ชุดควบคุม (พริกสดไม่คลุกน้ำคั้นกระเทียม)

นำพริกสดผลใหญ่มาล้างน้ำให้สะอาดและคัดเลือกเฉพาะผลที่สมบูรณ์ ไม่เป็นโรค มาแช่ในน้ำคั้นกระเทียมตามกรรมวิธีต่าง ๆ แล้วนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชม. โดยมีพริกที่แช่น้ำเป็นชุดควบคุม น้ำหนักพริกสดที่ใช้ในการทดลองประมาณ 1000 กรัม/ซ้ำ เก็บพริกที่ทำให้แห้งแล้วในถุงพลาสติก PE (Polyethylene) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 วัน นำพริกแห้งมาตรวจการตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA

4 การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาพริกแห้งแปรรูป

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี จำนวน 4 กรรมวิธี ทำการทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาพริกแห้งแปรรูปหลังการแช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75%, 50% และ 25% เป็นเวลา 20 นาที โดยมีพริกสดที่แช่น้ำเป็นชุดควบคุม ทำตามขั้นตอนเช่นเดียวกับข้อ 7.2.3 หลังจากนั้นเก็บพริกแห้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน นำพริกแห้งมาตรวจการตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA ทุกเดือน

5 การศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียมในการแช่พริกแห้ง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี จำนวน 4 กรรมวิธี โดยมี ระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียม 3 ระดับคือ 75% 50% และ 25% และพริกที่ไม่แช่น้ำคั้นกระเทียมเป็นชุดควบคุม นำพริกแห้งผลใหญ่ที่ซื้อจากตลาดมาแช่ในสารสกัดกระเทียมตามกรรมวิธีต่าง ๆ เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที น้ำหนักพริกแห้งที่ใช้ในการทดลองประมาณ 500 กรัม/ซ้ำ นำพริกอบแห้งมาเก็บในถุงพลาสติก PE เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA หลังการเก็บ 1 และ 2 เดือน ในกรณีพริกแห้งผลเล็กได้ทดสอบกับน้ำคั้นกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 50% เพียงความเข้มข้นเดียว และแช่นาน 20 นาทีเปรียบเทียบกับพริกที่ไม่แช่น้ำคั้นกระเทียม และเก็บรักษานาน 1 และ 2 เดือนเช่นกัน

6 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมในการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในพริกป่น และระยะเวลาในการเก็บรักษา

วางแผนการทดลองแบบ Split Plot จำนวน 5 ซ้ำต่อกรรมวิธี ปัจจัยที่ 1 คือ ระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียม 4 ระดับคือ 100, 75, 50 และ 25% ปัจจัยที่ 2 คือระยะเวลาในการเก็บรักษาพริกป่น 5, 10 และ 15 วัน โดยมีตัวอย่างพริกป่นที่ไม่ผ่านกรรมวิธีเป็นชุดควบคุม กรรมวิธีการทดลองมีดังนี้

1. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100 % เก็บนาน 5 วัน
2. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100 % เก็บนาน 10 วัน
3. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100 % เก็บนาน 15 วัน
4. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75 % เก็บนาน 5 วัน
5. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75 % เก็บนาน 10 วัน
6. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 50 % เก็บนาน 5 วัน
7. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 50 % เก็บนาน 10 วัน
8. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 50 % เก็บนาน 15 วัน
9. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 25 % เก็บนาน 5 วัน
10. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 25 % เก็บนาน 10 วัน
11. น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 25 % เก็บนาน 15 วัน
12. ชุดควบคุม (พริกป่นไม่คลุกน้ำคั้นกระเทียม)

ทำการคลุกตัวอย่างพริกป่น 50 กิโลกรัม ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วแบ่งออกเป็น 5 ส่วนๆ ละ 6 กิโลกรัม นำพริกป่นใส่ในเครื่องกวนแล้วค่อยเติมน้ำคั้นกระเทียมลงไปกวนให้เข้ากันทั่วของแต่ละกรรมวิธี หลังจากนั้นนำพริกป่นที่คลุกน้ำคั้นกระเทียมมาผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำพริกป่นที่ผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ มาบรรจุในถุง PE ปริมาณ 100 กรัม/ถุง เก็บถุงพริกป่นในตะกร้าพลาสติกวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการสุ่มตัวอย่างพริกป่นของทุกกรรมวิธีมาวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินโดยวิธี ELISA ก่อนการทดลองได้สุ่มตัวอย่างพริกป่นมาตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินจำนวน 20 ซ้ำๆ ละ 100 กรัม

7 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำคั้นกระเทียมที่ใช้แล้วในการทำลายสารแอฟลาทอกซินโดยตรง

นำน้ำคั้นกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 75%, 50% และ 25 % ที่ใช้แล้วจากการแช่พริกสดมาเก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 และ 15 วัน นำน้ำคั้นกระเทียมมาทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายสารแอฟลาทอกซินโดยตรง โดยใส่น้ำคั้นกระเทียมลงไปในห้องทดลองที่มีสารแอฟลาทอกซินมาตรฐาน ในอัตราส่วน 1: 1 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จึงทำการวิเคราะห์ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน โดยวิธี ELISA สารแอฟลาทอกซินมาตรฐานที่เติมน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2553 สิ้นสุดการทดลอง กันยายน 2555

สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

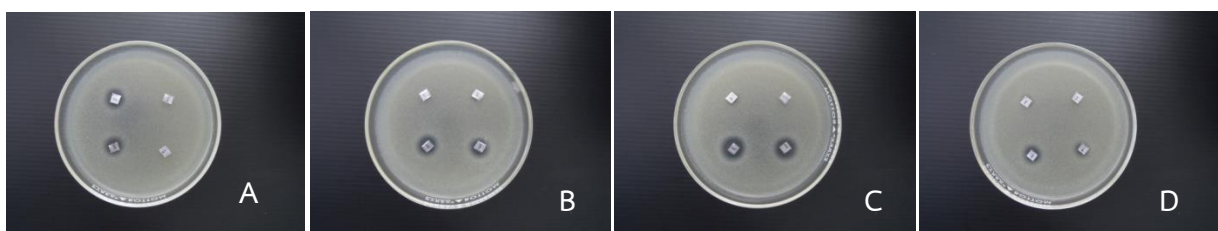
1 การศึกษาสารออกฤทธิ์ในกระเทียมที่ควบคุมการเจริญของเชื้อรา

ผลการเปรียบเทียบสารสำคัญในตัวอย่งน้ำคั้นกระเทียมสด สารละลายกระเทียมผง และน้ำมันกระเทียม ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราพบว่าเป็นสารที่มีค่า $R_f = 0.0781$ และ $R_f = 0.812$ ซึ่งตรงกับค่า R_f ของสาร allicin มาตรฐาน คือ $R_f=0.812$ (ภาพที่ 1) โดยแสดงการเกิด Clear Zone เป็นวงรอบขึ้นส่วน TLC ที่มีสารสำคัญดังกล่าวอยู่ (ภาพที่ 2)

1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	2	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3	3
4	4	4	4	4	4	4	4	4
5	5	5	5	5	5	5	5	5
6	6	6	6	6	6	6	6	6
7	7	7	7	7	7	7	7	7
8	8	8	8	8	8	8	8	8
9	9	9	9	9	9	9	9	9
10	10	10	10	10	10	10	10	10
11	11	11	11	11	11	11	11	11
12	12	12	12	12	12	12	12	12
13	13	13	13	13	13	13	13	13
14	14	14	14	14	14	14	14	14
15	15	15	15	15	15	15	15	15
16	16	16	16	16	16	16	16	16
17	17	17	17	17	17	17	17	17
18	18	18	18	18	18	18	18	18
19	19	19	19	19	19	19	19	19
20	20	20	20	20	20	20	20	20
21	21	21	21	21	21	21	21	21
22	22	22	22	22	22	22	22	22
23	23	23	23	23	23	23	23	23
24	24	24	24	24	24	24	24	24
25	25	25	25	25	25	25	25	25
26	26	26	26	26	26	26	26	26
27	27	27	27	27	27	27	27	27
28	28	28	28	28	28	28	28	28
29	29	29	29	29	29	29	29	29
30	30	30	30	30	30	30	30	30
31	31	31	31	31	31	31	31	31
32	32	32	32	32	32	32	32	32

ภาพที่ 2 แบบจำลองแผ่น TLC ที่หยดสารทดสอบต่าง ๆ และตำแหน่ง R_f ของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์

- ช่องที่ 1 สารละลายกระเทียมผง 5 ul
- ช่องที่ 2 สารละลายกระเทียมผง 10 ul
- ช่องที่ 3 น้ำมันกระเทียม 5 ul
- ช่องที่ 4 น้ำมันกระเทียม 10 ul
- ช่องที่ 5 น้ำคั้นกระเทียมสด 5 ul
- ช่องที่ 6 น้ำคั้นกระเทียมสด 10 ul
- ช่องที่ 7 Allicin 5 ul
- ช่องที่ 8 Allicin 10ul

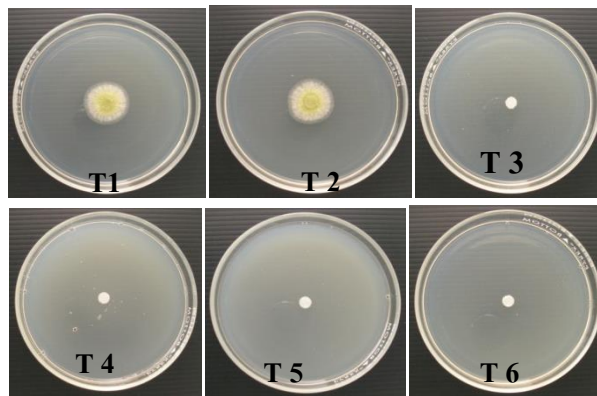


ภาพที่ 3. ลักษณะ Clear Zone ที่เกิดจากการที่สารสำคัญจากกระเทียมยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
A. กระเทียมผง B. น้ำมันกระเทียม C. น้ำคั้นกระเทียมสด D. สาร Allicin มาตรฐาน

2 ทดสอบการเจริญของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ

2.1 ทดสอบการเจริญของเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ

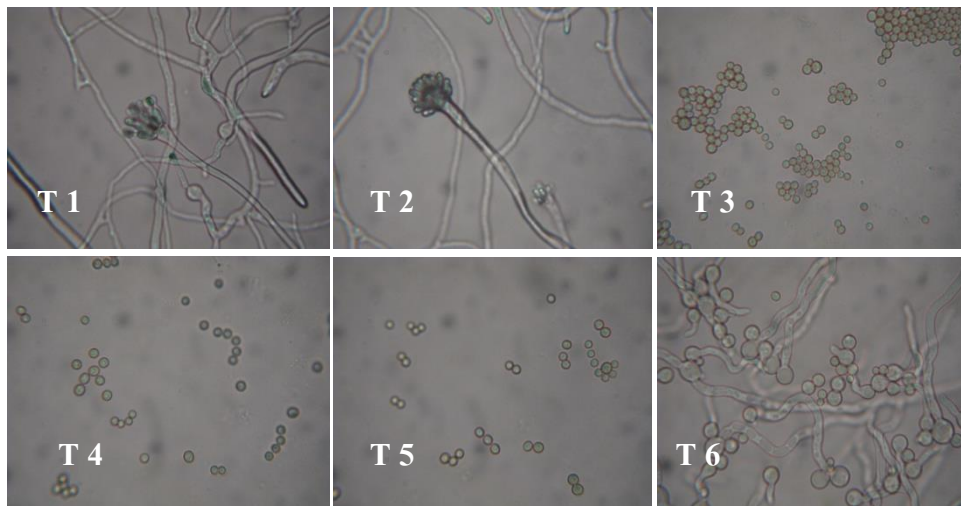
ผลการทดสอบพบว่าหลังจากการบ่มเชื้อรา *Aspergillus flavus* ไว้ในอาหารที่มีน้ำคั้นกระเทียมผสมอยู่ด้วยเป็นเวลา 2, 3 และ 4 วัน จะไม่เห็นการเจริญของโคโลนีเชื้อราในจานเลี้ยงเชื้อ ขณะที่เชื้อราที่เลี้ยงในอาหาร PDA อย่างเดียว และอาหาร PDA ผสมน้ำ โคโลนีของเชื้อราปรากฏให้เห็น และเมื่อบ่มเชื้อราไว้เป็นเวลา 7 วัน พบเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100% และ 50% ไม่มีการเจริญของเชื้อราเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 4) แต่มีเชื้อราชนิดอื่นปรากฏในอาหารเลี้ยงที่มีค้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นต่ำ 25% และ 12.5% ผสมอยู่ แสดงให้เห็นว่าน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100% และ 50% มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 100 % Bilgrami *et al.*, 1992 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* และรายงานว่สารสกัดกระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ 61.94 % ขณะที่ Sandoskumar *et al.*, 2006 พบว่าเมื่อเลี้ยง *A. flavus* ในอาหารที่มีสารสกัดกระเทียมผสมอยู่ด้วยการสร้างสารแอฟลาทอกซินไม่เกิดขึ้นเลย ซึ่งตรงกับผลของการทดลองนี้



ภาพที่ 4. การเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* บนอาหาร PDA ที่มีน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมอยู่ในอัตราส่วน 1: 9 หลังการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
T1 = PDA T2 = PDA + น้ำ T3 = น้ำกระเทียม 100 %
T4 = น้ำคั้นกระเทียม 50% T5 = น้ำคั้นกระเทียม 25 %
T6 = น้ำคั้นกระเทียม 12.5 %

2.2 ทดสอบการงอกของสปอร์

สปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในชุดควบคุมจะเริ่มงอกเพียงเล็กน้อยหลังบ่มไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เส้นใยเชื้อรา (Mycelium) จะขยายและเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ขณะที่สปอร์ที่มีน้ำคั้นกระเทียมผสมอยู่ยังไม่พบการงอกของสปอร์ แต่สปอร์ของเชื้อราที่มีน้ำคั้นกระเทียมผสม 12.5 % เริ่มงอกหลังบ่มไว้ 18 ชั่วโมง และภายใน 24 ชั่วโมงพบสปอร์ของเชื้อราปรากฏในหลุมทดสอบของชุดควบคุม และในหลุมทดสอบที่มีน้ำคั้นกระเทียม 12.5% ขณะที่สปอร์เชื้อราที่ทดสอบกับน้ำคั้นกระเทียม 100%, 50% และ 25% ยังไม่มีการงอกของสปอร์ (ภาพที่ 5) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสำคัญในกระเทียมสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้มีผลทำให้เชื้อราไม่เจริญเติบโต และไม่สามารถสร้างสปอร์ได้



ภาพที่ 5. การทดสอบความงอกของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ภายในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากเลี้ยงในอาหาร PDA ที่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมอยู่

T1 = PDA T2 = PDA + น้ำ T3 = น้ำคั้นกระเทียม 10% T4 = น้ำคั้นกระเทียม 5 %
T5 = น้ำคั้นกระเทียม 2.5 % T6 = น้ำคั้นกระเทียม 1.25 %

3. การศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียมและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ฟริกสด เพื่อแปรรูปเป็นฟริกแห้ง

ผลจากการทดลองใช้น้ำคั้นกระเทียมระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 75 %, 50% และ 25% ในการแช่ฟริกสดก่อนการแปรรูปเป็นฟริกแห้งในทุกกรรมวิธี พบว่าหลังเก็บฟริกแห้งไว้ 1 เดือน ปริมาณการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุมที่ไม่แช่น้ำคั้นกระเทียม (ตารางที่ 1) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าถ้าเรามีการคัดเลือกฟริกที่สะอาด ไม่น่าเสียดมาแปรรูปเป็นฟริกแห้ง และมีการเก็บรักษาที่ดี ก็จะได้ฟริกแห้งที่มีคุณภาพ ปลอดภัยจากการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซิน ซึ่งอาจไม่จำเป็นต้องมีการแช่น้ำคั้น

กระเทียมก็ได้ ถึงอย่างไรก็ตามพริกแห้งที่ผ่านการแช่น้ำคั้นกระเทียมจะมีผิวที่สะอาดสวย และมีความมันวาวมากกว่าพริกแห้งที่ไม่ได้แช่น้ำคั้นกระเทียม (ภาพที่ 6)

ตารางที่ 1 ปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่พบปนเปื้อนในพริกแห้งที่ปฏิบัติตามกรรมวิธีต่าง ๆ หลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน

กรรมวิธีทดลอง	ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน(พีพีบี)		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที
น้ำคั้นกระเทียม 75%	3.20	3.50	3.25
น้ำคั้นกระเทียม 50%	3.27	3.37	3.45
น้ำคั้นกระเทียม 25%	3.73	3.00	3.50
ชุดควบคุม	3.20	3.20	3.20
F-Test	ns	ns	ns
CV	7.1	10.1	9.6

Ns = not significant



ภาพที่ 6 ลักษณะของพริกแห้งแปรรูปที่มีการแช่น้ำคั้นกระเทียมก่อนการอบแห้ง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน

4 การทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาพริกแห้งแปรรูป

ผลการทดลองพบว่าหลังการเก็บรักษาพริกแห้งที่ผ่านการแช่น้ำกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 75% 50% และ 25% เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ปริมาณสารแอฟลาทอกซินในแต่ละกรรมวิธีจะมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 2) ขณะที่ปริมาณสารแอฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกที่เก็บรักษา 1 เดือนจะไม่มี ความแตกต่างจากชุดควบคุมในทุกกรรมวิธี แสดงให้เห็นว่าถ้ามีการเก็บพริกแห้งเป็นระยะเวลานาน การแช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75 และ 50% จะช่วยลดการปริมาณการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินที่เกิดขึ้นได้

ตารางที่ 2 ปริมาณการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน(พีพีบี)ในพริกแห้งที่แช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นระดับต่าง ๆ หลังการเก็บรักษา

กรรมวิธีทดลอง	ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน (พีพีบี)			
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน
แช่น้ำคั้นกระเทียม 75%	4.8	3.0 c	4.1 bc	7.2 c
แช่น้ำคั้นกระเทียม 50%	5.6	4.3 bc	2.3 c	8.1 ab
แช่น้ำคั้นกระเทียม 25%	5.2	5.7 ab	4.6 b	9.5 b
ชุดควบคุม	4.5	6.9 a	6.5 a	12.1 a
F-test	ns	*	**	**
CV	10.2	22.6	13.2	10.8

Means followed by a common letter are not significantly different by DMRT

ns= non significant * = significant at 5% level **= significant at 1% level

5 การศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นกระเทียมในการแช่พริกแห้ง

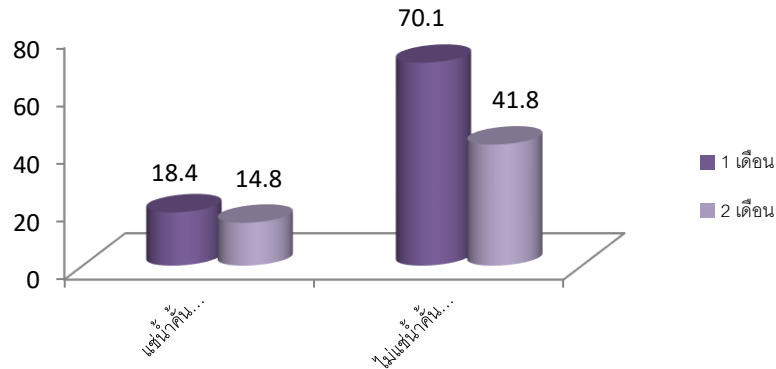
ปริมาณการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งผลใหญ่ที่มีการแช่น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นระดับต่าง ๆ แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าปริมาณสารแอฟลาทอกซินในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม (ตารางที่ 3) แต่หลังจากเก็บรักษาไว้นาน 2 เดือน ปริมาณสารแอฟลาทอกซินในตัวอย่างพริกแห้งที่แช่น้ำคั้นกระเทียม 75% 50% และ 25% มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินลดลงจากชุดควบคุม 56.52, 39.13 และ 17.39 % ตามลำดับ การทดลองลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในพริกแห้งผลเล็กพบว่าปริมาณสารแอฟลาทอกซินลดลงจากชุดควบคุมถึง 73.75 % และ 64.45 % เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 1 และ 2 เดือนตามลำดับ (ภาพที่ 7)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในพริกแห้งผลใหญ่ที่ผ่านการแช่น้ำคั้นกระเทียมหลังการเก็บรักษานาน 1 และ 2 เดือน

ระดับความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม	ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน (พีพีบี)		%สารพิษลดลงจากชุดควบคุม*
	1 เดือน	2 เดือน	
น้ำคั้นกระเทียม 75%	4.8	3.0	56.52
น้ำคั้นกระเทียม 50%	5.6	4.2	39.13
น้ำคั้นกระเทียม 25%	5.2	5.7	17.39
ชุดควบคุม	4.5	6.9	

$$*\% \text{ สารพิษลดลงจากชุดควบคุม} = \frac{\text{ปริมาณสารพิษในชุดควบคุม} - \text{ปริมาณสารพิษของกรรมวิธี}}{\text{ปริมาณสารพิษในชุดควบคุม}} \times 100$$

Amount of aflatoxin (ppb)



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณสารแอฟลาทอกซินในพริกแห้งผลเล็กที่ผ่านกรรมวิธีการแช่น้ำคั้น ระยะเวลาความเข้มข้น 50% เวลา 20 นาที หลังการเก็บรักษานาน 1 และ 2 เดือน

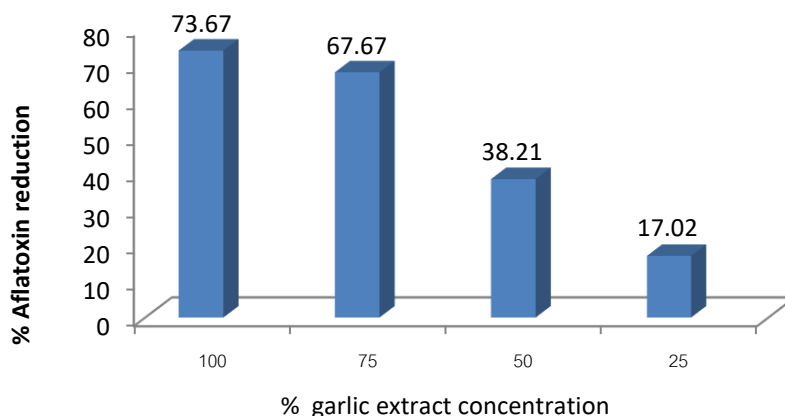
5 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดกระเทียมในการลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินในพริกป่นและระยะเวลาในการเก็บรักษา

พริกป่นที่วางจำหน่ายอยู่ทั่วไปในตลาดเมื่อนำมาตรวจปริมาณการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินก่อนการทดลอง พบว่ามีปริมาณการปนเปื้อนสูงถึง 78.3 พีพีบี (มาตรฐานที่ประเทศไทยกำหนดคือ 20 พีพีบี) ดังนั้นผู้บริโภคจึงมีความเสี่ยงที่จะได้รับสารแอฟลาทอกซินในปริมาณที่ค่อนข้างสูง ผลการทดลองจากการที่นำพริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินมาคลุกกับน้ำคั้นกระเทียมที่ระดับความเข้มข้น 100,75, 50 และ 25 % พบว่าน้ำคั้นกระเทียมสามารถลดปริมาณสารแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนอยู่ในพริกป่นได้ในทุกกรรมวิธี และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 4) พริกป่นที่คลุกน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100 และ 75 % หลังการคลุก 5 วัน สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนได้ ได้ถึง 73.67 และ 67.67 % ตามลำดับ (ภาพที่ 8) ถึงแม้พริกป่นที่คลุกน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 25% จะลดปริมาณสารพิษลงได้ แต่ก็ลดลงได้น้อยมากเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าเก็บไว้เกิน 15 วัน พริกป่นจะมีเชื้อราชนิดอื่นปนเปื้อน พริกไม่สามารถนำมาบริโภคได้ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำคั้นกระเทียมเข้มข้น 25% ไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราได้ ดังนั้นควรใช้น้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100 และ 75 % ในการลดสารแอฟลาทอกซินในพริกป่นก่อนบริโภค

ตารางที่ 4 ปริมาณการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน (พีพีบี) ในพริกป่นหลังการคลุมน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 5, 10 และ 15 วัน

ความเข้มข้นน้ำคั้นกระเทียม	ปริมาณสารแอฟลาทอกซิน (พีพีบี)			
	5 วัน	10 วัน	15 วัน	ค่าเฉลี่ย
100 %	24.06a	26.78a	22.66a	24.50
75%	27.68a	34.14a	22.52a	28.11
50%	56.46b	65.92b	40.92b	54.43
25%	75.82c	77.02b	54.12c	68.99
ชุดควบคุม	91.38d	75.08b	63.92c	76.79
F-Test	**	**	**	
CV	16.0%	6.5%	25.0%	

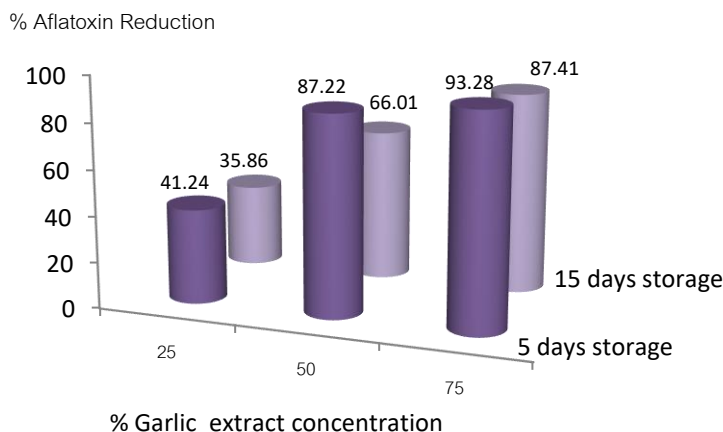
In a column, means followed by a common letter are not significantly different at 1% level by DMRT



ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์การลดลงของสารแอฟลาทอกซินในพริกป่นที่มีการคลุมน้ำคั้นกระเทียมที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ หลังจากเก็บเป็นเวลา 5 วัน

6 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำคั้นกระเทียมที่ใช้แล้วในการทำลายสารแอฟลาทอกซินโดยตรง

น้ำคั้นกระเทียมที่ใช้ในการแช่พริกสดแล้วที่ยังเหลืออยู่เมื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 และ 15 วันเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายสารแอฟลาทอกซินโดยตรงพบว่าน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 75% เก็บไว้นาน 5 และ 15 วัน ยังมีประสิทธิภาพในการทำลายสารพิษได้ถึง 93.28 และ 87.41 % ตามลำดับ (ภาพที่ 9) ดังนั้นสามารถนำน้ำกระเทียมที่ใช้แล้วนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกทำให้ประหยัดต้นทุนในการแปรรูปพริกสดเป็นพริกแห้งที่มีการแช่น้ำคั้นกระเทียม



ภาพที่ 9. เปอร์เซ็นต์การลดลงของสารแอฟลาทอกซินหลังใส่น้ำคั้นกระเทียมใช้แล้ว ที่เก็บไว้เป็นเวลา 5 และ 15 วัน

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สารสำคัญในน้ำคั้นกระเทียมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้คือสาร allicin และน้ำคั้นกระเทียมความเข้มข้น 100, 75 และ 50 % สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง การแปรรูปจากพริกสดเป็นพริกแห้ง โดยการคัดเลือกผลพริกสดที่มีคุณภาพ ไม่เน่าเสีย นำมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วแช่น้ำคั้นกระเทียมที่ความเข้มข้น 50-75% ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปอบสามารถป้องกันและลดการเกิดสารแอฟลาทอกซินได้ และสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าพริกที่ไม่แช่น้ำกระเทียม นอกจากนี้พริกที่ผ่านการแช่น้ำกระเทียมจะมีผิวที่มันวาวและไม่เหี่ยวแห้ง ถ้ามีการเก็บรักษามากกว่า 1 เดือนการแช่น้ำคั้นกระเทียมจะช่วยลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินได้ ในกรณีของพริกแห้งผลใหญ่ที่วางจำหน่ายตามตลาดซึ่งมีการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินมาก่อนเมื่อนำมาแช่น้ำกระเทียมความเข้มข้น 75% แล้วอบให้แห้งอีกครั้งสามารถลดการปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซินลงได้ถึง 56.52% เมื่อเก็บพริกไว้ 2 เดือน ในพริกป่นที่มีการปนเปื้อนสารแอฟลาทอกซินสูงถึง 78.3 พีพีบี เมื่อนำมาคลุกด้วยน้ำคั้นกระเทียม 100, 75, 50 และ 25% สามารถลดสารแอฟลาทอกซินลงได้ 76.67, 67.67, 38.21 และ 17.02 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าน้ำกระเทียมที่ใช้แล้วยังมีประสิทธิภาพในการทำลายแอฟลาทอกซินถึงแม้จะเก็บไว้นาน 15 วันที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ดังนั้นสามารถนำน้ำคั้นกระเทียมที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ได้อีก

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ผลงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที
2. ผู้ประกอบการขนาดเล็ก นำไปใช้ในการผลิตพริกแห้งคุณภาพปลอดภัยจากสารแอฟลาทอกซิน
3. ได้นำผลงานไปเผยแพร่ในการประชุมนานาชาติ (International Mycotoxin Conference, MycoRed 2010)
4. ผู้สนใจสามารถนำวิธีการไปพัฒนาใช้กับผลิตภัณฑ์เกษตรชนิดอื่นๆได้

11. เอกสารอ้างอิง

- เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ และ พรทิพย์ เต็มวิเศษ.2545. อาหารคือยารักษาโรค. ภูมิปัญญาไทย ปีที่ 11 ฉบับ 4 (มกราคม-กุมภาพันธ์) 4 หน้า
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา 2539 พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522. รวบรวมโดย กองสารวัตร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข 534 หน้า
- อมรา ชินภูติ, ชวลิต ตรีกรุณาสวัสดิ์, อรุณศรี วงษ์อุไร, รัตนา สุทธยาคม, วิชชุดา รัตนากาญจน์ และจิรากร โกศัยเสวี. 2547. โครงการทดสอบประสิทธิภาพชุดตรวจสอบสารแอฟลาทอกซิน สำเร็จรูป เพื่อขยายผลการใช้งานสู่เกษตรกรและผู้ประกอบการส่งออก.หน้า 209-220 ใน ผลงานโครงการวิจัยระดับดีที่ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร ประจำปี 2547 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Bilgrami K.S., K.K. Sinha and A.K. Sinha. 1992. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol and onion and garlic extracts. Indian J. Med. Res. Jun;96:171-175
- Chinaphuti, A. and S, Aukkasarakul. 2007. Selection of common edible herbs which inhibit Aflatoxin production or Fungal Growth. Pages 225-230 In. Proceeding of International Symposium of Mycotoxicology "New Strategies for Mycotoxin Research in Asia .
- IARC.1993. Aflatoxin pp.245-396, In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 56. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Irkin R. and M. Korukluoglu. 2007. Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. Journal of Biotechnology Vol. 6(4),pp.384-387
- Park, D.L. 1993. Controlling aflatoxin in food and feed. Food Technology .October : 92-96.
- Rivlin R.S. 2001. Historical perspective on the use of Garlic. Journal of Nutrition.131 pp 951-954
- Sandosskuma, R., M.Karthikeyan., S. Mathiyazhagan., M.Mohankumar., G. Chandrasekar and R. Velazhahan. 2007. Inhibition of *Aspergillus flavus* growth and detoxification of aflatoxin B1 by the medicinal plant zimmu *Zallium sativum* L.x*Allium cepa* L.). World journal of Microbiology and Biotechnology, Vol.23 No.7 pp:1007-1014
- University of Maryland Medical Center.2011. Garlic. <http://www.umm.edu/altmed/articles/garlic-000245.htm>.
- Van Egmond, H. P. 1994. Aflatoxin in milk. In: Eaton, D.L. and J.D. Groopman, eds, The Toxicology of Aflatoxin : Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance, San Diego, C.A. Academic Press , pp. 365-381.