รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ผลของเชื้อ *Ganoderma lucidum* (เห็ดหลินจือ) ต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus*

(Effect of *Ganoderma lucidum* (Ling Zhi mushroom) on aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*)

โดย

รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์

ผศ. วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี

นายอัษฎา อิ่มเอิบ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีงบประมาณ 2541

RCH
GK
629
.G18
ด7335
เลขหมู่.....
45289
เลขทะเบียน.....
วัน, เดือน, ปี 22 มิ.ย. 2546

b.11259450
i.....

11259450

ลิขสิทธิ์เป็นของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องผลของเชื้อ *Ganoderma lucidum* (เห็ดหลินจือ) ต่อการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณประจำปี 2541 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณหน่วยงานที่สนับสนุนทุนวิจัย และหวังว่างานวิจัยนี้คงเป็นประโยชน์ สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินจากเชื้อราในระหว่างการเพาะเห็ดได้

คณะผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อ	II
Abstract	III
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย	20
บทที่ 4 ผลการทดลอง	26
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	40
บรรณานุกรม	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และเมล็ดข้าวฟ่าง โดยเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* เป็นระยะเวลา0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* พบว่า การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 7 วัน บนอาหาร PDA ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* สามารถยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* บนอาหาร PDA ได้ดีที่สุด ส่วนในเมล็ดข้าวฟ่างพบว่า การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ตั้งแต่ 3 วัน ขึ้นไปก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินในเมล็ดข้าวฟ่างได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

Effect of mycelial growth of Ling Zhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* were studied. *G. lucidum* was grown as mycelium on PDA and sorghum seeds for 0, 1, 3, 5 and 7 days before co-inoculation with *A. parasiticus*. When *G. lucidum* was grown on PDA for 7 days before growing *A. parasiticus*, it was found that no colonial growth of *A. parasiticus* was observed. When growing *G. lucidum* as mycelium on sorghum seeds for 3 days or more before inoculating spores of *A. parasiticus*, the results showed that aflatoxin production was inhibited.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับผลของการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา ในระดับห้องปฏิบัติการ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบผลของการเจริญของเส้นใยเห็ดหลินจือ ที่มีต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อราในอาหารแข็ง

1.4.2 สามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการศึกษาป้องกันการเจริญ และการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน ในกรณีที่มีการปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ประวัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

ในปี ค.ศ. 1960 ได้เกิดโรคระบาดอย่างรุนแรงแก่ฟาร์มสัตว์เลี้ยงในประเทศอังกฤษ ซึ่งเรียกว่า Turkey X disease เนื่องจากมีไก่งวงตายเป็นจำนวนมาก (Blount. 1961) และต่อมายังพบว่าทำให้เกิดพิษแก่ลูกเป็ดและลูกวัวอีกด้วย สาเหตุเนื่องจากมีการนำกากถั่วลิสงมาใช้เป็นส่วนผสมอาหารสัตว์ ในปีเดียวกัน Sargeant *et al.* 1961a ได้สกัด แยกและทำให้สารพิษบริสุทธิ์ จากถั่วลิสงที่ส่งมาจากประเทศบราซิลได้ Sargeant *et al.* 1961b ได้พบว่าเชื้อราชนิดหนึ่งชื่อ *Aspergillus flavus* สามารถสร้างสารพิษได้ ซึ่งเป็นสารพิษชนิดเดียวกันกับสารพิษจากถั่วลิสงที่เป็นพิษ ดังนั้นสารพิษที่ได้จากเชื้อราตัวนี้จึงเรียกว่า อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เกิดจากการรวมคำ 3 คำเข้าด้วยกันคือ *Aspergillus* (A-) *flavus* (-fla) และ toxin

2.2 เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน

เชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้แก่เชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* ได้แก่ *A. flavus* ซึ่งตัวที่สำคัญ ได้แก่ *A. flavus* Link, *A. parasiticus* Spear, *A. nomius* Kurtzman, Horn และ Hesseltine (ซึ่งคาดว่าเป็นสายพันธุ์ที่กลายมาจาก *A. flavus* และ *A. tamarii* (Kurtzman *et al.* 1987)) และ *A. tamarii* (Goto *et al.* 1996) สปอร์ของเชื้อราเหล่านี้พบอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน (WHO. 1979) แม้ว่า *A. flavus* และ *A. parasiticus* จะเป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ แต่ก็มีบางสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้เช่น *A. flavus columnaris* ATCC 44310 ที่ใช้ในการหมักซีอิ้ว (Keanjak. 1984), *A. oryzae* และ *A. sojae* ที่ใช้ในการผลิตโคจิ (Wang และ Hesseltine. 1982) เป็นต้น

เชื้อราแต่ละสายพันธุ์จะมีการสร้างอะฟลาทอกซินแตกต่างกันทั้งในด้านชนิดและปริมาณ และพบว่าความสามารถในการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราจะลดลงเมื่อมีการถ่ายเชื้อ (subculture) บ่อย ๆ (Torres *et al.* 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ชนิดและคุณสมบัติของสารพิษอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นสารอินทรีย์ประเภท heterocyclic compound อยู่ในกลุ่มพวกบิสฟูราโนคิวมาริน (bisfuranocoumarin) ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน อะฟลาทอกซินที่พบโดยทั่วไปตามธรรมชาติจะเป็นอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และ G_2 แต่ก็มีอะฟลาทอกซินอีกหลายชนิดในปริมาณน้อยได้แก่ อะฟลาทอกซิน M_1, M_2, B_{2a} และ G_{2a} ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลท์ของอะฟลาทอกซิน B_1, B_2, G_1 และ G_2 ตามลำดับ อะฟลาทอกซิน M_1 และ M_2 พบมากในน้ำนมและปัสสาวะของสัตว์ที่ได้รับอะฟลาทอกซิน ส่วนอะฟลาทอกซิน B_{2a} และ G_{2a} พบได้ในอาหารทั่ว ๆ ไป ความรุนแรงของการเกิดพิษจะเป็นไปตามลำดับ จากมากไปหาน้อยดังนี้คือ B_1, G_1, B_2 และ G_2 (Bressac *et al.* 1991; Hsu *et al.* 1991)

การเรียกชื่อชนิดของอะฟลาทอกซินจะดูจากการเรืองแสงบนแผ่นโครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin-layer chromatographic (TLC) plate) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร ซึ่งคุณสมบัติข้อนี้ จะใช้ในการจัดจำแนกชนิดของอะฟลาทอกซิน โดยอะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 เป็นพวกที่เรืองแสงสีน้ำเงิน (blue fluorescence) ส่วนอะฟลาทอกซิน G_1 และ G_2 จะเรืองแสงสีเขียว (green fluorescence)

อะฟลาทอกซินมีพิษอย่างรุนแรงต่อตับของสัตว์ทุกชนิด และเป็นสารก่อมะเร็งต่อสัตว์บางชนิด อะฟลาทอกซิน B_1 มีความเป็นพิษรุนแรงที่สุด พิษของอะฟลาทอกซินต่อสัตว์ทดลองจะแปรผันไปตามชนิดของสัตว์ พันธุ์ ปริมาณ และระยะเวลาที่ได้รับ รวมทั้งอาหารหรือภาวะโภชนาการของสัตว์ด้วย การได้รับสารพิษเป็นปริมาณมากอาจมีผลทำให้สัตว์ตายได้ (lethal dose) หากลดปริมาณให้น้อยลง (sub-lethal dose) จะทำให้เกิดพิษเรื้อรัง และถ้าได้รับปริมาณต่ำ ๆ ต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลานานอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ โดยเฉพาะมะเร็งที่ตับซึ่งเกิดขึ้นในสัตว์ทดลองหลายชนิด สัตว์ทดลองที่มีอายุน้อยเมื่อได้รับอะฟลาทอกซินจะเกิดพิษเฉียบพลันได้รวดเร็วกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัย

อะฟลาทอกซินไม่ได้เป็นสารก่อมะเร็งปฐมภูมิแต่จัดเป็นโปรมิวตาเจน (promutagen) และโปรทอกซิน (protoxin) คือจะต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงในเมแทบอลิซึมเสียก่อนจึงจะเปลี่ยนเป็นสารที่มีพิษและออกฤทธิ์เป็นสารก่อกลายพันธุ์ กลไกการออกฤทธิ์ของอะฟลาทอกซินที่ทำให้เกิดมะเร็งตับ เริ่มจากอะฟลาทอกซิน B_1 สามารถเข้าไปที่นิวเคลียสของเซลล์ตับไปรวมกับดีเอ็นเอด้วยพันธะโควาเลนซ์ และชอบจับกับดีเอ็นเอที่ไมโทคอนเดรียมากกว่าที่นิวเคลียสของเซลล์ตับ และหยุดการสร้างดีเอ็นเอ จึงทำให้การสังเคราะห์โปรตีนลดลง และทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อตับตาย ต่อมามีการขยายตัวของนิวเคลียสและเกิดเป็นก้อนมะเร็งที่ตับ (นิธิยา และวิบูลย์. 2543) ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองยังพบว่าอะฟลาทอกซินสามารถทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดมะเร็งที่ปอด ไต และลำไส้ใหญ่ แต่ตับเป็นอวัยวะเป้าหมายที่ได้รับอะฟลาทอกซินไวที่สุด และทำให้เกิดมะเร็งที่เซลล์ตับ

2.4 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซิน

2.4.1 ชนิดของเชื้อรา

Aspergillus flavus เป็นเชื้อราที่สร้างเฉพาะ B_1, B_2 แต่ก็มีเชื้อ *A. flavus* บางสายพันธุ์ที่สร้างอะฟลาทอกซินไม่ได้ เช่น *A. flavus columnaris* (Keanjak. 1984) ส่วน *A. parasiticus* สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ทั้ง B_1, B_2, G_1 และ G_2 (Diener *et al.* 1987 ; Pitt. 1989) ในประเทศไทย พบว่าเชื้อ *A. flavus* จำนวน 84.6 เปอร์เซ็นต์ ที่แยกได้จากแหล่งอาหารต่าง ๆ กัน สามารถผลิตอะฟลาทอกซิน B_1 และ B_2 ได้ (ธีรยุทธ. 2529) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Glinsukon *et al.* 1976 ได้ศึกษาเชื้อราที่ขึ้นบนอาหารในประเทศไทยพบว่าจำนวนเชื้อ *A. flavus* ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้มีจำนวนเฉลี่ยประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับประเทศสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และบราซิล

2.4.2 ความชื้น

Aspergillus flavus สามารถเจริญและสร้างอะฟลาทอกซินได้บนแหล่งอาหารที่มีความชื้นสมดุลกับความชื้นสัมพัทธ์ในอาหารที่ระดับไม่ต่ำกว่า 83-85 เปอร์เซ็นต์ (Christensen และ Mirocha. 1976 ; Sauer และ Burroughs. 1980) ซึ่งสอดคล้องกับ นรสีห์. 2520 ได้รายงานว่า ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา คือความชื้นสัมพัทธ์ 80-100 เปอร์เซ็นต์ รณภพ (2530) รายงานว่า เมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นเริ่มต้นภายในเมล็ดเท่ากับ 18.8, 21.4 และ 22.5 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราสามารถเจริญและสร้างอะฟลาทอกซินได้มากกว่า 20 พีพีบี ภายในเวลา 2 วัน และจะสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดภายในเวลา 8 วัน คือ 740, 550 และ 500 พีพีบี ตามลำดับ ในการเลี้ยงเชื้อรา *A. flavus* บนอาหารสังเคราะห์ที่มีการถ่ายเทอาหารที่ดีจะไม่มีจุดสูงสุดของความชื้นสัมพัทธ์ที่จะจำกัดการเจริญ แต่ในธรรมชาติการที่มีความชื้นของแหล่งอาหารที่สูงมากจะทำให้เชื้อราอื่น ๆ ยีสต์ หรือแบคทีเรีย ปรับตัวเจริญได้ดีกว่า และ/หรือสภาพไร้อากาศ (anaerobe) ที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ทำให้เชื้อรา *A. flavus* เจริญได้น้อยลง (Sauer และ Tuite. 1986)

2.4.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *A. flavus* อยู่ในช่วง 29-35 องศาเซลเซียส (Marth และ Calanog. 1976) ส่วนการสร้างอะฟลาทอกซินจะอยู่ในช่วง 11-42 องศาเซลเซียส (Sorenson *et al.* 1967 ; Jarvis. 1971) โดยจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างอะฟลา-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทอกซิน คือ 20-35 องศาเซลเซียส (Sorenson *et al.* 1967 ; Hunter. 1969 ; Diener และ Davis. 1970)นอกจากนี้อุณหภูมิจะมีส่วนในการกำหนดระยะเวลาในการผลิตอะฟลาทอกซินได้สูงสุด โดยที่อุณหภูมิ 20, 24, 25 และ 30 องศาเซลเซียส จะพบปริมาณการผลิตสูงสุดในวันที่ 15, 4-7, 3-4 และ 11 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่ออัตราส่วนของชนิดของอะฟลาทอกซินที่สร้างขึ้นอีกด้วย (Sorenson *et al.* 1967 ; Diener และ Davis. 1970 ; Javis. 1971 ; Marth และ Calanog. 1976) นิธิยา และ วิบูลย์. 2543 รายงานว่าเชื้อรา *A. parasiticus* เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 35 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างอะฟลาทอกซินอยู่ในช่วง 24-28 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเชื้อรา *A. parasiticus* สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด

2.4.4 ปริมาณออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์

การสร้างอะฟลาทอกซินในอาหารเหลวที่ได้รับการเขย่าหรือในถังหมักที่มีอัตราการกวนและถ่ายเทอากาศที่ดีจะมีปริมาณอะฟลาทอกซินที่สูง (Davis *et al.* 1966) นอกจากนี้ Landers *et al.* 1967 รายงานว่าในการเก็บรักษาเมล็ดข้าวโพดเมล็ดที่เก็บในสภาพปิด ซึ่งทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นเป็น 30-35 เปอร์เซ็นต์ และออกซิเจนลดลงเหลือ 0-1 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณเชื้อราเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยภายใน 12 วัน ซึ่งปริมาณของออกซิเจนที่ลดลงทำให้ปริมาณอะฟลาทอกซินลดลงด้วย แต่จะมีข้อแตกต่างคือเมื่อออกซิเจนลดลงจาก 5 เปอร์เซ็นต์เป็น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0, 20, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ การเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินจะไม่เกิดขึ้นเลย เสาวรส. 2526 พบว่าถ้าคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นร้อยละ 20 เชื้อรายังเจริญเติบโตได้ดี แต่ความสามารถในการสร้างอะฟลาทอกซินจะลดลง 75 เปอร์เซ็นต์ และถ้าลดปริมาณออกซิเจนให้เหลือเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อราเจริญได้ดีแต่การสร้างอะฟลาทอกซินจะลดลง

2.4.5 ธาตุอาหารชนิดต่าง ๆ

การนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารชนิดต่าง ๆ กันจะทำให้ปริมาณของอะฟลาทอกซินที่ถูกสร้างขึ้นแตกต่างกันด้วย ความแตกต่างในการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินจากเชื้อราชนิดเดียวกันบนอาหารพวกเมล็ดพืช (solid medium) หรืออาหารสังเคราะห์ (semisynthetic medium) อาจเป็นผลเนื่องมาจากธาตุอาหารที่มีอยู่ในอาหารเหล่านั้นแตกต่างกันออกไปก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.6 แหล่งคาร์บอน

ธาตุอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนได้แก่น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่นซูโครส กลูโคส ฟรักโทส ไซโลสและไรโบส (ribose) เป็นต้น(Griffin. 1993) แต่พบว่าซูโครสจะช่วยทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด (Lin และ Dianese. 1976)

2.4.7 แหล่งไนโตรเจน

จากการศึกษาถึงกระบวนการสร้างอะฟลาทอกซินโดยใช้อาหารสังเคราะห์พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่อาจนำมาใช้ ได้แก่ เกลือแอมโมเนียมชนิดต่าง ๆ โดยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตจะทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีกว่าเกลือแอมโมเนียมชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตามการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราที่ใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตก็ยังสร้างได้น้อยกว่าเมื่อใช้ส่วนสกัดของข้าวโพด กรดเคสะมิโน(casamino acid) ส่วนสกัดของยีสต์ (yeast extract) และเพปโทน เป็นต้น (ธีรยุทธ และ ชัยวัฒน์. 2524) และยังพบว่าการเพิ่ม aspartic acid และ asparagine จะกระตุ้นให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินเพิ่มขึ้น เนื่องจาก aspartate จะถูกใช้เป็นองค์ประกอบของ Tricarboxilic acid intermediate และเป็นตัวให้ acetate เพื่อสร้าง secondary metabolite (Reddy *et al.* 1971)

2.4.8 เกลือแร่

เกลือแร่ที่สำคัญที่ช่วยทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดี คือ สังกะสีไอออน (Zn^{2+}) เนื่องจากสังกะสีจะเป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ในกระบวนการ glycolysis และกระตุ้นให้มีการสะสมของ adenine monophosphate (AMP) ซึ่ง AMP นี้อาจเป็นสาเหตุให้มีการระงับการสังเคราะห์ไขมันแต่จะสร้างอะฟลาทอกซินขึ้นมาแทน (Gupta *et al.* 1976) ดังนั้นเมื่อปริมาณสังกะสีไอออนลดน้อยลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อราอันเนื่องมาจากสาเหตุที่มีปริมาณน้อยอยู่แล้วหรือมีอยู่มากแต่จับตัวกับสารอื่นก็จะทำให้ปริมาณของอะฟลาทอกซินลดน้อยลงไปด้วย เช่น ถั่วเหลือง ซึ่งมีปริมาณกรดไฟติก (phytic acid) อยู่สูงจึงจับตัวกับสังกะสีไอออนได้มาก จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การสร้างอะฟลาทอกซินจากเชื้อราบนถั่วเหลืองน้อยกว่าถั่วชนิดอื่น ๆ (ธีรยุทธ และ ชัยวัฒน์. 2524)

2.4.9 ปฏิกิริยาระหว่างจุลินทรีย์

ในธรรมชาติ เชื้อ *A. flavus* จะเจริญร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ แบคทีเรียชนิดต่าง ๆ actinomyces และเชื้อรา เช่น *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Nigrosphora* sp., *Trichoderma* sp. และ *Rhizopus* sp. เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีผลต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้ง หรือกระตุ้นการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของ *A. flavus* ได้ (Bothast *et al.* 1974)

2.4.9.1 เชื้อรา

การเจริญของ *A. flavus* ลดน้อยลง เมื่อมีการเจริญร่วมกับ *A. niger* และ *Rhizoctonia solani* บนเมล็ดถั่วลิสง นอกจากนี้ *A. niger*, *R. solani*, *Fusarium oxysporum* และ *Macrophomina phaseoli* สามารถทำลายอะฟลาทอกซินทั้งในถั่วลิสง และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Ashworth *et al.* 1965)

Rhizopus stolonifera, R. arrhyzus และ *R. oryzae* สามารถยับยั้งการสร้างและสลายอะฟลาทอกซินที่ถูกสร้างขึ้น โดยเชื้อราทั้งสามชนิดดังกล่าวจะเปลี่ยนอะฟลาทอกซิน G_1 ไปเป็น อะฟลาทอกซิน B_3 หรือ parasiticol (Cole และ Kirksey. 1971 ; Javis. 1971) และ *R. nigricans* สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อ *A. parasiticus* ได้ (Weckbach Marth. 1977)

จากการเจริญร่วมกันระหว่างเชื้อรา *A. flavus* กับเชื้อราอื่น ๆ อีก 12 ชนิด คือ *Cladosporium cladosporioides* , *Curcvularia lunata* , *Alternaria alternata* , *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme* , *Nigrospora oryzae* , *Acremonium strictum* , *Penicillium oxalicum* , *Penicillium funiculosum* , *Trichoderma viridae* และ *Penicillium variable* ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากข้าวโพดในระหว่างการเก็บเกี่ยว เมื่อเลี้ยงเชื้อราเหล่านี้ลงบนเมล็ดข้าวโพดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว พร้อมกับเชื้อ *A. flavus* พบว่าในกรณีของ *A. niger* และ *T. viridae* ไม่สามารถตรวจพบอะฟลาทอกซิน ส่วนเชื้อราอื่น ๆ ยังคงตรวจพบอะฟลาทอกซิน และเมื่อเลี้ยงเชื้อรา *A. flavus* หลังเชื้อราอื่น ๆ 5 วัน พบว่าเชื้อ *A. flavus* ยังคงเจริญแต่ไม่สามารถตรวจพบอะฟลาทอกซิน (Wicklow *et al.* 1980) โดย Horn และ Wicklow. 1983 ได้ให้เหตุผลว่าการที่เชื้อ *A. niger* ที่เจริญร่วมกับเชื้อ *A. flavus* บนเมล็ดข้าวโพด แล้วทำให้ไม่สามารถตรวจพบอะฟลาทอกซิน เนื่องมาจากเชื้อ *A. niger* ทำให้ค่าพีเอช (pH) ของเมล็ดข้าวโพดลดต่ำลงจาก 5.9 เป็น 2.8 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน ในกรณีนี้การสร้างอะฟลาทอกซินลดลงถึง 70–96 เปอร์เซ็นต์

Wicklow *et al.* 1988 ได้ทดลองโดยนำเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *Acremonium strictum* (ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็น *Cephalosporium acremonium*) เลี้ยงบนเมล็ดข้าวโพดในฝักที่ได้รับการผสมแล้ว 7 วัน โดยการทำแผลที่เมล็ดด้วยไม้จิ้มฟัน หลังจากนั้น 14 วัน ถ่ายเชื้อ *A. flavus* ตามลงไป พบว่า การแพร่กระจายของเชื้อ *A. flavus* จากเมล็ดที่ได้รับการปลูกเชื้อไปยังเมล็ดข้างเคียงลดต่ำลง และปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดบริเวณใกล้เคียงลดต่ำลงเช่นกัน ส่วนการเลี้ยงเชื้อ *A. flavus* พร้อมกับ *F. moniliforme* หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พร้อมกับ *A. strictum* บนเมล็ดอายุ 21 วัน หลังได้รับการผสมเชื้อ *F. moniliforme* ยังคงลดการแพร่กระจายของเชื้อ *A. flavus* และปริมาณของอะฟลาทอกซินลงได้ แต่ในกรณีของเชื้อ *A. flavus* การแพร่กระจายและปริมาณอะฟลาทอกซินไม่ลดลง

ดุษณีและคณะ. 2539 ได้รายงานว่าเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* ในระหว่างการผลิตเทมเป้ได้ โดยการเติมสปอร์ของเชื้อรา *R. oligosporus* และ *A. parasiticus* ลงไปในถั่วเหลืองนึ่งพร้อมกัน พบว่าจะไม่มีการสร้างอะฟลาทอกซินเกิดขึ้น ในขณะที่ถั่วเหลืองนึ่งที่มีการเติมสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียวจะมีการสร้างอะฟลาทอกซินเกิดขึ้น

2.4.9.2 แบคทีเรีย

มีรายงานว่า *Flavobacterium auratiacum* NRRL B-184 สามารถลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินในผลผลิตทางการเกษตรต่าง ๆ คือ นม น้ำมันพืช ถั่วลิสง ข้าวโพด และเนยถั่วลงได้อย่างสมบูรณ์และเมื่อนำผลิตผลไปทดสอบกับลูกเป็ดไม่พบความเป็นพิษเกิดขึ้น (Ciegler *et al.* 1966)

แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* สามารถกระตุ้นการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของ *A. parasiticus* เนื่องจาก *A. aceti* เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสไปเป็น 5-ketogluconic acid และ gluconic acid ทำให้ *A. parasiticus* นำไปใช้ในการเจริญได้ง่ายขึ้น (Weckbach และ Marth. 1977)

El-Gendy และ Mart . 1981 รายงานว่าการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อ *A. parasiticus* ลดต่ำลงเมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Lactobacillus casei* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ APT both แต่ในกรณีของการเลี้ยงเชื้อร่วมกันกับเชื้อ *Streptococcus lactis* ในระยะแรกเชื้อ *A. parasiticus* จะใช้กรดแลคติก (lactic acid) ที่เชื้อ *S. lactis* สร้างขึ้น ทำให้ค่าพีเอชในอาหารไม่ลดต่ำลง ช่วยให้เชื้อ *S. lactis* เจริญต่อไปได้ แต่เมื่อปริมาณอะฟลาทอกซินที่เชื้อ *A. parasiticus* สร้างขึ้นถูกสะสมเพิ่มมากขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. lactis* (Wiseman และ Marth. 1981)

Flores-Galarza *et al.* 1985 รายงานการเก็บรักษาข้าวโพดที่มีความชื้นภายในเมล็ด 27 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* และ/หรือ *Propionibacterium shermanii* คลุกเมล็ด เก็บรักษาไว้ในภาชนะปิดสนิท หรือเก็บภายในบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์นาน 60 วัน ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของเชื้อราต่าง ๆ บนเมล็ดข้าวโพดถูกยับยั้งเมื่อค่าพีเอชของเมล็ดลดต่ำลง เมล็ดข้าวโพดที่คลุกด้วย *P. shermanii* มีปริมาณของยีสต์ลดลงในระยะแรกอย่างรวดเร็ว และ *L. plantarum* เร่งให้มีการสร้างกรดในระยะแรกของการเก็บรักษา

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถลดปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 จาก 50 เป็น 37.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Munimbazi และ Bullerman. 1998 รายงานว่า เชื้อ *Bacillus pumilus* ที่คัดแยกได้จำนวน 6 ไอโซเลต (isolate) สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* NRRL 2999ได้ เมื่อเลี้ยงเชื้อร่วมกันในอาหารเหลว yeast extract sucrose broth (YES) .

Taylor และ Draughon. 2001 ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ *Nannocystic exedens* ร่วมกับเชื้อ *A. flavus* และ *A. parasiticus* บนอาหาร Trypticase peptone yeast extract agar (TPYA) ในจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน พบว่า ขนาดโคโลนีของเชื้อ *A. flavus* และ *A. parasiticus* มีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อ *N. exedens* สามารถเจริญเติบโตได้บนสปอร์ เส้นใยและ sclerotium ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด

2.4.9.3 ยีสต์

Weckbach และ Marth. 1977 ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ *A. parasiticus* NRRL 2999 ร่วมกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหาร yeast extract sucrose broth พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดพร้อมกันในอาหาร พบว่าใน 3 วันแรก ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดจะไม่แตกต่างกัน ระหว่าง *A. parasiticus* ที่เจริญเพียงชนิดเดียว และเมื่อเลี้ยงร่วมกับ *S. cerevisiae* แต่วันที่ 5, 7 และ 10 วัน การเลี้ยงร่วมกับ *S. cerevisiae* จะให้ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมต่ำกว่า โดยปริมาณอะฟลาทอกซินรวมที่ลดต่ำลงเนื่องมาจากมีการสร้างอะฟลาทอกซิน G_1 น้อยลง แต่ B_1 ยังคงเป็นไปตามปกติ ส่วนการปลูกเชื้อ *A. parasiticus* ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหลัง *S. cerevisiae* 3 วัน พบว่า เชื้อ *A. parasiticus* ไม่สามารถเจริญได้เลย

Wlcklow *et al.* 1980 รายงานว่า *Candida guilliermondii* ซึ่งเป็นยีสต์ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวโพด เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้ง *A. flavus* (NRRL 6412) บนอาหาร malt extract agar ค่าพีเอช 6.0 พบว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็น mutual intermingling เมื่อนำไปทดสอบบนเมล็ดข้าวโพดที่ปรับความชื้นโดยนำไปแช่ในน้ำ 2 ชั่วโมง นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำแผลด้วยใบมีดขนาดเล็กฆ่าเชื้อ (ขนาดแผล 1-2 ตารางมิลลิเมตร) ปลูกเชื้อลงบนแผลโดยใช้ suspension ของ *A. flavus* ผสมรวมกับ *C. guilliermondii* บ่มไว้ 4 วันที่ 28 องศาเซลเซียส พบว่า *A. flavus* ยังคงเจริญได้ และมีปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 เฉลี่ย 3,562 พีพีบี (773—6,046 พีพีบี) เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวโพดที่มี *A. flavus* เพียงอย่างเดียว ตรวจพบอะฟลาทอกซิน B_1 เฉลี่ย 2,861 พีพีบี (1,310-5,106 พีพีบี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่เมื่อปลูกเชื้อ *C. guilliermondii* ลงบนเมล็ดข้าวโพดก่อน 5 วัน ตามด้วย *A. flavus* แล้วบ่มต่อไป 8 วัน สามารตรวจพบอะฟลาทอกซิน B_1 16 พีพีบี

Cuero *et al.* 1987 รายงานปฏิกิริยา *A. flavus* กับ *Hyphopichia burtonii* บนอาหาร maize extract agar ที่มีค่า water activity (a_w) 0.98 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดเจริญชนกันเกิดชะงักการเจริญทั้ง 2 ฝ่าย โดยมีช่องว่างขนาดเล็กเกิดขึ้นแต่ที่ 0.95 a_w อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส *A. flavus* จะยับยั้งการเจริญของ *H. burtoni* แต่ที่ 0.98 และ 0.95 a_w อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส *H. burtoni* จะเจริญลามไปบน *A. flavus* เมื่อนำไปทดสอบบนเมล็ดข้าวโพดที่ฆ่าเชื้อโดยใช้รังสีแกรมมา พบว่าที่ความชื้นในเมล็ด 23.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส *H. burtoni* กระตุ้นให้ *A. flavus* เจริญได้ดีขึ้น ส่วนที่ความชื้น 26 23.5 20.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความชื้น 26 20.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส *A. flavus* เจริญตามปกติ การสร้างอะฟลาทอกซินเพิ่มมากขึ้นในทุกสภาพของการเก็บรักษา โดยเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่าในเมล็ดที่มีความชื้น 20.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 25 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวโพดที่ปลูกเชื้อ *A. flavus* เพียงอย่างเดียว

2.4.10 ปัจจัยอื่น ๆ

ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา เช่น วัสดุที่เชื้อราขึ้น การเข้าทำลายของแมลง ปริมาณวิตามิน และแร่ธาตุ (trace element) บางชนิดและยังพบว่าเมล็ดพืชที่พ้นเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมจะช่วยให้เกิดการสร้างอะฟลาทอกซินได้มากขึ้นด้วย

2.5 เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*)

เห็ดหลินจือจัดเป็นเห็ดที่มีโครงสร้างคล้ายเนื้อไม้พบอยู่ทั่วไปตามต้นไม้ผุที่มีความชื้นสูงพอสมควร มักจะพบเห็นเป็นประจำในเขตร้อนชื้น มีเกิดขึ้นบ้างในเขตอากาศหนาวเย็น เช่น ทางภาคใต้ของประเทศจีน ญี่ปุ่น บริเวณระดับความสูงไม่เกิน 3,000 ฟุตของเทือกเขาหิมาลัย ป่าดงดิบของทางทวีปแอฟริกา และอเมริกา เป็นต้น จะมีเกิดขึ้นชุกชุมมากในบริเวณที่มีฝนตกชุก อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 24-32 องศาเซลเซียส มักพบเห็ดชนิดนี้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย (อานนท์. 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 คุณลักษณะของเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือ (Ling zhi) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ganoderma lucidum* และมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามภาษาเรียกของแต่ละประเทศ เช่น

ภาษาไทยเรียกได้หลายชื่อตามแต่ละท้องถิ่น เช่น เห็ดกระด้าง เห็ดหัวงู เห็ดนางกวัก เห็ดหิ้ง เห็ดหิ้งขอ เห็ดเบี้ยงูเห่า เห็ดมะพร้าว เห็ดขอน เห็ดชะแล็ก เห็ดสวรรค์พันปี เห็ดหิมะ เห็ดอมตะ เห็ดเทพเจ้า เห็ดศักดิ์สิทธิ์ เห็ดนำโชค (สาธิต. 2539 ; อานนท์. 2541)

ภาษาอังกฤษเรียกว่า Mushroom of Immortality, Good-fortune Mushroom, Monkey's seat Mushroom, Lacquered Mushroom, Divine Mushroom, Spiritual Mushroom, Tree of life Mushroom และ Holy Mushroom (สาธิต. 2539)

ภาษาญี่ปุ่น เรียกชื่อเห็ดชนิดนี้แตกต่างกันไป คือ

แมนเนน ตาเกะ (Mannen-take) แปลว่า เห็ดหมื่นปี

ไซวา ตาเกะ (Saiwai-take) แปลว่า เห็ดนำโชค

ซารุนาวซิ ตาเกะ (Sarunouchitake) แปลว่า เห็ดที่นั่งลิง

Reishi-take แปลว่า เห็ดวิเศษ หรือเห็ดที่เป็นยาอายุวัฒนะ

ภาษาทิเบตเรียก โอมะชามู (Oma-shamu) (อานนท์. 2541)

ภาษาจีน เรียกชื่อเห็ดชนิดนี้ว่า หลินชี หรือหลินจือ แปลว่า สุดยอดของต้นไม้วิเศษ และได้แบ่งแยกไปตามชนิดของเห็ดอีก (สุรพล และ ชวลิต. 2539 ; อานนท์. 2541) ได้แก่

1. ดอกสีเขียว (Green Ganoderma) เรียกว่า ชิงจือ มีรสเปรี้ยว มักพบในบริเวณที่อากาศหนาวเย็น ชาวจีนนิยมใช้ในการรักษาโรคหัวใจ บำรุงตับ สายตา ประสาท ทำให้ระบบการย่อยอาหารและระบบการขับถ่ายปกติ
2. ดอกสีแดง (Red Ganoderma) เรียกว่า ฉื่อจือ หรือต้นจือ มีรสชาติขมเล็กน้อย ชาวจีนนิยมใช้เป็นยาแก้การแน่นหน้าอก เลือดตกค้าง บำรุงหัวใจ โรคภูมิแพ้-เรื้อรัง โรคสมองเสื่อม โรคเบาหวาน และเป็นสายพันธุ์ที่ส่วนใหญ่นิยมเพาะกันทั้งในจีน ญี่ปุ่น และประเทศไทยด้วย
3. ดอกสีเหลือง (Yellow Ganoderma) เรียกว่า หวงจือ หรือจินจือ มีรสชาติหวานจืด มีสรรพคุณในการบำรุงประสาท ม้าม และระบบขับถ่าย
4. ดอกสีขาว (White Ganoderma) เรียกว่า ไป่จือ หรือวีจือ มีรสเผ็ด มีสรรพคุณในการแก้โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ ปอด จมูก ทำให้หายใจคล่อง รักษาผู้ที่เป็นโรคภูมิแพ้ชนิดเรื้อรัง บำรุงประสาท ป้องกันประสาทหลอน
5. ดอกสีดำ (Black Ganoderma) เรียกว่า เฮจือ หรือเสี่ยนจือ มีรสชาติเค็มเล็กน้อยไม่ขม มีสรรพคุณในการขับน้ำตกค้างในร่างกาย บำรุงไต ขับปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้ระบบขับถ่ายเป็นปกติ บำรุงประสาท บำรุงสมอง ใช้เป็นยาล้างไต

6. ดอกสีม่วง (Dark purple Ganoderma) เรียกว่า จื่อจือ หรือมู่จือ มีรสชาติขม เล็กน้อยหรือหวาน มีสรรพคุณรักษาโรคไขข้ออักเสบ หูอักเสบ บำรุงกระดูก จิตใจ แก้ริดสีดวงทวาร

2.5.2 ส่วนประกอบของเห็ดหลินจือ

เห็ดหลินจือมีส่วนประกอบที่สำคัญ ดังนี้

2.5.2.1 หมวกของดอกเห็ด จะอยู่ส่วนบนสุดของดอกเห็ด ส่วนใหญ่จะแผ่ขนานราบไปกับพื้นดิน โดยในธรรมชาติจะเกิดปีละหน ถ้าสภาพเงื่อนไขดีไม่มีอะไรรบกวน ดอกเห็ดที่โตแล้วก็จะอยู่ในสภาพนั้น และสามารถเจริญได้อีกในในปีต่อ ๆ ไป เนื้อเห็ดคล้ายจุกไม้ก๊อก แต่บางทีอาจแข็งเหมือนไม้ ดอกมีรูปร่างคล้ายรูปไต เป็นทรงโค้ง

ในขณะที่เริ่มเจริญเติบโต ด้านหลังดอกจะมีสีเหลืองน้ำตาล แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงในที่สุด หรืออาจมีสีแตกต่างกันไปตามลักษณะของสายพันธุ์ เช่น สีแดง สีน้ำตาลแดง สีน้ำตาลแดงดำ สีเขียว สีเทา สีม่วง และสีเหลือง เป็นต้น สีของดอกจะเข้มขึ้น เมื่อได้รับแสงที่มีความเข้มข้นสูง หรือถูกลมที่มีความชื้นต่ำพัดผ่าน

ดอกเห็ดในธรรมชาติเมื่อผ่าออก เนื้อดอกจะแบ่งเป็นสองชั้น ชั้นบนจะมีสีเข้มเหมือนเนื้อไม้ ชั้นล่างจะเป็นที่สำหรับสร้างสปอร์ จะมีสีอ่อนลง (สาธิต. 2539 ; อานนท์. 2541)

2.5.2.2 รูสำหรับสร้างสปอร์ เป็นรูเล็กอยู่ใต้หมวก เมื่อดอกมีขนาดเล็กอยู่บริเวณนี้จะอัดแน่นติดอยู่ด้วยกัน มีสีแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ส่วนมากเป็น สีขาว สีเทา สีเหลือง เป็นต้น ขนาดของรูพอจะมองเห็นได้ชัดเมื่อดอกเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่ พร้อมที่จะปล่อยสปอร์ออกมา ลักษณะของรูหากใช้กล้องขยายส่องดู จะมีลักษณะเป็นรูกลมเล็ก ๆ เชื่อมติดกัน มี 4-5 รูต่อมิลลิเมตร ภายในรูจะเป็นที่สร้างสปอร์ของดอกเห็ด และจะปล่อยออกมาเมื่อสปอร์แก่เต็มที่ (อานนท์. 2541)

2.5.2.3 สปอร์ของเห็ดหลินจือ โดยทั่วไปมีสีน้ำตาลขนาด 6-8 × 8.5 – 12.5 ไมโครเมตร ปลายด้านหนึ่งตัดตรง ผิวเรียบ ผนังหนา 2 ชั้น ระหว่างชั้นมีลายหนามยอดเรียวไปจดผนังชั้นนอก (ราชบัณฑิตยสถาน. 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.4 ก้านของดอกเห็ด มีหน้าที่ชูส่วนของหมวกให้อยู่สูงเหนือพื้น เป็นทางลำเลียงอาหาร เห็ดหลินจือบางชนิดมีก้านสั้น บางชนิดไม่มีก้าน บางชนิดมีขนาดบางเรียวแบบมีก้าน ก้านจะมีสีน้ำตาลเข้ม หรือน้ำตาลดำ ยาว 2-10 เซนติเมตร บางครั้งอาจพบก้านอยู่ตรงกลางดอกแต่ไม่บ่อย แต่โดยทั่วไปจะอยู่เยื้องไปข้างใดข้างหนึ่ง หรือติดขอบหมวก ทำให้ดอกมีรูปคล้ายไต ผิวก้านเป็นมันเงา เนื้อในมีสีน้ำตาลอ่อน (สาธิต. 2539 ; ราชบัณฑิตยสถาน. 2539 ; อานนท์. 2541)

2.5.2.5 ฐานก้านดอก เป็นจุดศูนย์รวมของเส้นใยเห็ดที่มารวมกัน เพื่อที่จะสร้างดอก เมื่อมีการพัฒนาจนกระทั่งได้ที่แล้ว จะเกิดเป็นตุ่มเล็ก ๆ ขึ้น แล้วชูขึ้นจากพื้นกลายเป็นก้านชูดอก ลักษณะของฐานเมื่อดอกเห็ดแก่เต็มที่ ส่วนฐานจะบานแผ่เล็กน้อย เพื่อยึดเหนี่ยวส่วนก้านให้แข็งแรงขึ้น (อานนท์. 2541)

2.5.3 ระบบเส้นใย แบ่งเป็น 3 ระยะ (สาธิต. 2539)

2.5.3.1 เส้นใยเกิดใหม่ จะมีผนังกั้นเซลล์บาง ๆ และแขนเชื่อมต่อเซลล์ (clamp connection) ผนังบางโปร่งใส แตกกิ่งก้านออกไป เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3.5-4.5 ไมโครเมตร อายุจะสั้นมาก

2.5.3.2 เส้นใยที่แก่ เกิดขึ้นจากการรวมตัวกันของเส้นใยที่เกิดใหม่ จะมีสีหม่น ๆ โปร่งแสง จนสีน้ำตาลทอง ไม่มีผนังเส้นเซลล์ เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 ไมโครเมตร จะมีกิ่งก้านแยกออกไป แต่ปลายกิ่งก้านนี้จะแคบเข้า ดูเป็นปลายแหลมเหมือนแส้

2.5.3.3 เส้นใยที่รวมตัวกัน เป็นเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของดอกเห็ด ตรงจุดผนังของรูพวกนี้จะไม่มีสี ผนังเซลล์จะหนา มักจะโค้งงอ มีกิ่งก้านและเส้นผ่าศูนย์กลางทั่วไปประมาณ 1.5-2 ไมโครเมตร เส้นใยตรงแถบหลังหมวกดอกจะเป็นเซลล์ที่ค่อนข้างหนา ด้านหนาจะมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 25-30 ไมโครเมตร มีผนังหนามาก อีกปลายของเซลล์จะคล้ายแป้งตกตะกอนจับอยู่ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 7-11 ไมโครเมตร ส่วนเส้นใยที่รวมตัวกันเป็นเนื้อที่โคนดอกติดกับก้านดอก ดอกจะมีสีน้ำตาลอมเขียว โปร่งแสง เหลือบ ๆ ผนังเซลล์หนา ไม่มีผนังกั้นเซลล์ เส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3.5 ไมโครเมตร เส้นใยบางส่วนจะผอมบาง แตกกิ่งก้านเหมือนกิ่งไม้ ผนังเซลล์หนา โปร่งแสง ไม่มีผนังกั้นเซลล์ เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-1.5 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพบว่ามีการสร้างคลาไมโดสปอร์ (clamydospore) ด้วยเมื่อเลี้ยงเส้นใยไว้ในอาหารและทิ้งไว้จนแก่ถึงช่วงอายุหนึ่ง สปอร์จะให้ผลลบ (negative) ต่อน้ำยาเมลเซอร์ (melzer's reagent) ให้สีน้ำตาลจางๆ ใน KOH

2.5.4 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดหลินจือ

ดอกเห็ดหลินจือประกอบด้วยสารเคมีมากมาย ได้มีการศึกษาถึงองค์ประกอบของสารเคมีเหล่านั้นในส่วนต่างๆ ของดอกเห็ดหลินจือดังนี้

รูสำหรับสร้างสปอร์ประกอบด้วยสารเคมีพวกคาร์โบไฮเดรต (รวมทั้งน้ำตาลรีดิวซ์และพอลิแซ็กคาไรด์) กรดอะมิโน โปรตีน ไอออนของสารอนินทรีย์ (inorganic ions) สเตอรอยด์ ไตรเทอร์พีน (triterpenes) ไขมัน อัลคาลอยด์ (Alkaloids) ไกลโคไซด์ (glycoside) คูมารินไกลโคไซด์ (coumarin glycoside) น้ำมันระเหย (volatile oil) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และ กรดแอสคอบิค (ascorbic acid) (Ying *et al.* 1987)

ก้านของดอกเห็ดหลินจือประกอบด้วยไอออนของสารอนินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu และ Ge เป็นต้น ส่วนในหมวกของดอกเห็ดหลินจือประกอบด้วยไอออนของสารอนินทรีย์เช่นเดียวกับในก้านดอกยกเว้น Cu (Shin *et al.* 1986) สปอร์ของเห็ดหลินจือประกอบด้วยสารคลอลีน (choline) กรดเตตราคอซาโนอิค (tetracosanoic acid) กรดสเตียริค (stearic acid) กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) กรดโนนาดิคาโนอิค (nonadecanoic acid) กรดบีฮีนิค (behenic acid) เตตราโคซีน (tetracosane) เออร์โกสเตอรอล (ergosterol) และเบต้าซิโทสเตอรอล (β - sitosterol) (Hou *et al.* 1988) นอกจากนี้ยังตรวจพบกรดไขมันชนิดไพโรฟอสฟาทิดิก (pyrophosphatidic acid) (Sugai *et al.* 1986)

ในดอกเห็ดหลินจือยังประกอบด้วย เออร์โกสเตอรอล ฟังกอลไลโซไซม์ (fungal lysozyme) และ เอนไซม์โปรติเอส (protease) (Chang และ But. 1986) และเมื่อนำดอกเห็ดหลินจือไปสกัดในน้ำร้อนจะตรวจพบสารพอลิแซ็กคาไรด์ 51 เปอร์เซ็นต์ และ โปรตีน 5 เปอร์เซ็นต์ (Shin *et al.* 1986) และเมื่อนำส่วนของ sclerotium ไปสกัดจะพบสารพวกโปรตีนที่ละลายน้ำได้ (soluble proteins) กรดอะมิโน พอลิเปบไทด์ (polypeptides) และ แซ็กคาไรด์ (Chang และ But. 1986)

ในเส้นใยของเห็ดหลินจือประกอบด้วยสารสเตอรอยด์ แลคโตน อัลคาลอยด์ และพอลิแซ็กคาไรด์ (Chang และ But. 1986) ซึ่งเป็นสารพวกไตรเทอร์พีน (triterpenes) ซึ่งสารไตรเทอร์พีนนี้จะพบมากกว่า 100 ชนิดในส่วนของดอกเห็ดและเส้นใยของเห็ดหลินจือ (Shiao *et al.* 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.5.5 สารออกฤทธิ์ในเห็ดหลินจือ

ในดอกเห็ดหลินจือมีสารประกอบหลายชนิดที่เป็นประโยชน์แก่ร่างกายมนุษย์ จึงมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์แก่ร่างกาย โดยตรวจสอบโครงสร้างทางเคมี ซึ่งสารออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์ในปัจจุบันพบมากกว่า 50 ชนิด และพอจำแนกได้ดังนี้ (สุรพล และชวลิต. 2539)

2.5.5.1 สารไตรเทอร์พีนอยด์ชนิดขม (Bitter Triterpenoid)

สารไตรเทอร์พีนอยด์ เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ใช่ไขมันแต่มีคุณสมบัติคล้ายไขมัน สารที่มีรสขมส่วนใหญ่จะอยู่ที่ดอกและก้าน

สารไตรเทอร์พีนอยด์ชนิดขม เป็นกลุ่มของสารประกอบที่แตกต่างกันประมาณ 100 ชนิด แต่ส่วนที่มีความสำคัญในการรักษาโรค คือ กรดกาโนเดอริค (ganoderlic acid A, B, C_1, C_2, D-K, R-K) และกรดลูซิเดนิค (lucidenic acid) ส่วนกรดกาโนเดอมิค (ganodermic acid) ลูซิโดน (lucidone) กาโนเดอราล (ganoderal) กาโนเดอรอลล์ (ganoderols) กรดกาโนลูซิดิค (ganolucidic acid) และอื่น ๆ พบไม่มากนัก กลุ่มของสารเหล่านี้โดยเฉพาะกรดกาโนเดอริคเป็นตัวยับยั้งการหลั่งของสารฮีสตามีน (histamine – release inhibition activity) ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ชนิดหนึ่ง ช่วยลดความดันโลหิต (ACE-inhibitory activity) และช่วยลดไขมันในเส้นเลือด (hypercholesterolemic activity) การลดไขมันนี้ มีผลทั้งในด้านการป้องกันการอุดตันของไขมันในเส้นเลือด (antiartherogenic) และการบำบัดรักษาหลังจากเกิดการอุดตันแล้ว (antiarterosclerotic) นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในตับ (cytotoxicity on hepatoma cells) และการต้านสารพิษที่มีต่อตับ (antihepatotoxic) อีกด้วย Kohda *et al.* 1985 ได้สกัดสารประกอบพวกกรดกาโนเดอริคซึ่งเป็นสารประกอบพวกไตรเทอร์พีนด้วยเมทานอลแล้วนำไปทดสอบพบว่าสามารถยับยั้งการหลั่งฮีสตามีนจาก must cells เมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารบางชนิด

2.5.5.2 พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่อาจเกาะติดกับโปรตีนหรือสารอื่น ๆ ในเห็ดหลินจือมีพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดที่มีสรรพคุณทางยา ได้แก่ กาโนเดอแรนส์ (ganoderans A, B, C) ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (hypoglycemic effect) จากการเพิ่มขึ้นของอินซูลินซึ่งทำหน้าที่ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด สารเบต้าดีกลูแคน (beta-D-glucan) และพอลิแซ็กคาไรด์อีกหลายตัว มีฤทธิ์รวมกันในการเพิ่มการสังเคราะห์โปรตีนในเลือด ไขกระดูกและในตับ ช่วยลดการอักเสบ (anti-inflammation) ช่วยกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดบี-เซลล์ (B-cells) และทีเซลล์ (T-cells) Sone *et al.* 1985 ได้นำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

45289

สารสกัดซึ่งเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดเบต้ากลูแคนไปทดสอบกับเซลล์เนื้องอกชนิด sarcoma 180 พบว่าให้ผลในการยับยั้งเนื้องอกดังกล่าวได้ Wang *et al.* 1993 ได้นำส่วนของดอกเห็ดหลินจือ สกัด แยกสารและทำให้บริสุทธิ์ พบว่าสารที่สกัดได้นั้นเป็นสารพวกพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ มีคุณสมบัติในการยับยั้งเนื้องอก Miyazaki และ Nishijima. 1981 ได้ศึกษาผลการยับยั้งเนื้องอกชนิด sarcoma 180 โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณขาหนีบของหนู ซึ่งเนื้องอกนี้จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นเป็นก้อน เมื่อปลูกเนื้องอกนี้แล้วจึงฉีดสารสกัดที่ได้จากส่วนของดอกเห็ดหลินจือให้แก่หนู แล้วทิ้งไว้ระยะหนึ่งจึงนำเนื้องอกนี้มาชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบกันระหว่างหนูที่ได้รับสารสกัดกับหนูที่ไม่ได้รับสารสกัดและคำนวณหาอัตราส่วนการยับยั้งเนื้องอก พบว่าสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งก้อนเนื้องอกเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของพอลิแซ็กคาไรด์

2.5.5.3 สเตอรอยด์ (Steroids)

มีปริมาณอยู่เพียงเล็กน้อยแต่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ที่ตรวจพบในเห็ดราทั่วไปรวมทั้งเห็ดหลินจือคือ เออร์โกสเตอรอล หรือโปรวิตามินดี 2 (provitamin D_2) ส่วนที่มีเฉพาะในเห็ดหลินจือคือ กาโนสเตอโรน (ganosterone) หรือกาโนโดสเตอโรน (ganodosterone) มีฤทธิ์ในการลดพิษที่มีต่อตับ

2.5.4.4 กลุ่มสารนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide)

มีการค้นพบสารอะดีโนไซน์ (adenosine) ในเห็ดหลินจือ จากการทดลองพบว่าสารอะดีโนไซน์ มีผลในการบรรเทาปวด และมีฤทธิ์เช่นเดียวกับกัวโนไซน์ (gaunosine) ซึ่งเป็นนิวคลีโอไทด์อีกตัวหนึ่งที่พบในเห็ดหลินจือ และยังมีสรรพคุณในการป้องกันการอุดตันจากลิ่มเลือดในเส้นเลือด (antithrombotic activity) ทำให้ช่วยลดอัตราการเกิดโรคอัมพาตอัมพฤกษ์ลงได้ นอกจากนี้ยังพบสารอาร์เอ็นเอ (RNA) ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติคล้ายอินเตอร์-เฟอรอน (interferon-like substance) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส (antivirus) และพบสารอัลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์กระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในหัวใจ

2.5.4.5 สารประกอบเยอร์มาเนียม (Germanium)

เยอร์มาเนียมเป็นธาตุแข็ง พบในโสมทั่วไป ในกระเทียมและพบมากในเห็ดหลินจือ เป็นตัวส่งเสริมการทำงานของร่างกาย สามารถรวมตัวและช่วยกำจัดสารพิษและสิ่งแปลกปลอมต่างๆ มีการใช้ร่วมกันยาแผนปัจจุบันเพื่อกำจัดพิษและอาการไม่พึงประสงค์ และยังพบว่าสามารถลดความเจ็บปวดในผู้ป่วยโรคมะเร็งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากสารออกฤทธิ์ที่กล่าวถึงข้างต้นแล้ว ยังมีการค้นพบองค์ประกอบอื่น ๆ อีกหลายชนิดเช่น กรดไขมันชนิดโอเลอิค (oleic acid) และสารไซโคลออกต้าซัลเฟอร์ (cyclooctasulfur) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการหลั่งของฮีสตามีน สารไกลโคโปรตีน (glycoprotein) บางชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านความพิการของทารก มีโปรตีนที่เป็นเอนไซม์จำพวกไลโซไซม์ (lysozyme) เอนไซม์โปรติเอส ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะทำหน้าที่ย่อยสลายแบคทีเรีย มีการค้นพบสารที่สามารถระงับอาการไอ ขับเสมหะในผู้ป่วยหลอดลมเรื้อรัง สารที่ช่วยขยายหลอดลมในผู้ป่วยโรคหอบหืด สารที่ช่วยลอกฝ้า กระ และสารที่ช่วยชะลอความแก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1. *Aspergillus parasiticus* IMI 102566 จาก International Mycological Institute ประเทศอังกฤษ

3.1.2. *Ganoderma lucidum* L004 จาก สถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. haemacytometer
2. เข็มเขี่ยเชื้อ
3. จานเพาะเชื้อ บริษัท Pyrex
4. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น CHS บริษัท Olympus
5. กระดาษกรองวัทแมนเบอร์ 1 บริษัท Whatman
6. ถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด 7x11 นิ้ว
7. คอขวดพลาสติก ร้านชมรมเห็ดสากล 2308/7 ถนนพหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ
8. หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) รุ่น SS-325 บริษัท TOMY
9. ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) รุ่น 13156 Pressure บริษัท Gelman Little Giant
10. กรวยแยก (separatory funnel) บริษัท Pyrex
11. ฟลาสก์ก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex
12. ฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex
13. ตู้เขี่ยเชื้อ รุ่น BUT 123 บริษัท International Scientific Supply Co.,ltd
14. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น PG803 บริษัท Mettler toledo
15. ชุดกรอง millipore
16. เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator) รุ่น RE111 บริษัท Büchi
17. เครื่อง LiChrolute® บริษัท MERCK
18. มินิคอลัมน์ LiChrolute® ชนิด Si บริษัท MERCK
19. คอลัมน์ HPLC ชนิด C_{18} reverse phase รุ่น BDS- C_{18} บริษัท Hypersil
20. เครื่อง HPLC รุ่น LC-6AD บริษัท Shimadzu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21. เครื่องตรวจวัด (detector) ชนิด UV spectrometric รุ่น SPD-6A บริษัท Shimadzu
22. เครื่องประมวลผล (integrator) รุ่น C-R6A บริษัท Shimadzu

สารเคมี

1. เมทานอล เกรด commercial บริษัท อาศรม จำกัด
2. เมทานอล เกรด laboratory และ HPLC บริษัท MERCK
3. คลอโรฟอร์ม เกรด commercial บริษัท อาศรม จำกัด
4. คลอโรฟอร์ม เกรด laboratory บริษัท MERCK
5. เฮกเซน เกรด commercial บริษัท อาศรม จำกัด
6. เฮกเซน เกรด laboratory บริษัท MERCK
7. แอมโมเนียมซัลเฟต เกรด laboratory บริษัท MERCK
8. เบนซีน เกรด laboratory บริษัท MERCK
9. กรดแอซีติก เกรด laboratory บริษัท MERCK
10. เอทิลอีเทอร์ เกรด laboratory บริษัท MERCK
11. ไดคลอโรมีเทน เกรด laboratory บริษัท MERCK
12. อะซีโตน เกรด laboratory บริษัท MERCK

3.3 การเตรียมเชื้อรา *Aspergillus parasiticus*

เตรียม semisolid suspension โดยใช้ วุ้นผง 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ tween 80 และ น้ำ 99.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกันโดยใช้ความร้อน ถ่ายลงในขวดฝาเกลียวขนาดเล็ก ขวดละ 0.2 – 0.4 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* ลงใน suspension ที่เตรียมได้ ผสมให้เข้ากัน ใช้ loop ถ่าย semisolid suspension ของเชื้อราลงบนอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน ใช้เป็น stock culture

3.4 การเตรียมเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum*

นำเชื้อเห็ด *G. lucidum* จาก stock culture มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อให้มีอายุ 5 วัน สำหรับใช้เป็น stock culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การทดสอบการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ในจานเพาะเชื้อบนอาหาร PDA

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อค โดยทรีทเมนต์คือระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในจานเพาะเชื้อก่อนเป็นเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วันบล็อคคือระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* เป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อเห็ดจากข้อ 3.4 ย้ายไปวางบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน หลังจากนั้นใช้ cork borer เจาะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* ในข้อ 3.3 วางลงตรงกันข้ามในแนวเส้นผ่าศูนย์กลางของจานเพาะเชื้อ ให้เชื้อทั้งสองห่างกัน 6 เซนติเมตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* ทุกวันเป็นเวลา 7 วัน โดยจะทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ โดยชุดควบคุมจะเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียวแล้ววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทุกวันเป็นเวลา 7 วัน สำหรับชุดเปรียบเทียบการเจริญจะเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* และเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียวบนอาหาร PDA แล้ววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทั้งสองทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

3.6 การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus*

3.6.1. เขี่ยเชื้อจาก stock culture ลงใน PDA slant ให้เชื้อมีการเจริญ 7 วัน

3.6.2. หลังจากนั้นนำมาถ่ายเชื้อลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร มีอาหาร PDA ประมาณ 200 มิลลิลิตร ให้มีการเจริญ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

3.6.3. ทำสารละลายสปอร์ โดยใช้น้ำกลั่นผสม tween 80 ที่ฆ่าเชื้อแล้วเทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วใช้ loop เขี่ยสปอร์ให้หลุดออกจากอาหารให้หมด แล้วกรองสารละลายสปอร์ที่ได้ผ่านสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว

3.6.4. สารละลายสปอร์ที่ได้จะนำมาตรวจนับโดยใช้ haemacytometer ให้มีความเข้มข้นของสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.7 การเตรียมข้าวฟ่าง

ใช้ข้าวฟ่างขาวพันธุ์เฮการิ่ (จากร้านชมรมเห็ดสากล 2308/17 ถนนพหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ) โดยดัดแปลงจากวิธีของอานนท์. 2541 โดยนำข้าวฟ่างมาล้างน้ำ เพื่อเอาเมล็ดที่เสียและฝุ่นผงออกและแช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยระหว่างการแช่จะเปลี่ยนน้ำ 1 ครั้ง เมื่อแช่ได้ตามเวลาที่กำหนดจะล้างอีกรอบ ต้มข้าวฟ่างแบบไม่เช็ดน้ำ โดยต้มให้ข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟ่างประมาณ 1 ใน 3 พองตัว หลังจากต้มข้าวฟ่างจนได้ที่แล้วนำมาผึ่งลมให้สะเด็ดน้ำ นำข้าวฟ่างที่ผึ่งลมแล้วมาบรรจุใส่ถุงพลาสติกขนาด 6 x 9 นิ้ว โดยใส่ข้าวฟ่างถุงละ 50 กรัม ใส่คอขวดรัดยาง และอุดจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 45 นาที เมื่อครบเวลาในการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเอาออกมาทิ้งให้เย็นเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.8 การหาความชื้นในเมล็ดข้าวฟ่าง

ใช้ข้าวฟ่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.7 นำมาวิเคราะห์ความชื้นโดยวิธีของ Pomeranz และ Meloan. 1994) ดังนี้

3.8.1. อบกระทงที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ทำอย่างน้อย 3 ซ้ำ จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกค่าที่ได้ทั้งหมดไว้

3.8.2. ใส่ข้าวฟ่างลงไป 2 กรัมในแต่ละกระทง บันทึกค่าที่ชั่งข้างฟ่างพร้อมกับกระทง แล้วนำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในเดซิกเคเตอร์

3.8.3. ชั่งน้ำหนักข้าวฟ่างและกระทงอีกครั้ง

3.8.4. วิเคราะห์หาความชื้นได้จากสูตรคำนวณดังนี้

เปอร์เซ็นต์ความชื้นที่อยู่ในข้าวฟ่าง =

$$\frac{(\text{น้ำหนักข้าวฟ่างและกระทงครั้งที่ 1}) - (\text{น้ำหนักข้าวฟ่างและกระทงครั้งที่ 2})}{\text{น้ำหนักข้าวฟ่างจริง}} \times 100$$

3.9 การทดสอบการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *Gànoderma lucidum* ในข้าวฟ่าง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อค โดยทรีทเมนต์คือระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในข้าวฟ่างก่อนเป็นเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน บล็อคคือระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* เป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตรเจาะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อเห็ดในข้อ 3.4 นำมาใส่ข้าวฟ่างในข้อ 3.7 โดยใส่ 1 ชิ้นต่อ 1 ถุง จากนั้นใส่สารละลายสปอร์ของเชื้อรา *A. parasiticus* ในข้อ 3.6 ให้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นในแต่ละตัวอย่างเป็น 10^6 สปอร์ต่อกรัมของข้าวฟ่าง บ่มที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างในวันที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวฟ่าง โดยจะทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุมจะเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* ในข้าวฟ่างเพียงชนิดเดียวเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน แล้วนำมาตรวจวัดปริมาณอะฟลาทอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.10 การสกัดอะฟลาทอกซิน

การสกัดอะฟลาทอกซิน โดยดัดแปลงจากวิธี Lichrolut Vacuum Manifold และวิธี Rapid Method (Seitz และ Mohr. 1974)

3.10.1 นำข้าวฟ่างที่ต้องการสกัดมา 50 กรัม ใส่ลงในเครื่องบด (blender) เติมเมทานอล 100 มิลลิลิตร ปั่น (blend) เป็นเวลา 1-2 นาที

3.10.2 กรองด้วยกระดาษวัทแมนเบอร์ 1 จะได้สารละลายเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่

3.10.3 แบ่งสารละลายเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่มา 40 มิลลิลิตร ใส่กรวยแยกเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 80 มิลลิลิตร (อุ่นที่ 40-50 องศาเซลเซียส) แล้วเติมเฮกเซน 40 มิลลิลิตร

3.10.4 เขย่าแล้วทิ้งไว้จนแยกชั้น แยกชั้นเฮกเซนออกจากสารละลายของเมทานอลและแอมโมเนียมซัลเฟต

3.10.5 เติมคลอโรฟอร์มลงในสารละลายที่เหลือจำนวน 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วแยกชั้นคลอโรฟอร์มออกมาทำซ้ำอีกครั้ง

3.10.6 นำสารละลายคลอโรฟอร์ม ที่มีอะฟลาทอกซินละลายอยู่ มาระเหยภายใต้สุญญากาศ โดยใช้เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ(ภาคผนวก ก) จนแห้ง

3.10.7 เติมส่วนผสมของคลอโรฟอร์มกับเฮกเซนในอัตราส่วน 3 ต่อ 7 (3 : 7) ลงไป 10 มิลลิลิตร

3.10.8 นำสารละลายที่ได้มาผ่าน Lichrolut Column Chromatography หลังจากนั้นล้างคอลัมน์ โดยใช้ เฮกเซน 10 มิลลิลิตร แล้วใช้ส่วนผสมของเบนซินกับกรดแอซีติกในอัตราส่วน 95.5 ต่อ 4.5 (95.5 : 5) จำนวน 10 มิลลิลิตร ล้างผ่านครั้งสุดท้ายด้วยส่วนผสมของเอทิลอีเทอร์กับเฮกเซน ในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 จำนวน 10 มิลลิลิตร

3.10.9 หลังจากนั้นชะล้างอะฟลาทอกซิน โดยใช้สารละลายไดคลอโรมีเทนกับอะซีโตนในอัตราส่วน 9 ต่อ 1 (9 : 1) จำนวน 15 มิลลิลิตร ล้างผ่านคอลัมน์

3.10.10 นำสารที่ได้ไประเหยภายใต้สุญญากาศจนแห้ง แล้วนำไปวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.11 การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินโดยใช้เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

นำเมทานอล 1 มิลลิลิตร ละลายอะฟลาทอกซินที่อยู่ในขวดตัวอย่างแล้วกรองผ่าน membrane filter (millipore) 0.45 ไมโครเมตร ใส่ในขวดเล็ก (vial) แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ใช้ UV spectrophotometric detector SPD-6A 365 นาโนเมตร Absorbance 0.02 ใช้คอลัมน์ reverse phase C_{18} ขนาด 4.9 × 25 เซนติเมตร flow rate ใช้ 1 มิลลิลิตรต่อนาที mobile phase ใช้อัตราส่วนของเมทานอล : น้ำ : กรดแอซีติกเป็น 30 : 63 : 7 บันทึกโครมาโทแกรมของอะฟลาทอกซิน B_1 และ G_1 ประมาณนาทีที่ 12 และ 20 แล้วใช้ data module model C-R6A Chromatopac เป็น integrator คำนวณค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานโดยดูจาก peak area และ retention time

3.12 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปวน (Analysis of Variance) ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อค เพื่อหาผลของระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ต่อการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* (กานดา. 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดสอบการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ในจานเพาะเชื้อบนอาหาร PDA

จากการศึกษาการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *G. lucidum* โดยเลี้ยงเห็ด *G. lucidum* ก่อนเป็นเวลา 0 , 1 , 3 , 5 และ 7 วัน แล้ววัดการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อร่วมกันเป็นเวลา 3 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันจะลดลงจาก 4.910 เซนติเมตร เป็น 4.350, 4.325, 4.205, 3.490 และ 0 เซนติเมตร ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในการเลี้ยงเชื้อร่วมกันเป็นเวลา 5 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันจะลดลงจาก 7.520 เซนติเมตร เป็น 5.705, 5.625, 5.230, 4.195 และ 0 เซนติเมตร ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และการเลี้ยงเชื้อร่วมกันเป็นเวลา 7 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันจะลดลงจาก 9.000 เซนติเมตร เป็น 6.730, 6.575, 5.800, 4.270 และ 0 เซนติเมตร ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่พบว่าในการเลี้ยงเชื้อร่วมกันเป็นเวลา 1 และ 2 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0 วันจะลดลงจาก 2.010 และ 3.440 เซนติเมตรเป็น1.607 และ 3.215 เซนติเมตรตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราจะเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 1 และ 3 วันหลังจากนั้นเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราจะลดลงตามลำดับและจะลดเป็น 0 เซนติเมตรในวันที่ 7 ในทำนองเดียวกัน การเลี้ยงเชื้อร่วมกันเป็นเวลา 4 และ 6 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0 วันจะลดลงจาก 6.240 และ 8.880 เซนติเมตรเป็น 4.650 และ 6.210 เซนติเมตรตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม หลังจากนั้นเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราจะเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 1 วัน และหลังจากการเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 1 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราจะลดลงตามลำดับและจะลดเป็น 0 เซนติเมตรในวันที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองข้างต้น พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จนครบ 7 วันลักษณะการเจริญของเชื้อเห็ด *G. lucidum* โดยการเลี้ยงเชื้อเห็ดเป็นเวลา 0 และ 1 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* โคโลนีของเชื้อเห็ดจะเจริญมาพบกับโคโลนีของเชื้อราบริเวณกลางจานเพาะเชื้อ และเมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ดเป็นเวลา 3 และ 5 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อราโคโลนีของเชื้อเห็ดจะเจริญโอบล้อมโคโลนีของเชื้อรา ส่วนการเลี้ยงเชื้อเห็ด 7 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อราจะไม่พบการเจริญของเชื้อราเลย และจะไม่พบการเจริญของเชื้อราบนเส้นใยของเชื้อเห็ดทุกระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ดร่วมกับเชื้อรา และจากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* และเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียวบนอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อแล้ววัดการเจริญโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทั้ง 2 จนครบ 7 วัน พบว่าระยะแรกของการเลี้ยงเชื้อ เชื้อเห็ดจะเจริญอย่างช้าๆ และเมื่อถึงช่วงเวลาหนึ่งเชื้อเห็ดจะเจริญได้เร็วกว่าเชื้อรา ดังตารางที่ 4.2 พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดจะมีทั้งเพิ่มขึ้นและลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราและภายหลังจาก 3 วัน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ดจะมีขนาดใหญ่กว่าของเชื้อรา และภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อทั้งสองจนครบ 7 วัน ลักษณะการเจริญของเชื้อเห็ดจะเจริญจนล้นจานเพาะเชื้อในขณะที่เชื้อราจะเจริญเต็มจานเพาะเชื้อเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* (เซนติเมตร) จำแนกตามระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* และระยะเวลาที่เลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* (วัน)	ระยะเวลาที่เลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* (วัน)					
	ชุดควบคุม [a]	0	1	3	5	7
1	2.010	1.607	2.075	2.170	2.130	0
2	3.440	3.215	3.410	3.418	2.950	0
3	4.910	4.350	4.325	4.205	3.490	0
4	6.240	4.950	5.125	4.590	3.880	0
5	7.520	5.705	5.625	5.230	4.195	0
6	8.880	6.210	6.270	5.490	4.270	0
7	9.000	6.730	6.575	5.800	4.270	0

a ชุดควบคุม คือ การเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียว

0 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G.lucidum* พร้อมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

1 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G.lucidum* 1 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

3 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G.lucidum* 3 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

5 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G.lucidum* 5 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

7 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G.lucidum* 7 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร) ของเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* และเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA จนครบ 7 วัน

ระยะเวลา (วัน)	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ด *G. lucidum* (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* (เซนติเมตร)
1	1.956	2.010
2	3.849	3.440
3	4.501	4.910
4	6.624	6.240
5	8.380	7.520
6	9.000	8.880
7	9.000	9.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดสอบการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ในข้าวฟ่าง

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* ในข้าวฟ่าง โดยเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในข้าวฟ่างเป็นเวลา 0 , 1 , 3 , 5 และ 7 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* แล้วตรวจวัดปริมาณอะฟลาทอกซินที่เชื้อรา *A. parasiticus* สร้างขึ้นในข้าวฟ่างโดยเครื่อง HPLC ดังตารางที่ 4.3 พบว่าชนิดของอะฟลาทอกซินที่เชื้อรา *A. parasiticus* สร้างขึ้นในข้าวฟ่างเป็น B_1 และ G_1 โดยจะไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซิน B_2 และG_2 และพบว่าการเลี้ยงเชื้อร่วมกันในวันที่ 7 มีปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด เมื่อเลี้ยงเชื้อรา่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันเป็น 2.701, 3.356, 2.279, 0.778 และ 0 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดของชุดควบคุมเป็น 3.719 ไมโครกรัมต่อกรัม การเลี้ยงเชื้อร่วมกันในวันที่ 14 มีปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด เมื่อเลี้ยงเชื้อราร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันเป็น 6.852, 5.076, 4.015, 1.382 และ 0 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดของชุดควบคุมเป็น 19.085 ไมโครกรัมต่อกรัม ในวันที่ 21 มีปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด เมื่อเลี้ยงเชื้อราร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันเป็น 14.369, 9.345, 7.610, 4.674 และ 0 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณ อะฟลาทอกซินทั้งหมดของชุดควบคุมเป็น 27.044 ไมโครกรัมต่อกรัม ในวันที่ 28 มีปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด เมื่อเลี้ยงเชื้อราร่วมกับเชื้อเห็ดที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วันเป็น 19.235, 13.715, 12.748, 7.990 และ 0 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมดของชุดควบคุมเป็น 36.760 ไมโครกรัมต่อกรัม

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.3 เมื่อนำมาเขียนกราฟเพื่อสังเกตรูปแบบการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในเมล็ดข้าวฟ่างดังรูปที่ 4.1 พบว่าการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราในชุดควบคุมจะเพิ่มขึ้น ตั้งแต่การเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ถึง 28 วัน โดยปริมาณอะฟลาทอกซินสูงสุดในการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน เท่ากับ 36.760 ไมโครกรัมต่อกรัม ส่วนปริมาณอะฟลาทอกซินในการเลี้ยงเชื้อเห็ดเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 5 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา จะเพิ่มขึ้น ตั้งแต่การเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ถึง 28 วัน เช่นเดียวกับชุดควบคุม แต่จะมีปริมาณน้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งปริมาณอะฟลาทอกซินสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 19.235 ไมโครกรัมต่อกรัม ที่การเลี้ยงร่วมกันเป็นเวลา 28 วันของการเลี้ยงเชื้อเห็ด 0 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา และพบว่าการเลี้ยงเชื้อเห็ด 7 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อราจะไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซินตั้งแต่วันที่ 7 ถึงวันที่ 28

จากการทดลองข้างต้น พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จนครบ 28 วัน ลักษณะการเจริญของเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในการเลี้ยงเชื้อเห็ดเป็นเวลา 0 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา โคโลนีของเชื้อเห็ดจะเจริญได้เพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับเชื้อรา แต่หลังจากการเลี้ยงเชื้อเห็ด 0 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา เชื้อเห็ดจะแผ่ขยายโคโลนีใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ ตามลำดับ และจะเจริญจนเกือบเต็มถุงพลาสติกในการเลี้ยงเชื้อเห็ดเป็นเวลา 7 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณอะฟลาทอกซิน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ที่เชื้อรา *Aspergillus parasiticus* สร้างขึ้นจำแนกตามระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* (วัน)	ระยะเวลาในการเลี้ยงเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* (วัน)																	
	ชุดควบคุม[1]			0			1			3			5			7		
	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_1	รวม	B_1	G_2	รวม
7	2.766	0.953	3.719	1.938	0.763	2.701	2.590	0.766	3.356	1.793	0.486	2.279	0.778	0	0.778	0	0	0
14	16.177	2.908	19.085	4.634	2.218	6.852	3.302	1.774	5.076	2.532	1.483	4.015	1.382	0	1.382	0	0	0
21	21.119	5.925	27.044	9.123	5.246	14.369	5.979	3.365	9.345	5.424	2.186	7.610	3.233	1.441	4.674	0	0	0
28	28.553	8.207	36.760	13.094	6.141	19.235	8.681	5.034	13.715	8.416	4.332	12.748	5.679	2.311	7.990	0	0	0

1 ชุดควบคุม คือ การเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียว

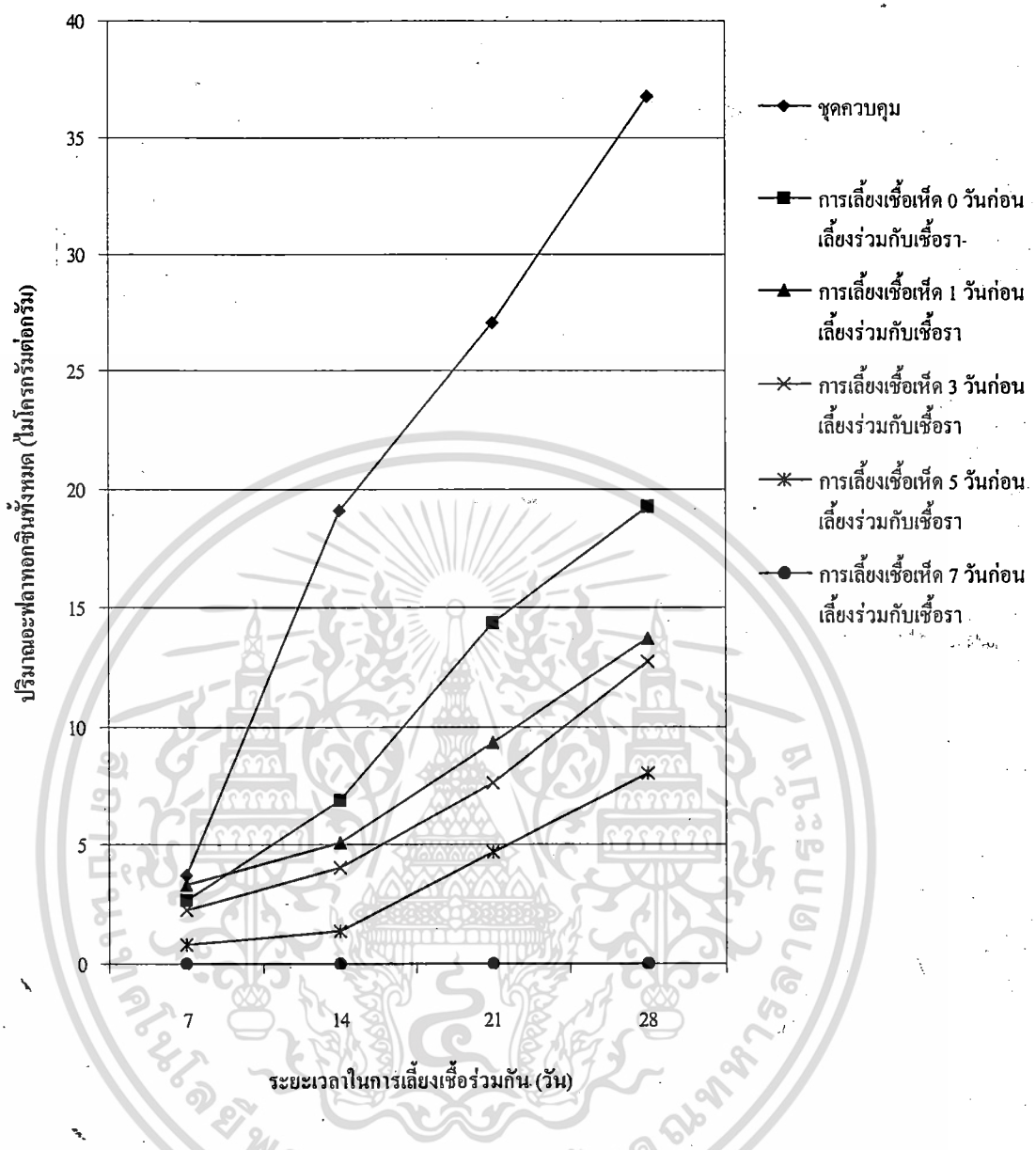
0 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* พร้อมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

1 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 1 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

3 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 3 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

5 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 5 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

7 คือ การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 7 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*



รูปที่ 4.1 ปริมาณอะฟลาทอกซินทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อกรัม) ที่เชื้อรา *Aspergillus parasiticus* สร้างขึ้น เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ณ วันต่างๆ ในเมล็ดข้าวฟ่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

4.4.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *G.lucidum* ในจานเพาะเชื้อบนอาหาร PDA

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน ดังตารางที่ 4.4 พบว่า ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* มีผลต่อการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.5 พบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* ในชุดควบคุมจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *G. lucidum* แสดงว่าเชื้อเห็ด *G. lucidum* สามารถยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* ได้ โดยในระยะเวลา ในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 0, 1, 3 และ 5 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา*A. parasiticus* จะให้ผลในการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 7 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จะให้ผลในการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 0, 1, 3 และ 5 วันก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* ดังนั้นระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมเชื้อรา *A. parasiticus* ที่ดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* คือ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร) ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* บนอาหาร PDA โดยเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* ณ วันต่าง ๆ

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	5	146.465748	29.292549	26.096277**
Block	6	67.007885	11.167980	
Error	30	33.674429	1.122480	
Total	41	247.148062		

Treatment คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

Block คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* (เซนติเมตร) เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ณ วันต่าง ๆ

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* (วัน)	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อรา *A. parasiticus* (เซนติเมตร)
7 วัน	0.000
5 วัน	3.598[a]
3 วัน	4.413[a]
1 วัน	4.772[a]
0 วัน	4.681[a]
ชุดควบคุม	5.897

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยในประชากรไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในข้าวฟ่าง

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.3 นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนดังตารางที่ 4.6 พบว่า ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อนำค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินรวมที่เชื้อรา *A. parasiticus* สร้างขึ้นมาเปรียบเทียบกันโดยใช้วิธี DMRT ดังตารางที่ 4.7 พบว่า ชุดควบคุมจะมีปริมาณอะฟลาทอกซินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับปริมาณอะฟลาทอกซินที่เชื้อรา *A. parasiticus* สร้างขึ้นเมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *G. lucidum* แสดงว่าเชื้อเห็ด *G. lucidum*สามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* ในข้าวฟ่าง โดยที่ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 0, 1, 3 และ 5 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จะให้ผลในการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* 3, 5 และ 7 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จะให้ผลในการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและให้ผลในการยับยั้งได้ดีที่สุด แต่ในทางการค้า การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในข้าวฟ่าง เชื้อเห็ด *G. lucidum* จะเจริญเต็มขวดข้าวฟ่างในวันที่ 8-10 ของการเพาะเลี้ยง ก่อนจะถูกนำไปใช้ต่อในก้อนขี้เลื่อย ดังนั้นระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ตั้งแต่ 3 วัน ขึ้นไปก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จะให้ผลดี ในการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอะฟลาท็อกซินรวม (ไมโครกรัมต่อกรัม) ที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ในเมล็ดข้าวฟ่าง โดยเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* ณ วันต่าง ๆ

SOV	DF	SS	MS	F
Treatment	5	1108.526407	221.705281	9.473386**
Block	3	561.453202	187.151067	
Error	15	351.044396	23.402960	
Total	23	2021.024005		

Treatment คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

Block คือ ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินรวม(ไมโครกรัมต่อกรัม) ของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ในข้าวฟ่าง เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* ณ วันต่าง ๆ

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* (วัน)	ค่าเฉลี่ยของปริมาณอะฟลาทอกซินรวม ของเชื้อรา *A.parasiticus* (ไมโครกรัมต่อกรัม)
7 วัน	0.000 [b]
5 วัน	3.706 [ab]
3 วัน	6.663 [ab]
1 วัน	7.873 [a]
0 วัน	10. 749 [a]
ชุดควบคุม	21.652

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยในประชากรไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาถึงผลของการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* บนอาหาร PDA โดยใช้เชื้อเห็ด *Ganoderma lucidum* พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* เป็นเวลา 0 , 1 , 3 , 5 และ 7 วัน ก่อนเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเชื้อเห็ด *G. lucidum* สามารถเจริญและปรับตัวบนอาหาร PDA ได้เร็วกว่าเชื้อรา *A. parasiticus* เมื่อใส่เชื้อรา *A. parasiticus* ลงไป เชื้อเห็ด *G. lucidum* ซึ่งเจริญอยู่ก่อนแล้วจะแผ่ขยายโคโลนีเข้ามาใกล้กับโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* เมื่อโคโลนีของเชื้อทั้ง 2 เจริญมาชนกัน เส้นใยของเชื้อเห็ด *G. lucidum* จะโอบล้อมโคโลนีของเชื้อรา *A. parasiticus* และทำให้เชื้อรา *A. parasiticus* เจริญต่อไปไม่ได้ โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* เป็นเวลา 7 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* เส้นใยของเชื้อเห็ด *G. lucidum* จะเจริญแผ่ขยายจนเต็มจานเพาะเชื้อ ดังนั้นเมื่อใส่เชื้อรา *A. parasiticus* ลงไปจะไม่พบการเจริญของเส้นใยเกิดขึ้น เนื่องจากเส้นใยของเชื้อเห็ด *G. lucidum* ได้เจริญปกคลุมผิวหน้าอาหาร PDA ไว้ ประกอบกับลักษณะเส้นใยของเชื้อเห็ด *G. lucidum* ที่เจริญบนอาหาร PDA มีการเจริญที่แน่นและเหนียว (สาธิต. 2539) ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *A. parasiticus* ไม่สามารถเจริญทะลุเส้นใยของเชื้อเห็ด *G. lucidum* ลงไปพบอาหาร PDA ทำให้ไม่รับสารอาหาร เชื้อรา *A. parasiticus* จึงไม่สามารถเจริญได้ ซึ่งเมื่อทดลองเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* และเชื้อรา *A. parasiticus* เพียงชนิดเดียวบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อเห็ด *G. lucidum* จะเจริญจนล้นออกมาที่ขอบจานเพาะเชื้อ ส่วนเชื้อรา *A. parasiticus* จะเจริญเต็มจานเพาะเชื้อเท่านั้น แสดงว่าเชื้อเห็ด *G. lucidum* สามารถพัฒนาและปรับตัวได้ดีกว่าเชื้อรา *A. parasiticus* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA

การศึกษาการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในข้าวฟ่าง จะพบอะฟลาทอกซินชนิด B_1 และ G_1 เท่านั้น โดยจะพบอะฟลาทอกซินชนิด G_1 มากกว่า B_1 โดยระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* เป็นเวลา 0 , 1 , 3 , 5 และ 7 วัน ก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* จะให้ผลในการยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการแข่งขันการใช้สารอาหารของเชื้อทั้ง 2 ชนิด ซึ่งการทดลองนี้ได้เลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในข้าวฟ่างก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* ทำให้เชื้อเห็ด *G. lucidum* ปรับตัวและเพิ่มความหนาแน่นบนเมล็ดข้าวฟ่างได้มากกว่าเชื้อรา *A. parasiticus* เป็นผลทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อเห็ด *G. lucidum* ครอบครองพื้นที่บนเมล็ดข้าวฟ่างได้มากกว่า เชื้อรา *A. parasiticus* จึงเจริญและสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Aziz และ Shahin.1997 ที่ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อรา *A. flavus* ในข้าวโพดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับเชื้อราชนิดต่างๆ พบว่าเชื้อรา *A. niger* และ *Trichoderma viride* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus* ได้ถึง 87 และ 66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเชื้อรา *A. niger* หรือ *T. viride* เป็นเวลา 72 ชั่วโมงก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. flavus* พบว่าปริมาณอะฟลาทอกซิน B_1 ในเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อจะลดลงจาก 700 พีพีบี เหลือ 160 และ 140 พีพีบี ตามลำดับ ส่วนในเมล็ดข้าวโพดที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจะไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซิน B_1 เลย และจากทดลองพบว่า การเลี้ยงเชื้อเห็ด *G. lucidum* บนข้าวฟ่างก่อนการเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. parasiticus* เป็นเวลา 7 วัน จะไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา เนื่องจากเชื้อเห็ด *G. lucidum* ได้เจริญและครอบครองพื้นที่ในเมล็ดข้าวฟ่างจนเกือบเต็มถุงเมื่อใส่เชื้อรา *A. parasiticus* ลงไปจึงเหลือพื้นที่ในเมล็ดข้าวฟ่างให้เชื้อรา *A. parasiticus* เจริญได้เพียงเล็กน้อย อะฟลาทอกซินที่เชื้อรา *A. parasiticus* สร้างขึ้นจึงไม่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hill *et al.* 1985 ที่พบว่า เมื่อสัดส่วนของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* เป็น 19 ต่อ 1 จะตรวจพบการสร้างอะฟลาทอกซิน แต่เมื่อสัดส่วนของเชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* เป็น 9 ต่อ 1 จะไม่พบการสร้างอะฟลาทอกซินเกิดขึ้น อีกทั้งลักษณะการเจริญของเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในเมล็ดข้าวฟ่าง มีการเจริญปกคลุมเมล็ดข้าวฟ่างจนมิดชิดและรัดตัวจนแน่น (อานนท์. 2541) ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *A. parasiticus* ไม่สามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อเห็ด *G. lucidum* ในการครอบครองเมล็ดข้าวฟ่างได้ จึงส่งผลให้มีการสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* ในเมล็ดข้าวฟ่างเพียงชนิดเดียว

การสร้างอะฟลาทอกซินโดยเชื้อรา *A. parasiticus* ในเมล็ดข้าวฟ่างจะน้อยกว่าการเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* ในเมล็ดข้าวโพด หรือในเมล็ดธัญพืชชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเมล็ดข้าวฟ่างมีสารแทนนิน (tannin) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งพบอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่างประมาณ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ประสิทธิ์. 2529) โดย Lansden (1982) รายงานว่า สารแทนนินที่สกัดได้จากผิวของเมล็ดธัญญพืช จะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. parasiticus* ในอาหาร PDA และสามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* ในอาหารเหลวได้ ในทำนองเดียวกัน Azaizch *et al.* (1990) ได้ทดลองใช้สารแทนนินผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา *A. parasiticus* พบว่าการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อราจะลดต่ำลง และในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้ข้าวฟ่างที่ผ่านการต้ม ผึ่งลม และ นึ่งฆ่าเชื้อมาแล้ว มีความชื้นในเมล็ดเริ่มต้น 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเห็ด *G. lucidum* แต่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *A. parasiticus* โดยความชื้นที่เหมาะสมต่อการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกเหลืองแถวๆ ใต้ดอกเห็ด (สาธิต. 2539) สาเหตุที่เชื้อราสามารถเจริญบนดอกเห็ดหลินจือได้เนื่องจากดอกเห็ดหลินจือได้ตายลงภายหลังจากการเก็บเกี่ยวจากก้อนขี้เลื่อยทำให้ไม่มีการผลิตสารบางชนิดที่ดอกเห็ดหลินจือสร้างขึ้นเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น เชื้อราจึงสามารถเจริญบนดอกเห็ดหลินจือได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กานดา พูนลาภทวี. 2530. **สถิติเพื่อการวิจัย.** กรุงเทพฯ : ฟิสิกส์เซ็นเตอร์.

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2539. **การเพาะเห็ดหลินจือ.** กรุงเทพฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และคณะ. 2539. "การยับยั้งการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินในระหว่างการผลิตเทมเป้". **วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.** 12(2) : 8-15.

ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2524. **อะฟลาทอกซิน (สารพิษจากเชื้อราที่ทำให้เกิดมะเร็งตับ).** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.

ธีรยุทธ เวชรัชต์พิมล. 2529. "อาหารสัตว์และ Aflatoxin." **ธุรกิจอาหารสัตว์.** 3(7) : 65-69.

นรสีห์ ตระกูลช่าง. 2520. "เชื้อราบ่อนทำลายเศรษฐกิจ." **แก่นเกษตร.** 5(6) : 269.

นิธิยา รัตนาปนนท์ และวิบูลย์ รัตนาปนนท์. 2543. **สารพิษในอาหาร.** โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2529. **ข้าวฟ่าง.** ขอนแก่น : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

รณภพ บรรเจิดเชิดชู. 2530. "เชื้อราในโรงเก็บสารพิษอะฟลาทอกซินและการควบคุมด้วยสารเคมีบนเมล็ดข้าวโพด." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2539. **เห็ดกินได้และเห็ดมีพิษในประเทศไทย ฉบับราชบัณฑิตยสถาน.** กรุงเทพฯ : อมรินทร์ พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง.

สุรพล รักปทุม และชวลิต สันติกิจรุ่งเรือง. 2539. **เห็ดหลินจือ.** กรุงเทพฯ : ที.พี. พริ้นท์.

สาธิต ไทยทัตกุล. 2538 ก. **เห็ดหลินจือ เห็ดหมื่นปี เห็ดสมุนไพรใช้รักษาโรค.** กรุงเทพฯ : วิชา.

สาธิต ไทยทัตกุล. 2538 ข. **เห็ดหลินจือสมุนไพรไทยใช้ในการรักษาโรค.** กรุงเทพฯ : สหายบล็อกและการพิมพ์.

สาธิต ไทยทัตกุล. 2539. **การเพาะเห็ดหลินจือ.** กรุงเทพฯ : ฟ้าอภัย.

เสาวรส อิ่มวิทยา. 2526. "แอฟฟล่าทอกซิน." **วารสารสุขภาพ.** 1(10) : 38-42.

อานนท์ เอื้อตระกูล. 2541. **การเพาะเห็ดหลินจือ.** กรุงเทพฯ : ฟ้าอภัย.

Ashworth, L.J. et al. 1965. "Aflatoxin : Environmental factors governing occurrence in Spanish Peanuts." **Sci.** 148 : 1228-1229.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Azaizeh, H.A. et. al. 1990. "Effect of peanut tannin extracts on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production." **Mycopathol.** 21 : 125-132.

Aziz, N.H. and Shahin, A.A. 1997. "Influence of other fungi on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in maize kernels." **J. Food Safety.** 17 : 113-123.

Bressac, J. P. et al. 1991. "Selective G to T mutation of *p*53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa." **Nature.** 350 : 429-430.

Blount, W.R. 1961. "Turkey X disease." **Turkeys.** 9 : 52.

Bothast, R. J. et al. 1974. "Microbiology of corn and milled corn products." **Corn and Corn Products.** 51 : 829-838.

Chang, H.M. and But, P.P. 1986. **Phamacology and application of chinese materia medica.** 1. Singapore : World Scientific.

Christensen, C.M. and Mirocha, C.J. 1976. "Relation of relative humidity to the invasion of rough rice by *Aspergillus parasiticus*." **Phytopathol.** 66 : 204-205.

Ciegler, A. et al. 1966. "Microbial detoxification of aflatoxin." **Appl. Microbiol.** 14 : 934-939.

Cole, R.J. and Kirksey, J.W. 1997. "Aflatoxin G_1 metabolism by *Rhizopus* species." **J. Agr. Food Chem.** 19 : 222-223.

Cook, R.J. and Baker, K.R. 1983. The nuture and practice of biological control of plant pathogens. The America Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota. 533p.

Cuero, R.C. et. al. 1987. "Stimulation by *Hyphopichia burtonii* and *Bacillus amyloliquefaciens* of aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in irradiated maize and rice grains." **App. Environ. Microbiol.** 53 : 1142-1146.

Davis, N.D. et al. 1966. "Production of aflatoxin B and G *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium." **Appl. Microbiol.** 14 : 378-380.

Diener, U.L. and Davis, N.D. 1970. "Limiting temperature and relative humidity for aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts." **J. Am. Oil. Chem. Soc.** 47 : 347-351.

Diener, U. L. et al. 1987. "Epidermiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*." **Ann. Rev. Phytopath.** 25 : 249-270.

Dvorackova I. 1990. **Aflatoxin and Human Health.** Florida : CRC Press, Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

El-Gendy, S.M. and Marth, E.H. 1981. "Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in the presence of *Lactobacillus casei*." **J. Food Prot.** 44 : 211-217.

Flores-Galrza, R.A. et. al. 1985. "Preservation of high-moisture corn by microbial fermentation." **J. Food Prot.** 48 : 407-411.

Glinsukon, T. et al. 1976. "Studies on the population of toxigenic fungi in market foods and foodstuffs. I. Mycoflora contamination." **J. Sci. Soc. Thailand**. 2 : 176.

Goto T.E. et al. 1996. "Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain." **Appl. Environ. Microbiol.** 62 : 4036-4038.

Griffin, D. H. 1993. **Fungal Physiology.** 2nd ed. New York : Wiley-Liss,Inc.

Gupta, S.K. et al. 1976. "Effect of zinc on adenine nucleotide pools in relation to aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus parasiticus*." **Appl. Env. Microbiol.** 32 : 753-756.

Hill, R. A. et al. 1985. **Trichothecenes and Other Mycotoxin.** Chichester : John Wiley.

Horn, B.W. and Wicklow, D.T. 1983. "Factors influencing the inhibition of aflatoxin production in corn by *Aspergillus niger*." **Car. J. Microbiol.** 29 : 1087-1091.

Hou, C. et al. 1988. "Chemical constituments of the spore from *Ganoderma lucidum*." **Acta Bot. Sin.** 22 : 837-840.

Hsu, I. C. et al. 1991. "Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas." **Nature**. 350 : 427-428.

Hunter, J.H. 1969. "Growth and aflatoxin production in shelled corn by the *Aspergillus flavus* group as related to relative humidity and temperature." Ph.D. Thesis of Purdue University, West Lafayette.

Jarvis, B. 1971. "Factors affecting the production of mycotoxin." **J. Appl. Bacteriol.** 34 : 199-213.

Keanjak, A. 1984. Improved *Aspergillus* mutants of source production : International Congress of Culture Collections. Bangkok : Poster session abstract.

Kimura, N. and Hirano, M. 1988. "Inhibitiory strains of *Becillus subtilis* for growth and aflatoxin production of aflatoxigenic fungi." **Agric. Biol. Chem.** 52 : 1173-1179.

Kohda, H. et al. 1985. "The biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (FR.) KARST. Histamine release-inhibitory triterpenes." **Chem. Pharm. Bull.** 33(4) : 1367-1374.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kurtzman, C. P. et al. 1986. "DNA relatedness among wild and domesticated species in the *Aspergillus flavus* group." **Mycologia.** 78 : 955-959.

Kurtzman, C.P. et al. 1987. "*Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*." **Ann. van Leeuw.** 53 : 147-158.

Lansden, J.A. 1982. "Aflatoxin inhibition and fungistasis by peanut tannins." **Peanut Sci.** 9 : 17-20.

Landers, K.E. et al. 1967. "Influence of atmospheric gases on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts." **Phytopathol.** 57 : 1086-1090.

Lin, M.T. and Dianese, J. C. 1976. "Coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp." **Phytopathol.** 66 : 1466-1469.

Marth, E.H. and Calanog, B.G. 1976. **Food Microbiology : Public Health and Spoilage Aspects**. Connecticut : AVI Publishing.

Miyazaki, T. and Nishijima, M. 1981. "Studies on fungal polysaccharide. XXVII. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*." **Chem. Pharm. Bull.** 29(12) : 3611-3616.

Munimbazi, C. and Bullerman, L.B. 1998. "Inhibition of aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by *Bacillus pumilus*." **Mycopathol.** 140 : 163-169.

Pitt, J. I. 1989. **Aflatoxin Contamination of Groundnuts.** India : Patancheru.

Pomeranz, Y and Meloan, C.E. 1994. **Food Analysis : Theory and Practice.** 3 rd ed. New York : Chapman and Hall.

Ramakrishna, N. et al. 1996. "*Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin B_1 formation in barley grain during interaction with other fungi." **Mycopathol.** 136 : 53-63.

Reddy, T.V. et al. 1971. "High aflatoxin production on a chemically defined medium." **Appl. Microbiol.** 22 : 393-396.

Sargeant, K. et al. 1961 a. "The assay of a toxic principle in certain groundnut meals." **Vet. Record.** 73 : 1219.

Sargeant, K. et al. 1961 b. "Toxicity associated with certain samples of groundnut." **Nature.** 192 : 1096.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sauer, D.B. and Burroughs, R. 1980. "Fungal growth, aflatoxin production, and moisture equilibration in mixtures of wet and dry corn." **Phytopathol.** 70 : 516-521.

Sauer, D.B. and Tuite, J. 1986. "Conditions that affect growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxin in stored corn." 14.in **US-AID/CIMMWT aflatoxin workshop.** Mexico : El Batan.

Seitz, L.M. and Mohr, H.E. 1977. A new method for quantitation of aflatoxin in corn. **Cereal Chem.** 54 : 179-183.

Shiao, M.S. et al. 1994. "Natural production and biological activities of the Chinese medicinal fungus *Ganoderma lucidum*." **Food Phytochemicals 2.** 342-354.

Shin, et al. 1986. "Studies on constituents of higher fungi of Korea. Part XLIII. Studies on inorganic composition and immunopotentiating activity of *Ganoderma lucidum* in Korea." **Saengyak Hakhoechi.** 16 : 181-190.

Sone, Y. et al. 1985. "Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*." **Agric. Biol. Chem.** 49(9) :2641-2653.

Sorenson, W.G. et al. 1967. "Effect of temperature on production of aflatoxin on rice by *Aspergillus flavus*." **Mycopath. Mycol. Appl.** 33 : 49-55.

Sugai, T. et al. 1986. "Pyrophosphatidic acid in mushroom." **Lipids.** 21 : 666-668.

Taylor, W.J. and Draughon, F.A. 2001. "*Nannocystis exedens* : A potential biocompetitive agent against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*." **J. Food Prot.** 64 : 1030-1034.

Thanaboripat, D. et al. 1997. "Detoxification of aflatoxin by *Streptococcus lactis* and lactic acid bacteria in commercial yoghurt." **Kasetsart J. 31 : 117-123.**

Torres, J. et al. 1980. "Morphological changes in strains of *Aspergillus flavus* Link Exfries and *Aspergillus parasiticus* Spears related with aflatoxin production." **Mycopathol.** 72(3) : 171-174.

Wang, H. L. and Hesseltine, C. W. 1982. **Prescott and Dunn Industrial Microbiology.** 4th ed. Connecticus : Westport.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, G. et al. 1993. "Antitumor active polysaccharides from the chinese mushroom songshan lingzhi, the fruiting body of *Ganoderma tsugae*." **Biosci. Biotech. Biochem.** 57(6) : 894-900.

Wichklow, D.T. et. al. 1980. "Interference competition and aflatoxin levels in corn." **Phytopathol.** 70 : 761-764.

Wicklow, D.T. et. al. 1988. "Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grown in a controlled environment." **Phytopathol.** 78 : 68-74.

Wiseman, D.W. and Marth, E.H. 1981. "Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of *Streptococcus lactis*." **Mycopathol.** 73 : 49-56.

Weckbach, L.S. and Marth, E.H. 1977. "Aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a competitive environment." **Mycopathol.** 62 : 39-45.

WHO. 1979. **Environmental Health Criteria II : Mycotoxins.** World Health Organization. Geneva.

Ying, J. et al. 1987. **Icones of medicinal fungi from China.** Translated by Yuehan, X. Beijing : Science Press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้