

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอย่างรวดเร็วของอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากฐานถึงเชื้อเห็ด
ด้วยวิธีอัลตราโซนิกโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

OPTIMAL CONDITIONS FOR RAPID ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION OF
ADENOSINE AND CORDYCEPIN FROM *CORDYCEPS MILITARIS* SPENT MUSHROOM
SUBSTRATE USING ECO-FRIENDLY SOLVENTS

สุนทรา เฟื่องฟู^{1*} สามารถ ต่ายขาว¹ ชวัลวิทย์ คุ่มทรัพย์¹ สุธิชา เละเซ็น¹
พนิดา หล่อวงศ์ตระกูล¹ พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร¹

Suntara Fueangfung^{1*}, Samart Taikhao¹, Chawanwit Kumsapaya¹, Suthisa Leasen¹,
Panida Lorwongtragool¹, Pitchaya Tangsombatvichit¹

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

¹ Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi

*E-mail ผู้รับผิดชอบบทความ (Corresponding Author): suntara.f@rmutsb.ac.th

วันที่รับบทความ 16 สิงหาคม 2568 วันที่แก้ไขบทความ 1 กันยายน 2568 วันที่ตอบรับบทความ 1 กันยายน 2568

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินอย่างรวดเร็วจากฐานถึงเชื้อเห็ด (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrate; SMSs) ด้วยวิธีอัลตราโซนิกโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยทำการศึกษ้อัตราส่วนตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ เอทานอล:น้ำ (0:100, 1:99, 2:98, 3:97, 4:96, และ 95:5) ระยะเวลาในการสกัด (15, 20, 25, และ 30 นาที) และอุณหภูมิในการสกัด (25, 40, 60, และ 80 องศาเซลเซียส) ภายใต้คลื่นความถี่อัลตราโซนิก 45 กิโลเฮิร์ตซ์ พบว่าเอทานอล:น้ำ 4:96 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ให้ผลการสกัดอะดีโนซีนสูงสุดที่ 4.16 ± 0.02 mg/kg น้ำหนักแห้ง และคอร์ไดเซปินได้สูงสุดที่ 640.31 ± 0.15 mg/kg น้ำหนักแห้ง สภาวะการสกัดดังกล่าวช่วยลดระยะเวลา ลดการใช้ตัวทำละลายที่มีพิษ เพิ่มประสิทธิภาพการสกัด เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการวางแผนแนวทางที่เหมาะสมต่อการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งจากการเพาะถึงเชื้อเห็ด และต่อยอดในการนำสารสกัดไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารฟังก์ชัน ยา และอาหารเสริมต่อไป

คำสำคัญ: ฐานถึงเชื้อเห็ด; อะดีโนซีน; คอร์ไดเซปิน; การสกัดอย่างรวดเร็วด้วยวิธีอัลตราโซนิก; ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

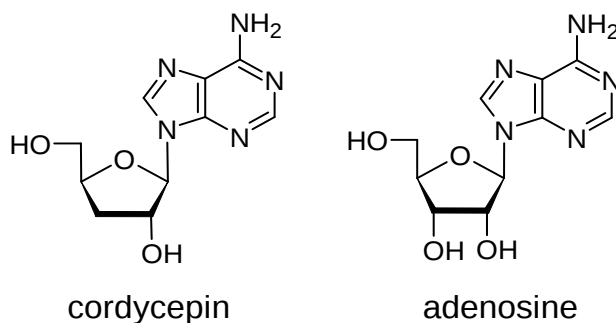
ABSTRACT

This study aimed to determine the optimal conditions for the rapid extraction of adenosine and cordycepin from *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (SMSs) using ultrasonic-assisted extraction with eco-friendly solvents. The effects of solvent ratios (ethanol: water at 0:100, 1:99, 2:98, 3:97, 4:96, and 5:95), time of extraction (15, 20, 25, and 30 minutes), and extraction temperatures (25, 40, 60, and 80 °C) were evaluated under an ultrasonic frequency of 45 kHz. The results showed that ethanol: water at 4:96, at 60 °C for 15 minutes, yielded the highest concentrations of adenosine (4.16 ± 0.02 mg/kg dry weight) and cordycepin (640.31 ± 0.15 mg/kg dry weight). These optimized extraction conditions reduce processing time, minimize the use of toxic solvents, and enhance extraction efficiency. The findings provide a foundation for the valorization of SMSs from *C. militaris* cultivation and the utilization of the extract for functional food, pharmaceuticals, and nutraceuticals.

Keywords: *Cordyceps militaris* spent mushroom substrates; adenosine; cordycepin; rapid ultrasonic-assisted extraction; eco-friendly solvents

1. บทนำ

ฐานังเชื้อเห็ดทอง (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrates, SMSs) เป็นวัสดุที่เหลือจากการเพาะเลี้ยงเห็ดทองซึ่งมีองค์ประกอบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตในรูปแป้ง พืช น้ำมัน และน้ำตาล โปรตีนในรูปของหนอนดักแด้และเปปไทด์ รวมทั้งสารอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเห็ดทอง เช่น สารสกัดจากยีสต์ วิตามิน และเกลือแร่ เป็นต้น [1] ฐานังเชื้อเห็ดทองยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ คอร์ดิเซปิน (cordycepin) และอะดีโนซีน (adenosine) (ภาพที่ 1) ในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับส่วนของดอก (stroma) ทำให้ฐานังเชื้อเห็ดทองกลายเป็นวัสดุเหลือทิ้ง ซึ่งเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงและนักวิจัยพยายามเพิ่มมูลค่าของฐานังเชื้อเห็ดทองให้มีราคาเพิ่มมากขึ้นโดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิด เช่น อาหารหมัก [2] ข้าวเกรียบ [3] โยเกิร์ต [4] อาหารสัตว์ [5,6] รวมทั้งสารสกัดเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเสริมและเครื่องสำอาง [7] เป็นต้น



ภาพที่ 1 โครงสร้างคอร์ดิเซปิน อะดีโนซีน

การสกัดคอร์ไดเซปินและอะดิโนซีนจากฐานถั่งเช่าสีทองนั้นทำได้หลายวิธีที่เหมือนกันกับการสกัดจากดอกถั่งเช่าสีทอง เช่น การแช่ตัวอย่างในตัวทำละลาย (maceration) [8] การสกัดด้วยวิธีรีฟลักซ์ (reflux extraction) [9] การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction, MAE) [10] การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic-assisted extraction, UAE) [11] เป็นต้น ซึ่งการสกัดด้วยวิธี UAE มีข้อดีมากกว่าการสกัดด้วยวิธีอื่น เช่น คลื่นอัลตราโซนิกช่วยให้ผนังเซลล์ตัวอย่างแตกตัวง่ายขึ้น ทำให้คอร์ไดเซปินและอะดิโนซีนหลุดออกจากเซลล์ได้มากขึ้น ลดเวลาในการสกัด สามารถสกัดได้ที่อุณหภูมิต่ำ ลดการสลายตัวของสารสำคัญ และใช้พลังงานและตัวทำละลายน้อยลง [12,13]

แนวคิดในเรื่องของตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Eco-friendly solvents) ได้รับความสนใจมาตั้งแต่ช่วงทศวรรษ 1990 จนถึงปัจจุบัน [14,15] ที่มุ่งเน้นการลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพจากการใช้สารเคมีที่เป็นตัวทำละลายดั้งเดิมมีความเป็นพิษสูง เช่น เฮกเซน เบนซีน ปีโตรเลียมอีเทอร์ ไดเอทิลอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม คาร์บอนไดซัลไฟด์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ ฯลฯ ซึ่งเอทานอลและน้ำถูกจัดเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้มากที่สุด [16, 17] โดยเฉพาะเอทานอลมีความปลอดภัยสูง หาซื้อง่ายในระดับความบริสุทธิ์สูง ราคาไม่แพง ละลายน้ำได้ดี และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ [18] เมื่อผนวกกับการใช้ตัวทำละลายดังกล่าวในการสกัดคอร์ไดเซปินและอะดิโนซีนจากฐานถั่งเช่าสีทอง สารสกัดยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ที่เกี่ยวข้องกับทางด้านยาและผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภคได้มากขึ้น จากการค้นคว้างานวิจัยที่มีการรายงานประสิทธิภาพของการสกัดคอร์ไดเซปินและอะดิโนซีนจากฐานถั่งเช่าสีทองนั้น พบการรายงานประสิทธิภาพในการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว รายงานประสิทธิภาพการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว และการสกัดโดยใช้เอทานอล: น้ำ อัตราส่วนในช่วง 10:90 ถึง 90:10 [7, 19] แต่ยังไม่มีการรายงานประสิทธิภาพในการสกัดโดยใช้เอทานอลในปริมาณร้อยละ 5 โดยปริมาตร หรือต่ำกว่า ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอย่างรวดเร็วของอะดิโนซีนและคอร์ไดเซปินจากฐานถั่งเช่าสีทองด้วยวิธีอัลตราโซนิกโดยใช้ตัวทำละลายที่ เอทานอล:น้ำ อัตราส่วนในช่วง 1:99 ถึง 5:95 เพื่อเป็นทางเลือกในกระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์จากฐานถั่งเช่าสีทองที่ทำได้รวดเร็ว ใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และยังเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของฐานถั่งเช่าสีทองอีกด้วย

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ถั่งเช่าสีทองมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า *North Cordyceps sinensis* เป็นราปรสิตที่เจริญเติบโตในตัวแมลง จัดอยู่ในจีนัส *Cordyceps* วงศ์ *Clavicipitaceae* และไฟลัม *Ascomycota* พบได้ในหลายพื้นที่ของประเทศจีนและประเทศในทวีปเอเชีย [20] ถั่งเช่าสีทองมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) กรดคอร์ไดเซปิก (cordycepic acid) และนิวคลีโอไซด์ที่สำคัญ ได้แก่ อะดิโนซีนและคอร์ไดเซปิน ซึ่งสารดังกล่าวมีคุณสมบัติต่อร่างกายหลายประการ เช่น ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและป้องกันการเสื่อมของเซลล์ในร่างกาย [21] ลดน้ำตาลในเลือด [22,23] ลดไขมันในเลือด [24] ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิด [25] ด้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง [26] และฟื้นฟูสมรรถนะทางเพศ [27]

การสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารตัวอย่างจากธรรมชาติ เป็นวิธีที่ประหยัดงบประมาณ ใช้เวลาในการสกัดน้อย ประหยัดตัวทำละลาย และสกัดสารที่สำคัญออกจากตัวอย่างได้ในปริมาณสูง เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยวิธีอื่น งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารออกฤทธิ์จากถั่งเช่าสีทองด้วยวิธีอัลตราโซนิกตัวอย่างเช่น การทดลองหาสภาวะในการสกัดคอร์ไดเซปินจากดอกถั่งเช่าสีทองอบแห้งโดยมีตัวแปรในการทดลอง

คือ ชนิดตัวทำละลาย ตัวทำละลายผสม อุณหภูมิ และคลื่นอัลตราโซนิก [28] การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดคอร์โดเซปิกจากตัวอย่าง *Cordyceps jiangxiensis*, *Cordyceps taii* และ *Cordyceps gunnii* การทดลองออกแบบให้อยู่ในรูปของออร์โธโกนัล (orthogonal experimental design) ซึ่งตัวแปรที่แปรผันในการทดลอง ได้แก่ ชนิดตัวทำละลาย เวลา และ จำนวนครั้งของการสกัดซ้ำ จากนั้นนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณกรดคอร์โดเซปิก โดยกระบวนการที่ทำให้เกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีของ polyols นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ [29] การสกัดพอลิแซคคาไรด์จากถั่งเช่าสีทองอบแห้งโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกกำลัง 300 วัตต์ ที่อุณหภูมิสูงในระยะเวลาอันสั้น [30] การศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในข้าว 4 ชนิด (ข้าวสังข์หยด ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมกระดังงา และข้าวเหนียวลิ้มผัว) โดยสกัดสารจากตัวอย่างเส้นใยในฐานถั่งเช่าสีทองและตัวอย่างดอกถั่งเช่าสีทองด้วยวิธีอัลตราโซนิก [31]

3. วิธีการวิจัย

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ คือ เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, USA) เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติชนิดปรับปริมาตร (Eppendorf, Germany) เครื่องปั่นตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Foss Tecator, Denmark) เครื่องปั่นเหวี่ยง ROTOFIX32 (Centrifuge) (Hettich, USA) เครื่องผสมสาร (Vortex) (Vortex-Genie 2, USA) เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic machine) (CREST Ultrasonics, USA) แผ่นกรองชนิดไนลอน ขนาดความละเอียด 0.45 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร (Whatman, UK) ใช้สำหรับกรองสารละลายและตัวทำละลายเคลื่อนที่ ตัวกรองเนื้อไนลอนที่มีความละเอียด 0.45 ไมครอน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร ตัวอย่าง สำหรับเครื่อง HPLC เป็นรุ่น Ultimate 3000 (Thermo Scientific, USA) ประกอบด้วยปั๊มความดันสูงสำหรับตัวทำละลาย (Pump) ระบบฉีดสารอัตโนมัติ (Autosampler) อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ (Thermostat column compartment) อุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณ (detector) ชนิด Diode array Detector (DAD) คอลัมน์ที่ใช้ในการแยกสาร เป็น Acclaim120 C18 ขนาด 5 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร ยาว 250 มิลลิเมตร สารเคมีที่ใช้ในการวิจัยนี้ ได้แก่ น้ำกลั่นปราศจากไอออน (doubled deionized water) ที่วัดค่าการนำไฟฟ้าประมาณ 18.2 เมกะโห์มต่อเซนติเมตร เมทานอล (methanol, HPLC grade) (RCILabsan, Thailand), เอทานอล (ethanol, absolute denatured grade) (CARLO ERBA Reagents, Italy), อะซิโตนไนไตรล์ (Acetonitrile, HPLC Grade) (RCILabsan, Thailand) สารมาตรฐานอะดีโนซีน (Adenosine, 99%) (Sigma, USA) สารมาตรฐานคอร์โดเซปิน (Cordycepin) (Sigma, USA)

3.2 การทำกราฟมาตรฐานอะดีโนซีนและคอร์โดเซปิน

เตรียมสารละลายมาตรฐานคอร์โดเซปิน และอะดีโนซีน ให้ได้ความเข้มข้น 10 20 30 40 50 และ 100 mg/L จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณในแต่ละความเข้มข้น ด้วยเครื่อง HPLC สภาวะเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่ใช้เป็นประเภท isocratic elution โดยตัวทำละลายคือ น้ำ:เมทานอล อัตราส่วน 90:10 (V/V) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณด้วย UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ปริมาตรสารที่ฉีด 20 ไมโครลิตร และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาทีต่อสารมาตรฐานหนึ่งความเข้มข้น นำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากโครมาโทแกรมมาสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3 การเตรียมตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้ง

เตรียมตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องที่ได้จากเก็บเกี่ยวจากการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ CAS เป็นเวลาสามเดือน จากบริษัทสมาร์ตคอร์ดี้ฟาร์ม (SmartCordy Farm) จำกัด โดยนำฐานถึงเข้าสู่ห้องสดมาหั่นให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยม นำมาอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการบดโดยใช้เครื่องปั่นให้เป็นผงละเอียด จากนั้นร่อนด้วยตะแกรงขนาด 100 เมช เพื่อให้ตัวอย่างมีขนาดเท่ากัน นำตัวอย่างใส่ถุงซิปล็อกและเก็บในโถดูดความชื้นเพื่อร่อนนำไปสกัดและวิเคราะห์

3.4 การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินจากตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิค

กระบวนการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Wang และคณะ (2014) [11] โดยชั่งตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้ง 0.2 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมตัวทำละลายปริมาตร 4 มิลลิลิตร ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ เอทานอล: น้ำ ในอัตราส่วน 0:100, 1:99, 2:98, 3:97 4:96 และ 5:95 ทำการสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิค ที่คลื่นความถี่ 45 กิโลเฮิร์ตซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที จากนั้นทำการกรองสารสกัดหยาบผ่านตัวกรองเนื้อไนลอน 0.45 ไมครอน นำไปวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปิน โดยใช้สภาวะเดียวกันกับการทำกราฟมาตรฐาน แต่ใช้ปริมาตรสารที่ฉีด 1 ไมโครลิตร ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินเทียบกับกราฟมาตรฐานนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 13.0 (SPSS Inc.) ด้วยวิธี One-way ANOVA โดยเลือกวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.5 การศึกษาเวลาที่ที่เหมาะสมในการสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินจากตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิค

นำผลสภาวะที่ดีที่สุดจากการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม มาทำการศึกษาเวลาที่ที่เหมาะสมในการสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินจากตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิค โดยยังคงคลื่นความถี่ 45 กิโลเฮิร์ตซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ 20 นาที 25 นาที และ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที จากนั้นทำการกรองสารสกัดหยาบผ่านตัวกรองเนื้อไนลอน 0.45 ไมครอน นำไปวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปิน โดยใช้สภาวะเดียวกันกับการทำกราฟมาตรฐาน แต่ใช้ปริมาตรสารที่ฉีด 1 ไมโครลิตร ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 13.0 (SPSS Inc.) ด้วยวิธี One-way ANOVA โดยเลือกวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

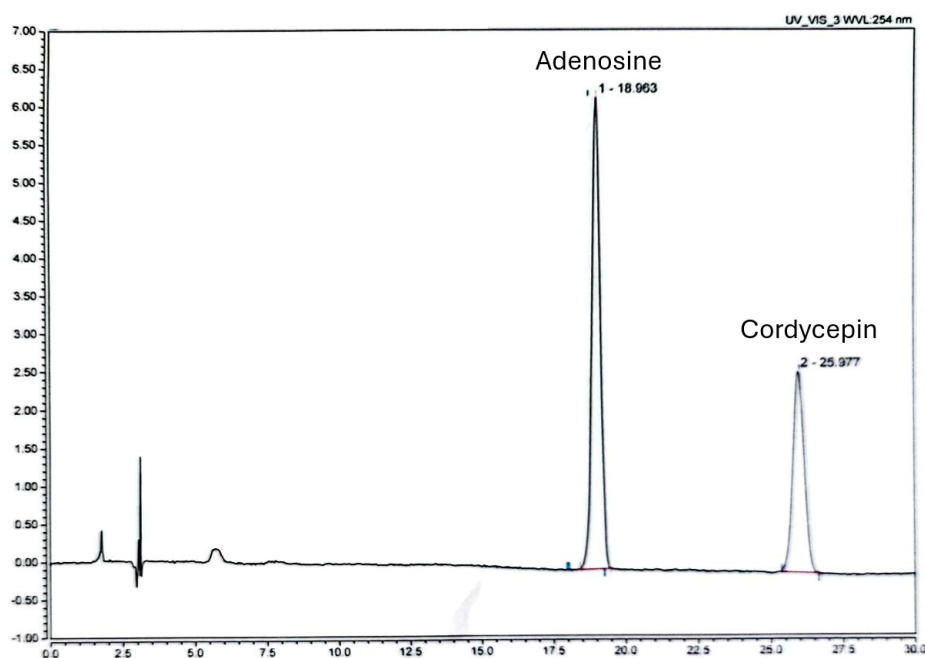
3.6 การศึกษาอุณหภูมิจากการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินจากตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิค

นำผลสภาวะที่ดีที่สุดจากการศึกษาตัวทำละลายและเวลาที่ที่เหมาะสม มาทำการศึกษาอุณหภูมิจากการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินจากตัวอย่างฐานถึงเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิค โดยยังคงคลื่นความถี่ 45 กิโลเฮิร์ตซ์ ซึ่งเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 40 องศาเซลเซียส 60 องศาเซลเซียส และ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นกรองสารสกัดหยาบผ่านตัวกรองเนื้อไนลอน 0.45 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซปินโดยใช้สภาวะเดียวกันกับการวิเคราะห์สารมาตรฐาน แต่ใช้ปริมาตรสารที่ฉีด 1 ไมโครลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

คำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 13.0 (SPSS Inc.) ด้วยวิธี One-way ANOVA โดยเลือกวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

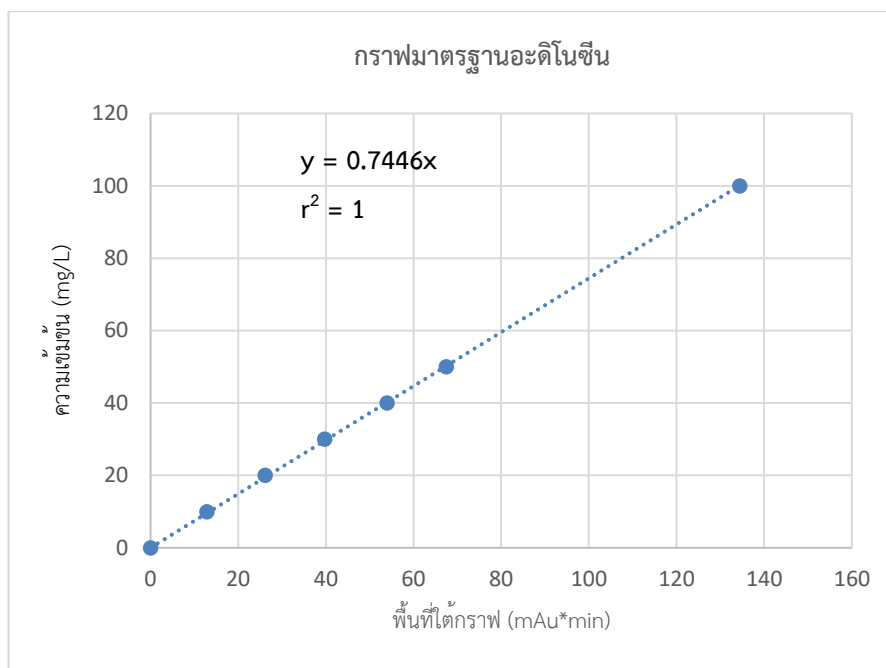
4. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน

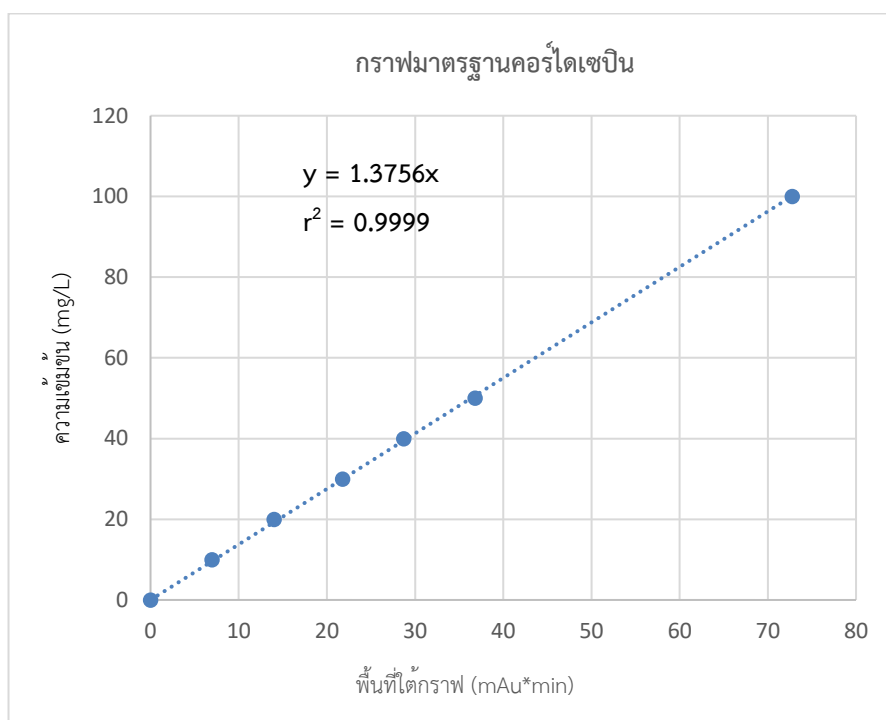


ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินความเข้มข้น 10 mg/L

จากภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินที่ความเข้มข้น 10 mg/L พบว่าอะดีโนซีนให้ค่ารีเทนชันไทม์ 18.963 นาที และคอร์ไดเซปินให้ค่ารีเทนชันไทม์ 25.977 นาที สำหรับความเข้มข้น 20, 30, 40, 50, และ 100 mg/L ของสารมาตรฐานอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินให้ค่ารีเทนชันไทม์ที่ใกล้เคียงกันกับความเข้มข้น 10 ppm ซึ่งเมื่อนำพื้นที่ใต้กราฟของทุกความเข้มข้นมาทำกราฟมาตรฐาน ได้ความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานอะดีโนซีน แสดงดังภาพที่ 3 ซึ่งสมการเส้นตรงคือ $y = 0.7446x$ มีค่า coefficient of determination (r^2) เท่ากับ 1 ส่วนความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานคอร์ไดเซปิน แสดงดังภาพที่ 4 ซึ่งสมการเส้นตรงคือ $y = 1.3756x$ มีค่า r^2 เท่ากับ 0.9999



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีน



ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐานคอร์โดเซปิน

4.2 ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองอบแห้ง

เมื่อนำมาตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองสายพันธุ์ CAS มาทำการอบแห้ง ลักษณะตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองหลังอบแห้งเป็นของแข็งสีน้ำตาลอมส้ม เมื่อนำมาบดละเอียดด้วยเครื่องบด มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองอมน้ำตาล ดังภาพที่ 5



(ก)

(ข)

ภาพที่ 5 ลักษณะทางกายภาพจากการเตรียมตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองอบแห้งสายพันธุ์ CAS:

(ก) หลังอบแห้ง; (ข) หลังบดละเอียด

4.3 ผลการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิค

ตารางที่ 1 ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากการสกัดตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิคที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้ละลาย เอทานอล: น้ำ ในอัตราส่วน 0:100 ถึง 5:95

สายพันธุ์ ฐานถั่งเช่าสีทอง	ตัวทำละลาย	ปริมาณอะดีโนซีน (mg/kg น้ำหนักแห้ง)	ปริมาณคอร์ไดเซปิน (mg/kg น้ำหนักแห้ง)
CAS	เอทานอล: น้ำ (0:100)	1.95 ± 0.04^c	349.53 ± 1.21^c
	เอทานอล: น้ำ (1:99)	2.92 ± 0.27^b	457.53 ± 1.36^b
	เอทานอล: น้ำ (2:98)	1.52 ± 0.11^d	345.10 ± 1.15^c
	เอทานอล: น้ำ (3:97)	3.08 ± 0.08^{ab}	454.33 ± 1.80^b
	เอทานอล: น้ำ (4:96)	3.33 ± 0.01^a	479.01 ± 0.98^a
	เอทานอล: น้ำ (5:95)	1.83 ± 0.05^{cd}	474.69 ± 1.09^a

หมายเหตุ: ตัวอักษร a-d ในตารางคือค่าที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยวิธีของ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 1 สามารถสกัดอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากฐานถั่งเช่าสีทองอบแห้งได้ดี (1.95 ± 0.04 mg/kg น้ำหนักแห้ง และ 349.53 ± 1.21 mg/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Minh และคณะ [19] ที่ไม่พบปริมาณอะดีโนซีนเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดฐานถั่งเช่าสีทองด้วยวิธีการแช่

และเขย่าที่อุณหภูมิสูง กระบวนการสกัดที่ดีว่าเกิดคลื่นความถี่อัลตราโซนิกทำให้เกิดความดันสูงต่ำสลับกันในตัวทำละลาย กระบวนการดังกล่าวจะเกิดฟองอากาศขนาดเล็กขึ้นมากมายในตัวทำละลาย เมื่อเข้าสู่สภาวะความดันสูงอีกครั้ง ทำให้ฟองอากาศแตกออกรุนแรงและรวดเร็ว กระบวนการนี้จะเกิดแรงที่ทำให้ของเหลวเคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูง ผ่านผนังเซลล์ตัวอย่าง ทำให้ตัวทำละลายเข้าสู่สกัดสารทางชีวภาพที่อยู่ภายในตัวอย่างได้มากขึ้น [32] ซึ่งกระบวนการนี้จะไม่เกิดขึ้นในการสกัดแบบแช่และเขย่า

เมื่อเพิ่มปริมาณเอทานอลเพียงเล็กน้อยเมื่อปรับเอทานอลให้มากขึ้น พบว่าอัตราส่วนของเอทานอล: น้ำ 4:96 สามารถสกัดอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินได้มากที่สุด (3.33 ± 0.01 mg/kg น้ำหนักแห้ง และ 479.01 ± 0.98 mg/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) การสกัดที่ใช้ น้ำในปริมาณที่เป็นส่วนใหญ่จะช่วยให้การสกัดอะดีโนซีนได้เนื่องจากอะดีโนซีนละลายได้ดีในน้ำ [33] และยังช่วยลดการสกัดสีจากฐานถึงเช่าสีทอง ซึ่งจะเป็นอุปสรรคต่อการวิเคราะห์ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปิน [34] ส่วนปริมาณเอทานอลเล็กน้อยจะช่วยให้เสริมการสกัดคอร์ไดเซปินให้คงประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามการสกัดอะดีโนซีนลดลงเมื่อใช้ เอทานอล: น้ำ ในอัตราส่วน 5:95 เนื่องจากอะดีโนซีนเริ่มไม่ละลายในเอทานอล ทำให้อะดีโนซีนถูกสกัดออกมาจากตัวอย่างได้ลดลง [35]

4.4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากตัวอย่างฐานถึงเช่าสีทองอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิก

ตารางที่ 2 ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากการสกัดตัวอย่างฐานถึงเช่าสีทองอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิก โดยใช้ เอทานอล: น้ำ อัตราส่วน 4:96 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่เวลา 15, 20, 25, และ 30 นาที

สายพันธุ์ ฐานถึงเช่าสีทอง	เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	ปริมาณอะดีโนซีน (mg/kg น้ำหนักแห้ง)	ปริมาณคอร์ไดเซปิน (mg/kg น้ำหนักแห้ง)
CAS	15	3.33 ± 0.01^a	479.01 ± 0.98^a
	20	3.34 ± 0.02^a	478.32 ± 0.71^a
	25	3.32 ± 0.01^a	478.67 ± 0.80^a
	30	3.34 ± 0.01^a	479.26 ± 1.02^a

หมายเหตุ: ตัวอักษร a-d ในตารางคือค่าที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยวิธีของ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการสกัดอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินจากฐานถึงเช่าสีทองด้วยวิธีอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้ เอทานอล: น้ำ (4:96) ที่เวลาต่างกัน ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์ไดเซปินที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกเวลา 15 นาทีเป็นสภาวะที่ใช้ในการต่อไป ซึ่งถือว่าการสกัดอย่างรวดเร็ว มีข้อดีทั้งในด้านการประหยัดเวลา ลดการใช้พลังงาน และต้นทุนในการสกัดสารดังกล่าว

4.5 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินจากตัวอย่างฐานล่างเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิก

ตารางที่ 3 ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินจากการสกัดตัวอย่างฐานล่างเข้าสู่ห้องอบแห้งโดยใช้ เอทานอล: น้ำ อัตราส่วน 4:96 ที่อุณหภูมิ 25, 40, 60, และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สายพันธุ์ ฐานล่างเข้าสู่ห้อง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณอะดีโนซีน (mg/kg น้ำหนักแห้ง)	ปริมาณคอร์โดเซบิน (mg/kg น้ำหนักแห้ง)
CAS	25	3.33 ± 0.01^d	479.01 ± 0.98^d
	40	3.89 ± 0.03^b	504.63 ± 0.21^c
	60	4.16 ± 0.02^a	640.31 ± 0.15^a
	80	3.67 ± 0.04^c	545.15 ± 0.20^b

หมายเหตุ: ตัวอักษร a-d ในตารางคือค่าที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยวิธีของ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากข้อมูลของตารางที่ 3 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด ทำให้ได้ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินเพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินสูงที่สุดมาจากการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (4.16 ± 0.02 mg/kg น้ำหนักแห้ง และ 640.31 ± 0.15 mg/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) ประสิทธิภาพการสกัดลดลงที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sornchaithawatwong และคณะ [36] ที่ได้ประสิทธิภาพในการสกัดคอร์โดเซบินเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นช่วยลดความหนืดและเพิ่มความสามารถของตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญในแมทริกซ์ของตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการสกัดลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความเป็นไปได้มาจากผนังโครงสร้างแมทริกซ์ของตัวอย่างเกิดการพังทลายลงที่อุณหภูมิสูง เป็นอุปสรรคในการสกัดอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินออกจากตัวอย่าง ทำให้ได้ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินลดลง

5. สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในสกัดคอร์โดเซบินและอะดีโนซีนอย่างรวดเร็วจากฐานล่างเข้าสู่ห้องอบแห้งด้วยวิธีอัลตราโซนิก พบว่า เอทานอล: น้ำ ในอัตราส่วน 4:96 เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้คลื่นความถี่อัลตราโซนิก 45 กิโลเฮิร์ตซ์ ได้ปริมาณอะดีโนซีนและคอร์โดเซบินสูงสุด เมื่อเทียบกับน้ำ และตัวทำละลายผสม เอทานอล: น้ำ ในอัตราส่วนอื่น ๆ ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นเท่านั้น ซึ่งจะนำไปสู่การต่อยอดงานวิจัยเพื่อศึกษาปัจจัยอื่น ๆ ในอนาคต เช่น การศึกษาปริมาณคอร์โดเซบินและอะดีโนซีนจากฐานล่างเข้าสู่ห้องสายพันธุ์อื่น ๆ การศึกษากำลัคลื่นอัลตราโซนิกที่ทำให้เกิดประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด การศึกษาปริมาณตัวทำละลายต่อน้ำหนักตัวอย่างที่เหมาะสมในการสกัด หรือการศึกษาค่าพีเอชของตัวทำละลายที่มีผลต่อการสกัด ฯลฯ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการสกัดฐานล่างเข้าสู่ห้องในระดับอุตสาหกรรมที่เหมาะสมต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัย จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม จากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ผ่านทุนงบประมาณการวิจัยและนวัตกรรมปี 2563 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] Guo, M., Guo, S., Huaijun, Y., Bu, N., Dong, C.-H. (2016). Comparison of major bioactive compounds of the caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris* (ascomycetes), fruiting bodies cultured on wheat substrate and pupae. *International Journal of Medicinal Mushroom*, 18, 327-336. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i4.60>
- [2] ปวีณา สุขสอาด, สามารถ ต่ายขาว, กัญญา กอแก้ว, ดวงหทัย รัตนสังธรรม, พรพรรณ รัตนสังจะ, เกรียงศักดิ์ ศรีวิจิตรกมล, และประนอม สุขเกื้อ. (2566). การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตอาหารหมักร่วมกับวัสดุฐานถึงเชื้อสีทอง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร.สุวรรณภูมิ*, 7(2), 108-117.
- [3] พรพรรณ รัตนสังจะ, ดวงหทัย รัตนสังธรรม, สามารถ ต่ายขาว, สุนทรา เพื่องฟู, พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร และอุทาน บุณศักดิ์ศรี. (2566). การเพิ่มคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ข้าวเกรียบเสริมฐานถึงเชื้อสีทอง. *วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*, 15(3), 833-848.
- [4] ศศิธร นาคทอง และพัชราพรรณ คำเมืองสา. (2561). การใช้น้ำสกัดจากฐานเห็ดถึงเชื้อสีทองในโยเกิร์ตนมแพะต่อลักษณะทางประสาทสัมผัส. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ*, 1(1), 13-21.
- [5] พีรวัจน์ ชูเพ็ง และภูวดล เหมชะรา. (2566). ผลของการเสริมวัสดุเพาะเห็ดถึงเชื้อสีทองในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถภาพการผลิตและค่าโลหิตวิทยาบางประการ. *วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร*, 40(1), 62-69.
- [6] Da-oh, H., Kiriratnikom, S., Choosong, K., Nitipan, S. (2024). Evaluation of spent mushroom substrate extracts from *Cordyceps militaris*: Impact on growth Performance, Immunomodulation, and intestinal microbiota of Nile tilapia. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 50, 577-584. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2024.11.001>
- [7] Pintathong, P., Chomnunti, P., Sangthong, S., Jirarat, A., Chaiwut, P. (2021). The feasibility of utilizing cultured *Cordyceps militaris* residues in cosmetics: biological activity assessment of their crude extracts. *Journal of Fungi*, 7, 973. <https://doi.org/10.3390/jof7110973>
- [8] Ni, H., Zhou, X.-H., Li, H.-H., Huang, W.-F. (2009). Column chromatographic extraction and preparation of cordycepin from *Cordyceps militaris* waste medium. *Journal of Chromatography B*, 877, 2135-2141. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.06.009>
- [9] Gao, F., Yu, Y. L., Chen, Y. J. (2011). Extraction of polysaccharides from *Cordyceps militaris* by Ethanol Refluxing Method. *Advanced Materials Research*, 287-290, 2003-2007. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.287-290.2003>

-
- [10] Song, J. F., Li, D.-J., Liu, C.-Q. (2009). Response surface analysis of microwave-assisted extraction of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(11), 1669-1673. <https://doi.org/10.1002/jctb.2227>
- [11] Wang, H.-J., Pan, M.-C., Chang, C.-K., Chang, S.-W., Hsieh, C.-W. (2014). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of cordycepin from *Cordyceps militaris* using orthogonal experimental design. *Molecules*, 19(12), 20808-20820. <https://doi.org/10.3390/molecules191220808>
- [12] Zhang, H., Wang, J. W., Dong, S. Z., Xu, F. X., Wang, S. H. (2012). The optimization of extraction of cordycepin from fruiting body of *Cordyceps militaris* (L.) link. *Advanced Materials Research*, 393-395, 1024-1028. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.393-395.1024>
- [13] Suslick, K. S. K.-o. (2000). Sonochemistry. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 9, 1– 21. <https://doi.org/10.1002/0471238961.1915141519211912.a01.pub2>
- [14] Capello, C., Fischer, U., Hungerbühler, K. (2007). What Is a Green Solvent? A Comprehensive Framework for the Environmental Assessment of Solvents. *Green Chemistry*, 9, 927–934. <https://doi.org/10.1039/B617536H>
- [15] Winterton, N. (2021). The Green Solvent: A Critical Perspective. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 23, 2499–2522. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02188-8>
- [16] Alfonsi, K., Colberg, J., Dunn, P. J., Fevig, T., Jennings, S., Johnson, T. A., Peter Kleine, H., Knight, C., Nagy, M. A., Perry, D. A. (2008). Green Chemistry Tools to Influence a Medicinal Chemistry and Research Chemistry Based Organisation. *Green Chemistry*, 10, 31–36. <https://doi.org/10.1039/B711717E>
- [17] Prat, D., Pardigon, O., Flemming, H. -W., Letestu, S., Ducandas, V., Isnard, P., Guntrum, E., Senac, T., Ruisseau, S., Cruciani, P. (2013). Sanofi's Solvent Selection Guide: A Step toward More Sustainable Processes. *Organic Process Research & Development*, 17(12), 1517–1525. <https://doi.org/10.1021/op4002565>
- [18] Chemat, F., Vian, M. A., Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Science*, 13, 8615–8627. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>
- [19] Minh, T. N., Anh, L. V., Trang, N. Q., Minh, B. Q., Xuan, T. D. (2023). Efficacy of green extracting solvents on antioxidant, xanthine oxidase, and plant inhibitory potentials of solid-based residues (SBRs) of *Cordyceps militaris*. *Stresses*, 3(1), 11-21. <https://doi.org/10.3390/stresses3010002>
- [20] Hsu, T.-H., Shiao, L.-H., Hsieh, C., Chang, D.-M. (2002). A Comparison of the chemical composition and bioactive ingredients of the Chinese medicinal mushroom DongChongXiaCao, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Food Chemistry*, 78(4), 463-469. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00158-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00158-9)

-
- [21] Lin, R., Liu, H., Wu, S., Pang, L., Jia, M., Fan, K., Jia, S., Jia, L. (2012). Production and *in vitro* antioxidant activity of exopolysaccharide by a mutant, *Cordyceps militaris* SU5-08. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(1-2), 153-157. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.04.011>
- [22] Zhou, X., Luo, L., Dressel, W., Shadier, G., Krumbiegel, D., Schmidtke, P., Zepp, F., Meyer, C. (2008). Cordycepin is an immunoregulatory active ingredient of *Cordyceps sinensis*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 36(5), 967-80. <https://doi.org/10.1142/S0192415X08006387>
- [23] Ma, L., Zhang, S., Du, M. (2015). Cordycepin from *Cordyceps militaris* prevents hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice. *Nutrition Research*, 35(5), 431-439. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2015.04.011>
- [24] Gao, P., Kai, Q., Gao, J., Lian, Z.-Q., Wu, C.-M., Wu, C.-A., Zhu, H.-B., (2010). Cordycepin Prevents Hyperlipidemia in Hamsters Fed a High-Fat Diet via Activation of AMP-Activated Protein Kinase. *Journal of Pharmacological Sciences*, 113(4), 395-403. <https://doi.org/10.1254/jphs.10041FP>
- [25] Yu, R., Yang, W., Song, L., Yan, C., Zhang, Z., Zhao, Y. (2007). Structural characterization and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris*. *Carbohydrate Polymers*, 70(4), 430-436. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.005>
- [26] Bai, K.-C., Sheu, F. (2018). A novel protein from edible fungi *Cordyceps militaris* that induces apoptosis. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 21-30. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.013>
- [27] Chang, Y., Jeng, K.-C., Huang, K.-F., Lee, Y.-C., Hou, C.-W., Chen, K.-H., Cheng, F.-Y., Liao, J.-W., Chen, Y.-S. (2008). Effect of *Cordyceps Militaris* supplementation on sperm production, sperm motility and hormones in sprague-dawley rats. *The American Journal of Chinese Medicine*, 36(5), 849-859. <https://doi.org/10.1142/S0192415X08006296>
- [28] Song, J. F., Liu, C.-Q., Li, D.-J., Jin, B.-Q. (2007). Optimization of cordycepin extraction from cultured *Cordyceps militaris* by HPLC-DAD coupled with uniform design. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 82, 1122-1126. <https://doi.org/10.1002/jctb.1784>
- [29] Xiao, J.-H., Xiao, D.-M., Xiong, Q., Liang, Z.-Q., Zhong, J.-J. (2009). Optimum extraction and high-throughput detection of cordycepic acid from medicinal macrofungi *Cordyceps jiangxiensis*, *Cordyceps taii* and *Cordyceps gunnii*. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 7(3 & 4), 328-333. <https://doi.org/10.1234/4.2009.2566>
- [30] Tsi, C.-H., Yen, Y.-H., Yang, J. P.-W. (2015). Finding of polysaccharide-peptide complexes in *Cordyceps militaris* and evaluation of its acetylcholinesterase inhibition activity. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(1), 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.05.006>

- [31] สามารถ ต่ายขาว, สุนทรา เฟื่องฟู่ง, สุธิชา ละเซ้น, และพนิดา หล่อวงศ์ตระกูล. (2561). การศึกษาวัสดุสารตั้งต้นที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต่อการเจริญและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง. ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ครั้งที่ 3 และการประชุมวิชาการระดับชาติ เครือข่ายวิจัยประชาชน ครั้งที่ 4* (น. 434-443). พระนครศรีอยุธยา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.
- [32] Dong, J., Liu, Y., Liang, Z., Wang, W. (2010) Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(1), 61-65. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.05.006>
- [33] Chen, J., Chen, G., Cheng, C., Cong, Y., Li, X., and Zhao, H. (2017). Equilibrium solubility, dissolution thermodynamics and preferential solvation of adenosine in aqueous solutions of *N,N*-dimethylformamide, *N*-methyl-2-pyrrolidone, dimethylsulfoxide and propylene glycol. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 15, 52-62. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2017.07.023>
- [34] Liu, P. -X., Ma, J. -X., Liang, R. -N., He, X. -W., Zhao, G. -Z. (2023). Development of an efficient method for separation and purification of cordycepin from liquid fermentation of *Cordyceps militaris* and analysis of cordycepin antitumor activity. *Heliyon*, 9(3), e14184. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14184>.
- [35] Pubchem. (2025). Adenosine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Adenosine>
- [36] Sornchaithawatwong, C., Kunthakudee, N., Sunsandee, N., Ramakul, P. (2020). Selective extraction of cordycepin from *Cordyceps militaris* – optimisation, kinetics and equilibrium studies. *Indian Chemical Engineer*, 64(1), 1-13. <https://doi.org/10.1080/00194506.2020.1776163>