

การวิเคราะห์ความแตกต่างเชิงคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) ในท้องตลาด Qualitatively Different Analysis of Commonly Available Golden Chinese Mushrooms (*Cordyceps militaris*) products

อุไรรัตน์ มุ่งมณิลศิลป์ (Urairat Mongmonsin) * ดร.ประเพ็ญพัชรศิริ รังษา (Dr.Prapenpuksiri Rungsa) **, *****
วิธาน เตียรเจริญ (Withan Teajaroen) *** ภูติศ ศรีสนามชัย (Phudit Sisanamchai) ****
ต่อวงศ์ เกตุธิรุก (Torwong Ketthirakul) ***** ดร.นิสาชล แจ่มพรมมา (Dr.Nisachon Jangpromma) **, *****
ดร.ศักดา ดาดวง (Dr.Sakda Daduang) **, *****

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเชิงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) ในท้องตลาดด้วยเทคนิค ATR-FTIR และเทคนิค HPLC ในการศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างสารอินทรีย์ด้วยเครื่อง ATR-FTIR ช่วงเลขคลื่น 650 – 4000 cm⁻¹ พบว่าองค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทองมีผลต่อลักษณะ IR spectra ที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการตรวจสอบพบผลิตภัณฑ์ที่ 3 มีลักษณะ IR spectra และตำแหน่งพิกที่ปรากฏของการสั่นของพันธะโครงสร้างสารอินทรีย์คล้ายคลึงกับกลุ่มควบคุมมากที่สุด และเมื่อทำการตรวจวัดปริมาณสารคอร์ดิซิปีน (3' deoxyadenosine) ที่สะสมในตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีปริมาณสารคอร์ดิซิปีนสูงสุดเท่ากับ 4.27 mg/g DW จากการวิจัยนี้สรุปได้ว่าเทคนิค ATR-FTIR สามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารเคมีหรือโลหะหนักในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทองเบื้องต้นได้ อีกทั้งเทคนิค HPLC สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณและแยกบริสุทธิ์สารคอร์ดิซิปีนได้อย่างง่ายจึงสะดวกต่อการนำไปใช้ในการวิเคราะห์หรือวิจัยต่อไป

ABSTRACT

The aim of research was qualitatively differences analysis of *Cordyceps militaris* products from the market by using ATR-FTIR and HPLC techniques. In this study, the samples were investigated the chemicals functional groups of *Cordyceps militaris* products by ATR-FTIR which performed under wavenumber at range 650 - 4000 cm⁻¹. IR spectra showed that the samples had an individual characteristics of IR spectra because it contained different chemical components. Emphasizing, IR spectra of sample 3 showed the similarly as positive control with the highest of total cordycepin content (4.27 mg/g DW) when compared with control. Accordingly, the different fingerprints showed different chemical constitutes which can be determined for any chemical or heavy metal contaminations. Successful analysis of *Cordyceps militaris* products by ATR-FTIR and HPLC techniques have proved the practicability of the method, which can be applied to the quality estimation of other *Cordyceps militaris* products.

คำสำคัญ: เห็ดถั่งเช่าสีทอง สารคอร์ดิซิปีน

Keywords: *Cordyceps militaris*, Cordycepin

*นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**นักวิจัย ศูนย์วิจัยโปรตีนและโปรตีโอมิกส์เพื่อการพาณิชย์และอุตสาหกรรม (ศปพ.) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***นักศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

****ผู้จัดการ บริษัทไบโอเพนนิชูล่า จำกัด 445 หมู่ 8 ซอยประชาชื่น 12 ถ.เหล่านาดี ต.เมืองเก่า อ.เมือง จ.ขอนแก่น

*****สาขาวิชาวิทยาศาสตร์บูรณาการ (นิติวิทยาศาสตร์) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*****สาขาวิชาเภสัชเวชและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเห็ดทางการแพทย์ จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อราก่อโรคในแมลง (entomopathogenic fungi) ไฟลัม Ascomycota คลาส Ascomycetes ถูกใช้อย่างแพร่หลายในประเทศจีนตั้งแต่สมัยอดีตเป็นต้นมา เป็นอาหารบำรุงหรืออาหารเสริมพลัง มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ อาทิ อะดีโนซีน คอร์ดิซิปีน (3'-deoxyadenosine) และพอลิแซ็กคาไรด์ มีฤทธิ์ในการต้านทานแบคทีเรีย, ต้านทานเชื้อรา, ต้านทานไวรัส, ต้านทานมะเร็ง และช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Cunningham et al., 1951; Kang et al., 2014; Kodama et al., 2000; Zhou et al., 2002) ในงานวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่าสารคอร์ดิซิปีน (cordycepin) ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของอะดีโนซีนมีฤทธิ์ในการควบคุมกระบวนการส่งสัญญาณ (signaling pathways) ที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ (apoptosis) การเจริญเติบโต (proliferation) กระบวนการ metastasis และกระบวนการอักเสบ (inflammation) โดยสามารถเข้าไปรบกวนกระบวนการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุล เช่น การสังเคราะห์เบสพิวรีน (purine biosynthesis) การสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ (DNA/RNA biosynthesis) และ mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling transduction (Tuli et al., 2013) จากสรรพคุณทางยาที่กล่าวมาทำให้ปัจจุบันราคาและความต้องการในท้องตลาดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในการสุ่มตรวจตัวอย่างพบราคาเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยเฉพาะส่วนดอกอบแห้งมีราคาประมาณ 4 - 70 บาทต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจะศึกษาและวิเคราะห์ความแตกต่างเชิงคุณภาพ ได้แก่ องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์และปริมาณสารคอร์ดิซิปีนในตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองส่วนดอกอบแห้งจากท้องตลาดด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) และ High-performance Liquid Chromatography (HPLC)

วัตถุประสงค์การวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและวิเคราะห์ความแตกต่างเชิงคุณภาพ ได้แก่ องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์และปริมาณสารคอร์ดิซิปีนในตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองส่วนดอกอบแห้งจากท้องตลาด ด้วยเทคนิค ATR-FTIR และ HPLC

วิธีการวิจัย

แผนการทดลอง

การวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทองแบบอบแห้งและผลิตภัณฑ์แคปซูลจากท้องตลาด จะได้กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 5 กลุ่ม ดังนี้

Positive control = ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง

sample 1 = ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง ผลิตภัณฑ์ที่ 1

sample 2 = ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง ผลิตภัณฑ์ที่ 2

sample 3 = ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง ผลิตภัณฑ์ที่ 3

sample 4 = ผลิตภัณฑ์แคปซูลเห็ดถั่งเช่าสีทอง ผลิตภัณฑ์ที่ 4

สังเกตและบันทึกลักษณะสีของตัวอย่างที่เติมเข้าสู่สีทองผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ บดให้ละเอียดด้วยโม่บดสารและวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ด้วยเครื่อง ATR-FTIR ช่วงคลื่นความถี่ 650 – 4000 cm^{-1} และใช้ resolution 4 cm^{-1} (ดัดแปลงจาก Yang et al., 2009) วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ติซิปีนของตัวอย่างที่เติมเข้าสู่สีทองด้วยเทคนิค High-performance Liquid Chromatography (HPLC)

ซึ่งตัวอย่างที่เติมเข้าสู่สีทอง 0.10 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% v/v เมทานอลในน้ำ ด้วยอัตราส่วนน้ำหนักแห้ง (กรัม) ต่อปริมาตรตัวทำละลาย (มิลลิลิตร) เท่ากับ 1: 10 ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ปั่นเหวี่ยงที่ 11,200 x g เป็นเวลา 10 นาที ปิดเปิดเอาเฉพาะส่วนของเหลว กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ติซิปีนด้วยเครื่อง HPLC ภายใต้สภาวะใช้คอลัมน์แบบผักลับ C18 (reverse phase column) ด้วยตัวผสมเมทานอล (0 - 40%) และน้ำกลั่น (100 - 60%) ในเวลา 25 นาที ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร โดยปริมาตรที่ใช้ในการฉีด 20 ไมโครลิตร ณ อุณหภูมิ 25°C (วิธีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารคอร์ติซิปีนไม่ได้แสดงในรายงาน)

สูตรคำนวณปริมาณสารคอร์ติซิปีน

$$\text{ปริมาณสารคอร์ติซิปีน} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (mg/mL)} \times \text{ปริมาตร (mL)} \times \text{dilution factor}}{\text{น้ำหนักแห้ง (g)}} \quad (\text{สมการ 1})$$

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกลักษณะสีของตัวอย่างที่เติมเข้าสู่สีทองบดละเอียด การวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์บริเวณ finger print (เลขคลื่น 910 – 1430 cm^{-1}) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก และหาปริมาณสารคอร์ติซิปีนในตัวอย่างแห้ง (mg/g DW) คำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟโครมาโตแกรมเทียบกับกราฟมาตรฐานตามสมการ 1 เพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบ One-Way Analysis of Variance (One-Way ANOVA)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ในตัวอย่างที่เติมเข้าสู่สีทองโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis, PCA) และข้อมูลปริมาณสารคอร์ติซิปีนในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างที่เติมเข้าสู่สีทอง วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบ One-Way Analysis of Variance (One-Way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ (SPSS software)

สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ 3526 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในช่วงเดือนกรกฎาคม - ธันวาคม 2562

ผลการวิจัย

การวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองจากท้องตลาด

ตัวอย่าง	ภาพประกอบ	ลักษณะของตัวอย่าง	สี
Positive control		ส่วนดอกอบแห้ง	++++
sample 1		ส่วนดอกอบแห้ง	++++
sample 2		ส่วนดอกอบแห้ง	+

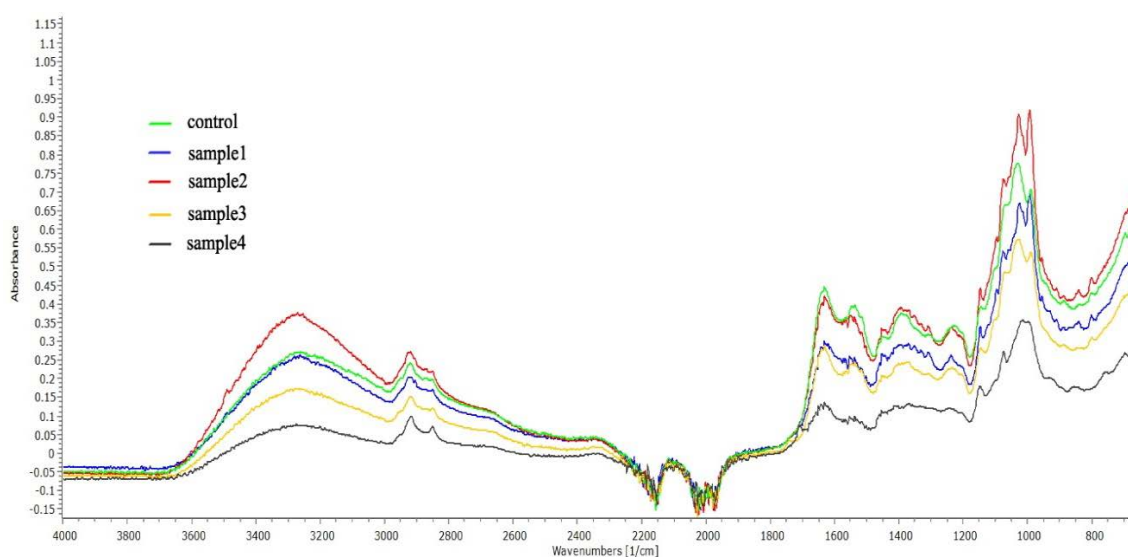
ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองจากท้องตลาด (ต่อ)

ตัวอย่าง	ภาพประกอบ	ลักษณะของตัวอย่าง	สี
sample 3		ส่วนดอกอบแห้ง	++
sample 4		ส่วนดอกอบแห้งบดละเอียด บรรจุในแคปซูล	+++

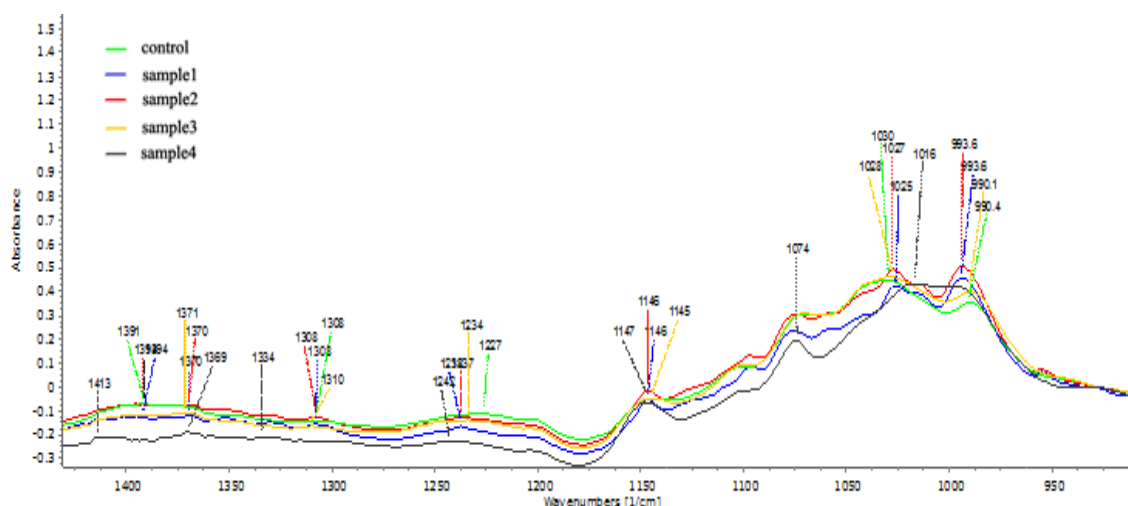
หมายเหตุ เครื่องหมายบวก (+) แทน ระดับความเข้มของสี

+ หมายถึง สีเหลืองเข้มน้อย, ++ หมายถึง สีเหลืองเข้มปานกลาง, +++ หมายถึง สีเหลืองเข้มมาก,

++++ หมายถึง สีเหลืองเข้มมากที่สุด



ภาพที่ 1 แสดง IR spectra ของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิค ATR-FTIR เลขคลื่น 4000 – 650 cm^{-1}) และใช้ resolution 4 cm^{-1} โดยเส้นกราฟสีเขียว; หมายถึง control; สีนํ้าเงินหมายถึง sample 1; สีแดง หมายถึง sample 2; สีเหลือง หมายถึง sample 3; สีเทา หมายถึง sample 4 แต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

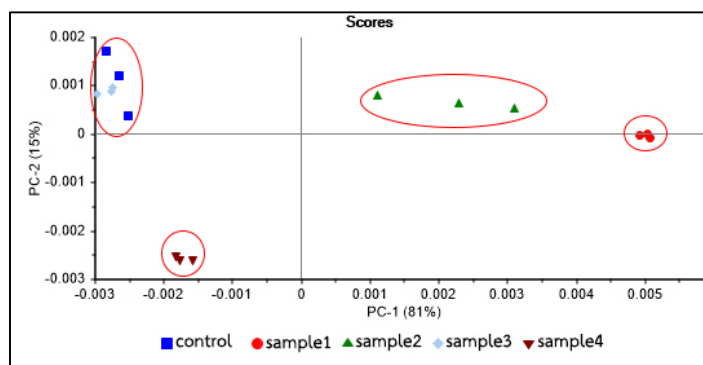


ภาพที่ 2 แสดง IR spectra ของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองและตำแหน่งพีคขององค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR บริเวณ fingerprint region (ช่วงเลขคลื่น 910 – 1430 cm^{-1}) และใช้ resolution 4 cm^{-1} โดยเส้นกราฟสีเขียว; หมายถึง control; สีนํ้าเงินหมายถึง sample 1; สีแดง หมายถึง sample 2; สีเหลือง หมายถึง sample 3; สีเทา หมายถึง sample 4 แต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

ตารางที่ 2 แสดงตำแหน่งเลขคลื่น ชนิดของพันธะและลักษณะการสั่นของสารอินทรีย์จาก IR spectra ของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทอง (Yang et al., 2009)

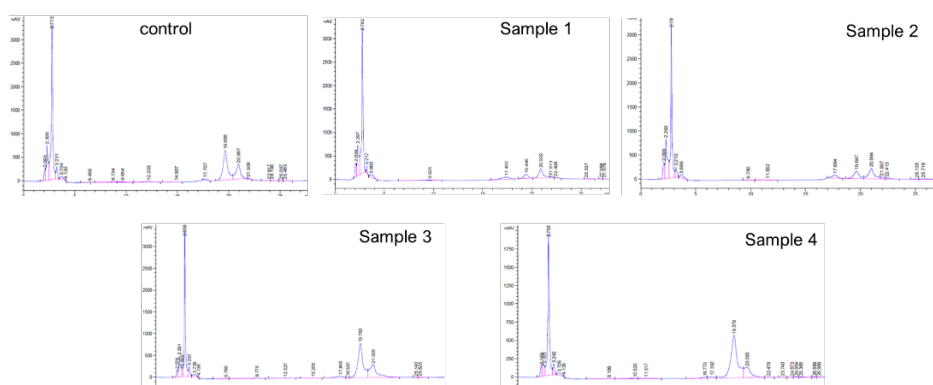
เลขคลื่น (cm^{-1})	พันธะและลักษณะการสั่น	หมู่ฟังก์ชัน
2904	vas(C-H)	CH_3 , CH_2
2848	vs(C-H)	CH_3 , CH_2
1708	v(C=O)	Carboxylic acid
1631-1655	v(C=C)	Alkene
1210-1320	V(C-O)	Acid
~1015-1147	v(C-OH)	alcohol
~993	b(CH) $\text{C}=\text{CH}_2$	Alkene
696	b(C-H) aromatic	C-H aromatic

หมายเหตุ: v, stretching or frame vibration; b, bending vibration; s, symmetrical; as, asymmetrical

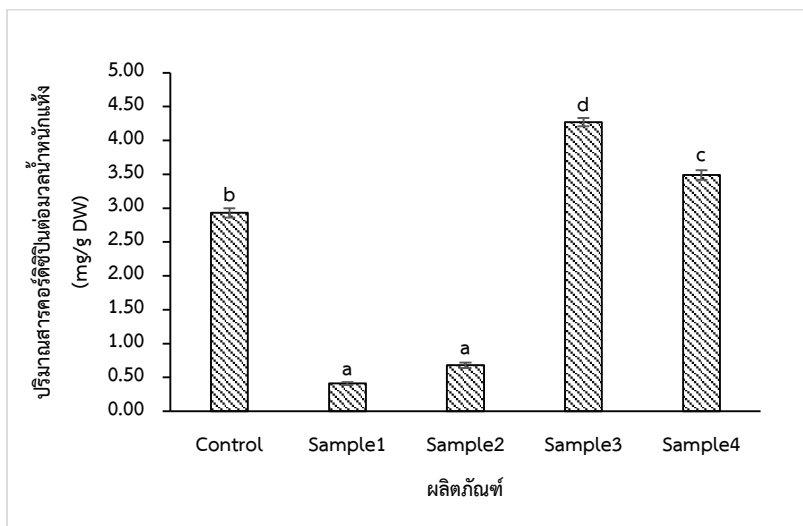


ภาพที่ 3 แสดงการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) ของ IR spectra ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทอง บริเวณช่วง carbohydrate finger print ($1241 - 910 \text{ cm}^{-1}$) โดยสัญลักษณ์ที่แตกต่างกัน แสดงถึงผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทองยี่ห้อต่าง ๆ (จำนวนตัวอย่าง $n=3$)

การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ติซิปีนของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิค High-performance Liquid Chromatography (HPLC)



ภาพที่ 4 แสดงโครมาโตแกรมของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองผลิตภัณฑ์ที่ 1-4; วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้คอลัมน์แบบผันกลับ C18 (reverse phase column) ด้วยตัวชะเมทานอล (0 - 40%) และน้ำกลั่น (100 - 60%) ในเวลา 25 นาที ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร ปริมาตรที่ใช้ในการฉีด 20 ไมโครลิตร ณ อุณหภูมิ 25°C



ภาพที่ 5 แสดงค่า Mean $\pm$ SEM ของปริมาณสารคอร์ติซินต่อน้ำหนักแห้ง (mg/g DW) ในผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ที่หัดถึงเข้าสีทองที่สกัดด้วย 50% v/v เมทานอลในน้ำกลั่น เป็นเวลา 12 ชั่วโมง; กราฟแท่งที่มีตัวอักษร แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการทดสอบค่าความแปรปรวนและจำแนกกลุ่มแบบ Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) Tests ($n = 3$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$); SEM (Standard error of the mean) คือค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ในตัวอย่างที่หัดถึงเข้าสีทองด้วยเทคนิค Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR ลักษณะ IR spectra ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างที่หัดถึงเข้าสีทองมีลักษณะแตกต่างกัน (ภาพที่ 1) เมื่อพิจารณาบริเวณ finger print ช่วงเลขคลื่น $910 - 1430 \text{ cm}^{-1}$ (ภาพที่ 2) เพื่อระบุและจำแนกองค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์จากตำแหน่งของพีคที่ปรากฏบนเส้นสเปกตรัม โดยพบการสั่นของพันธะ $\nu(\text{C-OH})$, $\nu(\text{CH})$ $\text{C}=\text{CH}_2$ และ (C-H) aromatic ซึ่งเป็นองค์ประกอบของหมู่ฟังก์ชันแอลกอฮอล์ (alcohol), อัลคีน (Alkene) และ วงอะโรมาติก (C-H aromatic) ตามลำดับ ในผลิตภัณฑ์ทั้ง 5 ผลิตภัณฑ์ เมื่อวิเคราะห์ตำแหน่งพีคที่ปรากฏบน IR spectra ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) (ภาพที่ 3) บริเวณ carbohydrate finger print ที่ PC-1 (81%) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ 3 (sample 3) และ ผลิตภัณฑ์ที่ 4 (sample 4) มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกับกลุ่มควบคุมแต่เมื่อพิจารณาจาก PC-2 (15%) กลับพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ 4 มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมของตำแหน่งพีคที่ปรากฏบางตำแหน่ง ทั้งนี้อาจเกิดจากผลิตภัณฑ์ที่ 4 มีองค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรตแตกต่างชนิดกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ 1 (sample 1) และผลิตภัณฑ์ที่ 2 (sample 2) ตรวจพบความแตกต่างขององค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในช่วงบริเวณ carbohydrate finger print

จากผลการทดสอบองค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนจากสารเคมีหรือการปนเปื้อนของโลหะหนักในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างที่หัดถึงเข้าสีทองแบบเบื้องต้นได้ แต่ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการวิเคราะห์ตรวจสอบหาสารปนเปื้อนและโลหะหนักในตัวอย่างจากเทคนิคอื่นๆ ร่วมด้วย

การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ดิซิปินของตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิค High-performance Liquid Chromatography (HPLC)

การหาปริมาณสารคอร์ดิซิปินในตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิค HPLC โดยสกัดด้วย 50% v/v เมทานอลในน้ำ (ภาพที่ 4) พบว่าสารคอร์ดิซิปินจะถูกชะออกจากคอลัมน์ ณ retention time ที่ 19 นาที ในทุกตัวอย่าง การหาปริมาณสารคอร์ดิซิปินคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรม (สมการ 1) เทียบกับกราฟมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ 3 (sample 3) ตรวจพบปริมาณสารคอร์ดิซิปินสะสมมากที่สุด เท่ากับ 4.27 mg/g DW รองลงมา ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่ 4 (3.49 mg/g DW), ผลิตภัณฑ์กลุ่มควบคุม (2.93 mg/g DW), ผลิตภัณฑ์ที่ 2 (0.68 mg/g DW) และผลิตภัณฑ์ที่ 1 (0.41 mg/g DW) ตามลำดับ (ภาพที่ 5) เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารคอร์ดิซิปินในผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทองผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ 3 และ 4 มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ 1 และ 2 มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบโครงสร้างสารอินทรีย์และการตรวจวัดปริมาณสารคอร์ดิซิปินในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เห็ดถั่งเช่าสีทองพบว่าสอดคล้องกัน ผลิตภัณฑ์ที่ 3 และ 4 ซึ่งมีลักษณะและตำแหน่งพีคที่ปรากฏบน IR spectra คล้ายกับกลุ่มควบคุมตรวจพบสารคอร์ดิซิปินซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองสปิซีส์นี้ในปริมาณสูง จากรายงานของ Cui (2015) รายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองประกอบด้วย สารคอร์ดิซิปิน อะดีโนซีน พอลิแซ็กคาไรด์ ดี-แมนนิทอลและองค์ประกอบอื่น ๆ โดยปริมาณสารดังกล่าวอาจส่งผลต่อลักษณะ IR spectra และโครมาโตแกรมแตกต่างกัน นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Yang et al. (2009) รายงานเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพตัวอย่างเห็ดถั่งเช่าจากแหล่งเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค FTIR รายงานระบุว่าตัวอย่างของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าที่เพาะเลี้ยงจากแหล่งเพาะเลี้ยงจะมีลักษณะของ IR spectra แตกต่างจากเห็ดถั่งเช่าในธรรมชาติ จากรายงานดังกล่าวจึงสรุปได้ว่า แหล่งเพาะเลี้ยงและสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อการสังเคราะห์สารคอร์ดิซิปินและสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ ในปริมาณที่แตกต่างกัน ในการประยุกต์ใช้เห็ดถั่งเช่าสีทองสำหรับอุตสาหกรรมอาหารและยาที่มีการกำหนดมาตรฐานของสารปนเปื้อนและโชนะหนักไว้อย่างชัดเจน การตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค ATR-FTIR จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถทำได้ง่าย อีกทั้งเทคนิค HPLC สามารถทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณและแยกบริสุทธิ์สารคอร์ดิซิปินได้อย่างง่าย จึงสะดวกต่อการนำไปใช้ในการวิเคราะห์หรือวิจัยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก (1) โครงการส่งเสริมผลงานวิจัยแสงซินโครตรอน สำหรับนักวิจัยใหม่ที่ไม่เคยใช้เทคโนโลยีแสงซินโครตรอน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีงบประมาณ 2561 (2) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ประจำปีงบประมาณ 2561

เอกสารอ้างอิง

- Cui JD. Biotechnological production and applications of *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. Critical reviews in biotechnology 2015; 35(4): 475-84.
- Cunningham KG, Hutchinson SA, Manson W, Spring FS. 508. Cordycepin, a metabolic product from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) link. Part I. Isolation and characterisation. Journal of the Chemical Society 1951; 2299-300.

- Kang C, Wen TC, Kang JC, Meng ZB, Li GR, Hyde KD. Optimization of large-scale culture conditions for the production of cordycepin with *Cordyceps militaris* by liquid static culture. The scientific world journal 2014; 2014.
- Kodama EN, McCaffrey RP, Yusa K, Mitsuya H. Antileukemic activity and mechanism of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl transferase-positive (TdT⁺) leukemic cells. Biochemical pharmacology. 2000; 59(3): 273-81.
- Tuli HS, Sharma AK, Sandhu SS, Kashyap D. Cordycepin: a bioactive metabolite with therapeutic potential. Life sciences 2013; 93(23): 863-9.
- Yang P, Song P, Sun SQ, Zhou Q, Feng S, Tao JX. Differentiation and quality estimation of *Cordyceps* with infrared spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2009; 74(4): 983-90.
- Zhou X, Meyer CU, Schmidtke P, Zepp F. Effect of cordycepin on interleukin-10 production of human peripheral blood mononuclear cells. European journal of pharmacology 2002; 453(2-3): 309-17.