รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในไวน์ที่ผลิตจากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Bioactive compound, antioxidant activity and chemical composition in **Cordyceps millitaris** compose wine

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศศิรินทร์ แลบัว

สนับสนุนโดย

สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต

2563

ชื่อเรื่อง : สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในไวน์ที่ผลิตจากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง
ผู้วิจัย : ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต
ปีที่พิมพ์ : 2563 สถานที่พิมพ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต
แหล่งที่เก็บรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ จำนวนหน้างานวิจัย 51 หน้า
: สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต
คำสำคัญ : เห็ดถั่งเช่าสีทอง สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระ
ลิขสิทธิ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์งานวิจัยเพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในไวน์ที่ผลิตจากฐานเห็ดเปรียบเทียบกับไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์โดย DPPH Radical Scavenging activity และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเพิ่มมากขึ้นกว่าในฐานและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ไม่ผ่านการหมัก ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองในวันที่ 30 เท่ากับ 108.80 ± 2.88 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 118.18 ± 2.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ระยะเวลา 30 วันเท่ากับ ***489.88 ± 8.52*** mgGAE/100 ml และ 273.35 ± 8.81 mgGAE/100 ml ปริมาณคอร์ไดซิปิน (Cordycepin)ในไวน์ฐานเห็ดและไวน์ดอกเห็ดที่ระยะเวลาการหมัก 30 วันเท่ากับ ***7.96*** มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 66.78 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Title : Bioactive compound, antioxidant activity and chemical composition in **Cordyceps millitaris** compose wine

Researcher: Asst. Prof. Sasirindara Labua Institution: Rangsit University

Year of Publication: 2020 Publisher: Rangsit University

Sources: Research Institute of Rangsit University No. of pages: 51 pages

Keyword: **Cordyceps millitaris**, bioactive compound, antioxidant activity

Copyright: Rangsit University

ABSTRACT

The aim of this research is to study bioactive compound, antioxidant activity and chemical composition in **Cordyceps millitaris** compose wine compared with fruiting body wine. In this study, antioxidant activity by DPPH (1, 1diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical scavenging method and polyphenol for **Cordyceps millitaris** fruiting body and compose wine were increased with time more than nonfermented. The highest antioxidant activity and polyphenol for **Cordyceps millitaris** fruiting body and compose wine ferment for 30 days were 108.80 ± 2.88 mg/L, 118.18 ± 2.82 mg/L, ***489.88 ± 8.52*** mgGAE/100 mL and 273.35 ± 8.81 mgGAE/100 mL, respectively. Cordycepin content in **Cordyceps millitaris** compose and fruiting body wine ferment for 30 days were ***7.96*** mg/kg and 66.78 mg/kg, respectively.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในไวน์ที่ผลิตจากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง สำเร็จลุล่วงด้วยดีด้วยความร่วมมือจากบุคคลหลายฝ่าย ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะเทคโนโลยีอาหารทุกท่าน ห้องปฏิบัติการกลางที่ช่วยวิเคราะห์สาร จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงสุดสำหรับบิดา มารดา ผู้ให้กำเนิดและผู้ให้กำลังใจที่ยิ่งใหญ่

ประโยชน์และความดีงามของงานวิจัยนี้ ขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและเสริมสร้างกำลังใจจนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ศศิรินทร์ แลบัว

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	
3.1 วัตถุดิบ	8
3.2 อุปกรณ์	
3.3 สารเคมี	
3.4 วิธีการทดลอง	9
3.4.1 เตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps militaris**)	
3.4.2 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไวน์	10
3.5 ตารางแผนงานวิจัย	12
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 ศึกษาการเตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps militaris**)	15
4.2 ศึกษาการทำไวน์จากดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง	19
4.3 ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	20

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

หน้า

4.3.1การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ
4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 21
4.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 22
4.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดซิปิน 23
บทที่ 5 สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ
5.1 สรุปผลการทดลอง 24
5.2 ข้อเสนอแนะ 24
เอกสารอ้างอิง 25
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก. สูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง 29
ภาคผนวก ข. ***ค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก*** ***30***
ภาคผนวก ค. ***ค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานกรดแกลลิค*** 31
ภาคผนวก ง. ภาพถ่ายงานวิจัย 32
ภาคผนวก จ. ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Cordycepin 34
ภาคผนวก ฉ.ประวัติผู้วิจัย 40
บทความวิจัยที่ตีพิมพ์ล่าสุด 42

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สูตรอาหาร MPDA	9
2	น้ำหนักของดอกและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองสด	18
3	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง	20
4	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง	21
5	ปริมาณสารคอร์ไดซิปิน (Cordycepin) ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง	22

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

ภาพที่		หน้า
1	หัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps militaris**) ที่เจริญเต็มที่	15
2	เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว MPDA 8	16
3	อาหารธัญพืชที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ	17
4	การเติมเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลวลงบนอาหารธัญพืช	
5	เห็ดถั่งเช่าสีทองที่กำลังเจริญบนอาหารธัญพืช	18
6	ไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าในระหว่างการหมัก	19
7	ไวน์ฐานเห็ดถั่งเช่าในระหว่างการหมัก	19
8	ปริมาณแอลกอฮอล์ ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง	22

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดถั่งเช่า (Cordyceps mushroom) อยู่ใน family Clavicipitaceae, order Hypocreales, class Pyrenomycetes of ascomycetous เป็นเชื้อราปรสิตของแมลง (Entomofungus) ราในสกุลคอร์ไดเซพ (**Cordyceps**) มีมากกว่า 750 สายพันธุ์ทั่วโลก (Li **et al**., 2006) พบในแถบทวีปเอเชีย เช่น ทิเบต เนปาล จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เวียดนาม และไทย ประมาณ 400 สายพันธุ์ (Sung **et al.**, 2007) แต่เห็ดถั่งเช่าที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมและทางการค้ามี 4 ชนิดคือ เห็ดถั่งเช่าทิเบต (**Ophiocordyceps sinensis**) หรือชื่อเดิม (**C. sinensis**) เห็ดถั่งเช่าสีทอง (**C. militaris**) เห็ดถั่งเช่าหิมะ (**Paecilomyces tenuipes** หรือ **Isaria japonica**) และเห็ดถั่งเช่าจั๊กจั่น (**P. scicadae** หรือ **I. sinclairii**) เห็ดถั่งเช่า ที่มีชื่อเสียงและมีค่ามากที่สุดคือ เห็ดถั่งเช่าทิเบต (**O. sinensis**) เห็ดชนิดนี้จะเจริญในตัวอ่อนของผีเสื้อกลางคืน (ghost moths; สกุล Hepialidae) ที่อยู่บนเทือกเขาหิมาลัยที่ความสูงกว่า 3,500 เมตร เหนือจากระดับน้ำทะเล เห็ดถั่งเช่าเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่อดีตกาล ชาวจีน ญี่ปุ่นและประเทศในภูมิภาคอาเซี่ยนเชื่อว่า เป็นอาหารให้พลังงาน(Tonic food) เป็นสมุนไพร (Herb) และยาอายุวัฒนะ (Medicinal values) เนื่องจากเห็ดถั่งเช่าไประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) โปรตีน(protein) คอร์ไดเซปิน (cordycepin) สเตอรอล (sterol) tenuipesine, trichothecanes (Isaka , Palasarn, Lapanun, & Srikung, 2011) เป็นต้น ซึ่งใช้รักษาโรคได้สารพัดโรค (Lu, Miyakoshi, Tian, & Yoshida , 2007, Kim **et al**., 2011, Park, Park, & Park, 2011, Chen **et al**., 2008, Chen, et al., 2006) จึงทำให้เห็ดถั่งเช่าเป็นที่รู้จักมาช้านานโดย นิยมนำมาใช้เป็น ยาสมุนไพรรักษาโรคและอาหารเสริมที่มีราคาแพงมาก

เห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps millitaris**) หรือ Winter-Worm-Summer-Grass เจริญเติบโตในที่ที่มีอากาศหนาวเย็นบนพื้นที่ภูเขาหลายแห่งในประเทศ เกาหลี จีน ทิเบตและญี่ปุ่น เห็ดชนิดนี้เป็นปรสิตในดักแด้หรือตัวอ่อนของผีเสื้อในสกุล Lepidoptera (Wang, **et al**., 2015) เห็ดถั่งเช่าสีทองอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่สำคัญ (Lu, Miyakoshi, Tian, & Yoshida , 2007) กลูแคน(glucan)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) โปรตีน (protein) (Xu **et al.**, 2003) คอร์ไดเซปิน (cordycepin) สเตอรอล (sterol) tenuipesine, trichothecanes (Isaka , Palasarn, Lapanun, & Srikung, 2011) ซึ่งสารเหล่านี้ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory (Chen **et al.**, 2008) ป้องกันการเกิดเนื้องอก (anti-tumor) (Kim **et al.**, 2011) ป้องกันการเกิดโรคซึมเศร้า (antidepressant) (Kan **et al.**, 2010) และภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemic action) (Park, Park, & Park, 2011) ลดระดับไขมันในเลือด (Chen, **et al.**, 2006) ซึ่งมีความสำคัญ ในทางการแพทย์และเภสัช วิทยาเป็นอย่างมาก(Ji **et al.**, 2009, Kim **et al.**, 2002 & Zhao **et al.**, 2002) ปัจจุบันเห็ดถั่งเช่าที่เกิดในธรรมชาติมีปริมาณลดลง และมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด จึงนิยมเพาะเห็ดถั่งเช่าขึ้นเพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ และ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในเชิงพาณิชย์

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) เป็นสารประกอบที่ส่งผลต่อกิจกรรม (activity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ อาจส่งผลดี (beneficial) หรือผลเสีย (adverse) ขึ้นอยู่กับชนิดของสารและปริมาณสารที่ได้รับ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจากเห็ดได้แก่ cordycepin, polysaccharide, glucans, terpenoids, phenolic compounds, lectins, statins. (Badalyan, 2001) ซึ่งส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งและช่วยรักษา (cancer prophylaxis and therapy) ช่วยให้อายุยืน (longevity) (Kalcher, Svancara, Buzuk, Vytras,& Walcarius, 2009) ป้องกันการเกิดเนื้องอก (anti-tumor) ลดระดับไขมันในเลือด (hypocholesterolemic) ป้องกันการเกิดเบาหวาน (antidaibetic) ช่วยป้องกันตับ (hepatoprotective) (Badalyan, 2012 , & Lindequist **et al.**, 2005) ป้องกันการเกิดโรคซึมเศร้า (antidepressant) และภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemic action) (Park, Park, & Park, 2011) คอร์ไดซิปิน (cordycepin or 3'-deoxyadenosine) เป็นสารออกฤทธิ์ตัวแรกของนิวคลิโอไซด์ (nucleosides) ที่มีอยู่เห็ดถั่งเช่า ที่ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกาย (Immunomodulation) กระตุ้นการทำงานของแมคโครฟากจ์ (macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์คุ้มกันขนาดใหญ่ สร้างภูมิคุ้มกันในการทำงานของตับ ไต ม้ามและต่อมไทมัส เป็นสารชะลอวัย (Anti-aging) ช่วยลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (lower blood glucose levels) ช่วยลดระดับไขมันในเลือด (lower blood lipid) ป้องกันการเกิดเนื้องอก (anti-tumor) ป้องกันการเกิดมะเร็งปอด (lung cancer) ป้องกันการเกิดมะเร็งตับ (liver cancer) ป้องกันการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรีย (anti-oxidant and antibacterial effect) ต้านการอักเสบ (anti-inflammation)ทำให้กระดูกแข็งแรง (promote bone health) ช่วยให้การมองเห็นดีขึ้น (improving vision) (Hsu และคณะ, 2015)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

โพลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อน ละลายน้ำได้ โพลีแซคคาไรด์จะทำงานร่วมกับแมคโครฟากจ์ (macrophage) ซึ่งเป็นเซลล์คุ้มกันขนาดใหญ่ที่ออกจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อและจับกับโพลีแซคคาไรด์ที่บริเวณกระเพาะอาหาร และนำไปส่งยังเซลล์คุ้มกันตัวอื่นๆ โดยช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพของเซลล์คุ้มกันธรรมชาติให้ทำลายเซลล์แปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย รวมถึงไวรัสและแบคทีเรียอื่นๆเป็นสารต้านมะเร็งและลดอนุมูลอิสระกระตุ้นให้แผลหายเร็ว โดยจะไปเพิ่ม Collagen ให้กับบริเวณเนื้อเยื่อที่เป็นแผลเพิ่มการสร้างเม็ดเลือดขาวช่วยลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด ลดอาการอักเสบ และการติดเชื้อแทรกซ้อน บรรเทาอาการท้องผูก ช่วยในเรื่องระบบขับถ่าย และลดอาการภูมิแพ้ (Hai Bang, **et al.**, 2014, Vinhal Costa Orsine, Carvalho Garbi Novaes, & Ramirez Asquieri, 2012).

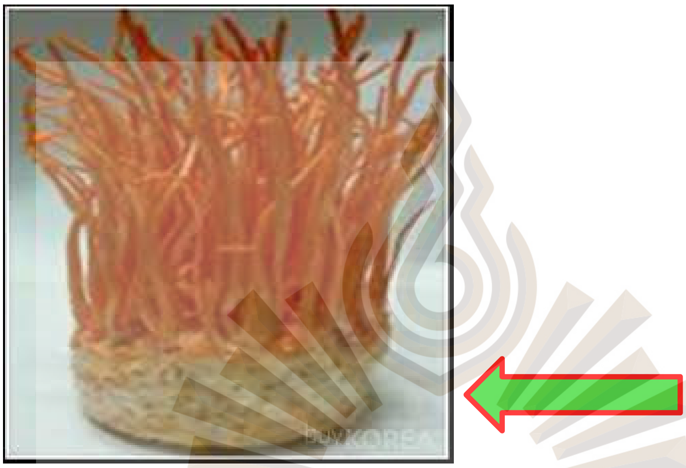
โพลีแซคคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าเป็นชนิด 1,3 และ 1,6 β-D-glucans ซึ่งเบต้ากลูแคน เป็นสารช่วยเสริมภูมิคุ้มกันของร่างกายให้แข็งแรง ลดอาการภูมิแพ้ ช่วยฟื้นตัวเม็ดเลือดในไขกระดูก ต้านอนุมูลอิสระ ลดไขมันและน้ำตาลในเส้นเลือด กระตุ้นการสร้างคอลลาเจน ลดฮอร์โมนความเครียด และลดอันตรายจากโลหะหนัก (Badalyan, 2001)

สารประกอบฟีนอลลิก (phenolic compound) มีโครงสร้างทางเคมีที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ พบมากในพืชทั่วไปโดยจับกันเป็นโมเลกุลของน้ำตาลในรูปสารประกอบไกลโคซายด์ (glycosides) สามารถละลายน้ำ สารประกอบฟีนอลลิกในธรรมชาติส่วนใหญ่จะพบในรูปสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) กรดฟีนอลิก (phenolic acid)และ แทนนิน (tannin)ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) เป็นสารคีเลต (Chelate) ดักจับไอออนของโลหะเป็นสารให้อิเล็กตรอน และเป็นตัวให้ไฮโดรเจน (Cheung และคณะ, 2003) สารฟีนอลิกใช้ในการป้องกันโรคต่างๆ เช่น ป้องกันการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็งโดยสารประกอบฟีนอลลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งให้เกิดปฏิกิริยาของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมของไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ทำให้สารประกอบฟีนอลลิกมีความเสถียรมากขึ้น จึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นและทำให้สารประกอบฟีนอลลิกลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ 2 เท่า (Andreas และคณะ, 2015)

จากปริมาณความต้องการในการใช้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีมากแต่เห็ดในธรรมชาติมีจำนวนจำกัดจึงนิยมเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทองในเชิงพาณิชย์โดยนำส่วนดอก (Fruiting Body) และไมซีเลี่ยม (mycelium)ไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ แต่ฐานดอก (compose) ซึ่งประกอบด้วยธัญพืช วัตถุดิบทางการเกษตร และสารอาหารที่สำคัญหลายชนิดที่ใช้ในการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่ายังไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ Masuda และคณะ (2006) ได้

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ศึกษาวิจัยพบว่า สารคอร์ไดซิพิน (Cordycepin) ปริมาณ 98 เปอร์เซนต์ที่สังเคราะห์จาก **C. militaris** จะถูกปล่อยลงในอาหาร ดังนั้นหลังจากเห็ดถั่งเช่าเจริญเติบโตเต็มที่ ฐานเห็ดซึ่งใช้เป็นอาหารดังกล่าวจะมีสาร Cordycepin สูงมาก การนำฐานเห็ดมาแปรรูปเป็นไวน์ จะทำให้ทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ถูกสกัดออกมา ซึ่งนอกจากจะนำไปใช้เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพแล้ว ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัช เพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ในเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคต



ฐานดอก(Compose)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษากระบวนการหมักไวน์จากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีที่สูงขึ้น

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้กระบวนการหมักไวน์จากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีที่สูงขึ้น
2. ได้เผยแพร่งานวิจัยในวารสารทั้งในไทยและ/หรือต่างประเทศ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Yang และคณะ (2015) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps militaris**) และสภาวะในการหมักไวน์ข้าวจากอาหารที่ใช้เลี้ยงเห็ดถั่งเช่าเพื่อให้ได้ปริมาณสารคอร์ไดซิพินสูงๆ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง คืออัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งที่ 1.23 มิลลิลิตรต่อกรัม ปริมาณหัวเชื้อ (inoculum size) 15 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 23°C และสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์ข้าวจากอาหารที่ใช้เลี้ยงเห็ดถั่งเช่าเพื่อให้ได้ปริมาณสารคอร์ไดซิพินสูงๆคือการเพิ่มอาหารของเห็ดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่อัตราส่วน 50 กรัมต่อ100 กรัมข้าว อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งที่ 1.96 มิลลิลิตรต่อกรัม เติมโคจิลงไป 6.53 เปอร์เซ็นต์ หมักที่อุณหภูมิ 25.09 °C จะได้ปริมาณสารคอร์ไดซิพิน 40.58 มิลลิกรัมต่อลิตรภายใน 2 วันและในวันที่ 3 ปริมาณสารคอร์ไดซิพินจะลดลงเหลือ 33.69 มิลลิกรัมต่อลิตร

Wang และคณะ (2015) เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดถั่งเช่าทิเบต (**Cordyceps sinensis**) ที่เกิดตามธรรมชาติและเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยง พบว่า ไขมัน (crude fat) และกรดอะมิโนทั้งหมด (total amino acids)ในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยงจะสูงกว่าเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เกิดตามธรรมชาติอย่างชัดเจน โดยจะพบกรดกลูตามิกมากที่สุดในบรรดากรดอะมิโนทั้งหมดทั้งในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยงและเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เกิดตามธรรมชาติ และพบกรดอาร์จินีน (arginine) เป็นอันดับรองลงมาในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เกิดตามธรรมชาติ ในขณะที่พบกรดแอสพาติก (aspartic)และลูซีน (leucine) ปริมาณมากในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยง ปริมาณเกลือแร่ในเห็ดถั่งเช่าทิเบต ที่เกิดตามธรรมชาติและเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยงจะแตกต่างกันอย่างชัดเจน ยกเว้นปริมาณ โครเมี่ยม (Cr) โมลิบดินั่ม (Mo) ดีบุก (Sn) วาเนเดียม(V) และแคดเมี่ยม (Cd) ปริมาณแมนนิทอล (mannitol)ซึ่งเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol)ในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เกิดตามธรรมชาติจะสูงกว่าเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยงอย่างชัดเจน โดยพบอยู่ในช่วง 9.85 ถึง 11.51 เปอร์เซ็นต์ แต่ในไมซีเลี่ยมจะพบน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของปริมาณดังกล่าว ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ อะดินีน (adenine)และอะดีโนซีน (adenosine)ในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยงมีปริมาณ 10.43 เปอร์เซ็นต์ 0.50 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 2.61 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และไม่พบสารคอร์ไดซิพินในทุกตัวอย่างของเห็ด การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

DPPH radical scavenging activity ในเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เพาะเลี้ยง จะมีปริมาณสูงกว่าเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เกิดตามธรรมชาติ

Sharma (2015) ศึกษาการสกัดโพลีแซคคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่า **Isaria sinclairii** และ **Isaria tenuipes** ทั้ง Internal Polysaccharide (IPS) และ External Polysaccharide (EPS) โดยนำเห็ดที่ต้องการศึกษา 0.1 กรัม มาสกัดด้วย สารละลายเมธานอล 70 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายเมธานอล 70 % ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และสารละลายเมธานอล 70 % ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C นาน 10 นาที นำส่วนใสมาปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตรด้วยสารละลายเมธานอล 70 % กรองผ่านเครื่องกรอง Millipore ขนาด 0.45 ไมครอนแล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์โดยวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชั่น (antioxidant) ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ซึ่ง DPPH (1,1-dipheyl-2-pierylhydrazyl) เป็นอนุมูลอิสระ (free radical) เมื่ออยู่ในรูปของสารละลายเอทานอล จะมีสีม่วงซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm และเมื่อ DPPH รับอิเล็กตรอนหรือ hydrogen radical จะทำให้มีสีจางลง ดังนั้นถ้าสารที่นำมาทดสอบทำให้สีของ DPPH จางลง แสดงว่าสารนั้นมี antioxidative effect โดยกลไกของการต้านอนุมูลอิสระ (free radical scavenging activity) พบว่าปริมาณโพลีแซคคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่า **Isaria sinclairii** และ **Isaria tenuipes** ประกอบด้วยน้ำตาล กลูโคสเป็นส่วนใหญ่ รองลงมาได้แก่น้ำตาล xylose, rhamnose, mannose, galactose และ fructose ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัด EPS มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า IPS โดยการรายงานผลในรูปของ 50% Effective concentration (EC_{50}) ซึ่งเป็นการวัดปริมาณสารต้านออกซิเดชั่นที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50%

Hong และคณะ (2009)) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ น้ำตาลที่ละลายได้ (soluble sugar) กรดอะมิโน (amino acid)และกรดไขมัน (fatty acid) ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**C. militaris**) เห็ดถั่งเช่าทิเบต (**C.pruinosa**) และ เห็ดถั่งเช่าหิมะ (**Paecilomyces tenuipes**) พบว่าปริมาณน้ำตาลที่ละลายได้ (soluble sugar) ในรูปของ กลีเซอรอล (glycerol) กลูโคส (glucose) แมนนิทอล (mannitol) และซูโครส (sucrose) ในเห็ดถั่งเช่า **C. militaris**, **C.pruinosa** และ **Paecilomyces tenuipes** เท่ากับ 29.23 มิลลิกรัมต่อกรัม 8.61 มิลลิกรัมต่อกรัมและ 24.00 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด (total free amino acid) ใน **C. militaris** เท่ากับ 14.09 มิลลิกรัมต่อกรัม ใน **C.pruinosa** เท่ากับ 34.60 มิลลิกรัมต่อกรัมและใน **Paecilomyces tenuipes**

เท่ากับ 17.09 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนกรดไขมันในรูปของกรดโอเลอิก (oleic) จะสูงมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ในทุกสายพันธุ์

Hong และคณะ (2007) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในส่วนดอกเห็ด (fruiting body) ของเห็ดถั่งเช่าหิมะ (**Paecilomyces tenuipes** (Peck) Samson) พบว่ามีโปรตีนหยาบ (crude protein) 6.83 เปอร์เซ็นต์ เส้นใยหยาบ (crude fiber) 6.20 เปอร์เซ็นต์ ไขมันดิบ (crude fat) 21.76 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) 3.49 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 57.56 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำตาลที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble sugar) 24.00 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด (total free amino acids) 17.09 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีกรดไขมันในรูปของกรดโอเลอิก (oleic) สูงถึง 38.35 เปอร์เซ็นต์ มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรูปของ D-mannitol และ adenosine เท่ากับ 4.676 และ 0.033 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Masuda และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตสารคอร์ไดซิพิน (3'-deoxyadenosine)ซึ่งเป็นสารนิวคลิโอไซด์ (nucleosidesในเห็ดถั่งเช่าสีทอง **Cordyceps militaris** NBRC 9787 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง (surface culture) พบว่า สารคอร์ไดซิพิน (Cordycepin) ปริมาณ 98 เปอร์เซนต์ที่สังเคราะห์จาก **C. militaris** จะถูกปล่อยลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และพบกรดนิวคลินิกบางตัวในอาหารแข็งดังกล่าวอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารคอร์ไดซิพินจากเห็ดถั่งเช่าสีทองคือ เปปโตนและสารสกัดจากยีสต์ โดยมีอัตราส่วนของสารสกัดจากยีสต์มากกว่าหรือเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือกลูโคส โดยมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 2 ต่อ 1 ความสูงของอาหารแข็งที่ให้ผลผลิตสูงสุดอยู่ระหว่าง 1.8 ถึง 5.3 เซนติเมตร ที่สภาวะดังกล่าวจะได้ปริมาณสารคอร์ไดซิพินสูงสุดที่ 640 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีอัตราการผลิตสารคอร์ไดซิพินสูงสุดที่ 32 มิลลิกรัมต่อวัน

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

หัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง(**Cordyceps militaris**)

3.2 อุปกรณ์

1. ถ่ายหัวเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)
2. บ่มเชื้อจุลินทรีย์ในตู้บ่ม (Incubator)
3. ทำให้อาหารปลอดชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูง (Autoclave)
4. อบแห้งเห็ดเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเครื่อง Tray Dryer
5. ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน (Magnetic Stirrer)
6. หมักไวน์ในขวดหมักไวน์
7. วัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer
8. วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter
9. วัดค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) ด้วยเครื่อง Hand refractometer
10. วิเคราะห์ปริมาณสาร Cordycepin ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Cromatography (HPLC)
11. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectropotometer
12. วิเคราะห์ปริมาณสาร Cordycepin ด้วยเครื่อง High Performance liquid Cromatography (HPLC)

3.3 สารเคมี

1. Yeast extract
2. Potato dextrose broth
3. KH_2PO_4
4. $NaHPO_4.7H_2O$
5. $MgSO_4.7H_2O$
6. KCl

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

7. $NaNO_3$
8. Ascorbic acid
9. Gallic acid
10. standard Cordycepin

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1) เตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps militaris**)

1.1 เตรียมอาหารวุ้น PDA (Potato dextrose agar) แล้วย้ายหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองลงบนอาหารวุ้น PDA โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะลงบนจานเพาะเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ ทำการบ่มเชื้อในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 21 วันหลังจากเส้นใยเจริญเต็มจานเพาะเชื้อแล้ว นำเชื้อเก็บในตู้เย็นสำหรับใช้งานในขั้นตอนต่อไป

1.2 ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว MPDA ซึ่งมีส่วนผสมดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สูตรอาหาร MPDA ดัดแปลงมาจาก (Gabriel Moura Mascarin , 2014)

Media	Composition	(g/l)
Medium MYR	Potato broth	200 g
Molasses yeast rice	Brown Rice broth	200 g
	Yeast	5 g
	Dextrose	15 g
	Molasses	30 g
	KH_2PO_4	0.36 g
	$NaHPO_4.7H_2O$	1.05 g
	$MgSO_4.7H_2O$	0.6 g
	KCl	0.1 g
	$NaNO_3$	1.58 g
	Distilled water	1,000 ml

ปรับสารละลายให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.5 – 7

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

1.3 ทำการเพาะเลี้ยงดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองในสูตรอาหารธัญพืช โดยใช้ข้าวกล้องสังข์หยดเป็นฐาน

นำอาหารธัญพืช บรรจุในขวดขวดละ 40 กรัม เติมอาหารเหลว(MYR) 40 มิลลิลิตรลงในแต่ละขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15-17 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมหัวเชื้อเห็ดถั่งจากขั้นตอนที่ 1.2 ลงไปขวดละ 4 มิลลิลิตร(10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักธัญพืช) นำไปบ่มในที่มืด นาน 42 วัน ทำการเก็บเกี่ยว แยกส่วนดอก (Fruiting Body) และ ไมซีเลี่ยมเพื่อผลิตไวน์

2) นำดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองสดและฐานดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองสด มาทำไวน์ ที่อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง 2:1 (มิลลิลิตรต่อกรัม) ปริมาณหัวเชื้อ (inoculum size) 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) หมักที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลและองค์ประกอบทางเคมีในไวน์ที่ผลิตจากดอกและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง ในลำดับต่อไป

3.4.2 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไวน์ที่ผลิตจากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีดังต่อไปนี้

1. การวิเคราะห์ปริมาณสาร Cordycepin ประยุกต์จากวิธีของ Li และคณะ (2004)

เก็บสารละลายตัวอย่างจากการหมักไวน์ 5 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 10,000 รอบนาน 10 นาที นำส่วนใส (supernatant) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร กรองผ่านเครื่องกรองเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน นำส่วนใสไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ C_{18} reverse-phase column (5.0 µm), 4.6x250 mm mobile phase คือ น้ำ(A) และ อะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile; B) สภาวะการชะ (gradient elution condition) คือ 0 ~ 5 min, 0 ~ 15%. B; 5 ~ 25 min, 15 ~ 20% B; 25 ~ 35 min, 20 ~ 40% B; 35 ~ 45 min, 40 ~ 80% B; 45 ~ 50 min, , 80% ปริมาตรสารที่ฉีด (inject volume) 20 µl อัตราการไหล 1.0 ml/min. อุณหภูมิทำงาน (working temperature) 25 °C ความยาวคลื่น (detection wavelength) 260 nm.

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

วิเคราะห์โดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Siddiqui **et al** (2017) ดังนี้

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

นำตัวอย่างไวน์ 1 ml ผสมกับน้ำกลั่น 4.5 ml เติมสารละลาย Folin-Ciocalteau ความเข้มข้น 2 N ปริมาตร 0.5 ml ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 % ปริมาณ 4 ml ลงในหลอด ผสมให้เข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm .

เปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ผ่านวิธีการเดียวกัน โดยใช้ระดับความเข้มข้นที่ 20, 40, 60, 80,100 และ 200 ส่วนในล้านส่วน

คำนวณปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเป็น Gallic acid equivalent per 100 ml of sample (mgGAE/100 ml) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชั่น (antioxidant) ด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH Radical - Scavenging activity

ดัดแปลงวิธีจาก Markovic' **et al.**(2015) โดยนำตัวอย่างไวน์ปริมาตร 2 ml เติมสารละลาย DPPH (2,2-dipheyl-1-pierylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 2 ml ในขณะที่สารควบคุมใช้เอทานอลปริมาตร 2 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ L-Ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตร

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{DPPH} - A\text{ sample}) / A_{control})] \times 100$$

เมื่อ A_{DPPH} คือ Absorbance of DPPH, control

Asample คือ Absorbance of sample (Markovic' **et al**, 2015)

4. การวิเคราะห์แอลกอฮอล์โดยวิธี Ebulliometer Analysis

การหาจุดเดือดของน้ำ

1. เติมนำกลั่นบริสุทธิ์ 30 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Boiling chamber
2. เสียบเทอร์โมมิเตอร์ ให้ปลายอยู่เหนือน้ำใน Boiling chamber ต่อส่วน reflux condenser โดยไม่ต้องเติมน้ำ
3. จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ในตำแหน่งล่างสุดของ Boiling chamber ต้มจนกระทั่งน้ำเดือด สังเกตไอน้ำจาก chamber ที่ว่าง
4. อ่านอุณหภูมิของน้ำเดือดเมื่อปรอทขึ้นคงที่
5. ปรับ Circular slide rule ให้อยู่ตรงตำแหน่งที่อ่านค่าจุดเดือดของน้ำ
6. เทน้ำทิ้ง

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

การหาจุดเดือดของไวน์

1. ใส่ตัวอย่างเล็กน้อย เพื่อ Rinse boiling chamber จากนั้นเททิ้งไป
2. ใส่ตัวอย่างไวน์ที่จะวิเคราะห์ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน boiling chamber
3. ต่อ reflux condenser และเติมน้ำเย็นลงใน condenser
4. เสียบเทอร์โมมิเตอร์ และจุดไฟให้ความร้อนจนเดือด
5. ดูระดับปรอทที่ขึ้นไปจนคงที่ อ่านค่าจุดเดือดของตัวอย่าง อ่านค่าจากแผ่น Circular slide rule

3.5 ตารางแผนงานวิจัย

กิจกรรม และ ผลงานที่คาดว่าจะสำเร็จ	งวดที่ 1 (เดือนที่ 1-4)	งวดที่ 2 (เดือนที่ 5-8)	งวดที่ 3 (เดือนที่ 9-12)	ผู้รับผิดชอบ
• เตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง (**Cordyceps militaris**) • เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว MPDA • เพาะเลี้ยงดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารธัญพืช • เก็บเกี่ยวเห็ดถั่งเช่าสีทอง	⟷			อ. ธนัชยา ผศ.ศศิรินทร์

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

นำฐานดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองสด มาทำไวน์ โดย • เตรียมหัวเชื้อไวน์ • นำดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองและฐานสด มาทำไวน์ที่อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็งที่ 2.5 มิลลิลิตรต่อกรัม • เติมหัวเชื้อไวน์ (inoculum size) ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรหัวเชื้อต่อปริมาตรน้ำหมัก) • หมักไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองและฐานที่อุณหภูมิห้อง		⟷		ผศ.ศศิรินทร์
• ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สาร Cordycepin สาร polysaccharide สารฟีนอลิกทั้งหมด ของไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองเปรียบเทียบกับดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ไม่ผ่านการหมัก		⟷		ผศ.ศศิรินทร์

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

• ศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง			↔	ผศ.ศศิรินทร์
• วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ด้วย SPSS และจัดทำรายงานผลการทดลอง			↔	ผศ.ศศิรินทร์

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ศึกษาการเตรียมหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง(**Cordyceps militaris**)

1.1 เตรียมอาหารวุ้น PDA (Potato dextrose agar) แล้วย้ายหัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทองลงบนอาหารวุ้น PDA โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะลงบนจานเพาะเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ ทำการบ่มเชื้อในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 21 วันหลังจากเส้นใยเจริญเต็มที่ ดังรูปที่ 1นำเชื้อไปใช้งานในขั้นตอนต่อไป

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รูปที่ 1 หัวเชื้อเห็ดถั่งเช่าสีทอง(**Cordyceps militaris**) ที่เจริญเต็มที่

1.2 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว MPDA

นำอาหารเหลว MPDA บรรจุในขวด ขวดละ 200 มิลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15-17 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำเชื้อที่เตรียมไว้จาก 1.1 โดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะแล้วนำไปใส่ลงในขวด จำนวน 2 ชิ้น นำไปบ่มในที่มืด นาน 21 วัน เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว MPDA แสดงไว้ดังรูปที่ 2

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รูปที่ 2 เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว MPDA

นำอาหารธัญพืช บรรจุในขวดขวดละ 40 กรัม ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15-17 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น ดังรูปที่ 3 เติมเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว 40 มิลลิลิตรลงไปในแต่ละขวดภายในตู้ปลอดเชื้อดังรูปที่ 4 นำไปบ่มในที่มืด นาน 42 วัน

รูปที่ 3 อาหารธัญพืชที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รูปที่ 4 การเติมเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลวลงบนอาหารธัญพืชในตู้ปลอดเชื้อ

รูปที่ 5 เห็ดถั่งเช่าสีทองที่กำลังเจริญบนอาหารธัญพืช

ตารางที่ 2 น้ำหนักของดอกและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองสด

น้ำหนักธัญพืช (กรัม)	น้ำหนักดอกสด (กรัม)	น้ำหนักฐานสด (กรัม)
2000	480	800

4.2 ศึกษาการทำไวน์จากดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

นำฐานและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองสด มาทำไวน์ที่อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว 1:5 และ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เติมหัวเชื้อไวน์ **Saccharomyces cereviseae** ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรหัวเชื้อต่อปริมาตรน้ำหนัก) ความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 3-3.5 หมักที่อุณหภูมิห้องนาน 30 วัน

รูปที่ 6 ไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าในระหว่างการหมัก

รูปที่ 7 ไวน์ฐานเห็ดถั่งเช่าในระหว่างการหมัก

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

4.3 ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

เก็บตัวอย่างไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าและฐานถั่งเช่าสีทองทุกๆ 5 วันเพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.3.1การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชั่น (antioxidant) ด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH Radical - Scavenging activity โดยนำตัวอย่างไวน์ปริมาตร 2 ml เติมสารละลาย DPPH (2,2-dipheyl-1-pierylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 2 ml ในขณะที่สารควบคุมใช้เอทานอลปริมาตร 2 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ L-Ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

ตารางที่ 3 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ(DPPH) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ฐานเห็ด	ดอกเห็ด
0	93.69 ±0.64 [a]	37.90 ± 1.41 [b]
5	94.08 ± 0.51 [a]	48.66 ± 0.26 [b]
10	103.76 ±1.60 [a]	50.46 ± 2.56 [b]
15	105.04 ±3.14 [a]	52.52 ± 1.03 [b]
20	107.47±10.06 [a]	75.84 ± 0.51 [b]
25	108.56 ± 2.05 [a]	95.46 ± 1.47 [b]
30	118.18 ± 2.82 [a]	108.80 ± 2.88 [b]

หมายเหตุ ตัวอักษร a , b เหนือตัวเลข หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างในแถวเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากการศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH Radical - Scavenging activity พบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในไวน์ฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองเริ่มต้นมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าไวน์ที่ผลิตจากดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองมาก แต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในไวน์ดอกเห็ดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามระยะเวลาการหมักจนมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในฐานเห็ด โดยปริมาณสารต้านอนุมูล

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

อิสระในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองในวันที่ 30 เท่ากับ 108.80 ± 2.88 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 118.18 ± 2.82 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sharma (2015)

4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent เปรียบเทียบกับการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

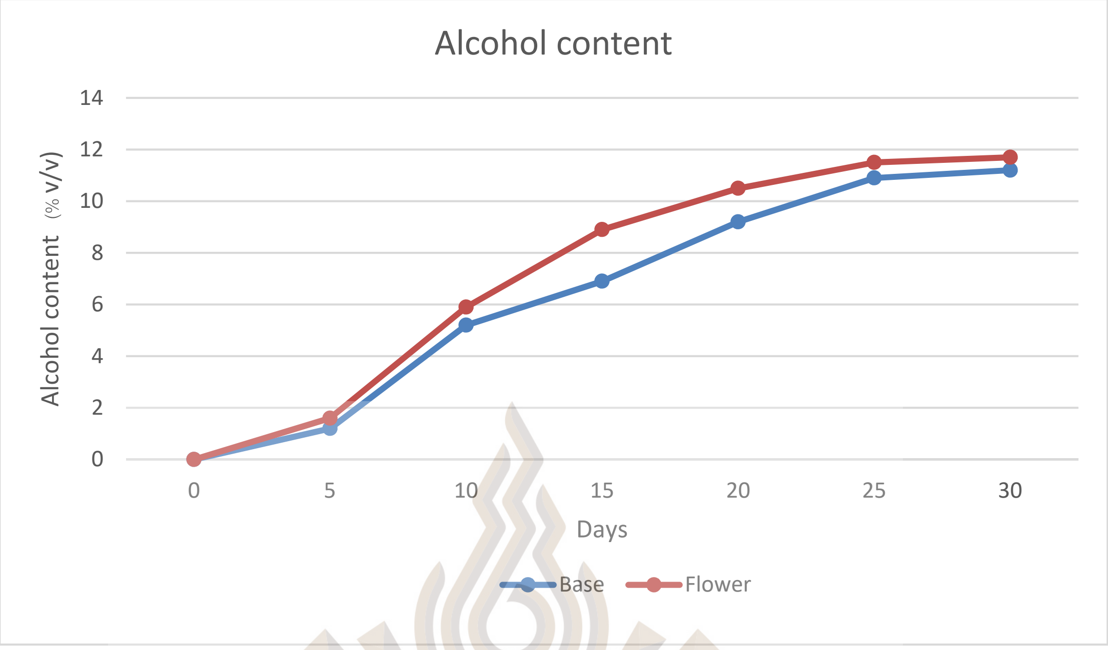
ตารางที่ 4 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) (mgGAE/100 ml)	
	ฐานเห็ด	ดอกเห็ด
0	134.43 ± 0.57	***214.32* ± *1.70***
5	213.13 ± 13.35	***276.26* ± *6.54***
10	217.39 ± 3.41	***309.22* ± *1.71***
15	221.65 ±1.99	***296.14* ± *1.99***
20	246.65 ± 5.40	***318.24* ± *8.24***
25	253.18 ± 1.14	***425.68* ± *8.52***
30	273.35 ± 8.81	***489.88* ± *8.52***

จากการการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะสูงกว่าฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองเกือบ 1 เท่าตัว ทั้งนี้ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก โดยปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ระยะเวลา 30 วันเท่ากับ ***489.88 ± 8.52*** mgGAE/100 ml และ 273.35 ± 8.81 mgGAE/100 ml ตามลำดับ

4.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยวิธี Ebulliometer Analysis ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



รูปที่ 8 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ที่ระยะเวลาต่างๆเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากการปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, °Brix) เริ่มต้นของไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองและปริมาณหัวเชื้อที่เติมเท่ากัน จึงทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองไม่แตกต่างกัน

4.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดซิปิน (Cordycepin) ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเครื่อง HPLC-DAD/MSD ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

ตารางที่ 5 ปริมาณสารคอร์ไดซิปิน (Cordycepin) ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

วันที่	ปริมาณคอร์ไดซิปิน (Cordycepin) (mg/kg))	
	ฐานเห็ด	ดอกเห็ด
0	97.25	***33.30***
15	69.24	***12.16***
30	66.78	***7.96***

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดซิปิน (3'-deoxyadenosine) หรือ คอร์ไดซิปิค แอซิด (Cordycepic acid) ซึ่งเป็นสารนิวคลิโอไซด์ (nucleosidesในเห็ดถั่งเช่าสีทอง **Cordyceps militaris** ที่ช่วยให้ระบบแลกเปลี่ยนก๊าซในทางเดินหายใจทำงานได้ดีขึ้น ช่วยสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการเติบโตของเซลล์เนื้องอกและเซลล์มะเร็ง ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า ปริมาณคอร์ไดซิปิน (Cordycepin)ในไวน์ฐานเห็ดจะสูงกว่าในไวน์ดอกเห็ดมาก เนื่องจาก แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารคอร์ไดซิพินจากเห็ดถั่งเช่าสีทองคือเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์ซึ่งอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Masuda และคณะ (2006) ที่กล่าวว่าสารคอร์ไดซิพิน (Cordycepin) ที่สังเคราะห์จาก **C. militaris** ปริมาณ 98 เปอร์เซนต์จะถูกปล่อยลงในอาหารแข็งที่ใช้เลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และคอร์ไดซิปินในไวน์ฐานเห็ดและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองจะลดลงตามระยะเวลาการหมัก ปริมาณคอร์ไดซิปิน (Cordycepin)ในไวน์ฐานเห็ดและไวน์ดอกเห็ดที่ระยะเวลาการหมัก 30 วันเท่ากับ ***7.96*** มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 66.78 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lao และคณะ (2020)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 5
สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้เป็นยา ได้แก่ คอร์ไดซิปิน สารประกอบโพลิฟีนอลทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ มีสรรพคุณช่วยสร้างภูมิต้านทาน ช่วยให้ระบบแลกเปลี่ยนก๊าซในทางเดินหายใจทำงานได้ดีขึ้น ช่วยสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการเติบโตของเซลล์เนื้องอกและเซลล์มะเร็ง ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ลดการอักเสบของตับ ลดน้ำตาลในเลือดซึ่งก่อให้เกิดเบาหวาน ลดคลอเรสเตอรอล ลดการเกิดโรคไต ทำให้อายุยืน (Bawadekji และคณะ, 2016)

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในไวน์ที่ผลิตจากฐานเห็ดและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์โดย DPPH Radical - Scavenging activity และปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองจะเพิ่มมากขึ้นกว่าในฐานและดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ไม่ผ่านการหมักมาก โดยปริมาณสารดังกล่าวจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการหมัก ซึ่งวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ ต้องการนำฐานของเห็ดถั่งเช่า (compose) ซึ่งประกอบด้วยธัญพืช วัตถุดิบทางการเกษตร และสารอาหารที่สำคัญหลายชนิดที่ใช้ในการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่ามาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่แทนการทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ จากผลวิจัยพบว่า ฐานเห็ดถั่งเช่าจะมีสาร Cordycepin สูงมากกว่าดอกเห็ดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Masuda และคณะ (2006) แต่ปริมาณสาร Cordycepin จะลดลงตามระยะเวลาการหมักซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Laoและคณะ (2020) การนำฐานเห็ดมาแปรรูปเป็นไวน์ นอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองแล้วยังทำให้ผู้บริโภคได้รับสารฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ทำให้ไวน์จากฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพอีกทางเลือกหนึ่งของผู้บริโภคในยุคปัจจุบัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากดอกและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองให้อยู่ในช่วง 3-4 เพื่อความเหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์และการหมักไม่หยุดชะงัก
2. ควรเปรียบเทียบวิธีการสกัดสาร Cordycepin จากดอกเห็ดและฐานเห็ดหลายๆวิธีก่อนนำมาหมักไวน์

เอกสารอ้างอิง

Andreas, B., Dimitrios, T., Kalliopi, B., Theopisti, L., & Vassiliki, O., (2015). Evolution of pheonolic compounds and metal content of wine during alcoholic fermentation and storage. **Food Chemistry**; 178:164-171.

Badalyan SM. (2012). Edible ectomycorrhizal mushroom. **Soil Biology series**; Vol. 34. Springer-Verlag. A. Zambonelli & G. Bonito, Eds. Pp. 317-334. ISBN: 978-3-642-33822-9.

Badalyan SM. (2001). The main groups of therapeutic compounds of medicinal mushrooms. **Probl Med Mycol**; 3: 16-23.

Bawadekji, A., Ali, K.A., &, Ali, M.A. (2016). A Review of the Bioactive Compound and Medicinal Value of Cordyceps militaris. **Journal of the North for Basic and Applied Sciences**, 1(1). DOI: 10.12816/0021378

Chen, XM., Lu, JX., Zhang, YD., He, JT., Guo, XZ., Tian, GY., & Jin, LQ. (2008). Studies of macrophage Immuno-modulating activity of polysaccharides isolated from **Paecilomyces tenuipes**. **Int J Biol Macromol**; 43(3): 252-256.

Chen, J., Zhang, W., Lu, T., Zheng, Y., & Kong, L. (2006). Morphological and genetic characterization of a cultivated **Cordyceps sinensis** fungus and its polysaccharide components possessing antioxidant property in H22 tumour-bearing mice. **Life Sci**; 78: 2742-2748.

Cheung, LM., Cheung, PCK., & Ooi, VEC. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food chemistry 81:249-255.

Gabriel, MM., Sérgio, BA., & Rogério, BL. (2014). Culture Media Selection for Mass Production of **Isaria fumosorosea** and **Isaria farinose**. **J Brazilain Archieves of Biology and Technology**; 5: 754-761.

Gursoy, N., Sarikürkçü, C., Cengiz, M., & Solak, MH. (2009). Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven **Morchella** species. **Food Chem Toxicol**. 47: 2381–2388.

Hai Bang, t., Suhara, H., Doi, K., Fukami, K., **et al**. (2014). Wild mushrooms in Nepal: Some potential candidates as antioxidant and ACE-inhibition sources. **Evid Based Complement Alternat Med**; 2014: 195305

Hsu, JH., Jhou, BY., Yeh, SH., Chen, YL., & Chen, CC. (2015). Health care function of **Cordyceps cicadae**. **J Nutr Food Sci;** 5:432. DOI:10.4172/2155-9600.1000432.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Hong, IP., Nam, SH., Sung, GB., Lee, KG., Cho, SM.,Seok, SJ., Hur, H., Lee, MW.,and Guo, SX. 2009. Chemical composition of Main Cordyceps species in Korea. **Journal of Industrial Entomology;** 18(1): 13-17

Hong, IP., Nam, SH., Sung, GB., Lee, KG., Cho, SM.,Seok, SJ., Hur, H., Lee, MW.,and Guo, SX. 2007. Chemical components of **Paecilomyces tenuipes** (Peck) Samson. **Mycobiology;** 35: 215-218

Isaka, M., Palasarn, S., Lapanun, S., & Srikung, K. (2011). **Paecilodepsipeptide A**, an antimalarial and antitumor Cyclohexadepsipeptide from the insect pathogenic fungus **Paecilomyces cinnamomeus** BCC9616. **J. Nat. Prod**; 70(4): 675-678.

Ji, DB., Ye, J., Li, CL., Wang, YH., Zhao, J., **et al**., (2009). Anti-aging effect of **Cordyceps sinensis** extract. **Phytother Res;** 23: 116-122.

Kalcher, K., Svancara, I., Buzuk, M., Vytras, K., & Walcarius, A. (2009) Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. **Monatsh Chem**; 140: 861-889.

Kan, HW., Ming, LA., Li, CR., Kan, HX., Sun, B., & Liang, Y. (2010). Antidepressant effect of bioactive compounds from **Paecilomyces tenuipes** in mice and rat. **NRR**; 5(20): 1568-1572.

Kim, HC., Choi, BS., Saptoka, K., Kim, S., Lee, HJ., Yoo, JC., & Kim, SJ. (2011). Purification and characterization of a novel, highly potent fibrinolytic enzyme from **Paecilomyces tenuipes. Process Biochem;**46(8): 1545-1553.

Kim, SW., Hwang, HJ., Xu, CP., Na, YS., Song, SK., **et al**., (2002). Influence of nutritional conditions on the mycelial growth and exopolysaccharide production in **Paecilomyces sinclairii. Lett Appl Microbiol;** 34: 389-393.

Lao, Y., Zhang, M., Li, Z., & Bhandari, B. (2020). A novel combination of enzymatic hydrolysis and fermentation: Effects on the flavor and nutritional quality of fermented **Cordyceps militaris** beverage**. Food Science and Technology**. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108934

Li, SP., Li, P., Lai, CM., Gong, YX., Kan, KKW., Dong, TTX., Tsim, KWK., & Wang, YT., (2004). Simultaneous determination of ergosterol, nucleosides and their bases from natural and cultures **Cordyceps** by pressurized liquid extraction and high-performance liquid chromatography. **Journal chromatography;** 1036:239-243

Li, FH., Liu, P., Xiong, WG., & Xu, GF. (2006). Effect of **Cordyceps** polysaccharide on liver fibrosis induced by DMN in rats. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi;** 31: 1968-1971.

Lindequist, U., **et al**., (2005). The pharmacological potential of mushrooms. **Ev. Based. Comp, Alt. Med**; 2: 285-299.

Lu, R., Miyakoshi, T., Tian, GY., & Yoshida, T. (2007). Structural studies of **Paecilomyces tenuipes** Samson polysaccharide-part 2. **Carbohydr. Polym**; 67(3): 343-346.

Masuda, M., Urabe, E., Sakurai, A., and Sakakibara, M., 2006. Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom **Cordyceps militaris**. **Enzyme and Microbial Technology**; 39: 641-646.

Markovic, M.,Martinovic' Bervanda, A., and Talic, S. (2015). Antioxidant activity and total phenolic content of white wine Zilavka. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina. 1:1-4

Park, JH., Park, NS., & Park, E. (2011). Effect of **Dongchunghacho** rice on blood glucose level, lipid profile, and antioxidant metabolism in Streptozotocin-induced diabetic rats. **Food Sci Biotechnol**; 20(4): 933-940.

Yang, R., Gu, D., and Gu, Z., (2015). **Cordyceps** rice wine: A novel brewing process. **Journal of Food Process Engineering.** https://doi:10.1111/jfpe.12251.

Sharma, SK., 2015. Optimized extraction and antioxidant activities of polysaccharides from two entomogeneous fungi. **J Bioanal Biomed**; 7: 180-187. https://doi:10.4172/1948-593X.1000141

Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A. and Mahmood, Z. (2017). Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gule-Zoofa (Nepetra bracteata Benth). Journal of Taibah University Medical Sciences. 12(4):360-363.

Sung, GH., Hywel-Jones, NL., Sung, JM., Luangsa-ard, JJ., Shrestha, B., and Spatafora, JW. 2007. Phylogenetic classification of Cordyceps and the clavicipitaceous fungi. StudieS in Mycology; 57: 5–59. DOI:10.3114/sim.2007.7.01

Vinhal Costa Orsine, J., Carvalho Garbi Novaes, MR., & Ramirez Asquieri, E. (2012). Nutritional value of **Agaricus sylvaticus** mushroom grown in Brazil. **Nutr Hosp**; 27: 449-455.

Wang, J., Kan, L., Nie, S., Chen, H., Cui, S., Philips, AO., Philips, GO., Li, Y., and Xie, M. 2015. A comparison of chemical composition, bioactive components and antioxidant activity of natural and cultured **Cordyceps sinensis.Food Science and Technology;** 63: 2-7. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.109

Xu, CP., Kim, SW., Hwang, HJ., Choi, JW., & Yun, JW. (2003). Optimization of submerge culture conditions for mycelial growth and exo-biopolymer production by **Paecilomyces tenuipes** C240. **Proc Biochem;** 38(7); 1025-1030.

Zhao, CS., Yin, WT., Wang, JY., Zhang, Y., Yu, H., **et al.**, (2002). CordyMax Cs-4 improves glucose metabolism and increase insulin sensitivity in normal rats**. J Altern Complement Med;** 8: 309-314.

Rangsit University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สูตรอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	300	g
Dextrose	20	g
Agar	10-15	g
Water	1	L

Autoclave at 121 °C ความดัน 15 lb /in^2 for 30 min

สูตรอาหารแข็ง (Solid culture) สำหรับธัญพืช 3 kg; ธัญพืช 1 kg/น้ำ 1 L)

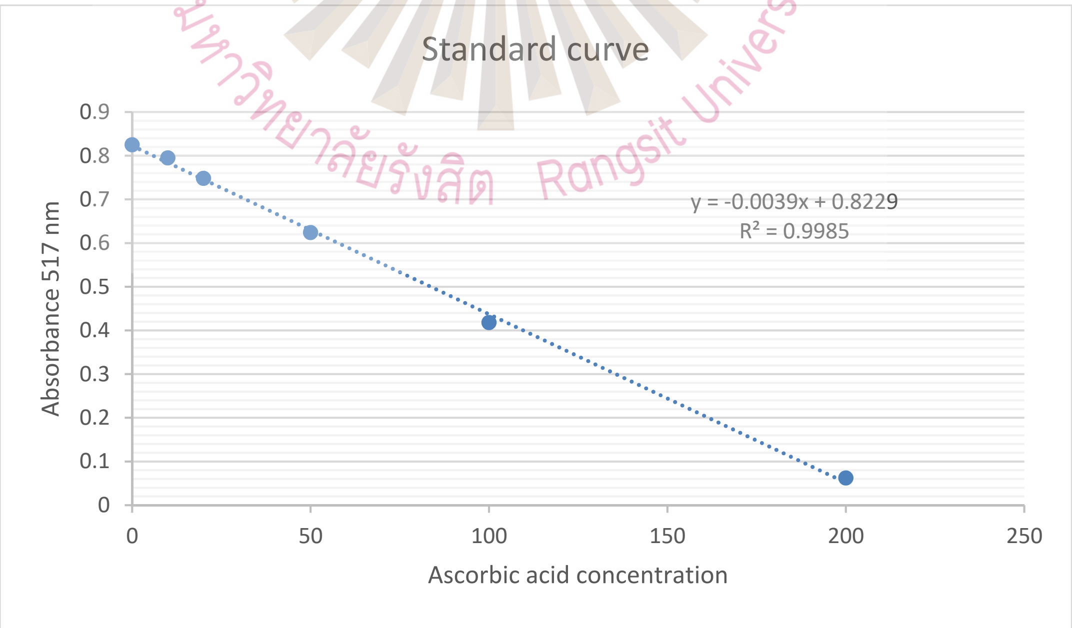
ข้าวกล้องแดง	1.5	kg
ข้าวฟ่างแดง	500	g (แช่ข้ามคืน)
ถั่วแดง	500	g
มันฝรั่ง	600	g (20g/L)
Dextrose	60	g (20g/L)
Peptone	90	g (30g/L) (หัวนมผง)
ไข่	3	ฟอง (1 ฟอง/L)
Yeast extract	30	g (10g/L)
น้ำ	3	L

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก ข

ค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น	***ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 nm***			
(ppm)	***1***	***2***	***3***	***ค่าเฉลี่ย***
DHHP เริ่มต้น	***0.982***	***0.982***	***0.981***	***0.982***
0	***0.825***	***0.824***	***0.825***	***0.825***
10	***0.795***	***0.795***	***0.795***	***0.795***
20	***0.749***	***0.748***	***0.747***	***0.748***
50	***0.626***	***0.622***	***0.623***	***0.624***
100	***0.419***	***0.415***	***0.419***	***0.418***
200	***0.063***	***0.061***	***0.063***	***0.062***



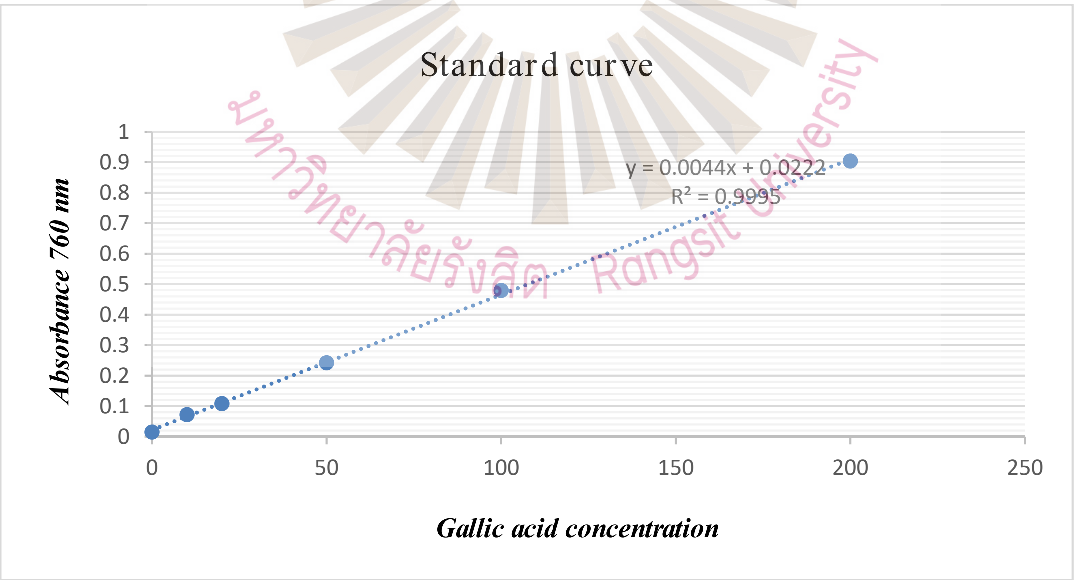
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก ค

ค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานกรดแกลลิคที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานกรดแกลลิค

ความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 760 nm			
(ppm)	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
0	0.018	0.013	0.015	0.015
10	0.075	0.07	0.071	0.072
20	0.107	0.108	0.108	0.108
50	0.242	0.242	0.243	0.242
100	0.469	0.489	0.48	0.479
200	0.908	0.901	0.902	0.904



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก ง

ภาพถ่ายงานวิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รูปที่ 1 ไวน์ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองในถังหมัก

รูปที่ 2 ไวน์ดอกเห็ดและฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก จ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Cordycepin

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyathin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 17 มีนาคม 2564
เลขที่รายงาน TRBK64/11929
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว
(ข้อมูลจากลูกค้า) คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

รายละเอียดตัวอย่าง ฐานที่เวลาเริ่มต้น (0) วัน
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/04280-001

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากถั่งเช่า
ภาชนะบรรจุ : ขวดแก้ว ฝาพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 210 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 03 มีนาคม 2564
วันที่ทดสอบ 04 มีนาคม 2564 - 17 มีนาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Cordycepin **©	97.25	mg/kg	-	Analysed by HPLC-DAD/MSD

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ

CERTIFIED

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R06(16/07/63)P1/1

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyathin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 17 มีนาคม 2564
เลขที่รายงาน TRBK64/11930
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว
(ข้อมูลจากลูกค้า) คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

รายละเอียดตัวอย่าง ฐานที่เวลา 15 วัน
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/04280-002
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากถั่งเช่า
ภาชนะบรรจุ : หลอดแก้ว, จำนวน : 1 หลอด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 95 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 03 มีนาคม 2564
วันที่ทดสอบ 04 มีนาคม 2564 - 17 มีนาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Cordycepin **©	69.24	mg/kg	-	Analysed by HPLC-DAD/MSD

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 17 มีนาคม 2564
เลขที่รายงาน TRBK64/11931
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว
(ข้อมูลจากลูกค้า) คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

รายละเอียดตัวอย่าง ฐานที่เวลา 30 วัน
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/04280-003
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากถั่งเช่า
ภาชนะบรรจุ : หลอดแก้ว, จำนวน : 1 หลอด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 97 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 03 มีนาคม 2564
วันที่ทดสอบ 04 มีนาคม 2564 - 17 มีนาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Cordycepin **©	66.78	mg/kg	-	Analysed by HPLC-DAD/MSD

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้อำนวยการ
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ
CERTIFIED

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyathin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 17 มีนาคม 2564
เลขที่รายงาน TRBK64/11932
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว
(ข้อมูลจากลูกค้า) คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

รายละเอียดตัวอย่าง ดอกที่เวลาเริ่มต้น
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/04280-004

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากถั่งเช่า
ภาชนะบรรจุ : ขวดแก้ว ฝาพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 210 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 03 มีนาคม 2564
วันที่ทดสอบ 04 มีนาคม 2564 - 17 มีนาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Cordycepin **©	16.65	mg/kg	-	Analysed by HPLC-DAD/MSD

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyathin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com
Central Lab One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 17 มีนาคม 2564
เลขที่รายงาน TRBK64/11933
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว
(ข้อมูลจากลูกค้า) คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

รายละเอียดตัวอย่าง ดอกที่เวลา 15 วัน
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/04280-005

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากถั่งเช่า
ภาชนะบรรจุ : หลอดแก้ว, จำนวน : 1 หลอด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 95 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 03 มีนาคม 2564
วันที่ทดสอบ 04 มีนาคม 2564 - 17 มีนาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Cordycepin **©	6.08	mg/kg	-	Analysed by HPLC-DAD/MSD

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ
CERTIFIED

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyathin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 17 มีนาคม 2564
เลขที่รายงาน TRBK64/11934
หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ผศ. ศศิรินทร์ แลบัว
(ข้อมูลจากลูกค้า) คณะเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

รายละเอียดตัวอย่าง ดอกที่เวลา 30 วัน
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/04280-006
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัดจากถั่งเช่า
ภาชนะบรรจุ : หลอดแก้ว, จำนวน : 1 หลอด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 97 กรัม.
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 03 มีนาคม 2564
วันที่ทดสอบ 04 มีนาคม 2564 - 17 มีนาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Cordycepin **©	3.98	mg/kg	-	Analysed by HPLC-DAD/MSD

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ
CERTIFIED

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก ฉ

ประวัติผู้วิจัย

Assistant.Professor.SASIRINDARA LABUA

College of Agricultural Innovation, Biotechnology and Food,

Rangsit University, 52/347 Muang-Ake, Phaholyothin Road,

Pathumthani 12000, THAILAND

T. (662) 997-2222 ext 3437; F.(662) 997-2222 ext 343

sasirin.l@rsu.ac.th, tui3618@gmail.com,

EDUCATION

King Mongkut University of Technology, Thonburi, Thailand

Master of Science, Biotechnology, 1987

Khon Kaen University, Khon Kaen , Thailand

Bachelor of Education, Mathematic and Chemistry, 1983

WORK EXPERIENCE

2014- Present Deputy Vice Rector for Special Administration and International Affairs

2016 Award for Outstanding Lecturer

2014 Award for Outstanding Lecturer

2004 Special Lecturer in Transfer and Networking of Industrial Biotechnology under the cooperation of Asian's countries, Mahidol University and Lampang Arct Thai,Thailand,

Thesis Defence Committee and M.S.Thesis' co-advisors, in **Leech Lime Wine Production**. Master of Science in Appropriate Technology for Resource and Environmental Development, Mahidol University,Thailand

2003 Special Lecturer about wine making at Faculty of Engineering And Technology, Ratchamangkala Institute of Technology,Thailand,

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

2000-2003 Director of Applied Technology for Rural Development Center,
Head of commercial wine production project under brand Chateau du Soleil
Consulted and transfer technology about wine making and grape juice to Small and Medium Enterprise (SME)

1992-1994 Head of Agro-Industry Department

INTERNATIONAL

2018 Participant in short course training programe at Toyo College of Food Technology

2015 Participant in the 4th P2A Partner Meeting at Duy Tan University. Danang,Vietnam

2014 Negotiated and MoU with Guangxi University of Science and Technology,China and seeking new partnership with Massey University, New Zealand
Co-Chairman International Conference on Applied Science, Technology and Management (ASTeM 2014), NIDA

2010 Participant in the 28th International Specialised Symposium on Yeast:Metabolic and Bioprocess Engineering for Sustainable Development

2003 Visiting National Wine Center, Australian Wine Research Institute,Winery in Barossa Valley and Hunter Valley,Australia.

2001 Participants on "How to Become a Certified Winemaker and a Sommelier" under the cooperation of Federal College and Research Institute for Viticulture and Pomology,Klosterneuburg,Austria and Institute of Food Research and Product Development,Kasetsart University,Thailand

1999 Visiting Comdex Exhibition at San Francisco and Las Vegas, USA

1991 Adjunct/Visiting Scientist at Osaka University,Japan under the Cooperation of Japan Society for the Promotion of Science(JSPS)and National Research Council of Thailand(NRCT)

1989 Participant in the Friendship Programme for the 21th Century in Japan under the Japan International Cooperation Agency (JICA)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

HONORARY AWARDS

2016 Award for Outstanding Lecturer

2014 Award for Outstanding Lecturer

2000 Silver Prize of Red Wine, Wine Competition at Assumption University, THAILAND

SELECTED TEACHING EXPERIENCES

2004 Special Lecturer in Transfer and Networking of Industrial Biotechnology under the cooperation of Asian's countries, Mahidol University and Lampang Arct Thai,Thailand

2003 Thesis Defence Committee and M.S.Thesis' co-advisors, in **Leech Lime Wine Production**.Master of Science in Appropriate Technology for Resource and Environmental Development, Mahidol University,Thailand.

2003 Special Lecturer at Faculty of Engineering and Technology, Ratchamangkala Institute of Technology,Thailand

1997 Visiting Lecturer at Faculty of Biotechnology, Assumption University,Thailand.

PUBLICATIONS

Labua, S., and Kenkhunthot, T. (2020). The extraction of lipid from microalgae found in brackish water by terpenes. **JCST**. 10(1). 35-40. January-June

Kenkhunthot,T. and Labua, S. (2020). Effect of Crude Extract from mycelium and fruiting body of **Isaria tenuipes** BCC 31640 on Tyrosinase Inhibition and Antioxidant Activities. Progress in Applied Science and Technology, RMUTT Journal, 10(1). 302-310.

Labua, S, Karkew T. (2017). Harvesting of microalgae oil from brackish water in Thailand. **RJAS.** Vol.7 No.1, **49-57** January-June

Labua, S, Inprasit N and Ngamcharoen W. (2015). Scale - up and cultivation of microalgae from brackish water in Thailand in transparent high density polyethylene bags. **RJAS.** Vol.5 No.2, **78-91** July-December

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Labua,S and Osiripun,V.(2013). Review on green energy from microalgae. **RJAS.** Vol.3 No.1, **87-98** January-June

Labua, S., Boonsom A., and Kaewthaworn C. 2009. 100% Queen tomato juice production with High vitamin E and high anti-oxidant. RSU JET.12:**79-85**

Labua,S., Sriadulphan,C.,Sangkong,S.and Puangmalai, N.(2008). Biodiesel with decreased viscosity produced from crude palm oil. **Kasetsart Journal (Natural Science).** 42:300-304

Labua S., Chaiyasut Y., Krungkrai S.and Vonbupanimitt K. (2003). Effect of Yeast Strains on Chemical and Physical Properties of Wines. Proceeding of the 27th. Congress on Science and Technology of Thailand .16-18 October. Lee Gardens Plaza Hotel,Hat Yai,Songkla,Thailand.

Labua S. (2003). Fruit Wine.**Agricultural Journal**.vol.8 No.1 pp. **35-37**.

Labua S. (2003). Wine for Health.**Charpa Journal**.vol.72 No.10 pp.**44-47**

Labua J.and Kinoshita S.1991.Crystallization of Lyzozyme from egg white. Annual Report of I.C.Biotech.vol 14.

TEACHING EXPERIENCES

- Fermentation Technology
- Bioprocess Engineering II
- Biochemical Engineering
- Water and Waste treatment
- Bioenergy Technology
- Wine making
- Enzyme Technology

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University