

ĐÁNH GIÁ SỰ ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG PHÁP SẤY THĂNG HOA VÀ KHẢ NĂNG LY TRÍCH CORDYCEPIN VÀ ADENOSINE TỪ NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO (*CORDYCEPS MILLITARIS*) BẰNG DUNG MÔI NƯỚC

● NGUYỄN THIỆN THẢO - NGUYỄN NGỌC TRAI - NGUYỄN THỊ THU HÀ

TÓM TẮT:

Nấm đông trùng hạ thảo - ĐTHT (*Cordyceps militaris*) từ lâu đã trở thành một trong những loại nấm dược liệu cao cấp, có nhiều hoạt chất sinh học quý, giúp bồi bổ sức khỏe, tăng cường khả năng miễn dịch, kháng khuẩn, chống oxy hóa, hỗ trợ tim mạch và chống khối u. Trong đó, Cordycepin và Adenosine là 2 hoạt chất sinh học quan trọng quyết định chất lượng và giá trị dược lý của nấm ĐTHT. Do vậy, bài nghiên cứu đánh giá sự ảnh hưởng của phương pháp sấy thăng hoa và khả năng ly trích Cordycepin và Adenosine từ nấm ĐTHT bằng dung môi nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng dung môi nước có thể ly trích hiệu quả hoạt chất Cordycepin và Adenosine từ quả thể nấm ĐTHT với các thông số như ngâm trong nước sôi, tỷ lệ rắn/lỏng là 10/200g/mL, thời gian chiết là 20 phút. Hàm lượng Cordycepin và Adenosine lần lượt là 427mg/kg và 67mg/kg trong nguyên liệu tươi, 2318.9mg/kg và 351.4mg/kg trong nguyên liệu sấy thăng hoa.

Từ khóa: nấm đông trùng hạ thảo, Adenosine, Cordycepin, *Cordyceps militaris*, HPLC, extract Cordycepin.

1. Đặt vấn đề

Cordyceps là một loại nấm dược liệu truyền thống nổi tiếng của người Trung Quốc và thuộc họ nấm Ascomycetes [1]. Các loài thuộc giống Cordyceps có nhiều trong tự nhiên và là sản phẩm tự nhiên có ích với nhiều chất có hoạt tính sinh học quan trọng, như: Adenosine, Cordycepin và polysaccharide. Những chất này có tác động tích cực đến các hệ cơ quan trong cơ thể con người, như: tuần hoàn, miễn dịch, tim mạch, hô hấp [2-3]. Hai

loài được sử dụng phổ biến ở Trung Quốc là: *Cordyceps sinensis* và *Cordyceps militaris*, trong đó *Cordyceps sinensis* đã được sử dụng phổ biến hơn 2.000 năm qua [4].

So với *Cordyceps sinensis*, *Cordyceps militaris* dễ nuôi cấy trong cả môi trường lỏng và môi trường đặc với nhiều nguồn carbon và nitơ khác nhau. Những nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng *Cordyceps militaris* chứa nhiều thành phần hoạt tính có tiềm năng dược liệu như: Cordycepin,

ergosterol, mannitol và nhiều loại polysaccharide có tác động đến nhiều hệ cơ quan trong cơ thể, phòng chống được nhiều bệnh nên đã được sử dụng với nhiều mục đích chữa trị khác nhau [5-7].

Phần lớn trong các nghiên cứu, Cordycepin và Adenosine được ly trích bằng các dung môi như: methanol, isopropanol và n-butanol trong điều kiện có kết hợp hoặc không kết hợp với nước, cùng với sự hỗ trợ của sóng siêu âm [8-13]. Tuy nhiên, chưa có các nghiên cứu về phương pháp ly trích sử dụng dung môi nước, đây là phương pháp phổ biến của người sử dụng những sản phẩm bảo vệ sức khỏe. Đồng thời để bảo quản và sử dụng lâu dài, nấm ĐHTT thường được bảo quản dưới dạng sấy thăng hoa. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu chính thức nào đánh giá sự ảnh hưởng phương pháp sấy thăng hoa lên hàm lượng hoạt chất của nấm ĐHTT. Xuất phát từ các vấn đề trên, việc đánh giá sự ảnh hưởng của phương pháp sấy thăng hoa và khả năng ly trích Cordycepin và Adenosine từ nấm ĐHTT (*Cordyceps militaris*) bằng dung môi nước cần được thực hiện để làm luận cứ khoa học cho việc cung cấp thông tin đến người sử dụng, từ đó tạo dựng được lòng tin, đáp ứng đa dạng hóa sản phẩm theo nhu cầu và thị hiếu của người tiêu dùng.

2. Phương tiện và phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương tiện nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu

Quả thể nấm ĐHTT (*Cordyceps militaris*) được nuôi trồng tại Trường Đại học Trà Vinh. Mẫu sau khi thu hoạch được chia thành 2 phần: ĐHTT tươi và ĐHTT sấy thăng hoa, được bảo quản lạnh ở 4°C và lưu trữ để sử dụng cho tất cả các thí nghiệm.

2.1.2. Hóa chất và thiết bị sử dụng

Chất chuẩn: Cordycepin (Sigma-Aldrich) và Adenosine (Sigma-Aldrich), Acetonitrile (Merck), Methanol (Merck), Ethanol (Merck), Potassium dihydrophosphate,...

Hàm lượng Cordycepin và Adenosine được phân tích bằng thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (High Performance Liquid Chromatography) với đầu dò PDA (Photodiode Array Detector) của hãng Waters.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình khảo sát hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine từ quả thể nấm đông trùng hạ thảo (Hình 1, Hình 2, Hình 3)

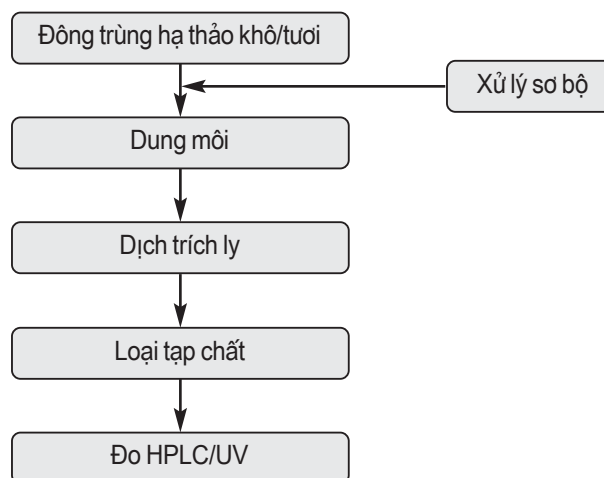
Hình 1: Mẫu ĐHTT tươi (*Cordyceps militaris*)



Hình 2: Mẫu ĐHTT đã sấy thăng hoa (*Cordyceps militaris*)



Hình 3: Quy trình khảo sát hàm lượng Cordycepin và Adenosine trong quả thể nấm ĐHTT



2.2.2. Phương pháp định lượng Cordycepin và Adenosine trong quả thể nấm Đông trùng hạ thảo

Chuẩn bị dung dịch chuẩn Cordycepin và Adenosine và dựng đường chuẩn:

Dung dịch Cordycepin chuẩn: Cân chính xác 10mg Cordycepin chuẩn, cho vào bình định mức 20mL, thêm nước cất để được dung dịch chuẩn có nồng độ 0.5mg/mL. Pha loãng bằng nước cất được dung dịch Cordycepin nồng độ lần lượt 5μg/mL, 10μg/mL, 20μg/mL, 40μg/mL và 80μg/mL.

Dung dịch Adenosine chuẩn: Cân chính xác 10mg Adenosine chuẩn, cho vào bình định mức 20mL, thêm nước cất để được dung dịch Adenosine chuẩn nồng độ 0.5mg/mL. Pha loãng bằng nước cất được dung dịch Adenosine nồng độ lần lượt 5μg/mL, 10μg/mL, 20μg/mL, 40μg/mL và 80μg/mL.

Định lượng: Quá trình định lượng được thực hiện trên hệ thống HPLC-PDA (Waters). Cột ODS-C18 (250 mm x 4.6mm x 5mm). Detector PDA tại bước sóng 260nm. Hệ pha động Acetonitrile/dung dịch đệm phosphate pH 6.5 (tỷ lệ 8/92). Nhiệt độ cột 30°C. Tốc độ dòng: 0.6 mL/phút. Thể tích tiêm 20μL (định lượng chung Cordycepin và Adenosine).

2.2.3. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ly trích Cordycepin và Adenosine trong đông trùng hạ thảo

Tính hiệu suất ly trích: Ly trích ĐTHT trong dung môi, lọc và cô khan dịch trích thu được cao

khô. Cân khối lượng cao khô chính xác bằng cân phân tích hòa tan 10mg cao khô trong methanol để tiến hành định lượng Cordycepin và Adenosine trên thiết bị HPLC-PDA.

Hiệu suất ly trích được tính theo công thức:

$$H(\%) = (m_{\text{hoạt chất}} / m_{\text{mẫu}}) \cdot 100$$

Trong đó: $m_{\text{hoạt chất}}$ là khối lượng hoạt chất (Adenosine hoặc Cordycepin) thu được (mg); $m_{\text{ĐTHT}}$ là khối lượng mẫu ĐTHT sử dụng để ly trích (mg).

Chỉ tiêu đánh giá: Các thí nghiệm được khảo sát dựa vào hiệu suất ly trích, và hàm lượng hoạt chất thu được.

3. Kết quả và thảo luận

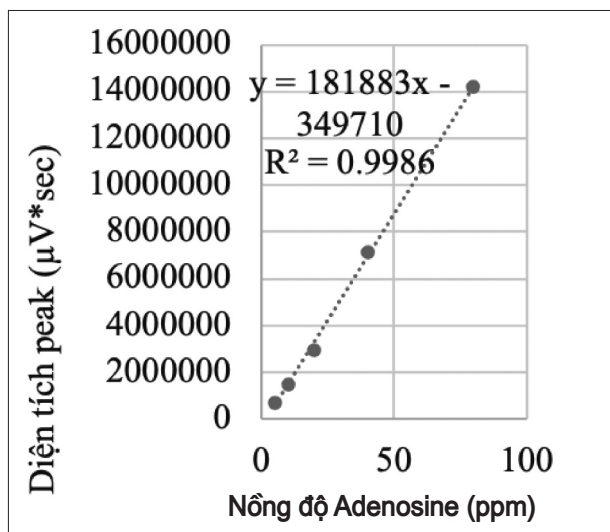
3.1. Đường chuẩn Cordycepin và đường chuẩn Adenosine

Đường chuẩn Adenosine và đường chuẩn Cordycepin được dựng ở các nồng độ: 5ppm, 10ppm, 20ppm, 40ppm và 80ppm như ở Hình 4 và Hình 5.

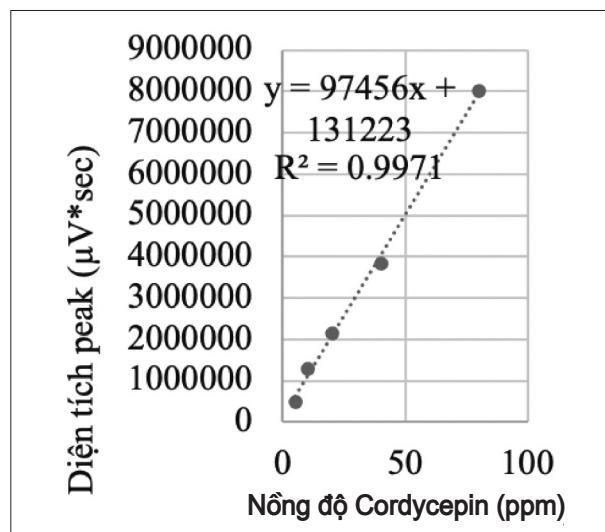
3.2. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng các phương pháp ly trích đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm đông trùng hạ thảo

Thí nghiệm được khảo sát đối với 2 nghiệm thức tương ứng với 2 phương pháp ly trích: ngâm trong nước sôi và đun trong nước sôi, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Tiến hành cân 2 mẫu, mỗi mẫu 10g ĐTHT tươi cho vào erlen 500mL. Cho vào mỗi erlen 200mL dung môi tương ứng với 2

Hình 4: Đường chuẩn Adenosine



Hình 5: Đường chuẩn Cordycepin



nghiệm thức. Thời gian ly trích là 30 phút. Lọc dịch trích bằng màng lọc Whatman No 1, thu dịch trích. Làm bay hơi dung môi thu cao khô, cân khối lượng cao khô thu được, hòa tan 10mg cao khô trong methanol để tiến hành định lượng Cordycepin và Adenosine trên thiết bị HPLC-PDA.

3.3. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ rắn/lỏng đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

Tỷ lệ rắn/lỏng sẽ ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được trong quá trình ly trích ĐTHT. Đây là yếu tố

Bảng 1. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của phương pháp ly trích đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

STT	Phương pháp ly trích	Tỷ lệ rắn lỏng (g/mL)	Thời gian	Hàm lượng Cordycepin (mg)	Hiệu suất ly trích (%)	Hàm lượng Adenosine (mg)	Hiệu suất ly trích (%)
1	Ngâm trong nước sôi	10/200	30 phút	4.30	0.0430	0.69	0.0069
2	Đun trong nước sôi			4.60	0.0460	0.78	0.0078

Kết quả khảo sát ở Bảng 1 cho thấy ở 2 nghiệm thức tương ứng với 2 phương pháp ly trích thông thường đối với người sử dụng, hiệu suất ly trích Cordycepin và Adenosine cho kết quả khác biệt không đáng kể, với hàm lượng Cordycepin 430mg/kg và Adenosine 69mg/kg (phương pháp ngâm trong nước sôi), hàm lượng Cordycepin 460mg/kg và Adenosine 78mg/kg (phương pháp đun trong nước sôi). Điều này lý giải trong hợp chất Adenosine có các nhóm OH phân cực sẽ tương tác tốt với những hợp chất phân cực như nước. Tuy nhiên, phương pháp ngâm trong nước sôi được sử dụng phổ biến, đơn giản so với phương pháp đun sôi, nên chúng tôi chọn phương pháp ngâm trong nước sôi để nghiên cứu khảo sát các yếu tố tiếp theo. Đồng thời, phương pháp này có thể chấp nhận trong việc sử dụng nấm ĐTHT để khuyến cáo người tiêu dùng.

quan trọng đánh giá khả năng khuếch tán của hoạt chất sinh học vào dung môi, vì vậy để tìm ra tỷ lệ rắn/lỏng tối ưu nhất cho quá trình ly trích, chúng tôi tiến hành khảo sát các tỷ lệ rắn/lỏng khác nhau: 5/200; 10/200; 15/200; 20/200; và 25/200 (g/mL) đối với nguyên liệu ĐTHT tươi. Kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả khảo sát cho thấy: khi tăng tỷ lệ rắn/lỏng tăng từ 5/200g/mL đến 25/200g/mL thu được hàm lượng Cordycepin và Adenosine càng cao. Và ở tỷ lệ rắn/lỏng 10/200g/mL là tối ưu nhất do đạt hàm lượng hoạt chất Cordycepin thu được, hiệu suất ly trích Cordycepin cao nhất. Điều này có thể giải thích do quá trình thẩm thấu các hoạt chất sinh học vào dung môi là quá trình vật lý và khi sử dụng lượng dung môi tăng sẽ làm cho các hoạt chất sinh học tiếp xúc với dung môi tốt dẫn đến khả năng thẩm thấu cao hơn, nên đạt hiệu suất ly trích cao.

Bảng 2. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ rắn/lỏng đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

STT	Phương pháp ly trích	Tỷ lệ rắn lỏng (g/mL)	Thời gian (phút)	Hàm lượng Cordycepin (mg)	Hiệu suất ly trích (%)	Hàm lượng Adenosine (mg)	Hiệu suất ly trích (%)
1	Ngâm trong nước sôi	5/200	30	2.2	0.0440	0.4	0.0080
2		10/200		4.3	0.0430	0.69	0.0069
3		15/200		5.2	0.0347	1.21	0.0081
4		20/200		5.65	0.0283	1.27	0.0064
5		25/200		5.8	0.0232	1.32	0.0053

Các tỷ lệ rắn/lỏng: 15/200; 20/200; và 25/200 (g/mL) mặc dù hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine có tăng so với tỷ lệ 5/200 và 10/200 (g/mL) nhưng hiệu suất ly trích Cordycepin thu được lại giảm do tăng lượng nguyên liệu sử dụng nên đã làm giảm hiệu suất ly trích. Vì vậy trong thí nghiệm này đã chọn tỷ lệ rắn/lỏng 10/200g/mL là điều kiện tối ưu cho quy trình ly trích Cordycepin và Adenosine trong nấm ĐTHT bằng phương pháp ngâm nước sôi.

3.4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm đông trùng hạ thảo

Thời gian ly trích cũng là yếu tố quan trọng của quá trình ly trích và đóng vai trò quyết định đến hiệu suất ly trích. Thí nghiệm khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hàm lượng Cordycepin và Adenosine trong ĐTHT thu được kết quả trình bày theo Bảng 3.

thích là do sau 20 phút nhiệt độ của dung dịch ly trích giảm xuống đáng kể nên quá trình ly trích kéo dài vẫn không làm tăng hiệu suất ly trích. Vì vậy, nghiệm thức thời gian ly trích 20 phút được lựa chọn là thời gian ly trích tối ưu cho quy trình ly trích Cordycepin và Adenosine trong nấm ĐTHT.

3.5. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của số lần ly trích đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

Tiếp tục khảo sát sự ảnh hưởng của số lần ly trích đến khả năng trích kiệt hàm lượng Cordycepin và Adenosine từ quả thể nấm ĐTHT và thu được kết quả trình bày theo Bảng 4.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy khi tăng số lần ly trích, hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được giảm mạnh. Điều này được giải thích bởi: hàm lượng Cordycepin và Adenosine qua 1 lần ly trích đã được trích ly gần như hoàn toàn do khả năng tương tác tốt của hoạt chất với môi trường nước. Nhiệt độ của nước cao làm trương nở

Bảng 3. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của thời gian ly trích đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

STT	Phương pháp ly trích	Tỷ lệ rắn lỏng (g/mL)	Thời gian (phút)	Hàm lượng Cordycepin (mg)	Hiệu suất ly trích (%)	Hàm lượng Adenosine (mg)	Hiệu suất ly trích (%)
1	Ngâm trong nước sôi	10/200	10	3.21	0.0321	0.53	0.0053
2			20	4.27	0.0427	0.67	0.0067
3			30	4.3	0.0430	0.69	0.0069
4			40	4.31	0.0431	0.73	0.0073
5			50	4.3	0.0430	0.72	0.0072
6			60	4.32	0.0432	0.71	0.0071

Kết quả khảo sát cho thấy thời gian ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình ly trích. Ở mỗi nghiệm thức hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được càng tăng theo thời gian ly trích. Tuy nhiên, ở thời gian ly trích 20 phút, hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được tăng lên đáng kể so với thời gian ly trích 10 phút và là thời gian tối ưu nhất. Khi tăng thời gian từ 30 đến 60 phút, hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được gần như không tăng. Điều này cũng có thể giải

quả thể nấm giúp cho quá trình thẩm thấu của nước vào trong quả thể nấm dễ dàng. Tuy nhiên, ở lần ly trích thứ hai, vẫn còn thấy lượng đáng kể hoạt chất Cordycepin và Adenosine (1.3 và 0.12mg). Vì vậy, để tận dụng hết nguồn hoạt chất có trong ĐTHT, người sử dụng nên ly trích 2 lần trước khi loại bỏ để mang lại hiệu quả kinh tế. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn số lần ly trích là 1 để thực hiện các khảo sát tiếp theo, vì đã thu được gần như hoàn toàn hàm lượng hoạt chất.

Bảng 4. Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của số lần ly trích đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

Số lần ly trích	Phương pháp ly trích	Tỷ lệ rắn lỏng (g/mL)	Thời gian (phút)	Hàm lượng Cordycepin (mg)	Hiệu suất ly trích (%)	Hàm lượng Adenosine (mg)	Hiệu suất ly trích (%)
1	Ngâm trong nước sôi	10/200	20	4.27	0.0427	0.67	0.0067
2				1.3	0.013	0.12	0.0012
3				0.11	0.0011	0.02	0.0002

Bảng 5. Đánh giá ảnh hưởng của phương pháp sấy thăng hoa đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

STT	Nguyên liệu	Phương pháp ly trích	Tỷ lệ rắn lỏng (g/mL)	Thời gian (phút)	Hàm lượng Cordycepin (mg)	Hiệu suất ly trích (%)	Hàm lượng Adenosine (mg)	Hiệu suất ly trích (%)
1	ĐTHT tươi	Ngâm trong nước sôi	10/200	20	4.27	0.0427	0.67	0.0067
2	ĐTHT sấy thăng hoa		1.85/200		4.29	0.2145	0.65	0.0325

3.6. Đánh giá sự ảnh hưởng của sấy thăng hoa đến hàm lượng hoạt chất Cordycepin và Adenosine thu được từ quả thể nấm ĐTHT

Sau khi thực hiện khảo sát quy trình ly trích Cordycepin và Adenosine từ quả thể nấm ĐTHT tươi, tiếp tục tiến hành thực hiện ly trích Cordycepin và Adenosine trong ĐTHT đã được sấy thăng hoa, với hệ số chuyển đổi giữa tươi và khô là 5.4 đã được ghi nhận theo quy trình ly trích tối ưu và xác định hàm lượng trích Cordycepin và Adenosine bằng phương pháp HPLC, đã thu được các số liệu như Bảng 5.

Từ những kết quả khảo sát của Bảng 5 cho thấy: Quy trình ly trích bằng phương pháp ngâm trong nước sôi của nguồn nguyên liệu ĐTHT tươi và ĐTHT đã qua sấy thăng hoa không có sự khác biệt nhiều về hàm lượng Cordycepin và Adenosine thu được với hàm lượng Cordycepin, Adenosine lần lượt là 427mg/kg và 67mg/kg trong nguyên liệu tươi, 2318.9mg/kg và 351.4mg/kg trong nguyên liệu sấy thăng hoa. Với hệ số chuyển đổi giữa nguyên liệu tươi và khô là 5.4, giá trị này chứng tỏ việc sấy thăng hoa không làm mất đi hàm lượng hoạt chất có trong nấm ĐTHT. Điều này mở ra một hướng mới cho phương pháp

bảo quản nấm ĐTHT khi người sử dụng có nhu cầu dùng trong thời gian dài.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thực hiện ly trích Cordycepin và Adenosine của nấm ĐTHT được nuôi trồng tại phòng thí nghiệm Trường Đại học Trà Vinh bằng phương pháp sử dụng dung môi nước theo cách sử dụng của người tiêu dùng. Đồng thời đã khảo sát các thông số ảnh hưởng đến quá trình ly trích: tỷ lệ rắn/lỏng 10/200g/mL, thời gian ly trích 20 phút và số lần ly trích. Đã đánh giá được phương pháp sấy thăng hoa không làm mất đi hoạt chất của nấm mà còn làm quá trình ly trích hoạt chất Cordycepin và Adenosine hiệu quả hơn. Từ đó, có thể mạnh dạn đề xuất phương pháp sấy thăng hoa đối với nấm ĐTHT để tăng tính tiện lợi và thời gian sử dụng cho người tiêu dùng. Đồng thời, đã xác định được hàm lượng Cordycepin và Adenosine lần lượt là 427mg/kg và 67mg/kg trong nguyên liệu tươi, 2318.9mg/kg và 351.4mg/kg trong nguyên liệu sấy thăng hoa khi sử dụng dung môi ly trích là nước. Nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng trong việc bổ sung nguồn dữ liệu về được liệu ĐTHT được nuôi trồng tại Trường Đại học Trà Vinh ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Ling-Sheng Zha, Shi-Ke Huang, et. al. (2018). An Evaluation of Common Cordyceps (Ascomycetes) Species Found in Chinese Markets. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(12), 1149-1162.
2. Y. Jin, X. Meng, Z. Qiu, Y. Su, P. Yu, P. Qu. (2018). Anti-tumor and anti-metastatic roles of cordycepin, one bioactive compound of *Cordyceps militaris*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(5), 991-995.
3. Pier Andrea Borea, Stefania Gessi, Stefania Merighi, Fabrizio Vincenzi, and Katia Varani. (2018). Pharmacology of Adenosine receptors: The state of the art. *Physiol Rev*, 98, 1591-1625.
4. Caihong Dong, Suping Guo, Wenfeng Wang & Xingzhong Liu. (2015). Cordyceps industry in China. *Mycology: An International Journal on Fungal Biology*, 6(2), 121-129.
5. Zhou Y, Wang M, Zhang H, Huang Z, Ma J. (2019). Comparative study of the composition of cultivated, naturally grown *Cordyceps sinensis*, and stiff worms across different sampling years. *PloS ONE*, 14(12), e0225750.
6. Luyen Thi Nguyen, Ve Van Le, et. al. (2020). Cultural characteristics and cordycepin production of some *Cordyceps militaris* strains under artificial cultivation conditions. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*, 101(2), 135-145.
7. Yu-jie Feng, Yun Zhu, Yong-mei Li, Jin Li, Yan-fei Sun, Hai-tao Shen, Ai-ying Wang, Zhong-ping Lin & Jian-bo Zhu. (2018). Effect of strain separated parts, solid-state substrates and light condition on yield and bioactive compounds of *Cordyceps militaris* fruiting bodies. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 916-922.
8. Hsiu-Ju Wang, Meng-Chun Pan, Chao-Kai Chang, Shu-Wei Chang and Chang-Wei Hsieh (2014). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Cordycepin from *Cordyceps militaris* Using Orthogonal Experimental Design. *Molecules*, 19, 20808-20820.
9. Das Shonkor, K., Masuda, M., Sakurai, A., & Sakakibara, M. (2010). Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: Current state and prospects. *Fitoterapia*, 81(8), 961-968.
10. Masuda, M., Hatashita, M., Fujihara, S., Suzuki, Y., & Sakurai, A. (2015). Simple and efficient isolation of cordycepin from culture broth of a *Cordyceps militaris* mutant. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(6), 732-735.
11. Tuli, H. S., Sharma, A. K., Sandhu, S. S., & Kashyap, D. (2013). Cordycepin: A bioactive metabolite with therapeutic potential. *Life Sciences*, 93(23), 863-869.
12. Yoo, H.-S., Shin, J.-W., Cho, J.-H., Son, C.-G., Lee, Y.-W., Park, S.-Y., & Cho, C.-K., (2004). Effects of *Cordyceps militaris* extract on angiogenesis and tumor growth. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(5), 657-665.
13. Reis, F. S., Barros, L., Calhelha, R. C., Ćirić, A., Van Griensven, L. J., Soković, M., & Ferreira, I. C. (2013). The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 91-98.
14. Duong, T. N., & Le, T. T. D. (2015). Develop an optimal process for analyzing cordycepin from cordyceps mycelium (*Cordyceps militaris*). *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp*, 1, 74-80.
15. Zhang, H., Wang, J. W., Dong, S. Z., Xu, F. X., & Wang, S. H. (2011). The optimization of extraction of cordycepin from fruiting body of *Cordyceps militaris* (L.) Link. *Advanced Materials Research, Trans Tech Publications*, 393-395, 1024-1028.

Ngày nhận bài: 4/8/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 3/9/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 13/9/2022

Thông tin tác giả:

1. ThS. NGUYỄN THIÊN THẢO¹

2. ThS. NGUYỄN NGỌC TRAI²

3. ThS. NGUYỄN THỊ THU HÀ^{1*}

¹Khoa Hóa học Ứng dụng, Trường Đại học Trà Vinh

²Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

ANALYZING THE FACTORS AFFECTING THE FREEZE-DRIED EXTRACTION METHOD AND THE EXTRACTION OF CORDYCEPIN AND ADENOSINE FROM CORDYCEPS FUNGI (*CORDYCEPS MILITARIS*) BY USING WATER

● Master. NGUYEN THIEN THAO¹

● Master. NGUYEN NGOC TRAI²

● Master. NGUYEN THI THU HA¹

¹Faculty of Applied Chemistry, Tra Vinh University

²Faculty of Agriculture and Fisheries, Tra Vinh University

ABSTRACT:

Cordyceps Fungi (*Cordyceps militaris*) has long become one of the high-class medicinal mushrooms that have many valuable biological active components to help improve human health, enhance immunity, antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, cardiovascular support and anti-tumor. In which, cordycepin and adenosine are two important biologically active compounds that determine the quality and pharmacological value of *Cordyceps militaris*. This study examines the extraction method of Cordycepin and Adenosine in the fruiting body of the *Cordyceps militaris* and explores the factors affecting the extraction including temperature, ratio of solid to liquid, extraction time, and number of extraction. In addition, the contents of Cordycepin and Adenosine of the freeze-dried method are evaluated. The study's results show that water can be used as a solvent to effectively extract Cordycepin and Adenosine from fruiting body of Cordyceps mushroom when the mushroom is soaked in boiling water, the ratio of solid to liquid is at 10/200g/mL, and the extraction time is 20 minutes. The contents of Cordycepin and Adenosine are 427mg/kg and 67mg/kg in fresh ingredients, respectively. In freeze-dried *Cordyceps militaris*, the contents of Cordycepin and Adenosine are 2318.9mg/kg and 351.4mg/kg, respectively.

Keywords: *Cordyceps militaris*, adenosine, cordycepin.