

Assessment of Nutrient Elements, Biochemical Compounds, and Antioxidant Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum*

J. Zandavifard¹, M. Azizi^{1*}, M. Darroudi², A. Hosseini³

1- Department of Horticulture Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Department of Medical Biotechnology and Nanotechnology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

3- Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

(*- Corresponding author's Email: azizi@um.ac.ir)

Received: 26 June 2022

Revised: 08 July 2022

Accepted: 23 July 2022

Available Online: 23 July 2022

How to cite this article:

Zandavifard, J., Azizi, M., Darroudi, M., & Hosseini, A. (2026). Assessment of nutrient elements, biochemical compounds, and antioxidant activity of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Journal of Horticultural Science*, 40(3), 367-381. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77380.1181>

Introduction

Ganoderma lucidum is a mushroom of high medicinal value that has been widely used in the Far East countries especially in traditional Chinese medicine as promoting human health and treatment of many diseases. Nowadays, many published studies have established that it is a rich source of nutraceutical and pharmaceutical substances with potent and unique properties as immunomodulatory agents, hypercholesterolemic agents, or coadjuvant treatments in diseases such as cancer, hypertension, insomnia, anorexia, dizziness, and chronic hepatitis, among others. This species is rich in several bioactive compounds (over 400 compounds) mainly, including polysaccharides, triterpenoids, steroids, fatty acids, amino acids, nucleotides, proteins, and alkaloids. Herein, the fruiting bodies of *G. lucidum* were studied in terms of nutritional value and chemical composition, and the antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies was further assessed.

Materials and Methods

In order to detect nutrient elements, the samples were digested using a microwave digestion system (Milestone Ethos, Germany) with a maximum power of 1000 W and further characterized using inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES). Biochemical molecule contents were characterized using Acquity Ultra-Performance Liquid Chromatograph (UPLC, Waters) coupled to a photodiode array detector (PDA, Waters) and an electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometer (ESI-QTOF/MS; Waters). In order to assess antioxidant activity, two kinds of extract including 80% methanolic extract (ME) and hot water (HWE) were prepared by ultrasonic method. Six different in vitro assays were used to determine antioxidant capacity, including ABTS, DPPH, superoxide (SO), nitric oxide (NO) free radicals scavenging, iron-reducing power (FRAP), and iron chelating activity (ICA). The data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and the means were separated by the Newman-Keuls Multiple Comparison test (GraphPad Prism 8, San Diego, CA, USA). All data were expressed as mean $\pm$ standard deviation. $P \leq 0.05$ was considered to indicate a statistically significant difference. Furthermore, half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values for each assay were calculated from linear or logarithmic regression using Excel software.

Results and Discussion

G. lucidum was characterized in terms of nutritional value and chemical composition. Generally, to study the



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77380.1181>

nutraceutical value of *G. lucidum*, 14 elements were analyzed by ICP-OES. Among the macronutrients, phosphorus and potassium (2910.8 and $1510.8 \text{ mg.kg}^{-1}$ dry matter, respectively) were the most abundant, followed by iron and zinc (8.5 and 7.74 mg.kg^{-1} dry matter, respectively) among the micronutrients. In terms of biochemical compounds, a total of 37 compounds were identified, among which ganoderic acid was the most abundant compound ($15890.1 \pm 232.1 \text{ } \mu\text{g per g dry matter}$) followed by sinapic acid and succinic acid (2011.4 ± 28.11 and $1505.33 \pm 31.5 \text{ } \mu\text{g per g dry matter}$, respectively). The results of antioxidant assays clearly revealed that the methanolic extract generally showed higher antioxidant activity than the corresponding hot water extract. In the ABTS assay, ME showed higher activity (IC_{50} , $48.46 \pm 2.42 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) than HWE ($163.51 \pm 4.51 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) with a significant difference ($P \leq 0.05$). For DPPH assay, radical scavenging capacity was dose-dependent and IC_{50} values of ME ($111.93 \pm 1.39 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) and HWE ($213.48 \pm 5.42 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) showed a significant difference ($P \leq 0.05$). In the FRAP assay, ME showed stronger iron-reducing activity (IC_{50} , $512.64 \pm 4.06 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) than HWE (IC_{50} , $898.51 \pm 7.8 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) ($P \leq 0.01$). In the ICA assay, ME also showed higher activity (IC_{50} , $301.88 \pm 7.01 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) than HWE (IC_{50} , $545.23 \pm 1.21 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) ($P \leq 0.01$). In the SO assay, ME (IC_{50} , $488.8 \pm 7.38 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) and HWE (IC_{50} , $645.92 \pm 5.48 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) showed a significant difference ($P \leq 0.01$). In addition, in the NO assay, both extracts showed weak nitric oxide radical scavenging activity; however, ME showed the highest activity (IC_{50} , $1189.5 \pm 8.5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) in comparison to HWE (IC_{50} , $1343.2 \pm 10.6 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$) but the difference was not statistically significant ($P = 0.0901$). The results clearly indicate that different extraction solvents used in this study significantly affected antioxidant capacities.

Conclusion

G. lucidum proved to be an important source of nutrients and antioxidant compounds such as terpenoids, especially triterpenoids, and polysaccharides. The free radical scavenging properties, reducing power and iron-chelating activity of *G. lucidum* may be mainly associated with phenolic compounds and triterpenoids. Therefore, based on the nutritional and biochemical profile of *G. lucidum*, and also its antioxidant power, this mushroom possesses high nutritional and antioxidant potential.

Keywords: Free radical scavenging, Ganoderic acid, Phenolic compounds, Reishi, Triterpenoids

ارزیابی محتوای عناصر غذایی، ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی قارچ دارویی

گانودرما لوسیدوم (*Ganoderma lucidum*)ژاله زندوی فرد^۱ - مجید عزیزی^{۱*} - مجید درودی^۲ - آذر حسینی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱

چکیده

قارچ دارویی *Ganoderma lucidum* یکی از مهم‌ترین قارچ‌های دارویی در سرتاسر جهان است که حاوی طیف وسیعی از ترکیبات دارویی ارزشمند است. این مطالعه به منظور بررسی میزان عناصر غذایی، محتوای ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی این قارچ طراحی شد. محتوای عناصر غذایی اندام بارده این قارچ به وسیله دستگاه اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES) و محتوای ترکیبات بیوشیمیایی آن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با کارایی فوق‌العاده بالا مجهز به طیف‌سنج جرمی (UPLC-MS) آنالیز گردید. به منظور بررسی قدرت آنتی اکسیدانی، عصاره‌گیری به روش التراسونیک با استفاده از دو حلال متانول ۸۰ درصد و آب داغ صورت گرفت و فعالیت آنتی اکسیدانی با شش آزمون شامل اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد ۱،۱- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH)، رادیکال ۲،۲-آزینوبیس (۳- اتیل بنزو تیازولین-۶- سلفونیک اسید) (ABTS)، رادیکال سوپراکساید (SO)، رادیکال نیتریک اکساید (NO) و قدرت احیای آهن (FRAP) و قدرت شلاته‌کنندگی آهن (ICA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. آنالیز واریانس یک‌سویه و متعاقب آن نیومن کولر توسط نرم‌افزار گراف پد پریم ۸ به منظور مقایسه میانگین‌ها به کار رفت. نتایج حاکی از آن بود که عناصر فسفر و پتاسیم (۲۹۱۰/۸ و ۱۵۱۰/۸ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) به ترتیب بیشترین مقدار از درشت مغذی‌ها و عناصر آهن و روی (۸/۵ و ۷/۷۴ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) سهم قابل توجهی از ریزمغذی‌ها را به خود اختصاص دادند. در مجموع، ۳۷ ترکیب بیوشیمیایی شناسایی شد که گنودریک اسید با بیشترین مقدار (۲۳۲/۱ ± ۱۵۸۹۰/۱ میکروگرم در گرم ماده خشک) و پس از آن سیناپیک اسید و سوکسینیک اسید (۲۸/۱۱ ± ۲۰۱۱/۴ و ۳۱/۵ ± ۱۵۰۵/۳۳ میکروگرم در گرم ماده خشک) به عنوان ترکیبات غالب شناسایی شدند. به طور کلی، هر دو عصاره آبی و متانولی، ظرفیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS، SO و NO و همچنین قدرت احیاکنندگی و شلاته‌کنندگی آهن نشان دادند که این پتانسیل در یک رفتار وابسته به غلظت بیشتر نمایان شد. به طور کلی، عصاره متانولی قدرت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره آب داغ نشان داد (مقدار IC₅₀ پایین‌تر)؛ با این وجود، هر دو عصاره حاوی طیفی از ترکیبات زیست فعال قارچ هستند که می‌تواند در فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها نقش داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، قارچ *G. lucidum* پتانسیل قابل توجهی از نظر محتوای عناصر غذایی، ترکیبات زیست فعال و قدرت آنتی اکسیدانی به منظور کاربرد در صنایع غذایی و دارویی دارد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، تری‌ترینوئیدها، ری‌شی، گنودریک اسید، مهار رادیکال‌های آزاد

مقدمه

با توجه به گرایش روزافزون بشر به استفاده از ترکیبات طبیعی، قارچ‌ها نیز به عنوان یکی از منابع زیستی مهم با ارزش غذایی بالا و متابولیت‌های ثانویه منحصر به فرد، به منظور تولید فرمول‌های دارویی جدید بیش از پیش مورد توجه جوامع علمی قرار گرفته‌اند (Li, Zhang et al., 2013).

در این میان، قارچ گانودرما لوسیدوم (*Ganoderma lucidum*) (Fr.) Karst) با کاربردهای تاریخی چند هزار ساله به منظور اهداف درمانی، شهرت زیادی در سراسر جهان دارد. این قارچ یک

۱- گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه بیوتکنولوژی پزشکی و نانوتکنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۳- مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

(*)- نویسنده مسئول: (Email: azizi@um.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77380.1181>

بازیدیومیست^۱ متعلق به راسته پلی پورالس^۲ و خانواده گنودرماتاسه^۳ می باشد (Dong et al., 2019). این قارچ، به رنگ های قرمز، قرمز مایل به قهوه ای و زرد روشن در سراسر جهان از آمازون تا مناطق جنوبی آمریکای شمالی و قسمت های وسیعی از آسیا یافت می شود (Stamets, 2011).

استفاده از این قارچ در کشورهای خاور دور به خصوص ژاپن، چین و کره به منظور پیشگیری و درمان بیماری های مختلف و افزایش طول عمر به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش برمی گردد (Zhou et al., 2007). مطالعات فارماکولوژیک اخیر نشان می دهد که *G. lucidum* دارای خواص ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی، تعدیل کننده سیستم ایمنی، ضد دیابت، کاهنده کلسترول و فشار خون، ضد سرطان و ضد ویروس است (Dong et al., 2019). گزارش های متعددی در مورد ترکیبات اصلی این قارچ که مسئول خواص درمانی آن هستند تاکنون به چاپ رسیده است. اندام بارده، میسلیم و اسپور آن، به عنوان منابع تولید مواد مؤثره حاوی بیش از ۴۰۰ ترکیب بیولوژیکی فعال هستند که به طور عمده شامل تری ترپن ها (به ویژه گنودریک اسید)، پلی-ساکاریدها، پروتئین ها، فنول ها، نوکلئوتیدها، استروئیدها، اسیدهای چرب و همچنین عناصر به میزان کم هستند (Bishop et al., 2015). همچنین مشخص شده است که *G. lucidum* دارای ارزش غذایی بالایی است، به عنوان مثال پلی ساکاریدها (۲۸-۳۰ درصد)، پروتئین ها (۱۸-۲۰ درصد)، کربوهیدرات ها (۱۰-۱۲ درصد)، چربی ها (۲-۴ درصد)، علاوه بر این مقادیر بالای فیبر و مواد معدنی دارد (Mohsin et al., 2011).

اگرچه تری ترپن ها (به ویژه گنودریک اسید) و پلی ساکاریدها به عنوان مهم ترین ترکیبات این قارچ با خواص ضد سرطان شناخته شده اند و در کشت های درون شیشه ای علیه تومورهای سرطانی (Lin et al., 2003) و برخی بیماری های دیگر نظیر ایدز (Hattori, 2001) نتایج بسیار رضایت بخشی نشان داده اند، اما مطالعات اخیر نشان می دهد که بخشی از اثرات مفید گانودرما بر سلامتی انسان را می توان به نقش ترکیبات آنتی اکسیدان آن در پیشگیری و کنترل بیماری هایی نظیر بیماری قلبی و سرطان نسبت داد، که آسیب تخریبی ناشی از فعالیت رادیکال های آزاد را کاهش می دهد (Dong et al., 2019; Collins, 2005).

در بسیاری از موجودات زنده، اکسیداسیون یک امر ضروری به منظور فراهم کردن انرژی مورد نیاز برای فرآیندهای فیزیولوژیکی محسوب می شود. با این وجود گاهی عوامل خارجی از جمله عوامل

زیست محیطی منجر به تولید رادیکال های آزاد و سایر گونه های فعال اکسیژن در میتوکندری می شوند که تأثیر آن بر هم زدن تعادل بین آنتی اکسیدان ها و رادیکال های آزاد است. بدن انسان به طور مداوم تحت تأثیر تنش اکسیداتیو است که منجر به ایجاد بیماری های قلبی-عروقی، اختلالات عصبی، اختلالات کلیوی، اختلالات کبدی، فشار خون، سندرم دیسترس تنفسی بزرگسالان، بیماری خود ایمنی، دیابت، اوتیسم، آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون، زخم معده، هموکروماتوز و پره اکلامپسی می گردد (Halliwell, 2007; Singh et al., 2010). رادیکال های آزاد در واقع اتم، مولکول یا یونی با الکترون جفت نشده است. در نتیجه، بسیار ناپایدار و فعال برای واکنش های شیمیایی با مولکول های دیگر هستند. اکسیژن، نیتروژن و سولفور سه عنصر تشکیل دهنده رادیکال های آزاد هستند که به ترتیب گونه های فعال اکسیژن (ROS)، گونه های فعال نیتروژن (RNS) و گونه های فعال سولفور (RSS) را تولید می کنند (Lo & Cheung, 2005). آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که می توانند از تولید رادیکال ها آزاد و پرواکسیدان ها با دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی مهار یا جلوگیری کنند (Čilerdžić et al., 2014). آنتی اکسیدان های آنزیمی مانند آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به طور غیرمستقیم رادیکال های آزاد را خنثی می کنند. آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی شامل ویتامین های A و E و ترکیباتی چون سلنیم و روی، کوفاکتورهای آنزیمی و پپتیدها مانند گلوتاتیون هستند (El Sheikha, 2003; Gülçin et al., 2022). فنول ها گروهی از ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در گیاهان هستند که خاصیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات مربوط به گروه های هیدروکسیل فنولیک واقع در ساختار حلقوی است و به عنوان اهداکننده هیدروژن، سرکوب کننده اکسیژن یگانه، مهارکننده رادیکال های آزاد سوپراکساید و شلاته کننده فلزات عمل می کنند. فنول ها همچنین با داشتن فعالیت آنتی اکسیدانی، می توانند رادیکال های آزاد را مهار کرده و در برابر اکسیداسیون ترکیبات زیستی از جمله لیپیدها و پروتئین ها نقش محافظتی داشته باشند (Terpinc et al., 2011). گزارش های موجود حاکی از آن است که مهار رادیکال های آزاد، کاهش قدرت و مهار پرواکسیداسیون لیپیدی توسط *G. lucidum* با ترکیبات فنولی این قارچ در ارتباط بوده است (Stojković et al., 2014). ترکیبات فنولی *G. lucidum* به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته اند و اسیدهای فنولیک شامل اسیدهای کلروژنیک، سینامیک، گالیک، پروتوکاتچوئیک، پی-هیدروکسی بنزوئیک و پی-کوماریک برجسته ترین آن ها هستند که مسئول خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی این قارچ می باشند (Oludemi et al., 2018; Taofiq et al., 2017). گزارش های متعددی روی خواص آنتی اکسیدانی گانودرما با عصاره

- 1- Basidiomycete
- 2- Polyporales
- 3- Ganodermataceae

آهن و قدرت احیاکنندگی مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که کاربرد حلال‌های گوناگون طی استخراج منجر به جداسازی طیف ترکیبات مختلف با غلظت‌های متفاوت می‌گردد، به‌منظور بررسی بهتر اثر ترکیبات بیوشیمیایی این قارچ در مهار رادیکال‌های آزاد مختلف، از دو سیستم حلال آبی و متانولی استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: کلیه مواد استاندارد، معرف‌ها و حلال‌های شیمیایی از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما-آلدريج آمریکا تهیه گردید.

آنالیز عناصر غذایی: برای هضم نمونه‌ها از دستگاه هضم مایکروویو (Milestone Ethos) ساخت کشور آلمان با حداکثر توان ۱۰۰۰ وات استفاده شد. برای تشخیص عناصر از دستگاه اسپکترومتري نشری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES) مدل (Avio 560 Max) ساخت شرکت پرکین المر کشور آلمان با مشعل ۲/۵ میلی‌متری استفاده گردید.

آنالیز کروماتوگرافی ترکیبات بیوشیمیایی: تشخیص ترکیبات بیوشیمیایی به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد فوق‌العاده بالا (UPLC, Waters) مجهز به آشکارساز آرایه دیودی (PDA, Waters) و طیف‌سنج جرمی (ESI-QTOF/MS) انجام گرفت. جداسازی کروماتوگراف با استفاده از ستون (Waters C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm, UPLC® BEH) صورت گرفت. از دو فاز متحرک شامل فاز متحرک A (آب فوق خالص با اسید فرمیک ۰/۱ درصد) و فاز متحرک B (استونیتریل با اسید فرمیک ۰/۱ درصد) استفاده گردید. ۱۰ میکرولیتر نمونه تزریق شد و طیف جذبی در محدوده ۲۱۰ تا ۴۰۰ نانومتر آنالیز گردید.

مشخصات دستگاه میکروپلیت ریدر: به‌منظور قرائت جذب نمونه‌ها در پلیت ۹۶ خانه از دستگاه میکروپلیت ریدر مدل (SpectraMax Plus 384) ساخت کشور آمریکا استفاده گردید.

آماده‌سازی عصاره: اندام بارده قارچ *G. lucidum* نژاد Akitama-shiki از سالن پرورش قارچ واقع در مرکز گلخانه‌های تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. به‌منظور تهیه عصاره، ابتدا نمونه را کاملاً تمیز نموده و به‌منظور خشک کردن در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. سپس توسط آسیاب کاملاً پودر شده و از الک ۶۰ مش عبور داده شد. جهت تهیه عصاره متانولی، به‌مقدار ۲۰ گرم پودر حاصل، در مجموع ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد طی دو مرحله اضافه گردید و پس از قرارگیری در دستگاه سونیکاتور به مدت دو ساعت، به مدت یک شبانه‌روز در روتاری شیکر با دور ۱۲۰ دور در

متانولی (Heleno et al., 2012; Karaman et al., 2010; Kim et al., 2008) عصاره اتانولی (Ćilerdžić et al., 2014; Sengul et al., 2009) و همچنین عصاره آبی (Heleno et al., 2012; Kozarski et al., 2012) تمرکز کرده‌اند که نشان می‌دهد خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مربوط به وجود پلی‌ساکاریدها و ترکیب‌های فنولی این قارچ است. اگرچه *G. lucidum* منبع قوی از ترکیبات فنولی نیست، اما برخی تحقیقات گزارش کردند که این ترکیبات بیشترین نقش را در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دارد. از آنجاکه نوع حلال تأثیر قابل توجهی بر دینامیک فرآیند استخراج و ترکیب شیمیایی عصاره دارد، بنابراین می‌توان پارامترهای استخراج را به‌منظور دستیابی به عصاره با ترکیبات دلخواه بهینه‌سازی کرد. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که عصاره متانولی قارچ گانودرما، پتانسیل آنتی‌اکسیدان بالاتری در مقایسه با عصاره آبی دارد (Rawat et al., 2011) با این‌وجود متانول بسیار سمی است و حلال مناسبی برای عصاره به‌منظور کاربرد در صنایع غذایی محسوب نمی‌شود. اگرچه شناخت ترکیب شیمیایی قارچ بسیار مهم است، ولی اطلاعات در مورد شرایط استخراج بهینه و ترکیباتی که عمدتاً در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره نقش دارند، محدود است (Ćilerdžić et al., 2014; Saltarelli et al., 2015).

G. lucidum به‌طور طبیعی در زیستگاه‌های خود کمیاب است، از طرفی دیگر به‌دنبال فواید ارزشمند اثبات شده‌ای که برای سلامتی انسان دارد، صنایع غذایی و دارویی در سرتاسر جهان در حال عرضه فرمولاسیون‌های مختلف از این قارچ عمدتاً به‌عنوان مکمل غذایی، شربت، چای و قهوه با ارزش سالانه بیش از ۲/۵ میلیارد دلار در بازار جهانی هستند. از این‌رو کشت مصنوعی آن به‌طور گسترده در سراسر جهان به‌خصوص در کشورهای آسیایی رو به افزایش است (Li, Liu et al., 2013; Mohsin et al., 2011; Wachtel-Galor et al., 2011). برخی مطالعات انجام‌شده، تأثیر شرایط پرورش قارچ بر کمیت و کیفیت ترکیبات فعال موجود در آن را به‌عنوان یک عامل بسیار مهم گزارش کردند (Soković et al., 2018). طبق پژوهشی که صورت گرفته است، مقادیر پروتئین خام، کربوهیدرات و فیبر خام از نمونه رشدیافته تحت کشت مصنوعی نسبت به نمونه جمع‌آوری‌شده بیشتر است (Zhou et al., 2007).

از آنجاکه سیستم‌های دفاعی برای جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به‌طور کلی ناکافی هستند، تلاش برای یافتن مواد غذایی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالا، همیشه یکی از متداول‌ترین و پویاترین زمینه پژوهشی است. در پژوهش حاضر، قارچ *G. lucidum* پرورش‌یافته در شرایط مصنوعی از نظر ارزش عناصر غذایی، ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی علیه انواع گونه‌های رادیکال آزاد از قبیل ABTS، DPPH، سوپراکساید، نیتریک اکساید، قدرت شلاته‌کنندگی

عصاره‌های قارچ در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شدند. از محلول ترولوکس به‌عنوان شاهد مثبت در این آزمایش استفاده گردید. پس از آماده شدن پلیت به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی و دمای اتاق قرار داده شد و در نهایت جذب هر چاهک در طول موج ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر به ثبت رسید. درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

ارزیابی قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP)

اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از طریق FRAP به‌روش کین و همکاران (Qin et al., 2017) انجام شد. بدین منظور، ابتدا محلول کار FRAP به‌روش زیر تهیه گردید. میزان ۱۰ میلی‌لیتر بافر استات (۳۰۰ میلی‌مولار، پی اچ ۳/۶) با یک میلی‌لیتر محلول TPTZ محلول در اسیدکلریدریک (۴۰ میلی‌مولار) مخلوط شد. سپس به مخلوط حاصل، یک میلی‌لیتر محلول کلرید فریک (۲۰ میلی‌مولار) اضافه گردید و محلول فوق در حمام آبی به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. در نهایت، میزان ۷۵ میکرولیتر از محلول کاری به ۱۰ میکرولیتر از عصاره در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه آنکوباسیون در تاریکی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر ارزیابی شد و داده‌ها به‌صورت معادل میلی‌مولار آهن دوظرفیتی در گرم نمونه با استفاده از منحنی کالیبراسیون محلول سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) در محدوده ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومولار محاسبه شدند.

ارزیابی قدرت کلاته‌کنندگی آهن (ICA)

اندازه‌گیری قدرت کلاته‌کنندگی آهن به‌روش مقصود و بنجاکول (Maqsood & Benjakul, 2010) انجام شد. به ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف هر عصاره، ۵۰ میکرولیتر محلول یک میلی‌مولار کلرید آهن دوظرفیتی اضافه گردید و پس از پنج دقیقه محلول ۰/۶ میلی‌مولار فروزین (Ferrozine) اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه آنکوبه شدن در دمای محیط، جذب مخلوط در طول موج ۵۶۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این آزمایش، EDTA به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. درصد مهار تشکیل کمپلکس آهن-فروزین با کمک معادله ۱ محاسبه شد.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید (NO)

مهار رادیکال نیتریک اکساید با استفاده از روش بلاکریشن و همکاران (Balakrishnan et al., 2009) با اندکی تغییر محاسبه گردید. بدین منظور، ۵۰ میکرولیتر سدیم نیتروپروساید (۱۰ میلی‌مولار در بافر فسفات سالیین با پی اچ ۷) به ۵۰ میکرولیتر از نمونه با

دقیقه قرار داده شد. پس از آن عصاره با استفاده از پمپ خلأ از کاغذ واتمن شماره ۴۰ عبور داده شد. سپس برای حذف حلال از دستگاه روتاری اوپراتور و در نهایت به‌منظور حذف کامل حلال از دستگاه خشک‌کن انجمادی استفاده گردید. پودر عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش‌ها در یخچال چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور تهیه عصاره آب داغ نیز ۲۰ گرم از پودر نمونه به ۳۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه گردید و سپس به مدت دو ساعت در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن، به مدت یک شبانه‌روز در دمای آزمایشگاه روی روتاری شیکر قرار گرفت. تمامی مراحل ذکرشده جهت جداسازی حلال به‌طور هم‌زمان برای عصاره آب داغ نیز صورت گرفت.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال (ABTS)

جهت بررسی قدرت مهار رادیکال ABTS از روش آگستین و همکاران (Agustin-Salazar et al., 2014) با اندکی تغییر استفاده شد. به‌منظور تهیه محلول کاری کاتیون ABTS، ابتدا محلول‌های استوک شامل ABTS (هفت میلی‌مولار) و پتاسیم پرسولفات (۲/۴۵ میلی‌مولار) تهیه شده و سپس به‌میزان مساوی با یکدیگر مخلوط شدند. جهت آنکوباسیون، محلول حاصل به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول کاری ABTS را با ۴۴ میلی‌لیتر بافر استات رقیق نموده تا جذبی حدود 0.74 ± 0.03 در طول موج ۷۳۴ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتری حاصل گردد. پس از تهیه غلظت‌های مختلف از هر عصاره جهت محاسبه IC_{50} ، میزان ۱۲ میکرولیتر عصاره و ۱۸۸ میکرولیتر محلول ABTS در چهار تکرار به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شدند. در این آزمایش، از ترولوکس به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. در انتها، پس از گذشت ۳۰ دقیقه از آنکوباسیون، جذب نوری پلیت ۹۶ خانه در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت گردید و درصد مهارکنندگی با استفاده از معادله ۱ به دست آمد.

(۱) = درصد مهارکنندگی رادیکال

$$100 \times \left[\frac{\text{جذب شاهد}}{\text{جذب نمونه-جذب شاهد}} \right]$$

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از طریق مهار رادیکال‌های ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل طبق روش هوگان و همکاران (Hogan et al., 2010) انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH در اتانول ۹۶ درصد تهیه شد. سپس ۱۳۰ میکرولیتر از محلول مذکور به ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف

و ۱۵۱۰/۸ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) به ترتیب بیشترین مقدار از درشت مغذی‌ها را به خود اختصاص داده‌اند. به دنبال آن عناصر کلسیم، منیزیم و سدیم (در مقادیر ۴۷۹/۸، ۳۵۶/۵ و ۶۵/۵۸ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده شدند. عنصر آهن و روی (۸/۵ و ۷/۷۴ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) سهم قابل توجهی از ریزمغذی‌ها را به خود اختصاص می‌دهند. ال شیخا (El Sheikh, 2022) به طور میانگین مقادیر درشت مغذی‌ها شامل پتاسیم، فسفر، گوگرد، منیزیم، سدیم و کلسیم را به ترتیب (۴۳۲، ۲۲۵، ۱۲۹، ۷/۹۵، ۲/۸۲ و ۱/۸۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و ریزمغذی‌ها را شامل مس، منگنز، آهن و روی به ترتیب (۲۶، ۲۲، ۲/۲۲، ۰/۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) گزارش کرده است.

تجزیه و تحلیل ترکیبات بیوشیمیایی اندام بارده *G. lucidum* در جدول ۲ ارائه شده است. به طور کلی، ۳۷ ترکیب شامل تری ترپنوئیدها و ترکیبات فنولی شناسایی شد که در آن گندریک اسید با بیشترین مقدار ($332/1 \pm 15890/1$ میکروگرم در گرم ماده خشک) و به دنبال آن سیناپیک اسید و سوکونیک اسید ($28/11 \pm 2011/4$ و $31/5 \pm 1505/33$ میکروگرم در گرم ماده خشک) به عنوان ترکیبات غالب قرار گرفتند.

طبق مطالعه انجام شده توسط توفیق و همکاران (Taofiq et al., 2017) مقدار تری ترپنوئید کل در عصاره *G. lucidum* را ۴۵۵ میلی گرم بر گرم گزارش کردند که شامل انواع اسیدهای گندریک (AM, H, F, G, B, A, D, C2, C6, E, J) بودند.

اگرچه ترکیبات فنولی یکی از مهم ترین ترکیبات با اثرات زیست‌فعالی قابل توجه در گانودرما هستند، مطالعات زیادی به منظور تعیین محتوای آن‌ها تاکنون انجام شده است. برای ترکیبات فنولی شناخته شده در این قارچ از اسید گالیک، پیروگالول، ۵-سولفوسالیسیلیک اسید، پروتوکاتچوئیک اسید، کاتچین، بنزوئیک اسید، میریستین، کورستین، کامفرول، هسپرتین، فورمونوتین و بیوجانین نام برده شده است. کیم و همکاران (Kim et al., 2008) محتوای ترکیبات فنولی در قارچ گانودرما کشت شده در کره جنوبی را مطالعه کردند و محتوای ترکیبات فنولی را ۱۶۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک و به طور جزئی مقادیر اسید گالیک، پیروگالول، دهیدروکسی بنزوئیک اسید، نارنجین، میرستین، کوئرتستین، کمپفرول (۸، ۱۸، ۱۴، ۹، ۲۱، ۲۶، ۲۵ میکروگرم بر گرم) را گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر قابل مقایسه است. تفاوت‌های بارز بین ترکیبات بیوشیمیایی و عناصر غذایی *G. lucidum* در مطالعات انجام شده به دلیل ژنوم و خواستگاه نمونه‌ها، نوع و ترکیب بستر کشت در شرایط مصنوعی، تغییر در محتوای فنول آزاد شده در طول فرآیند خشک کردن یا تشکیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اضافی مانند ملانوتیدین می‌تواند باشد.

غلظت‌های مختلف اضافه شد. پس از دو ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت روشی، ۲۵ میکرولیتر محلول گریس (Griess) به چاهک‌ها اضافه گردید (معرف گریس از مخلوط مقادیر مساوی سولفونیل آمید یک درصد و نفتیل اتیلن دی‌آمین دی هیدروکلراید ۰/۱ درصد در فسفریک اسید ۲/۵ درصد تهیه شد). پس از گذشت ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، جذب محلول در ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید (SO)

قدرت مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید براساس روش بیر و فریدرویچ (Beyer-Jr & Fridovich, 1987) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد. اساس اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی این رادیکال، احیای نیتروبولتترازولویوم (NBT) توسط رادیکال سوپراکسید و تشکیل فورمازان است. مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه (در غلظت‌های مختلف) و یک میلی‌لیتر محلول واکنش در لوله‌های آزمایش ریخته شد و به منظور تهیه نمونه شاهد، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر محلول واکنش در لوله‌های مربوطه ریخته و لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌های تیمار و شاهد به مدت ۱۰ دقیقه در روشی حاصل از نور مصنوعی در یک اتاقک قرار گرفته شدند. سپس در طول موج ۵۶۲ نانومتر، جذب نمونه‌ها قرائت و با استفاده از معادله ۱، میزان درصد فعالیت مهارکنندگی برای هر نمونه محاسبه گردید.

محاسبات آماری

تمام آزمون‌ها سه بار تکرار گردیدند و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن آزمون نیومن کولز تحت نرم افزار PRISM نسخه ۸ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) از نظر آماری معنی‌دار فرض شدند. غلظت‌های مربوط به مقادیر IC_{50} از روی رگرسیون خطی یا لگاریتمی با استفاده از نرم افزار Excel محاسبه گردید.

نتایج و بحث

ارزیابی محتوای عناصر غذایی و ترکیبات بیوشیمیایی:

از دیدگاه غذایی، قارچ *G. lucidum* شامل مقادیر زیادی پروتئین، فیبر، عناصر غذایی و ویتامین‌ها شامل ویتامین‌های گروه B، D، E و C می‌باشد. نتایج آنالیز عناصر غذایی میوه قارچ گانودرما با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نشری پلاسما جفت شده القایی (ICP-OES) در جدول ۱ ارائه شده است. به طور کلی ۱۴ عنصر شامل درشت مغذی‌ها و ریزمغذی‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. عنصر فسفر و پتاسیم (۲۹۱۰/۸

جدول ۱- آنالیز عناصر اندام بارده قارچ گانودرما لوسیدوم توسط دستگاه اسپکترومتری
Table 1- Analysis of elements in the fruiting body of *G. lucidum* by ICP-OES

عناصر Elements	غلظت Concentration (mg.kg ⁻¹)
فسفر Phosphorus (P)	2910.8
پتاسیم Potassium (K)	1510.8
کلسیم Calcium (Ca)	479.8
منیزیم Magnesium (Mg)	356.5
سدیم Sodium (Na)	65.58
گوگرد Sulfur (S)	15.13
آهن (Fe) Iron	8.5
روی Zinc (Zn)	7.74
مس Copper (Cu)	2.87
منگنز Manganese (Mn)	2.15
بور Boron (B)	1.11
سلنیوم Selenium (Se)	0.63
سیلیسیم Silicon (Si)	0.165
باریم Barium (Ba)	0.065

جدول ۲- آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی اندام بارده قارچ گانودرما لوسیدوم با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد فوق العاده
Table 2- Identification and quantification of biochemical compounds in the fruiting body of *G. lucidum* by UPLC-MS

ترکیبات بیوشیمیایی Biochemical compounds	محتوای ترکیب Compound Content (µg.g ⁻¹)	UPLC ESI-MS	
		زمان بازداری RT (min)	نسبت جرم به بار [M-H] (m/z)
اسید مالیک Malic acid	311.0 ± 46.2	0.94	133.11
اسید کوئینیک Quinic acid	65.2 ± 8.1	0.96	191.1
اسید سوکسینیک Succinic acid	1505.33 ± 31.5	1.21	117.018
اسید گنودریک Ganoderic acid	15890.1 ± 232.1	1.22	191.111
پیروگالول Pyrogallol	4.03 ± 0.80	1.24	125.11
اسید گالیک Gallic acid	19.4 ± 1.8	1.33	168.5
پیروکاتکول Pyrocatechol	<LOD	1.95	109.028
اسید ۳،۴-دی هیدروکسی بنزوئیک 3-4-Dihydroxybenzoic acid	7.4 ± 1.0	2.01	153.11
کاتچین Catechin	27.2 ± 3.4	2.21	289
اسید کلروژنیک Chlorogenic acid	71.3 ± 5.5	2.37	353.212

ترکیبات بیوشیمیایی Biochemical compounds	محتوای ترکیب Compound Content ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	UPLC ESI-MS	
		زمان بازداری RT (min)	نسبت جرم به بار [M-H] (m/z)
اسید ۴-هیدروکسی بنزوئیک 4-hydroxybenzoic acid	92.4 ± 6.0	2.8	137.15
اسید ۳-هیدروکسی بنزوئیک 3-Hydroxybenzoic acid	1243 ± 21.4	2.83	137.025
اسکولتین Esculetin	44.0 ± 2.3	3.03	177.018
اسید وانیلیک Vanillic acid	201.33 ± 16.3	3.13	167.036
اسید سیرینگیک Syringic acid	<LOD	3.17	197.045
اسید کافئیک Caffeic acid	52.5 ± 8.12	3.19	179.035
اپی کاتچین Epicatechin	<LOD	3.84	289.064
اسید ۴-هیدروکسی سینامیک 4-Hydroxycinnamic acid	<LOD	4.54	163.042
اسید ۳-هیدروکسی سینامیک 3-Hydroxycinnamic acid	310.0 ± 18.4	4.56	163.042
روتین Rutin	<LOD	4.71	609.1
اسید سیناپیک Sinapic acid	2011.4 ± 28.11	4.88	223.061
اسید فروئیک Ferulic acid	374.2 ± 20.0	5.05	193.05
اسید ۲-هیدروکسی سینامیک 2-Hydroxycinnamic acid	<LOQ	5.14	163.042
اسید تانیک Tannic acid	693.11 ± 15.94	5.31	1700.08
نارینجین Naringin	433.5 ± 11.0	5.84	579.173
اسید بنزوئیک Benzoic acid	3.4 ± 0.2	5.97	121.031
کوئرستین Quercitrin	<LOD	6.02	447.12
هسپریدین Hesperidin	73.12 ± 6.2	6.24	609.172
اسید رزمارینیک Rosmarinic acid	21.0 ± 5.1	6.94	359.054
۴-هیدروکسی کومارین 4-Hydroxycoumarin	913.0 ± 86.0	7.04	163.042
اسید سالیسیلیک Salicylic acid	18.90 ± 4.1	7.38	137.025
رزوراترول Resveratrol	<LOD	8.24	227.072
لوتئولین Luteolin	<LOD	8.87	215.04
کوئرستین Quercetin	<LOD	9.11	301.112
نارینژنین Naringenin	3.70 ± 0.2	10.77	271.161
هسپریتین Hesperetin	2.94 ± 0.21	11.04	301.315
کمپفرول Kaempferol	<LOD	11.12	285.24

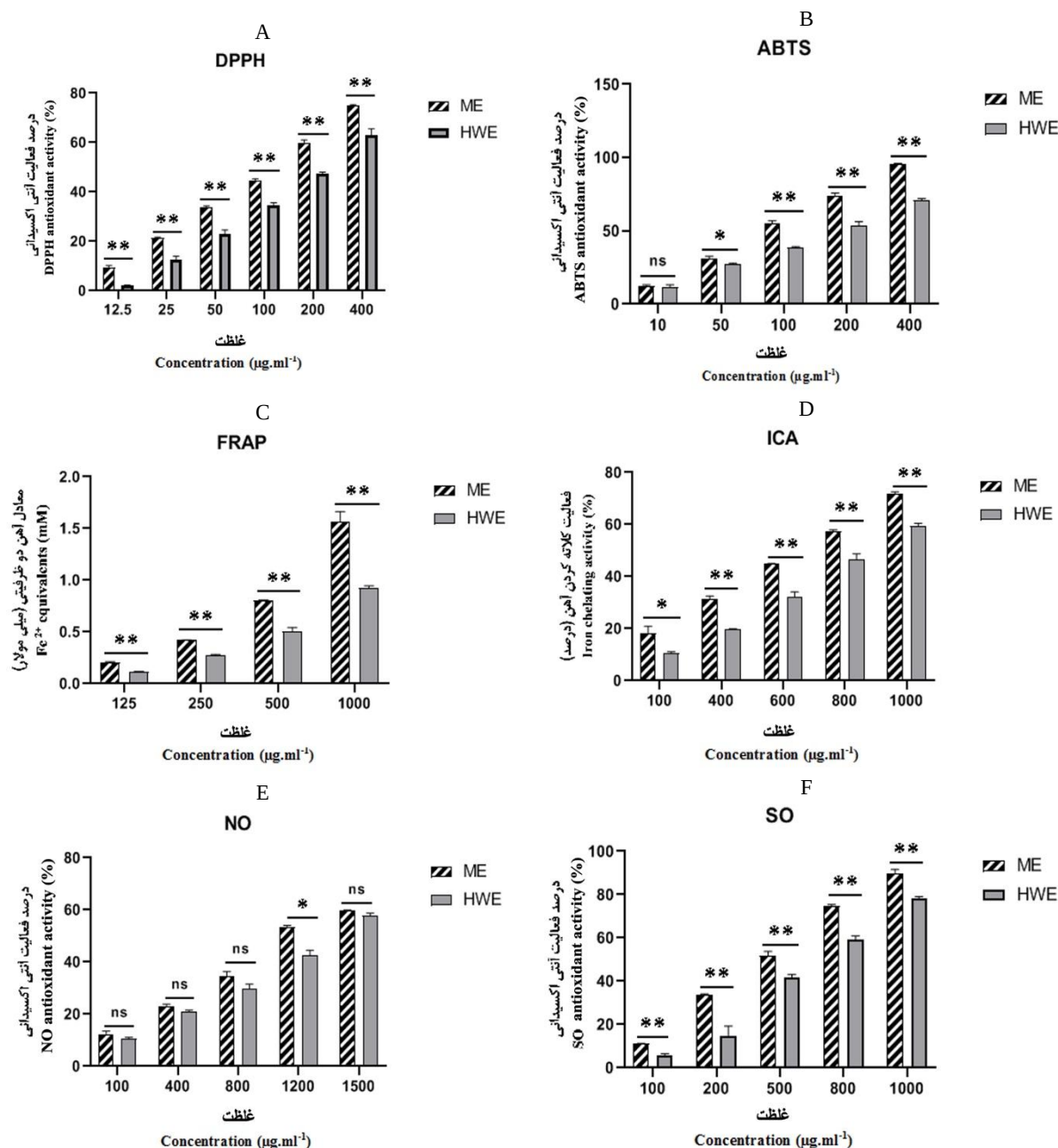
ترکیبات فنولی شامل فنول‌های ساده، با یک حلقه آروماتیک که حداقل دارای یک گروه هیدروکسی روی آن است و ترکیبات پلی فنولی می‌باشند. ترکیبات پلی فنولی که دارای دو بخش فنولی باشند، فلاونوئیدها را تشکیل می‌دهند. از مهم‌ترین خصوصیات که به این گروه نسبت داده می‌شود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که به آن‌ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. در نتیجه، روند استخراج ترکیبات فنولی یک عامل مهم در تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره محسوب می‌شود. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تأثیر بارزی در محتویات عصاره خواهد گذاشت. این تفاوت‌ها وابسته به تمایل این ترکیبات به حلال مورد نظر برای عصاره‌گیری و به‌خصوص قطبیت آن است. (Sheikh et al., 2014)

به‌طور گسترده مدل به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH برای ارزیابی توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این رادیکال آزاد پایدار با دریافت هیدروژن یا الکترون از آنتی‌اکسیدان به فرم احیاشده تبدیل شده و رنگ ارغوانی آن کاهش یافته و به زرد کم‌رنگ تغییر می‌کند. نتایج حاصل از تأثیر قدرت عصاره بر به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH در شکل ۱ (A) ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در این آزمون با افزایش غلظت هر دو عصاره متانولی و آب داغ، مهار رادیکال DPPH با قدرت بیشتری صورت گرفته و در همه غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بین دو عصاره وجود داشت. همچنین مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی ($111/93 \pm 1/39$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ ($5/42 \pm 213/48$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.05$) اختلاف نشان دادند. نتایج آنتی‌اکسیدانی به‌دست‌آمده برای مهار و کاهش رادیکال DPPH بسیار مشابه گزارش هلنو و همکاران (Heleno et al., 2012) است که در آن نویسندگان از روش استخراج خیساندن در حلال متانول ۸۰ درصد استفاده کردند. فعالیت مهار DPPH عصاره، علاوه بر محتویات پلی فنولی به مواد بیوشیمیایی مختلف نیز وابسته است. از آنجایی که مهار رادیکال‌های آزاد از طریق انتقال اتم هیدروژن یا الکترون انجام می‌شود، ممکن است ترکیبات دیگری علاوه بر ترکیبات فنولی نیز در مهار رادیکال DPPH نقش داشته باشند. هرچه تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه فنیل آنتی‌اکسیدان بیشتر باشد، تعداد هیدروژن بیشتری برای واکنش DPPH وجود دارد.

کاتیون رادیکال نسبتاً پایدار سبز آبی ABTS از اکسیداسیون ABTS توسط پتاسیم پرسولفات تولید می‌شود که معمولاً برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با انتقال اتم هیدروژن یا الکترون استفاده

می‌شود و به یک محصول بی‌رنگ تبدیل می‌شود. شدت کاهش رنگ نشان‌دهنده مقدار رادیکال ABTS است که توسط آنتی‌اکسیدان‌ها مهار شده است. غلظت‌های مختلف دو عصاره متانولی و آبی و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS در شکل ۱ (B) ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS برای هر دو عصاره در یک رابطه وابسته به دوز افزایش یافت. ظرفیت مهارکنندگی عصاره‌ها در کمترین غلظت (10 میکروگرم بر میلی‌لیتر) اختلاف معناداری نشان نداد و در بالاترین غلظت (400 میکروگرم بر میلی‌لیتر) این اختلاف در سطح احتمال ($P \leq 0.01$) معنادار شد. همچنین مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی ($2/42 \pm 48/46$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ ($4/51 \pm 163/51$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.05$) اختلاف نشان دادند. نتایج نشان می‌دهد که پاسخ عصاره متانولی در آزمون ABTS با آزمون DPPH متفاوت بود.

قدرت احیاکنندگی با توانایی ترکیبات در اهدای الکترون برای احیای آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. در این واکنش، افزودن معرف FRAP به عصاره مورد نظر منجر به احیای کمپلکس Fe^{3+} -TPTZ و تشکیل کمپلکس Fe^{2+} -TPTZ آبی‌رنگ می‌شود که حداکثر جذب را در طول موج 593 نانومتر دارد. افزایش جذب در این طول موج حاکی از افزایش ظرفیت احیاکنندگی می‌باشد. طبق نتایج ارائه‌شده در شکل ۱ (C)، قدرت احیاکنندگی برای هر دو عصاره متانولی و آبی وابسته به دوز افزایش یافت و این افزایش برای عصاره متانولی بیشتر نمایان است. در تمام غلظت‌ها، قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها در سطح احتمال ($P \leq 0.01$) اختلاف نشان دادند. همان‌طور که در جدول ۳ ذکر شده است، مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی ($4/06 \pm 512/64$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای آب داغ ($7/8 \pm 898/51$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.01$) اختلاف نشان دادند. به لحاظ تئوری، هر ترکیبی که بتواند آهن سه ظرفیتی را به آهن دو ظرفیتی احیا کند، پتانسیل دخالت در سطح آنتی‌اکسیدانی نمونه را دارد. نکته قابل توجه در این روش این است که برخی ترکیبات پلی فنولی موجود در عصاره مانند اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید تانیک به‌آهستگی با معرف FRAP واکنش می‌دهند (Pulido et al., 2000). بنابراین قدرت احیاکنندگی ارتباط تنگاتنگی با نوع ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره دارد. با این وجود قدرت کاهندگی گانودرما تعیین‌شده توسط FRAP، یک شاخص قابل توجه از پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی این قارچ است (Ferreira et al., 2007).



شکل ۱- ظرفیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (A)، ABTS (B)، نیتریک اکساید (E)، سوپراکساید (F)، ظرفیت احیاکنندگی آهن (C)، ظرفیت شلاته‌کنندگی آهن (D) توسط عصاره متانولی (ME) و عصاره آبی (HWE) قارچ گانودرما لوسیدوم

Figure 1. DPPH (A), ABTS (B), nitric oxide (NO) (E), superoxide (SO) (F) inhibitory activities, iron-reducing activity (FRAP) (C), and iron-chelating activity (ICA) (D) of MeOH (ME) and hot water (HWE) extracts of *G. lucidum*

برای عصاره متانولی ($301/88 \pm 7/01$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای عصاره آبی ($545/23 \pm 1/21$ میکروگرم بر میلی‌لیتر) محاسبه شد که در سطح آماری ($P \leq 0.01$) اختلاف داشتند. نیتریک اکساید، مولکول کوچکی با یک الکترون جفت نشده است که در سیستم‌های زیستی توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS)

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌ها بر میزان قدرت شلاته‌کنندگی آهن در شکل ۱ (D) ارائه شده است. در این آزمون هم عصاره متانولی بالاترین فعالیت خود را نشان داد، به‌طوری که در تمام غلظت‌های مشابه در سطح آماری ($P \leq 0.01$) نسبت به عصاره آبی قدرت شلاته‌کنندگی بیشتری را از خود نشان داد. میزان IC_{50} در این آزمون

و از طریق تبدیل آرژنین به سیترونین تولید می‌شود. تولید بیش از حد این مولکول می‌تواند فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را کاهش دهد. قدرت به‌دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌ها وابسته به دوز بود. همان‌طور که در شکل ۱ (E) نشان داده شده است، هم‌زمان با افزایش غلظت عصاره‌ها، قدرت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید نیز افزایش یافت. مطابق نتایج آماری، در غلظت‌های یکسان قدرت مهارکنندگی عصاره متانولی اندکی بیشتر از عصاره آبی بود، به‌طوری که این تفاوت تنها در غلظت ۱۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در سطح آماری ($P \leq 0.01$) معنی‌دار شد. همان‌طور که در جدول ۳ ذکر شده است، مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (1189.5 ± 8.5) میکروگرم بر

میلی‌لیتر) و آب داغ (48.46 ± 2.42) میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. رادیکال سوپراکساید یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که در شرایط اکسیداتیو می‌تواند موجب آسیب‌های سلولی شود. نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌ها بر میزان قدرت مهارکنندگی رادیکال سوپراکساید در شکل ۱ (F) ارائه شده است. در این آزمون نیز در تمام غلظت‌های یکسان، عصاره متانولی بالاترین فعالیت مهارکنندگی را نسبت به عصاره آبی در سطح آماری ($P \leq 0.01$) از خود نشان داد. همچنان که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (1189.5 ± 8.5) میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ (48.46 ± 2.42) میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.01$) اختلاف نشان دادند.

جدول ۳- غلظت مؤثر بازدارندگی عصاره‌های قارچ گانودرما لوسیدوم در شش آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی

Table 3- IC_{50} values of *G. lucidum* Extracts by six antioxidant activity assays

آزمون Assay	غلظت مؤثر بازدارندگی IC_{50} ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)		P-value
	عصاره متانولی Methanolic extract	عصاره آب داغ Hot water extract	
آزمون مهار رادیکال ABTS ABTS assay	48.46 ± 2.42	163.51 ± 4.51	0.0155*
آزمون مهار رادیکال DPPH DPPH assay	111.93 ± 1.39	213.48 ± 5.42	0.0433*
آزمون قدرت آنتی‌اکسیدانی احیاکنندگی آهن (FRAP) Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)	512.64 ± 4.06	898.51 ± 7.8	<0.01**
آزمون قدرت کلاته‌کنندگی یون آهن (ICA) Iron chelating activity assay (ICA)	301.88 ± 7.01	545.23 ± 1.21	<0.01**
آزمون مهار رادیکال نیتریک اکساید (NO) Nitric oxide scavenging assay (NO)	1189.5 ± 8.5	1343.2 ± 10.6	0.0901 ^{ns}
آزمون مهار رادیکال سوپراکساید (SO) Superoxide radical scavenging assay (SO)	488.8 ± 7.38	645.92 ± 5.48	<0.01**

متعددی رابطه نزدیک بین میزان ترکیبات فنولی، تری ترپنوئیدها و پلی ساکاریدهای موجود در اندام بارده گانودرما با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن را گزارش کردند (Abdullah et al., 2012; Kozarski et al., 2011; Zhang et al., 2015). همچنین مجموع تری ترپن‌های جداشده از *G. lucidum* طی تحقیقی برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در محیط درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تری ترپن‌ها به‌طور موفق رادیکال‌های سوپراکساید، DPPH و ABTS را مهار کرده و به‌طور قابل توجهی فعالیت کاهندگی یون فریک از خود نشان دادند و به‌مقدار زیادی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها مؤثر بودند. این توانایی تری‌ترین‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد و تقویت سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی، نشان‌دهنده ظرفیت

عصاره‌های گیاهی مختلف ممکن است شامل انواع مختلف ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی متنوع باشند که به ساختارشان وابسته است (Kaur & Mondal, 2014). با این‌وجود گولیسین و همکارانش (Gülçin et al., 2003) گزارش کردند که بین میزان ترکیبات فنولی و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهی ارتباط مستقیمی وجود ندارد، به‌طوری که میزان فنول عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی بوده، ولی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی نسبت به آبی کمتر می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر، که روی ۲۸ محصول گیاهی انجام شد، مشخص گردید که در بسیاری از موارد، بین میزان فنول و بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی وجود ندارد. در دلیل این امر بیان شده که احتمالاً عوامل دیگری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش دارند (Sengul et al., 2009; Velioglu et al., 1998). تحقیقات

نشان داده‌اند که گانودرما دارای ترکیبات فنولی، تری‌ترپنوئیدی و پلی‌ساکاریدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است. علاوه بر ترکیبات زیست‌فعال، عناصر غذایی موجود در گانودرما، پتانسیل آن را برای استفاده در تولید مکمل‌های غذایی از جمله قرص‌ها و کپسول‌ها نشان می‌دهد.

آنتی‌اکسیدانی آن‌هاست. میزان سمیت تری‌ترپن‌های این قارچ در موش Swiss albino مورد سنجش واقع شده است و نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که این تری‌ترپن‌ها سمیتی از خود نشان نمی‌دهند. بنابراین، این یافته‌ها نشان‌دهنده پتانسیل کاربرد غذایی-درمانی تری‌ترپن‌های گانودرما است (Smina et al., 2011).

نتیجه‌گیری

با توجه به کاربردهای درمانی گسترده این قارچ و پیشرفت‌های چشمگیر در درمان بیماری‌ها، محققان نه‌تنها در کشورهای آسیایی بلکه در سایر نقاط جهان، تحقیقات وسیعی را جهت جداسازی و شناسایی ترکیبات مؤثر و پی بردن به سازوکار عمل مواد مؤثره ترکیبات آغاز نموده‌اند. آزمایش‌های درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای

سپاسگزاری

بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از سرکار خانم دکتر سیده فائزه تقی زاده به‌دلیل همکاری و مساعدت ارزشمند ایشان در هماهنگی و فراهم‌سازی امکان انجام آنالیز عناصر و ترکیبات بیوشیمیایی این پژوهش اعلام می‌داریم.

References

1. Abdullah, N., Ismail, S. M., Aminudin, N., Shuib, A. S., & Lau, B. F. (2012). Evaluation of selected culinary-medicinal mushrooms for antioxidant and ACE inhibitory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(1), 464238. <https://doi.org/10.1155/2012/464238>
2. Agustin - Salazar, S., Medina - Juárez, L. A., Soto - Valdez, H., Manzanares - López, F., & Gámez - Meza, N. (2014). Influence of the solvent system on the composition of phenolic substances and antioxidant capacity of extracts of grape (*Vitis vinifera* L.) marc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(2), 208-213. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12063>
3. Balakrishnan, N., Panda, A. B., Raj, N. R., Shrivastava, A., & Prathani, R. (2009). The evaluation of nitric oxide scavenging activity of *Acalypha indica* Linn root. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2(2), 148-150.
4. Beyer-Jr, W. F., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161(2), 559-566. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1)
5. Bishop, K. S., Kao, C. H., Xu, Y., Glucina, M. P., Paterson, R. R. M., & Ferguson, L. R. (2015). From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, 114, 56-65. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.02.015>
6. Čilerdžić, J., Vukojević, J., Stajić, M., Stanojković, T., & Glamočlija, J. (2014). Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.036>
7. Collins, A. R. (2005). Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *European Journal of Cancer*, 41(13): 1923-1930. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.06.004>
8. Dong, Q., He, D., Ni, X., Zhou, H., & Yang, H. (2019). Comparative study on phenolic compounds, triterpenoids, and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* affected by different drying methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 3198-3205. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00242-0>
9. El Sheikha, A. F. (2022). Nutritional profile and health benefits of *Ganoderma lucidum* "Lingzhi, Reishi, or Mannentake" as functional foods: Current scenario and future perspectives. *Foods*, 11(7), 10-30. <https://doi.org/10.3390/foods11071030>
10. Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., & Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100(4), 1511-1516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043>
11. Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371-382. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00098-0](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00098-0)
12. Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147-1150. <https://doi.org/10.1042/bst0351147>
13. Hattori, M. (2001). Recent studies on the bitter principles of *Ganoderma lucidum* isolation of novel triterpenes, their biological activity and pharmacokinetics. In Proceedings of the International Symposium Ganoderma Sciences. April 2001.

14. Heleno, S. A., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2012). Fruiting body, spores and in vitro produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Research International*, 46(1), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.009>
15. Hogan, S., Chung, H., Zhang L., Li, J., Lee, Y., Dai, Y., & Zhou, K. (2010). Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chemistry*, 118(2), 208-214. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.099>
16. Karaman, M., Jovin, E., Malbaša, R., Matavuly, M., & Popović, M. (2010). Medicinal and edible lignicolous fungi as natural sources of antioxidative and antibacterial agents. *Phytotherapy Research*, 24(10), 1473-1481. <https://doi.org/10.1002/ptr.2969>
17. Kaur, S., & Mondal, P. (2014). Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 1(1), 00005. <https://doi.org/10.15406/jmen.2014.01.00005>
18. Kim, M. Y., Seguin, P., Ahn, J. K., Kim, J. J., Chun, S. C., Kim, E. H., Seo, S. H., Kang, E. Y., Kim, S. L., Park, Y. J., & Ro, H. M. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7265-7270. <https://doi.org/10.1021/jf8008553>
19. Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvic, M. M., Todorović, N., Jakovljević, D., & Van Griensven, L. J. (2012). Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1-2), 144-153. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.02.004>
20. Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Jakovljevic, D., Helsper, J. P., & Van Griensven, L. J. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry*, 129(4), 1667-1675. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.029>
21. Li, J., Zhang, J., Chen, H., Chen, X., Lan, J., & Liu, C. (2013). Complete mitochondrial genome of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Plos One*, 8(8), e72038. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072038>
22. Li, Y. B., Liu, R. M., & Zhong, J. J. (2013). A new ganoderic acid from *Ganoderma lucidum* mycelia and its stability. *Fitoterapia*, 84, 115-122. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.11.008>
23. Lin, S. B., Li, C. H., Lee, S. S., & Kan, L. S. (2003). Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sciences*, 72(21), 2381-2390. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(03\)00124-3](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(03)00124-3)
24. Lo, K. M., & Cheung, P. C. (2005). Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. *alba*. *Food Chemistry*, 89(4), 533-539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.006>
25. Maqsood, S., & Benjakul, S. (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on *in vitro* antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, 119(1), 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.004>
26. Mohsin, M., Negi, P. S., & Ahmed, Z. (2011). Determination of the antioxidant activity and polyphenol contents of wild Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (W. Curt. Fr.) P. Karst.(higher Basidiomycetes) from central Himalayan hills of India. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 13(6), 535-544. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v13.i6.50>
27. Oludemi, T., Barros, L., Prieto, M. A., Heleno, S. A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2018). Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response surface methodology. *Food & Function* 9(1), 209-226. <https://doi.org/10.1039/c7fo01601h>
28. Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396-3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>
29. Qin, N. B., Jia, C. C., Xu, J., Li, D. H., Xu, F. X., Bai, J., Li, Z. L., & Hua, H. M. (2017). New amides from seeds of *Silybum marianum* with potential antioxidant and antidiabetic activities. *Fitoterapia*, 119, 83-89. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.04.008>
30. Rawat, A., Mohsin, M., & Singh, S. (2011). Evaluation of polyphenolic contents and antioxidant activity of wildlly collected *Ganoderma lucidum* from central Himalayan hills of India. *Asian Journal of Plant Science & Research*, 3, 85-90.
31. Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Buffalini, M., Vallorani, L., Casadei, L., Zambonelli, A., Iotti, M., Badalyan, S., & Stocchi, V. (2015). Biochemical characterization and antioxidant and antiproliferative activities of different *Ganoderma* collections. *Microbial Physiology*, 25(1), 16-25. <https://doi.org/10.1159/000369212>

32. Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 102-106.
33. Sheikh, I. A., Vyas, D., Ganaie, M. A., Dehariya, K., & Singh, V. (2014). HPLC determination of phenolics and free radical scavenging activity of ethanolic extracts of two polypore mushrooms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 679-684.
34. Singh, P. P., Chandra, A., Mahdi, F., Roy, A., & Sharma, P. (2010). Reconvene and reconnect the antioxidant hypothesis in human health and disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25(3), 225-243. <https://doi.org/10.1007/s12291-010-0078-y>
35. Smina, T. P., Mathew, J., Janardhanan, K. K., & Devasagayam, T. P. A. (2011). Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst occurring in South India. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(3), 438-446. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.08.011>
36. Soković, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., Petrović, J., & Stojković, D. (2018). Mushrooms as sources of therapeutic foods. *Therapeutic Foods*, 141-178. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811517-6.00005-2>
37. Stamets, P. (2011). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Berkley, CA, USA: Ten Speed Press, 614 pp.
38. Stojković, D. S., Barros, L., Calhelha, R. C., Glamočlija, J., Ćirić, A., Van Griensven L. J., Soković, M., & Ferreira, I. C. (2014). A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1), 42-47. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.832173>
39. Taofiq, O., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Barros, L., González-Paramás, A. M., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2017). The potential of *Ganoderma lucidum* extracts as bioactive ingredients in topical formulations, beyond its nutritional benefits. *Food and Chemical Toxicology*, 108, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.051>
40. Terpin, P., Polak, T., Šegatin, N., Hanzlowsky, A., Ulrih, N. P., & Abramović, H. (2011). Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. *Food Chemistry*, 128(1), 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.077>
41. Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>
42. Wachtel-Galor, S., Yuen, J., Buswell, J. A., & Benzie, I. F. (2011). *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): A Medicinal Mushroom. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. 2nd edition. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis, pp. 175-199.
43. Zhang, N., Chen, H., Zhang, Y., Xing, L., Li, S., Wang, X., & Sun, Z. (2015). Chemical composition and antioxidant properties of five edible Hymenomycetes mushrooms. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 465-471. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12642>
44. Zhou, X., Li, Q., Zhao, J., Tang, K., Lin, J., & Yin, Y. (2007). Comparison of rapid DNA extraction methods applied to PCR identification of medicinal mushroom *Ganoderma* spp. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 37(4), 369-380. <https://doi.org/10.1080/10826060701593282>