بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره آبی قارچ *Ganoderma lucidum* Karst. (Basidiomycota) از ایران

سمیه کی‌پور سنگسری[1]*، حسین ریاحی[2]، حسن رفعتی[3]، محمد فتی مراد علی[4]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه سیستماتیک گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۲- استاد، گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۳- استادیار، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
٤- کارشناس ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، بخش بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
*آدرس مکاتبه: تهران، اوین، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده زیست‌شناسی، کدپستی: ٦٣١١٣ - ١٩٨٣٩
تلفن: ٢٢٤٣١٦٦٤ (٠٢١)، نمابر: ٢٢٤٣١٦٦٤ (٠٢١)
پست الکترونیک: skeypour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۲ تاریخ تصویب: ۸۸/٤/۲٤

چکیده

مقدمه: گونه *Ganoderma lucidum* متعلق به خانواده Ganodermataceae یکی از قارچ‌های دارویی شناخته شده است، که دارای خواص دارویی مختلفی چون: کاهش فشار و قند خون، تقویت سیستم ایمنی، خاصیت ضدویروسی و ضدباکتریایی می‌باشد.

هدف: با توجه به خواص دارویی متعدد نسبت داده شده به این قارچ و کمبود تحقیقات پیرامون *Ganoderma lucidum* ایرانی این مطالعه انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه خواص آنتی‌باکتریال عصاره آبی *Ganoderma lucidum* با چهار غلظت (۵۰۰،۲۵۰،۱۲۵،۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) علیه سه گونه باکتری استاندارد گرم مثبت *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Entrococcus feacalis* و دو گونه باکتری استاندارد گرم منفی *Pseudomonas aeroginosa* و *Escherichia coli* به روش Disk diffusion مورد بررسی قرار گرفت. پلی ساکاریدهای تام[1] موجود در عصاره آبی با روش فنول سولفوریک اسید اندازه‌گیری شد و جهت تعیین و شناسایی کیفی قندهای موجود در عصاره آبی از گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی[2] استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که این عصاره دارای خواص ضدباکتریایی بر علیه باکتری گرم منفی *Pseudomonas aeroginosa* در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد. میزان پلی ساکارید تام در عصاره آبی ۳۷/۷۵۱ mg/g تعیین شد و مونوساکاریدهای موجود در عصاره شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، این گونه به میزان قابل توجهی پلی ساکارید در ساختمان سلولی خود دارد که از آن می توان جهت مصارف دارویی منسوب به پلی ساکارید بهره جست، ولی جهت مصارف ضدباکتریایی به علت خاصیت ضعیف مهار رشد باکتری توصیه نمی‌شود.

گل‌واژگان: *Ganoderma lucidum* ، خاصیت ضدباکتریایی، فنول سولفوریک اسید، پلی ساکاریدهای تام

[1] Total polysaccharide [2] GC/MS

www.SID.ir

مقدمه

قارچ‌های ماکرومیست، منابعی سرشار از ترکیبات با فعالیت‌های بیولوژیکی هستند که طی چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. از جمله این قارچ‌ها می‌توان به گونه‌های جنس *Ganoderma* اشاره کرد که گونه *G. lucidum* به جهت دارا بودن خواص دارویی مختلف و از آن جمله کاهش فشار و قند خون، تقویت سیستم ایمنی، خاصیت ضدویروسی و ضدباکتریایی، از شاخص‌ترین آنها به شمار می‌آید. این قارچ دارای مشخصات زیر است: رنگ کارپوفور از قرمز روشن با حاشیه زرد و سفید تا قرمز تیره مایل به سیاه، در اوایل رشد، لبه کارپوفور سفید یا مایل به زرد، کارپوفور براق، کلیوی شکل با پایه یا فاقد آن، مطبق یا غیرمطبق است. پایه‌ها اکثراً جانبی و گاهی مرکزی، پایه به ابعاد ۲۷×۳ سانتی‌متر و اندازه کارپوفور ۲۰×۱٤×۱/۵ سانتی‌متر می‌باشد. بافت زمینه[1] به رنگ قهوه‌ای روشن و در بازیدیوکارپ خشک به رنگ زرد مایل به رنگ قهوه‌ای روشن دارای ضخامتی برابر ۰/۵ سانتی‌متر است. بازیدیوسپورها قهوه‌ای با دیواره سلولی دوتایی، تخم‌مرغی تا بیضوی، دیواره داخلی به رنگ قهوه‌ای و خاردار و دیواره خارجی شفاف، دیواره خارجی در نوک اسپور پخ[2] یا گرد و برآمده، اندازه اسپورها (۸/٦) ۹/٦ – ٦/۷ × (۱۲/٤) ۱۳/٤ – ۱۰/۵ میکرومتر می‌باشد [۱].

این گونه در ایران از مناطق جنگلی چون تنکابن، گیلان، گرگان، جنگل‌های مازندران، رامسر و به صورت پارازیت گیاهانی چون شمشاد جنگلی[3]، ممرز[4]، خرمالو (خرمندی)[5]، کلهو[6]، انجیلی[7]، بلوط[8]، نارون[9] گزارش شده است [۲].

از مهم‌ترین مواد فعال بیولوژیک موجود در *G. lucidum* می‌توان به تری‌ترپنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، نوکلئوتیدها، استرول‌ها، استروئیدها، پروتئین‌ها اشاره کرد [۳]. در این میان پلی ساکاریدها به دلیل دارا بودن خواص متعدد درمانی بیشترین توجه را به خود معطوف داشته‌اند.

تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع پلی ساکارید از *G. lucidum* جدا شده است [٤]. پلی ساکارید موجود در *G. lucidum* و سایر قارچ‌ها باعث تقویت سیستم ایمنی شده، ضمن این‌که خواصی چون، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدویروسی، محافظت‌کنندگی در برابر اشعه را دارا هستند. پلی‌ساکاریدهای کیتین و کیتوزان که در دیواره سلولی تمامی قارچ‌ها یافت می‌شوند دارای خواص دارویی هستند به طوری که در تنظیم عمل کبد، روده و کلیه سهم بسزایی دارند [۵]. مطالعات انجام شده بر روی پلی ساکاریدها نشان داده است که برخی از β-D-glucan های ایزوله شده از قارچ‌ها به صورت مارپیچ سه بعدی راست گرد وجود دارند و دارای فعالیت بیولوژیکی هستند. فعالیت بیولوژیکی این مارپیچ بسته به گروه‌های هیدروفوبی متصل به آن متفاوت می‌باشد، به عنوان مثال هر میزان آبدوستی مارپیچ بیشتر باشد (گروه هیدروفوبی کمتر داشته باشند)، خواص آنتی‌توموری آنها نیز بیشتر می‌شود [٤]. علاوه بر موارد ذکر شده، میزان پلی ساکاریدهای کل موجود در قارچ *G. lucidum* جهت سنجش کیفیت محصول تولید شده مورد استفاده قرار می‌گیرند [٦].

در این تحقیق با توجه به اهمیت این قارچ به لحاظ دارویی و مطالعات انجام شده بر روی سوش‌های چینی [۷] و کره‌ای [۸]، درصدد بر آمدیم تا به مطالعه خواص ضدباکتریایی عصاره آبی قارچ *G. lucidum* جمع‌آوری شده از ایران پرداخته و میزان پلی ساکاریدهای کل را بررسی کرده و به شناسایی قندهای موجود در عصاره آبی با استفاده از تکنیک GC/MS بپردازیم.

مواد و روش‌ها

قارچ‌های موردنظر در تیرماه ۱۳۸٦ از جنگل‌های منطقه سواد کوه (شیردره)، از اطراف درختان ممرز جمع‌آوری و جهت شناسایی به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی انتقال یافت. نمونه‌های جمع‌آوری شده با کلید Iranian

---

[1] Context [2] Truncate
[3] *Buxus hyrcanapojark* (Buxaceae)
[4] *Arpinus betalus* L. (Corylaceae)
[5] *Diospyros* sp (Ebenaceae)
[6] *D. lotus* L. (Ebenacea)
[7] *Parrotia* sp. (Hamamelidaceae)
[8] *Q. castaneaefolia*, *Quercus* sp. (Fagaceae)
[9] *Ulmus* sp. (Ulmaceae)

Archive of SID
www.SID.ir

Ganoderma species شناسایی شدند [۱]. سپس قارچ‌ها در سایه و در دمای محیط خشک شده و با آسیاب به صورت پودر در آمدند. به ۱۰ گرم از پودر قارچ ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. سپس عصاره حاصل صاف و عصاره تا مرحله پودر شدن خشک شد [۹].

بررسی اثرات ضدباکتریایی

فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی *G. lucidum* بر روی ۲ باکتری استاندارد گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 85327، *Escherichia coli* ATCC 25922 و ۳ باکتری استاندارد گرم مثبت *Bacillus subtilis* ATCC 465، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Enterococcus feacalis* ATCC 29737 مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌های موردنظر از بخش میکروبیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شدند. بدین‌منظور از کشت ۲٤ ساعته باکتری‌ها در محیط نوترینت آگار، سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند تهیه شد. ۱ میلی‌لیتر از هر کدام از سوسپانسیون باکتری‌ها برداشته شد و به محیط کشت جامد مولر هینتون آگار انتقال داده و به صورت یکنواخت در محیط کشت پخش شدند. دیسک‌های بلانک استریل با قطر ٦ میلی‌متر به ۲۰ میکرولیتر از عصاره آبی آغشته شدند. به عنوان شاهد، دیسک‌های بلانک به ۲۰ میکرولیتر (آب) آغشته شد. دیسک‌های جنتامایسین، اریترومایسین، کلرامفنیکل به ترتیب برای باکتری‌های گرم منفی، باکتری‌های گرم مثبت و هر دو گروه از باکتری‌ها جهت کنترل و مقایسه فعالیت باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفت. پلیت‌های دیسک‌گذاری شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و پس از ۲٤ – ۱۸ ساعت قطر هاله ممانعت از رشد اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها ۳ مرتبه تکرار شدند و نتایج با آزمون ANOVA بررسی و معنی‌دار بودن آنها در سطح ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان پلی‌ساکاریدهای تام

برای اندازه‌گیری پلی ساکاریدهای تام از روش فنول سولفوریک اسید [۱۰] استفاده شد. در این آزمایش از غلظت‌های ۱۰۰ – ۱۰ میکروگرم بر لیتر گلوکز به عنوان استاندارد استفاده شد. عصاره آبی *G. lucidum* به روش جوشاندن استخراج شد، به یک میلی‌لیتر از آن، ۱ میلی‌لیتر از محلول فنول ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر از اسید سولفوریک غلیظ (۹۵ – ۹۸ درصد) اضافه شد. در نهایت جذب آن در در طول موج ٤۷۰ نانومتر توسط دستگاه spectrophotometer UV-Visible مدل Shimadzu UV-1601pc خوانده و غلظت نمونه مجهول تعیین شد (سه تکرار).

شناسایی ترکیبهای قندی تشکیل دهنده عصاره

۵ میلی‌گرم از پودر به دست آمده از عصاره آبی، توسط ۱/۲۵ میلی‌لیتر تری فلورواستیک اسید ۲ مولار، به مدت یک ساعت در حمام روغن ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز شد و حلال توسط روتاری جدا شد. جهت شناسایی ترکیب‌های قندی تشکیل‌دهنده عصاره از روش ارایه شده توسط استِونسُن[1] و فورنایوکس[2] ۱۹۹۰ استفاده شد [۱۱] و در نهایت قندهای هیدرولیز شده با استیک انیدرید استیله شد. ماده به دست آمده در استون حل شد. جهت آنالیز پلی ساکاریدهای قارچ *G. lucidum* از دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی شرکت Thermoquest-Finnigan مدل Trace مجهز به ستون DB به طول ٦۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون در مرحله ابتدایی ٦۰ درجه سانتی‌گراد بود که ۵ دقیقه در این دما نگاه داشته شد. پس از آن با سرعت ۱۰ درجه بر دقیقه به دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد رسیده ۱۰ دقیقه در آن دما می‌ماند. سپس دما به ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسد و ۱۰ دقیقه در این دما ثابت نگاه داشته می‌شود. در این آزمایش از گاز حامل هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. از نرم‌افزار Wiley version 7.0 و NIST version 1.7 جهت شناسایی طیف‌های جرمی قندها استفاده شد.

[1] Stevenson

[2] Furneaux

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج

بررسی اثرات ضد باکتریایی

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضدباکتریایی را در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱ – متوسط قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد استفاده

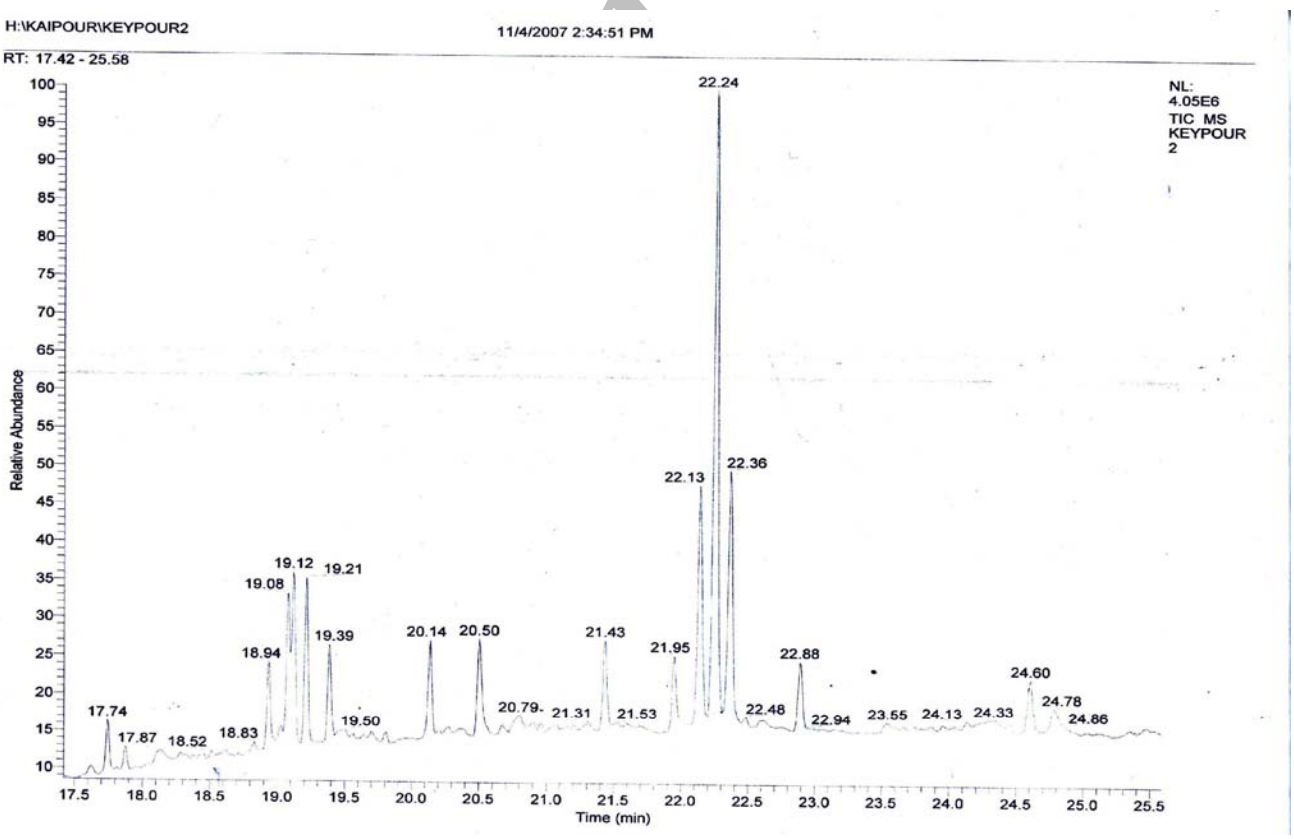
		متوسط قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)						
نوع باکتری	باکتری	۵۰	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	C	E	G
گرم منفی	*P. aeroginosa*	–	–	–	۱۲/۰۰±۰/۰	۱۲/۳۳±۰/۵۷	–	۲۳/۰۰±۱/۷۳
	E. coli	–	–	–	–	۲۷/٦٦±۰/۵۷	–	۲۳/٦٦±۱/۵۷
گرم مثبت	*S. aureus*	–	–	–	–	۲۳/۰۰±۱/۷۳	۲۳/۰۰±۰/۰	–
	E. feacalis	–	–	–	–	۲۲/۰۰±۰/۰	۱۲/٤۰±۱/۱۵	–
	B. subtilis	–	–	–	–	۱۸/۳۳±۰/۵۷	۱۳/٦٦±۱/۵۱	–

- = بدون هاله عدم رشد.

- غلظت عصاره بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و غلظت Gentamycine (G)، Erythromycine (E)، Chloramphenicol (C) به ترتیب ۳۰،۱۵،۱۰ µg/disk می‌با شد.

شناسایی قندها با دستگاه GC/MS

قندهای استیله شده، به وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی کوپل شده با طیف‌سنج جرمی شناسایی شدند (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱– کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز قندهای استیله شده توسط طیف‌سنج جرمی

www.SID.ir

در جدول شماره ۲ زمان بازداری و نام قندهای تشکیل‌دهنده عصاره آبی آورده شده است.

جدول شماره ۲- زمان بازداری (Ri) و نام قندهای تشکیل‌دهنده عصاره آبی

نام	زمان بازداری
1, 2, 3, 4, 5 - penta-O-acetyl-Xylitol	۱۹/۰۷
1, 2, 3, 4, 5 - penta-O-acetyl-6-deoxy-L-mannitol	۱۹/۱۳
Iditol, hexa-O-acetyl	۱۹/۳۷
Myo-inositol, hexaacetate	۲۱/۹۵
Sorbitol hexaacetate	۲۲/۱۲
D-Glucitol, hexaacetate	۲۲/۲۳
Galactitol, hexaacetate	۲۲/۳٤

اندازه‌گیری میزان پلی ساکاریدهای تام

میزان پلی ساکاریدهای تام بررسی شده با روش فنول سولفوریک اسید در عصاره آبی $g\ mg^{-1}$ ۱/۱۱± ۳۷/۷۵۱ (به ازای ۱ گرم از پودر خشک قارچ) تعیین شد.

بحث

جنس *Ganoderma* دارای مواد موثره گوناگون با فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع می‌باشد. از مهم‌ترین این مواد می‌توان به پلی ساکاریدها، تری ترپن‌ها، پروتیئن‌ها و نوکلئوتیدها اشاره کرد. پلی‌ساکاریدها به علت دارا بودن ساختارهای گوناگونی چون ساختار خطی، انواع ساختارهای مارپیچ تک بعدی، دو بعدی، سه بعدی با وزن مولکولی مختلف و تفاوت در محلولیت در آب دارای خواص بیولوژیکی و دارویی متعددی هستند [٤]. در گذشته گیاهان دارویی حاوی پلی ساکارید، به صورت سنتی در سراسر جهان برای درمان انواع بیماری‌ها مانند تورم، درمان زخم‌ها، بیماری‌های کبدی، زخم معده مورد استفاده قرار می‌گرفتند. آزمایش‌ها نشان داده است که پلی ساکاریدهای گنودرما لوسیدم (GPS)، دارای خواصی چون خواص ضدتوموری، خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدویروسی می‌باشد [۵،۱۲]، اما مکانیسم مربوط به عمل آنها تاکنون به خوبی شناخته نشده است [۱۲]. در این پژوهش خواص ضدباکتریایی عصاره آبی قارچ *G. lucidum* مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت قندهای موجود در عصاره آبی شناسایی شدند. مطالعات نشان داد که عصاره آبی این گونه تنها بر ضدباکتری *Pseudomonas aeroginosa* دارای اثر ضد باکتریایی می‌باشد. آنالیزهای آماری در سطح ۵ درصد نشان داد که هاله عدم رشد تشکیل شده در غلظت $mg\ ml^{-1}$ ۵۰۰ با سایر غلظت‌های تهیه شده و با آنتی‌بیوتیک‌های شاهد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد. در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹٤ توسط یون[1] و همکاران [۸]، بر روی اثر ضدباکتریایی عصاره آبی قارچ *Ganoderma lucidum* انجام گرفت نشان داده شد که این عصاره توانایی بازدارندگی از رشد ۱۵ باکتری گرم مثبت و گرم منفی را دارا است. یون و همکاران همچنین نشان دادند که توانایی بازدارندگی از رشد آنتی‌بیوتیک‌های دیگر در ترکیب با عصاره آبی بسیار بهتر از زمانی است که آنتی‌بیوتیک‌ها به تنهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات فیتوشیمیایی محققین بر عصاره آبی سوش‌های مختلف مشخص نموده است که بیشترین ترکیبات موجود در عصاره آبی تهیه شده از *G. lucidum*، پلی ساکاریدها و به میزان بسیار کمتر آمینواسیدها می‌باشند [۷]. مونوساکاریدهای موجود در *G. lucidum* عبارت‌اند از: گلوکز، گالاکتوز، مانوز، زایلوز [۱۳]. شناسایی قندها با دستگاه GC/MS نشان داد که

[1] Yoon

Archive of SID
www.SID.ir

G. lucidum جمع‌آوری شده از ایران علاوه بر مونوساکاریدهای فوق‌الذکر دارای قندهایی چون سوربیتول، اینوزیتول، آیدیتول نیز می‌باشد. تفاوت نتایج به دست آمده در این بررسی ممکن است بر اثر تفاوت شرایط اکولوژیکی بین سوش بومی ایران و سوش‌های بررسی شده توسط دیگر محققین بوده باشد. همچنین اندازه‌گیری میزان کل پلی ساکاریدها نشان داد که این گونه به میزان قابل توجهی پلی‌ساکارید در ساختمان سلولی خود دارد که می‌توان از آن جهت مصارف دارویی بهره جست. بررسی خواص درمانی مختلف *G. lucidum* ایرانی، شامل: کاهش کلسترول و قند خون، تقویت سیستم ایمنی و کاهش فشارخون، بررسی اثرات ضدقارچی و ضدویروسی *G. lucidum* از جمله کارهایی است که می‌تواند در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می‌دانیم از سرکار خانم دکتر افتخار (دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه شهید بهشتی)، که ما را از راهنمایی‌های ارزنده خویش بهره‌مند ساختند و باکتری‌های مورد استفاده را در اختیار ما قرار دادندۀ کمال سپاسگزاری را داشته باشیم.

منابع

1. Moradali MF, Hedjaroude GA, Mostafavi H, Abbasi M, Ghods SH and Sharifi-Tehrani A. The genus Ganoderma (Basidiomycota) in Iran. *Mycotaxon.* 2007; 99: 251 - 69.

2. Ershad J. fungi of Iran. 2nd ed. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran. Iran. 1995, pp: 874 – 5.

3. Gao Y, Zhou Sh, Chen G, Dai X and Ye J. A phase I/II study of *Ganoderma Lucidum* (Curt.: Fr.) P. karst. Extract (ganopoly) in patients with advanced cancer. *Int. J. Med. Mushr.*2002; 4: 207 - 14.

4. Moradali MF, Mostafavi H, Ghods SH and Hedjaroude GA. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). *Int. J. Immunopharmacol.* 2007; 7: 701 - 24.

5. Badalyan SM, Gharibyan NG and Kocharyan AE. Perspective in usage of bioactive substances of medicinal mushrooms in Pharmaceutical and cosmetic industy. *Int. J. Med. Mushr.* 2007; 9: 275 - 6.

6. Yang X, Chen Ch, Mi K and Yang Q. The potential use of limulus G test assay for evaluation of immunomodalatory activity of *Ganoderma* Polysaccarides. *Int. J. Med. Mushr.* 2007; 9: 219 - 20.

7. Li XL, Zhou AG and Li XM. Inhibition of *Lycium barbarum* polysaccharides and *Ganoderma Lucidum* polysaccharides against oxidative injury induced by 8. Irradiation in rat liver mitochondria. *Carbohydr. Polym.* 2007; 69: 172 - 8.

8. Yoon SY, Eo SK, Kim YS, Lee CHK and Han SS. Antimicrobial activity of Ganoderma lucidum extract alone and in combination with some antibiotics. *Arch. Pharm. Res.* 1994; 17: 438 - 42.

9. Roberts LM. Australian *Ganoderma:* Identification, Growth and antibacterial properties. Ph.D. thesis. Environment and Biotechnology Centre, School of Engineering and Science, Swinburne University of Technology. 2004, pp: 271 – 2.

10. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA and Smith F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem*. 1956; 28: 350 – 6.

11. Stevenson THT and Furneaux RH. Chemical methods for the analysis of sulphated galactans from red algae. *Carbohydr. Res.* 1990; 210: 277 - 98.

Archive of SID

www.SID.ir

12. Kim HS, Kacew S and Lee BM. In vitro chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis Miller, Lentinus edodes, Gnaoderma Lucidum and coriolus versicolor). Carcinogenesis.* 1999; 20: 1637 - 40.

13. Lai LSh and Yang DH. Rheological properties of hot-water extracted polysaccharides in Lingzhi (*Ganoderma Lucidum*). *Food Hydrocolloids.* 2007; 21: 739 - 46.

Archive of SID

www.SID.ir