

靈芝固態發酵產物之多醣和抗氧化活性分析

陳淑德¹ 陳保基² 陳達煒³ 林育安⁴ 鄭永祥^{3*}

1. 國立宜蘭大學食品科學系
2. 國立台灣大學動物科學技術學系
3. 國立宜蘭大學生物技術研究所
4. 國立宜蘭大學動物科技學系

摘要

靈芝為中國傳統的藥用真菌，其中以多醣體為靈芝中最具有藥療活性之物質，其具有降血糖、消炎和抗腫瘤作用。本研究為先利用小麥和大豆穀類基質、培養天數及水分含量等因素，進行靈芝固態發酵。以酚硫法分析靈芝固態發酵產物的多醣含量；再將小麥和大豆基質之固態發酵產物進行抗氧化分析，結果顯示，以小麥基質之固態發酵產物，水分和基質的比例控制在 0.6:1，發酵一星期具有較高濃度的多醣。靈芝固態發酵以小麥和大豆作為培養基，結果顯示大豆培養基的靈芝固態發酵產物具有較佳的抗氧化特性，包括清除 DPPH 自由基能力、螯合亞鐵離子能力和還原力。

關鍵詞：靈芝，固態發酵，多醣，抗氧化

Analyses of polysaccharide and antioxidant activities from *Ganoderma lucidum* solid-state fermentative products

Su-Der Chen¹ Bao-Ji Chen² Da-Wei Chen³ Yu-An Lin⁴
Yeong-Hsiang Cheng^{3*}

1. Department of Food Science National Ilan University, Taiwan
2. Department of Animal Science and Technology National Taiwan University, Taiwan
3. Institute of Biotechnology National Ilan University, Taiwan
4. Department of Animal Science National Ilan University, Taiwan

Abstract

Ganoderma lucidum is the Chinese traditional medicinal mushroom-like fungus. The polysaccharide is one of valuable and bioactive *Ganoderma lucidum* metabolites, and it has hypoglycemic activity, reducing inflammation and anti-tumor activity. The *Ganoderma lucidum* solid-state fermentation operated at different media (wheat or soybean), the ratio of water to medium, and fermentation were studied. The polysaccharide contents in fermentative products were analyzed by phenol-sulfuric acid method. The abilities of scavenging DPPH free radicals, reducing power, and chelating effect of ferrous ion were evaluated as the antioxidant activities of the hot water extracts from *Ganoderma lucidum* solid-state fermentative products. The results showed that the one week wheat fermentative products had higher polysaccharide content and the

soybean fermentative products had better antioxidant activities.

Key words: *Ganoderma lucidum*, solid-state fermentation, polysaccharide, antioxidant activities

*Corresponding author E-mail: yhcheng@niu.edu.tw

前言

靈芝(*Ganoderma lucidum*)是一種珍貴的菇類，亦是中國人自古以來極為推崇的藥用真菌之一，且在中國傳統醫學上的扮演重要的角色。靈芝生理活性成分，會因菌種、培養條件和方式不同，造成成份改變。初步定性研究證明，靈芝子實體中含有多醣類、胺基酸、蛋白質、固醇類、三萜類、酚類、揮發油、樹脂、油脂及少數無機離子等(王等，1994)。

靈芝多醣體是由菌絲體或子實體，經由熱水和醇類萃取所得之粗多醣，它是以葡萄糖為主的水溶性雜多醣，大多含有阿拉伯糖、木糖、半乳糖、岩藻糖及甘露糖等其他單糖(林，1996)。許多研究顯示靈芝多醣的抗腫瘤效果，主要是以 β -1,3為骨架， β -1,6為側鏈之葡聚醣(glucan)聚合物為主，它們無法被消化道內酵素分解，且其可能與某些免疫蛋白結合，進而活化免疫系統，故靈芝多醣之生理活性主要為抗腫瘤、增強免疫力、降血糖、降血壓等，活性的強度與其分子量、分支度、對水溶解性及週遭蛋白質皆有複雜且巧妙之關係(許，2005)。在萃取靈芝多醣時，採用熱水萃取靈芝胞內多醣，其熱水的溫度控制在80℃，萃取時間為60分鐘，加水倍量為30倍的菌絲量，且萃取次數以兩次為最宜(臧等，2004)。

先將菌種純化分離，接種至試管斜面培養，再以三角瓶作震盪培養，最後將活化的菌接種至發酵槽作液態培養或固態培養(謝，2000)。在靈芝發酵條件中需考慮物理、化學因子影響，一般常見的有通氣量、攪拌速率、溫度、pH值、裝液量等因素。液態發酵中，溫度在28~33℃的範圍最適合菌絲體生長，pH值在4~4.5，通氣量為5vvm，轉速150rpm，利於多醣生成(Yang & Hwang, 1998)。而固態發酵中培養基成分的碳源、氮源、無機鹽類與其他營養源添加物為其主要考慮因素；將豆渣和木屑混合以適當比例，調配不同的碳氮比，當作培養基進行固態發酵，可使靈芝菌絲體生長良好。添加1%磷酸鉍，提供氮源更能夠當作緩衝空間，添加1%碳酸鈣，可以穩定pH值，皆具有使菌絲體生長增加的特性。固態發酵以30℃，含水量為66%~75%，pH都維持在5~6之間，菌絲生長的速度最快(Hsieh & Yang, 2004；Yang *et al.*, 2003)。由於固態發酵之操作較簡單，且下游的乾燥工程較液態發酵的節省能源，故本研究採用靈芝固態發酵。

萃取菇蕈類中抗氧化物質，可防止油脂氧化。目前普遍利用不同之抗氧化活性、還原力、清除DPPH自由基能力、清除氫氧自由基能力和鐵離子螯合能力等分析方法，來評估常見菇蕈類的抗氧化能力(Mau *et al.*,

2005a)。Mau等(2005b)分別以甲醇和熱水萃取成熟靈芝子實體、幼小靈芝菌絲體和發酵濾液，並分析其抗氧化能力。成熟靈芝子實體、幼小靈芝及濾液熱水萃取物之還原力較甲醇之還原力佳，菌絲體則以甲醇萃取物較佳；熱水萃取物之清除DPPH能力較甲醇萃取物佳；成熟靈芝子實體和幼小靈芝熱水萃取物的螯合亞鐵離子之能力隨著濃度增高而緩慢上升，但菌絲體及發酵濾液熱水萃取物之螯合亞鐵離子能力極差。

靈芝中抗氧化物質的研究，包括Mau等(2002)分析靈芝萃取物中含具抗氧化性的多醣類物質；而靈芝中水溶性含硫蛋白質具有很強的清除自由基的能力(杜等，2006)；靈芝中分離出來的三萜類亦具抗氧化性質(Zhu *et al.*, 1999)；靈芝多醣肽可減少自由基對巨噬細胞的損傷(You & Lin, 2003)或靈芝多醣肽可降低血清中丙二醛(MDA)和麩胱甘肽過氧化物酶升高(游和林，2002)及靈芝多醣可以提高阿茲海默病大鼠海馬組織超氧化物歧化酶(SOD)的活性和降低丙二醛含量，明顯改善模型大鼠腦組織海馬區神經元的退化退行性變化(郭等，2006)。本研究探討小麥、大豆培養基質對靈芝固態發酵生產多醣之影響，並利用熱水萃取靈芝固態發酵產物，分析其抗氧化活性。

材料與方法

一、靈芝菌種培養

使用菌株為生物資源保存及研究中心 *Ganoderma lucidum* BCRC36123(食品工業發展研究所，新竹)，使用PDA(Potato Dextrose Agar)平板培養基，此為一般真菌常用培養基，先接種 *Ganoderma lucidum* BCRC36123 菌於28℃下PDA平板培養基中培養，約一星期即可長滿整個平板。

二、靈芝固態發酵培養

將平板培養之靈芝菌種刮落，放入已滅菌之PDB(Potato Dextrose Broth)培養液，用具有檔板的錐形瓶在轉速150 rpm，溫度30℃進行5天的搖瓶培養，使菌種活化。本研究配方為200 g小麥作為固態培養基，分別以0.6:1, 0.7:1, 0.8:1, 0.9:1, 1:1, 1.1:1和1.2:1的水分和小麥基質比例，並分別添加1%的碳酸鈣或硫酸鈣做為緩衝和調節pH值。將活化之菌液取10 mL，加入小麥或大豆固態培養基中進行固態發酵1-2星期後。利用60℃熱風乾燥發酵產物8小時，將乾燥後產物做均質、粉碎、收集發酵產物進行多醣和氧化的分析。

三、粗多醣的分析

粗多醣的測定是利用酚磺法(Dobuis *et al.*, 1956)，

用硫酸將多醣分解為小分子的葡萄糖，再將樣品測得吸光值帶入葡萄糖標準溶液之檢量線作定量分析。先將乾燥的靈芝發酵產物進行 100°C 熱水萃取，將萃取液離心 (5000×g, 10 分鐘, 4°C)，取上層液 1 mL 加入四倍體積的 95% 酒精使多醣沉澱出來，震盪均勻離心 15 分鐘 (10000rpm)，收集沉澱物用 75% 酒精 5 mL 洗滌一次，震盪均勻離心 15 分鐘 (10000rpm)，去除酒精，加入 1 mL NaOH 溶解沉澱物，置於 80°C 水浴槽可幫助溶解。取 1 mL 的樣品加入 1 mL 5% 酚試劑 5 mL 濃硫酸，均勻混合，再冰浴 2~3 分鐘使樣品冷卻，以分光光度計在 488 nm 測其吸光值。

四、β-(1,3)葡聚糖的螢光分析定量

此測定方法為依照 Ko & Lin (2004) 分析方法，以 Curdlan 當作標準品，作出標準曲線，再將靈芝發酵產物萃取出粗多醣使用 1N NaOH 當溶劑稀釋，然後分別將標準品與多醣稀釋液各取 0.3 mL 置入玻璃小管，再加入 30μL 6N NaOH，馬上置入 80°C 水浴槽反應 30 分鐘，冰浴後加入 aniline blue 染劑於 50°C 反應 30 分鐘，取出後於室溫下冷卻半小時，最後以激發光 398 nm 及放射光 502 nm 偵測其螢光強度。

五、靈芝固態發酵產物熱水萃取液

取 0.4 g 乾燥小麥、大豆作為培養基質的靈芝固態發酵產物粉末溶入 40 mL 的蒸餾水，進行 100°C 熱水萃取，再配成濃度為 10 mg/mL 熱水萃取液，取此熱水萃取液進行抗氧化活性的分析。

六、捕捉 1,1-二苯基-2-苦味基(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, DPPH)能力之測定

依 Shimada 等(1992)方法進行之。取 4 mL 的 10 mg/mL 靈芝固態發酵之熱水萃取液，並用活性炭過濾，加入 1 mL 0.2 mM DPPH-甲醇溶液，均勻混合後在黑暗中反應 30 分鐘後，以分光光度計在 517 nm 測其吸光值，並以 10 mg/mL 的抗壞血酸(ascorbic acid) 和 BHA (butylated hydroxy-anisole)作為樣品的對照組。吸光值愈低表示捕捉能力愈強。

Scavenging effect (%) = $[(A_{517\text{ nm}} \text{ of control}) - (A_{517\text{ nm}} \text{ of sample})] / (A_{517\text{ nm}} \text{ of control}) \times 100\%$

七、還原力測定

依 Oyaizu (1986) 方法測定之。取 1 mL 的 10 mg/mL 靈芝固態發酵濾液之熱水萃取物，加入 1 mL 0.2 M pH 6.6 phosphate buffer 及 1 mL 1% 赤血鹽 (potassium ferricyanide, PFC)，於 50°C 水浴 20 分鐘後快速冷卻，再加入 1.0 mL 10% trichloroacetic acid (TCA) 溶液，混合後以 3000 rpm 離心 10 min，取其上清液 2 mL，並加入 2 mL 蒸餾水及 0.4 mL 0.1% ferric chloride 溶液混合均勻，10 分鐘反應後，以分光光度計在 700 nm 下測其吸光值，並以 10 mg/mL 的抗壞血酸 (ascorbic acid) 和 BHA 作為樣品的對照組。吸光值愈高表示還原力愈強。

八、螯合亞鐵離子之測定

依 Dinis 等(1994)方法測定之。取 0.5 mL 的 10 mg/mL 靈芝固態發酵濾液之熱水萃取物，加入 1.85 mL 甲醇及 0.05 mL 2 mM FeCl₂·4H₂O，經 30 秒作用後再加入 0.1 mL 5 mM ferrozine，在室溫下反應 10 分鐘後，立即以分光光度計在 562 nm 測其吸光值，並以 10 mg/mL 的檸檬酸 (citric acid) 及 EDTA 作為樣品的對照組。吸光值愈低表示螯合金屬離子之能力愈強。

Chelating effect (%) = $[(A_{562\text{ nm}} \text{ of control}) - (A_{562\text{ nm}} \text{ of sample})] / (A_{562\text{ nm}} \text{ of control}) \times 100\%$

九、統計分析

數值以平均值±標準偏差表示，以 t 檢定成對，和非成對母體平均數差檢定每 2 天固態發酵產物多醣、β-(1,3) 葡聚糖濃度和抗氧化活性分析。最後以 ANOVA 單因子變方分析法後，以鄧肯式新多變域性分析法比較不同培養基、發酵天數和無機鹽類的添加對多醣和 β-(1,3) 葡聚糖濃度的影響和小麥和大豆基質發酵一星期或二星期對抗氧化活性的影響 (P<0.05)。

結果與討論

一、靈芝固態發酵培養基對多醣產量的影響

本研究以小麥為固態發酵的基質，最初水分和小麥基質的比例控制在 0.6:1，在 30°C 發酵 14 天，分析靈芝固態發酵時間對多醣產量的影響(圖 1)，結果顯示多醣含量從第 1 天起開始升高，當到達第 8 天時產量為最高，接著開始往下降，趨於平緩，故未來靈芝固態發酵以 7 天為主。

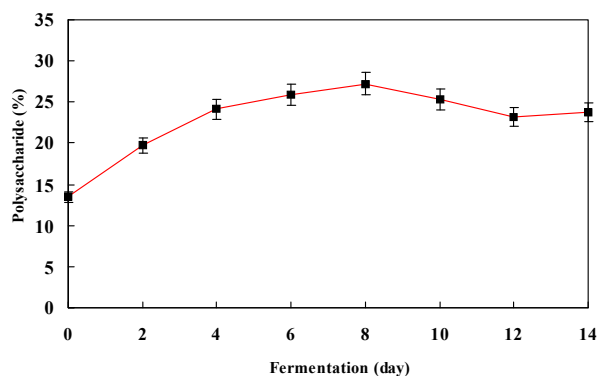


圖 1 靈芝固態發酵期間多醣含量之變化

Fig. 1 Polysaccharide content changed during *Ganoderma lucidum* solid-state fermentation (n=3, mean ± S.D.)

以小麥作為靈芝固態發酵的培養基可以較液態發酵生產較多的多醣，且固態發酵產物乾燥時間較短，使得能源較為節省，靈芝固態發酵具有比液態發酵簡單方便操作的優點。再進一步分析多醣中β-葡聚糖的含量(圖 2)，結果顯示，隨著天數的增加，β-葡聚糖的產量也跟著增加，到第 10 天時，產量達到最高 0.35 mg/g，10 天以

後有趨緩的現象，此可能因glucanase開始分解葡聚糖，使 β -葡聚糖濃度下降，此與謝(2006)以液態靈芝發酵，多醣第2天達到最高20 mg/mL，第2天以後開始下降，第7天多醣產量僅為2.5 mg/mL之結果相似。

將不同的水分和小麥固態基質比例，以探討基質中的水分對靈芝多醣產量的影響。圖3結果得知，當水分與基質比例為0.6:1時，多醣產量為18%，水分與基質比例為1:1，則多醣產量最低為13%，但各處理組間並無顯著性差異，故本研究以0.6:1的水分與基質比例作為後續靈芝固態發酵的基質配方。水分和基質的比例為0.6:1，菌絲體生長較佳，水分和基質的比例為0.8:1以上，會使基質粘稠，不易於氧氣傳遞，水分和基質的比例為0.2~0.3:1太低時，會不利於菌絲生長 (Yang *et al.*, 2003)。

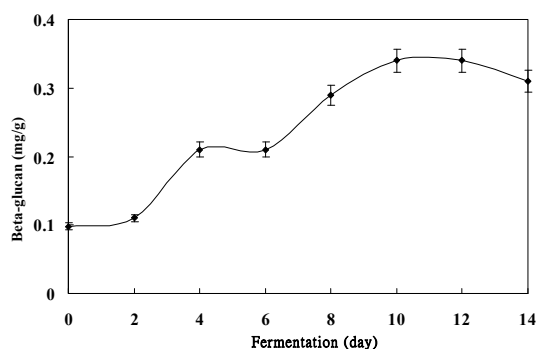


圖 2 靈芝固態發酵期間 β -葡聚糖含量之變化

Fig. 2 β -Glucan content changed during *Ganoderma lucidum* solid-state fermentation (n=3, mean \pm S.D.)

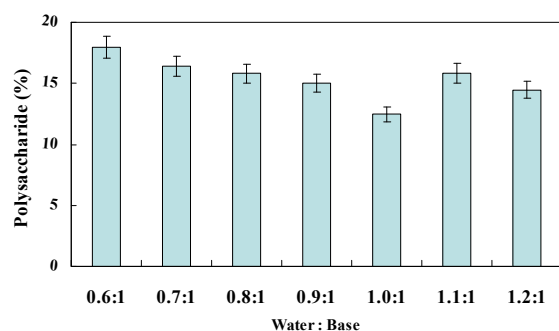


圖 3 不同水分比例對靈芝固態發酵產物之多醣產量影響

Fig. 3 Effect of the ratio of water to medium on polysaccharide content in *Ganoderma lucidum* solid-state fermentative products (n=3, mean \pm S.D.)

此外，探討添加1%碳酸鈣或1%硫酸鈣，用以調節固態培養基之pH值 (Yang *et al.*, 2003)，此可作為緩衝劑。由起始發酵時小麥培養基和大豆培養基之多醣產量分別為6.3%和1.3%，而表1的結果顯示，在第7天的靈芝

發酵產物中，以添加碳酸鈣處理組的多醣產量較硫酸鈣處理組為高，但差異不大。在第14天的靈芝發酵產物中，以添加碳酸鈣處理組的多醣產量顯著高於硫酸鈣處理組。而整體固態培養基的pH值，碳酸鈣處理組的固態培養基之pH為8.53，而硫酸鈣處理組的固態培養基之pH為7.96，這是因為鈣鹽本身就是弱鹼性，對菌絲生長是影響較小。

二、靈芝固態發酵產物的抗氧化能力

以小麥、大豆和1%硫酸鈣或1%碳酸鈣作為靈芝固態發酵的基質，比較其發酵一星期和二星期後清除DPPH自由基能力、亞鐵離子螯合能力、還原力等抗氧化能力。由表2的結果顯示不同的靈芝固態發酵產物中和發酵時間，以10mg/mL BHA及抗壞血酸作為對照組，檢測10 mg/mL熱水萃取樣品的清除DPPH自由基的能力，得知以大豆當作培養基發酵1星期和2星期的靈芝發酵樣品 F、G、H具有較好的清除DPPH自由基能力約為40%~50%比未發酵的大豆基質為高，和抗壞血酸清除DPPH自由基的能力為60%相近。而以小麥當作培養基，發酵1星期和2星期的靈芝發酵樣品A、B、C，其清除DPPH自由基能力只有25%~29%，比未發酵的小麥基質低，故以大豆作為靈芝固態培養基差的抗氧化能力較小麥佳。而比較不同的發酵天數，不論是以大豆或小麥作為固態基質皆顯示發酵7天和14天之間並無顯著差異。Mau等(2005b)指出松杉靈芝利用太空包進行固態發酵，在10 mg/mL熱水萃取樣品的清除DPPH自由基能力為50%，這樣的結果與大豆作為靈芝固態培養基之結果相近，皆具有良好的清除DPPH自由基能力。

不同的10 μ g/mL熱水萃取的靈芝固態發酵產物，並以10 mg/mL BHA及EDTA當做對照組，檢測其亞鐵離子螯合能力，由表2的結果，顯示以大豆當作培養基，發酵1星期和2星期的靈芝發酵樣品E、F、G、H具有較好亞鐵離子螯合能力已達65%~75%，若和BHA做比較，其螯合能力幾乎一樣好甚至更好，但比大豆基質的亞鐵離子螯合能力87%差，也發現這幾組靈芝大豆固態發酵產物的螯合能力較未發酵的大豆低，故其亞鐵離子螯合能力應是由培養基大豆提供。而若以小麥當作培養基，發酵1星期和2星期的靈芝小麥發酵產物樣品A、B、C、D的亞鐵離子螯合能力較差，約為27%~29%，和未發酵的小麥培養基之螯合能力相當。而其中不論是以小麥或大豆作為固態發酵基質，發酵天數和加入碳酸鈣或硫酸鈣並不會顯著影響其亞鐵離子螯合能力。Mau(2005b)研究顯示10 mg/mL靈芝熱水萃取物之亞鐵離子螯合能力只有18%，較本研究以小麥、大豆培養基之靈芝固態發酵產物為差，故以小麥、大豆的成分提供靈芝固態發酵，可生產較佳螯合能力的產物。

將10mg/mL熱水萃取不同的靈芝固態發酵產物，並以10 mg/mL BHA及抗壞血酸作對照組，檢測熱水萃取靈芝發酵產物之還原力，由表2的結果，得知靈芝固態發酵產物C、D、E、F具有較好的還原能力，樣品C和D為

小麥培養基發酵二星期，樣品E和F為大豆培養基發酵一星期，顯然靈芝固態發酵產物具有抗氧化的能力，但與10mg/mL BHA及抗壞血酸比較，其還原能力仍低。Mau(2005b)研究10 mg/mL熱水萃取樣品還原力為1.0，此

結果與大豆培養基發酵產物相近，另一方面由於大豆中的異黃酮能夠擁有較佳的抗氧化活性(井等，2004)，故可提供靈芝固態發酵產物具有較好的抗氧化活性(Hu *et al.*, 2004)。

表 1 小麥和大豆基質對靈芝固態發酵產物多醣產量的影響

Table 1 Effect wheat and soy bean medium on polysaccharide content in *Ganoderma lucidum* solid-state fermentative products (n=3, Mean ± S.D.)

Medium	Fermentation time (week)	Polysaccharide (%)
(A) Wheat + CaCO ₃	1	17.58±1.92
(B) Wheat + CaSO ₄	1	16.93±1.83
(C) Wheat + CaCO ₃	2	18.20±1.80
(D) Wheat + CaSO ₄	2	13.51±1.54
(E) Soy bean + CaCO ₃	1	3.55±1.44
(F) Soy bean + CaSO ₄	1	2.03±0.67
(G) Soy bean + CaCO ₃	2	2.40±0.83
(H) Soy bean + CaSO ₄	2	1.66±0.72

表 2 小麥和大豆培養基的靈芝固態發酵產物之抗氧化能力分析

Table 2 Analyses antioxidant abilities of *Ganoderma lucidum* solid-state fermentative products with wheat and soy bean medium

Medium	Scavenging DPPH ability (%)	Chelating Fe ⁺² ability (%)	Reducing power (Abs)
A (wheat+CaCO ₃ 1week)	27.93±0.12	29.96±0.34	0.44±0.02*
B (wheat+CaSO ₄ 1week)	28.94±0.17	28.49±0.13	0.54±0.01*
C (wheat+CaCO ₃ 2week)	25.15±0.79#	27.29±0.24	0.94±0.05*
D (wheat+CaSO ₄ 2week)	16.74±0.10#	29.07±0.28	1.33±0.01*
Wheat	38.19±1.0	25.00±0.38	0.20±0.01
E (soybean+CaCO ₃ 1week)	28.09±0.60	70.51±0.22	1.26±0.02*
F (soybean+CaSO ₄ 1week)	41.36±0.52	62.94±0.17#	1.47±0.01*
G (soybean+CaCO ₃ 2week)	50.15±0.78*	63.78±0.23#	1.20±0.01*
H (soybean+CaSO ₄ 2week)	51.08±0.39*	60.85±0.47#	0.90±0.02*
Soybean	29.94±0.36	86.88±0.42	0.37±0.01
BHA	94.21±0.62	69.39±0.53	4.44±0.01
Ascorbic acid	62.11±0.93		5.25±0.01
EDTA		87.06±0.61	

BHA and ascorbic acid/EDTA as control

表示同欄間與對照組具有顯著性差異(n=3, *# p<0.05)

結 論

以小麥為培養基之靈芝固態發酵，水分和基質的比例控制在 0.6:1 時 30°C 下進行固態發酵，添加 1%碳酸鈣，發酵一星期時具有較高的多醣產量。靈芝固態發酵

以大豆作為培養基的發酵產物具有較佳的抗氧化特性，包括清除 DPPH 自由基能力和還原力，皆具有顯著提昇效果。靈芝固態發酵物可供保健食品之開發或添加於動物飼料中作為抗生素替代物的應用。

誌 謝

本研究的部分經費由農委會計畫編號：96 農科-2.1.2-牧-UI(1)所提供，謹伸謝忱。

參考文獻

- 王伯徹、陳啓楨、華傑。1994。食藥用菇類的培養應用。食品工業研究所。
- 井樂剛、路芳、張永忠。2004。大豆異黃酮的抗氧化活性。食品與發酵工業，30(2): 62-65。
- 杜明、趙鐺、趙廣華、胡小松。2006。富硒靈芝中不同蛋白提取物的組成特性及抗氧化活性研究。食品與發酵工業，32(6): 11-15。
- 林志彬。1996。靈芝的現代研究、特性、栽培、成份、藥理、應用。北京醫科大學。中國協和醫科大學聯合出版社。
- 郭燕君、袁華、張俐娜、甘勝偉。2006。靈芝多醣對阿爾茨海默病大鼠海馬組織形態學及抗氧化能力的影響。解剖學報，5: 509-513。
- 游育紅、林志彬。2003。靈芝多糖肽的抗氧化作用。藥學學報，38(2): 85-88。
- 許俐菱。2005。以豆科基質之靈芝液態培養物之水溶性多醣特徵。台灣大學食品科技研究所碩士論文。
- 臧晉、黃開助。2004。液體深層培養中靈芝多醣多提取與純化。食品與發酵工業，30(4): 135-137。
- 謝建元。2000。靈芝的功效和栽培方法。生物資源生物技術 2 (2) : 18-28。
- 謝孟真。2006。液態靈芝發酵產物對離乳仔豬生長與免疫的影響。國立宜蘭大學生物技術研究所碩士論文。
- Dinis, T. C. P., V. M. C. Madeira, and L. M. Almeida. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. Arch. Biochem. Biophys. 315: 161-169.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 350 - 356.
- Hsieh, C. and F. C. Yang. 2004. Reusing soy residue for the solid-state fermentation of *Ganoderma lucidum*. Bioresour. Technol. 91(1): 105-109. 31.
- Hu, C. C., C. H. Hsiao, S. Y. Huang, S. H. Fu, C. C. Lai, T. M. Hong, H. H. Chen, and F. J. Lu. 2004. Antioxidant activity of fermented soybean extract. J. Agric. Food Chem. 52: 5735-5739.
- Ko, Y. T. and Y. L. Lin. 2004. 1,3-Beta-glucan quantification by a fluorescence microassay and analysis of its distribution in foods. J. Agric. Food Chem. 52: 3313-3318.
- Mau, J. L., H. C. Lin, and C. C. Chen. 2002. Antioxidant

- Properties of Several Medicinal Mushrooms. J. Agric. Food Chem. 50 (21): 6072 -6077.
- Mau, J. L., S. Y. Tsai, Y. H. Tseng, and S. J. Huang. 2005a. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. LWT-Food Science and Technology 38: 589 - 597.
- Mau, J. L., S. Y. Tsai, Y. H. Tseng, and S. J. Huang. 2005b. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. Food Chem. 93: 641 - 649.
- Oyaizu, M. 1986. Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 35: 771-775.
- Shimada, K. K. Fujikawa, K. Yahara, and T. Nakamura. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem. 40: 945-948.
- Yang, F. C. and S. Y. Hwang. 1998. Nutritional studies on submerged culture of *Ganoderma lucidum*. Tunghai Journal. 39: 1-10.
- Yang, F.-C., C. Hsieh, and H.M. Chen. 2003 Use of stillage grain from a rice-spirit distillery in the solid state fermentation of *Ganoderma lucidum*. Process Biochem. 39: 21-26.
- You, Y.-H. and Z.-B. Lin. 2002. Protective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species. Acta Pharmacol 23(9): 787-791.
- Zhu M., Q. Chang, L. K. Wong, F. S. Chong and R. C. Li. 1999. Triterpene antioxidants from *Ganoderma lucidum*. Phytotherapy Research 13(6): 529 - 531.

97年01月25投稿

97年07月02接受