

مقایسه ویژگی های آنتی اکسیدانی و فیتوشیمیایی ترامتس جیبوزا (*Trametes gibbosa*)

شبنم ملکوت طبری^{۱*}، مهلقا قربانلی^۱، شیلا صفائیان^۲، سعید علی موسی زاده^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد زیست گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان-ایران
^۲ استاد، عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان گروه زیست شناسی، گرگان-ایران
^۳ دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران-شمال، تهران-ایران
^۴ مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، بهشهر-مازندران

چکیده

سابقه و هدف: قارچ دارویی *Trametes gibbosa* از خانواده پلی پوراسه و راسته پلیپور دارای کاربردهای دارویی فراوانی در سرتاسر دنیا می باشد. هدف از انجام این تحقیق بررسی و مقایسه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی این قارچ به دو روش مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاء و تعیین میزان فنل و فلاونوئید آن است.

مواد و روش ها: پس از تهیه عصاره متانولی ویژگی های آنتی اکسیدانی آن توسط دو روش آنتی اکسیدانی از قبیل فعالیت مهار رادیکال DPPH و همچنین ظرفیت احیاء کنندگی (RP) سنجش شد. BHT و BHA به عنوان آنتی اکسیدان های مصنوعی در مقایسه با عصاره متانولی قارچ *T. gibbosa* در غلظت های مشابه فراهم شدند. هشت غلظت از عصاره متانولی تهیه شد (۱۲/۵-۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر). همچنین میزان فنل و فلاونوئید در حلال متانولی مورد سنجش قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی وابسته به غلظت عصاره بود. بالاترین میزان جاروب کنندگی رادیکال آزاد را غلظت $750 \mu\text{g mL}^{-1}$ (۱۹/۶۱٪) و پایین ترین فعالیت در غلظت $12/5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (۴/۱۸٪) مشاهده شد. بالاترین ظرفیت قدرت احیاء در غلظت $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ (۳۲۸/۰) و پایین ترین ظرفیت قدرت احیاء را غلظت $12/5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (۱۲۹/۰) داشت. میزان فنل کل $0/03 \pm 1/30$ میلی گرم گالیک اسید معادل وزن تر و میزان فلاونوئید کل برابر با $0/26 \pm 1/55$ میلی گرم کوئرستین معادل وزن تر حاصل شد. **نتیجه گیری:** نتایج نشان دادند که در غلظت های بالاتر، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره و در غلظت های پایین تر، فعالیت آنتی اکسیدانی کمتر عصاره حاصل شد. در هر دو روش اتخاذ شده برای سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی نتایج نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی شدیداً به غلظت عصاره وابسته بود. به طور کلی نتایج نشان داد که عصاره متانولی نمونه، فعالیت آنتی اکسیدانی قابل ملاحظه ای نداشت.

کلمات کلیدی: *Trametes*، آنتی اکسیدان، فنل، فلاونوئید

مقدمه

های مصنوعی از یک طرف و استفاده مصرف کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از جانب دیگر تمایل به استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی را بیشتر کرده است (۱۸). پلی فنل ها انواعی از آنتی اکسیدان ها هستند که در جلوگیری از بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع هستند و اثرات متفاوتی دارند. ترکیبات فنلی شامل ویتامین ها، رنگدانه ها و فلاونوئیدها، ویژگی های ضد جهشی و

آنتی اکسیدان های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذا دارند، شامل BHT، BHA، TBHQ و پروپیل گالات بوده که سرطانزایی و اثرات منفی این ترکیبات بر سلامت انسان مشخص گردیده است (۱۳). اثرات سمی این آنتی اکسیدان

آدرس نویسنده مسئول: استان آذربایجان غربی - ارومیه - خیابان شهید

بهشتی-کوی سی ام-پلاک ۳۸

Email: malakoty_64319@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۹

(۲۰۰۸) ترکیبات موجود در اسانس این قارچ را توسط دستگاه جی سی مس مشخص کردند که برخی از این ترکیبات عبارتند از: استیک اسید، پروپانوئیک اسید، بوتانوئیک اسید، ۱-پنتانول، هگزانال، ۱-هگزانول، هپتانال، ۳-اکتانول، ۲-پنتیل فوران، اکتانال، ۲-متیل فنول، بتا بیزابولن و آلفا بیزابولول و غیره بوده است (۲۱). همچنین فعالیت ضد باکتری عصاره این قارچ بر باکتری های گرم مثبت و منفی، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *Proteus vulgaris*، *Micrococcus flavus* و *Escherichia coli* و *pseudomonas aeruginosa* بررسی شد. نتایج نشان داد که در برابر همه باکتری های نام برده به جز *E.coli* و *pseudomonas aeruginosa* فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان داده است (۸). هدف از انجام این تحقیق بررسی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید عصاره متانولی *T.gibbosa* جمع آوری شده از جنگل شصت کلا استان گلستان بود.

مواد و روش ها

به منظور تهیه عصاره متانولی بر روی ۳۰ گرم از قارچ پودر شده مقدار ۲۰۰ میلی لیتر متانول ریخته شد و با بهم زدن (دستگاه بهم زن) در دمای آزمایشگاه برای ۲۴ ساعت نگاه داری شد. سپس عصاره حاصل صاف شد و توسط دستگاه تبخیر کننده دوار^۱ در فشار کاهش یافته در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد تغلیظ گردید تا عصاره ها حاصل شوند (۲).

ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد عصاره متانولی

میزان مهار رادیکال های DPPH، با روش Shimada و همکاران (۱۹۹۲) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵). برای این منظور، محلول هائی با غلظت های ۱۰۰۰-۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر از عصاره و نیز آنتی اکسیدان سنتزی BHT در حلال متانول آماده شدند. روش آزمایش به این صورت بود که یک میلی لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۱ میلی مولار) به ۳ میلی لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد. لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

۱ . Rotary evaporator

ضد سرطانی را بر عهده دارند (۱۶). ویژگی های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آن هاست که آن ها را قادر به خنثی کردن رادیکال های آزاد، تشکیل کمپلکس و یون های فلزی و خاموش کردن مولکول های اکسیژن سه گانه می سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال های آزاد، واکنش های اکسیداسیون چربی را مهار می کنند (۱۴). بسیاری از ترکیبات زیست فعال در قارچ ها یافت شدند که برخی از آن ها از رشد سلول های سرطانی در درون شیشه جلوگیری می کنند و یا فعالیت آنتی-اکسیدانی دارند. این ترکیبات می توانند در شیمی درمانی انواع سرطان ها و بیماری های دیگر مفید باشند و همچنین می تواند در تغذیه ی سالم به عنوان منبع آنتی اکسیدانی مشتق شده به طور طبیعی استفاده گردد (۵). برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از بافت های گیاهی می توان از حلال های مختلف و روش های متعدد عصاره گیری استفاده کرد. درجه قطبیت حلال های مختلف میزان استخراج ترکیبات پلیفنلی را تحت تأثیر قرار می دهد. حلالیت ترکیبات فنلی بسته به نوع حلال، درجه پلیمریزاسیون و برهم کنش آن ها با سایر ترکیبات موجود در بافت های گیاهی متفاوت است. تحقیقات نشان داده است که حلال های اتانول و متانول به صورت مخلوط با آب توانایی بیشتری نسبت به حالت خالص در استخراج ترکیبات فنلی از بافت های گیاه دارند (۲۰). قارچ دارویی *Trametes gibbosa* از خانواده Polyporaceae و راسته Polyporales کاربردهای دارویی فراوانی در سرتاسر دنیا دارد. این قارچ خوراکی نیست و دارای کلاهک سخت و چوبی است. کلاهک قارچ کوچک و به شکل بادبزی است و در رنگ های متفاوتی در طبیعت یافت می شود. برخی از کاربردهای آن عبارتند از آنتی اکسیدان، ضد قارچ، ضد باکتری، ضد سرطان (۴). فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی *T.gibbosa* توسط Kaviyaran and Johns توسط (۲۰۱۱) بررسی شد. دو روش آنتی اکسیدانی DPPH و RP توسط دو حلال متانول و آب انجام و همچنین میزان فنل و فلاونوئید نیز مشخص شد. نتایج آن ها نشان داد که با افزایش غلظت میزان فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. به طور کلی نتایج آنان حاکی از این بود که عصاره متانولی و آبی فعالیت چشمگیری را به نمایش نگذاشتند (۸). Thakeow و همکاران

شده و میزان محاسبه فلاونوئید معادل میلی گرم کوئرستین در هر گرم وزن تر قارچ محاسبه و تعیین گردید ($\text{mgQUEg}^{-1}\text{FW}$) ضمناً محلول شاهد نیز به همین صورت و بدون عصاره آماده شد (۳).

لازم به ذکر است در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی لیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{DPPH} (\%) = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100$$

مهار رادیکالهای آزاد DPPH (%)

که در این رابطه A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می باشند.

سنجش قدرت احیا کنندگی عصاره متانولی:

توانایی عصاره متانولی برای احیاء یون های آهن سه ظرفیتی با آزمون قدرت احیاء مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۳). برای این منظور محلول هایی با غلظت های ۱۰۰۰-۱۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر از عصاره تهیه گردید. ۱ میلی لیتر از محلول عصاره یا آنتی اکسیدان های سنتزی با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (۶/۶ pH) و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از افزودن ۲/۵ میلی لیتر تریکلرو استیک اسید ۱۰٪ (وزنی:حجمی) نمونه ها ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از محلول بالایی پس از سانتریفیوژ، ۲/۵ میلی لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر، جذب نمونه ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه گیری میزان فلاونوئید کل

برای اندازه گیری میزان فلاونوئید کل به ۳ گرم از پودر قارچ، مقدار ۵۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد (۷۰ میلی لیتر متانول به حجم ۱۰۰ با آب مقطر)، افزوده و به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه بهم زن قرار داده شد و سپس عصاره را از کاغذ صافی عبور داده شد. به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره قارچ، ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد و سپس ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۰/۱ درصد)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم (۰/۱ درصد) و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر افزوده و آن ها به خوبی با هم آمیخته شدند. سپس جذب محلول در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت گردید. منحنی استاندارد بر اساس محلول با غلظت های متفاوت (mg/l) ۲۰۰-۲۵۰-۳۰۰-۳۵۰-۴۰۰-۴۵۰-۵۰۰ کوئرستین رسم

اندازه گیری میزان فنل کل

برای اندازه گیری میزان فنل کل به ۳ گرم از پودر قارچ، مقدار ۵۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد (۷۰ میلی لیتر متانول به حجم ۱۰۰ با آب مقطر)، افزوده و به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه بهم زن قرار داده شد و سپس عصاره را از کاغذ صافی عبور داده شد. ابتدا به ۰/۵ میلی لیتر از هر یک از استانداردها و عصاره، ۵ میلی لیتر فولن سیکالتو (۱:۱۰) و ۴ میلی لیتر Na_2CO_3 یک مولار اضافه گردید سپس بعد از ۱۵ دقیقه جذب در ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد و منحنی استاندارد بر حسب گالیک اسید با غلظت های متفاوت (mg/ml ۲۰-۴۰-۶۰-۸۰-۱۰۰-۱۲۰-۱۴۰) ترسیم و میزان ترکیبات فنل گیاه معادل گالیک اسید در هر یک گرم وزن تر قارچ ($\text{mgGAEg}^{-1}\text{FW}$) اندازه گیری شد (۱۲).

یافته ها

محتوای فنل و فلاونوئید

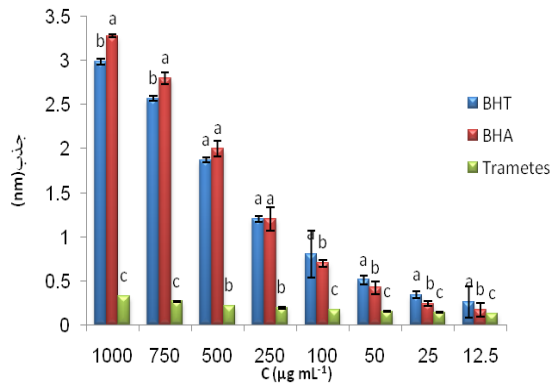
در عصاره متانولی میزان فنل 0.03 ± 0.003 میلی گرم گالیک اسید معادل وزن تر و میزان فلاونوئید برابر با 1.55 ± 0.26 میلی گرم کوئرستین معادل وزن تر بود.

میزان مهار رادیکال آزاد

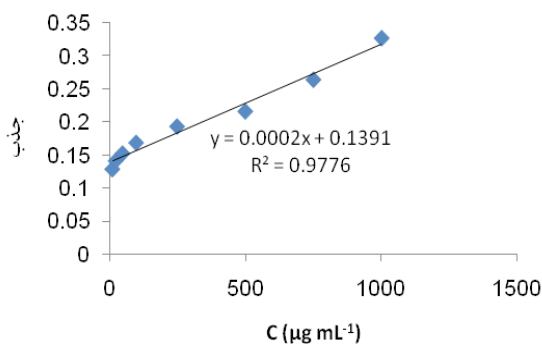
مهار رادیکال های آزاد یکی از شناخته شده ترین مکانیسم هایی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی اکسیدانی میتوانند اکسیداسیون چربی ها را مهار نمایند. در این روش نتایج بر حسب درصد کاهش در میزان جذب محلول های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره بیان می گردد (۶).

نتایج آنالیز واریانس در این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت تأثیر معنیداری ($P < 0.05$) بر مهار رادیکال آزاد دارد. آنتی اکسیدان های مصنوعی فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را نشان دادند و با افزایش غلظت افزایش میزان مهار رادیکال آزاد

قدرت احیاء دارد. آنتی اکسیدان های مصنوعی فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را نشان دادند و با افزایش غلظت افزایش میزان قدرت احیاء مشاهده شد (نمودار ۳). معادله خط برای محاسبه میزان IC_{50} حاصل شد و میزان IC_{50} در *Tgibbosa* ۱۸۰۴/۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش گردید (نمودار ۴).



نمودار ۳- قدرت احیاء نمونه ها بین غلظت ها در عصاره متانولی در روش RP؛ آنالیز آماری تحت ANOVA با تست دانکن، اختلاف بین حروف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین دادهها در سطح ۵٪.

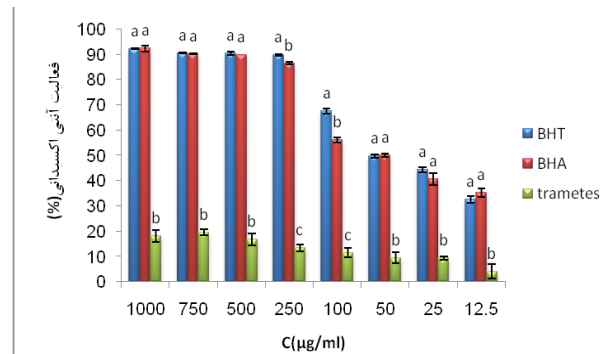


نمودار ۴- معادله خط حاصل برای محاسبه IC_{50} در *Tgibbosa* در روش قدرت احیاء

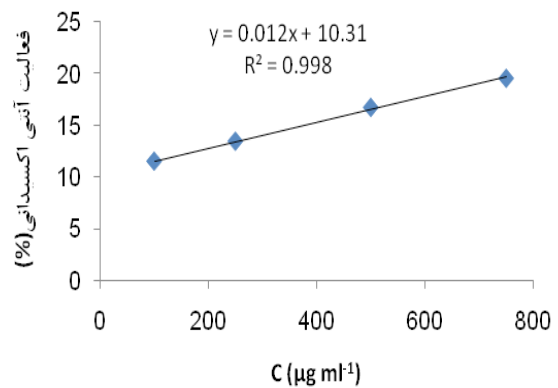
بحث

به خوبی دانسته شده است که ترکیبات فنلی، آنتیاکسیدان های بالقوه هستند و جاروب کننده رادیکال آزاد می باشند بنابراین باید هم بستگی بین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتیاکسیدانی وجود داشته باشد (۱۱). طبق یافته های Jonathan و همکاران (۲۰۰۳) متابولیت های زیست فعال ثانویه قارچ های عصاره گیری شده ممکن است بسته به حلال

مشاهده شد (نمودار ۱). معادله خط برای محاسبه میزان IC_{50} حاصل شد و میزان IC_{50} در *Tgibbosa* ۳۱۷۴/۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش گردید (نمودار ۲)



نمودار ۱- بررسی درصد فعالیت آنتی اکسیدانی بین *Tgibbosa* و دو آنتی اکسیدان مصنوعی BHT و BHA در هر غلظت در عصاره متانولی، مقایسه میانگین داده ها تحت ANOVA و با آزمون دانکن در سطح ۵٪، حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار.



نمودار ۲- معادله خط حاصله برای محاسبه IC_{50} در *Tgibbosa*

قدرت احیاء کنندگی

در این روش توانائی عصاره ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می شود. حضور عوامل احیاء کننده (آنتی اکسیدان ها) منجر به احیاء کمپلکس های فری سیانید و تبدیل آن ها به فرم فرس می گردد که بسته به ظرفیت احیاء کنندگی عصاره های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات مختلفی از رنگ های سبز و آبی همراه است (۱۷). نتایج آنالیز واریانس در این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت تأثیر معنی داری ($P < 0.05$) بر

Kaviyarasan (۲۰۱۱) نیز نتایج این تحقیق را پشتیبانی می-کند (۸). در آزمون قدرت غلظتی از عصاره که در طول موج ۷۰۰ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ دارد را تحت عنوان IC_{۵۰} می نامند. IC_{۵۰} حاصل از این تحقیق برای *T.gibbosa* ۱۸۰۴/۵۰، برای BHA معادل ۶۹/۵۰ و برای BHT معادل با ۴۰/۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد. قادری قهفرخی و همکاران (۱۳۹۰) چنین نتیجه گیری کردند که با افزایش غلظت عصاره های مختلف موره میزان جذب محلول های حاوی عصاره به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت که نتیجه کار ما را پشتیبانی می کند (۱).

تشکر و قدر دانی

نویسندگان تشکر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند ابراز می دارند.

های عصاره گیری استفاده شده متفاوت باشد (۹) و همچنین Kawagishi و همکاران (۱۹۸۸) بیان نمودند که برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی در الکل نسبت به آب محلول تر هستند (۱۰). به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت های پایین تر فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری از خود نشان دادند و میزان مهار رادیکال آزاد کمتری داشتند. آنتی اکسیدان های مصنوعی درصد فعالیت بالاتری نسبت به *T.gibbosa* دارا بودند. در آزمایشی که توسط Kaviyarasan and Johnsny (۲۰۱۱) انجام شد نیز میزان مهار رادیکال آزاد با افزایش غلظت افزایش یافت و همچنین آنتی اکسیدان مصنوعی BHA فعالیت مهار رادیکال آزاد بالاتری را نسبت به *T.gibbosa* از خود نشان داد که با نتایج این تحقیق هم خوانی دارد (۸). معمولاً برای مقایسه بهتر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف از فاکتوری تحت عنوان IC_{۵۰} استفاده می شود. طبق تعریف IC_{۵۰} به غلظتی از عصاره اطلاق می گردد که در آن ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد. میزان IC_{۵۰} محاسبه شده برای *T.gibbosa* ۳۱۷۴/۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد که این عدد نسبت به نتایج حاصل برای آنتی اکسیدان های مصنوعی، BHT، ۴۶/۱ میکروگرم بر میلی لیتر و BHA، ۵۷/۶ میکروگرم بر میلی لیتر بسیار بیشتر است که نشان دهنده فعالیت ضد رادیکالی کمتر آن نسبت به این دو آنتی اکسیدان مصنوعی می باشد. فعالیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH شدیداً به غلظت نمونه بستگی دارد. به طور کلی فعالیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH با افزایش غلظت نمونه ها افزایش می یابد (۷). مطابق با گفته Yang و همکاران (۲۰۰۷) بازده عصاره به نوع حلال، زمان و دمای عصاره گیری و ماهیت شیمیایی نمونه وابسته است و تحت دما و زمان یکسان، حلال مورد استفاده و ویژگی شیمیایی نمونه ها دو فاکتور مهم هستند (۲۲). همچنین متد عصاره گیری بکار برده شده در فعالیت آنتی اکسیدانی موثر است (۱۹). در ارتباط با قدرت احیاء نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت افزایش قدرت احیاء برای نمونه ها حاصل گردید و همچنین آنتی اکسیدان های مصنوعی فعالیت بهتری را به نمایش گذاشتند که گزارش and Johnsny

منابع

- (۱) قادری قهفرخی م، ممشلو س، صادقی ماهونک ع، اعلمی م. بررسی اثر آنتی اکسیدانی، ضد رادیکالی و قدرت احیاء کنندگی عصاره های مختلف گیاه داروئی *Artemisia annu*. فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی، ۱۳۹۰؛ سال ششم، شماره ۱.
- (2) Arabshahi D S, Urooj A. Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Mulberry (*Morus indica* L.) Leaves. Food Chemistry, 2006; 102: 1233-1240.
- (3) Chang C C, Yang M H, Wen H M and Chern J Ch. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Journal of Food and Drug Analysis, 2002; 10(3): 178-182.
- (4) Das K. Diversity and Conservation of Wild Mushrooms in Sikkim with Special Reference to Barsey Rhododendron Sanctuary NeBIO, 2010; 1(2): 1-6.
- (5) Eilbert F, Engler-Lohr M, Anke H & Sterner O. Bioactive Sesquiterpenes from Basidiomycete *Resupinatus leightonii*. J Nat Prod, 2008; 63: 1286-1287.
- (6) Ferreira I C F R, Baptista P, Vilas-Boas M, Barros L. Free-radical Scavenging Capacity and Reducing Power of Wild Edible Mushrooms from Northeast Portugal: Individual Cap and Stipe Activity. Food Chemistry, 2007; 100: 1511-1516.
- (7) Ismail A, Hong Th. Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. Mal J Nutr, 2002; 8(2): 167-177.
- (8) Johnsny G & Kaviyaran V. Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Trametes gibbosa*. Journal of pharmacy research, 2011; 4(11): 3939-3942.
- (9) Jonathan S G & Fasidi O. Antimicrobial Activities of Two Nigerian Edible Macro-Fungi *Lycoperdon pusillum* (Bat. Ex) and *lycoperdon giganteum* (Pers.). African Journal of Biomedical Research, 2003; 6 : 85- 90.
- (10) Kawagishi H A, Nomura T, Yumen T, Mizumo T, Hgwara A and Nakamura T. Isolation and Properties of Lecitin from The Fruiting Bodies of *Agaricus blazei*. Carbohydrate Research. 1988; 15183(1): 150-154.
- (11) Kumar K S, Ganesan K, Subba Rao P V. Food Chem, 2008: 107:289.
- (12) McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts. Food Chemistry, 2001; 73:73-84.
- (13) Namiki M. Antioxidants, Antimutagens in Food. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1990; 6: 273-300.
- (14) Pokorny J. Are Natural Antioxidants etter and Safer Than Synthetic Antioxidant Components. European journal of Lipid Science and Technology, 2007; 109:629-642.
- (15) Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative Properties of Xanthin on Autoxidation of Soybean Oil in Cyclodextrin Emulsion. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1992; 40: 945-948.
- (16) Shun Y M, Wen Y H, Yong C Y, Jian G S. Two Benzyl Dihydroflavones from *Phellinus Igniarius*. Chinese Chemical Letters, 2003; 14(8): 810-13.
- (17) Soares A A, Souza C G M, Daniel F M, Ferrari G P, Costa S M G, Peralta R M. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murr.il) in Two Stages of Maturity. Food Chemistry, 2009; 112: 775-781.
- (18) Stoilova A, Krastano A, Dtoyanova P, Senev P, Farfova S. Antioxidant Activity of Ginger Extract (*Zingiber Officinale*). Food Chem, 2007; 102(3): 764-770.
- (19) Sun T, Ho C T. Antioxidant Activities of Buckwheat Extracts. Food Chem, 2005; 90: 743-749.
- (20) Suzuki M, Watanabe T, Miura A, Harashima E, Nakagawa Y, Tsuji K. An Extraction Solvent Optimum for Analyzing Polyphenol Contents by Folin-Denis Assay. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi, 2002; 49: 507- 511.
- (21) Thakeow P, Angeli S, Weibecker, Schutz S. Antennal and Behavioral Responses of *Cis* *Boleti* to Fungal Odor of *Trametes gibbosa*. Chem Senses, 2008; 33:379-387.
- (22) Yang D, Wang Q, Ke L, Jiang J, Ayaing T. Antioxidant Activities of Various Extracts of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) Rhizome. Asia Pac J Clin Nutr, 2007; 16 (Suppl 1): 158-163.
- (23) Yildirim A, Mavi A, Kara A A. Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Rumex crispus* L. Extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001; 49:4083-4089 .