

Uticaj plodonosnog tela gljive *Ganoderma lucidum* na antioksidativni kapacitet lozovih rakija

Sonja Veljović^{1,2},
Mile Veljović¹,
Saša Despotović¹,
Bojana Ivković²,
Ida Leskošek-Čukalović¹,
Miomir Nikšić¹,
Ninoslav Nikićević¹

¹ Poljoprivredni fakultet- Univerzitet u Beogradu,

Nemanjina 6, 11080 Zemun-Beograd

² Ekonomski institut, Kralja Milana 16, 11000 Beograd

Rad primljen: 15.10.2014.

Kontakt adresa:

e-mail: pecic84@hotmail.com;

sonja.pecic@ecinstit.org.rs

Kratak sadržaj: U zemljama dalekog Istoka medicinska gljiva *Ganoderma lucidum* se tradicionalno koristi kao važan dodatak raznim alkoholnim pićima zbog svog gorkog ukusa i lekovitog dejstva. U radu smo ispitivali efekat ekstrakcionih parametara, vreme ekstrakcije i koncentracije gljive *Ganoderma lucidum*, na sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativne karakteristike specijalnih lozovih rakija (lozovača). Za određivanje antioksidativne aktivnosti uzoraka korišćene su metode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) i TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). U radu su korišćene koncentracije gljive od 1, 2.5 i 4 %, koje su estrahovane u različitim vremenskim periodima od 7, 21 i 60 dana. Dodatkom gljive kod svih uzoraka sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativni kapacitet su se povećavali. Sa povećanjem koncentracije dodate gljive povećava se sadržaj fenolnih jedinjenja, ali vreme ekstrakcije se mora prolongirati, da bi ekstrakcija fenolnih jedinjenja bila kompletna. Najveći sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja imao je uzorak sa 4% *G.lucidum* ekstrahovane tokom 60 dana (141.17 mg/L GAE), a antioksidativni kapacitet za dati uzorak određivan DPPH, FRAP i TEAC metodama iznosio je 0.492 mM TE, 1.580 FRAP jedinica i 3.987 mM TE, respektivno.

Ključne reči: *Ganoderma lucidum*, lozove rakije, fenolna jedinjenja, antioksidativni kapacitet.

U Kini i zemljama Orijenta, mnoge lekovite biljke i gljive se koriste kao tradicionalni lekovi. Medicinske gljive se veoma retko koriste u sirovom stanju, a najčešće se pripremaju u obliku ekstrakata u vrućoj vodi, koncentrata, rastvora i praha koji se dalje upotrebljavaju za proizvodnju tonika, tinktura, čajeva, supa i biljnih formula [1]. Na tržištu postoji veliki broj tečnih farmakoloških preparata na bazi bilja i gljiva u kojima se etanol koristi kao rastvarač (i do 80%), koji se koriste kako za prevenciju tako i za lečenje pojedinih bolesti.

Ganoderma lucidum - hrastova sjajnica je jedna od najznačajnijih medicinskih gljiva koja se upotrebljava za proizvodnju preparata koji se u Kini i Japanu u poslednjih 4000 godina koriste kao lek, pomoćno lekovito sredstvo ili eliksir [2]. O važnosti gljive *G. lucidum* govori i podatak da je zauzela počasno mesto u najstarijoj kineskoj *Materia medica*-i, pisanoj oko 200 godine nove ere, gde je na karakterističan kineski način 365 medicinskih sastojaka podeljeno u tri stepena: superiorni, srednji i slab [1]. Na superiornom stupnju, *Ganoderma* zauzima prvo mesto, odmah ispred ginsenga. Da bi neki sastojak mogao da bude na superiornom stupnju, morao je da ima izuzetno velike medicinske kvalitete, kao i da ne uzrokuje sporedna neželjena dejstva prilikom korišćenja u dužem vremenskom periodu [3].

Ganoderma lucidum (Ling Zhi) je gljiva izuzetno bogata bioaktivnim komponentama, koje pospešuju zdravstvenu otpornost organizma čoveka. Plodonosno telo ove gljive obiluje bioaktivnim komponentama: polisaharidima, terpenoidima, amino kiselinama, dok u manjim količinama sadrži proteine, steroide, lipide, alkaloidne, adozin, riboflavin, askorbinsku kiselinu, neorganske jone (Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, C) i organski

vezan germanijum [2]. Najznačajnije komponente Ling Zhi sa bioaktivnim dejstvom su fenolna jedinjenja, triterpeni, polisaharidi i peptidoglukani [4, 5, 6].

Medicinska upotreba *Ganoderma* u drevnim zemljama Dalekog istoka uključivala je lečenje neurastenije, iznemoglosti nakon dugih bolesti, insomnije, anoreksije, vrtoglavice, hroničnog hepatitisa, hiperholesterolemije, koronarnih bolesti srca, hipertenzije, bronhijalnog kašlja, čira, ali se koristila i kao protivotrov (antidot) kod trovanja otrovnim gljivama. Tokom poslednje decenije, istraživanja kineskih naučnika su bila fokusirana uglavnom na ispitivanje već poznatih dejstava gljive: produžavanje životnog veka, ishemijski mozga (reperfuzija povreda), hronični viralni hepatitis, disfunkcija muškog polnog organa, hiperholesterolemija, poboljšanje imunog sistema kod starijih osoba, antikancerogena aktivnost, imunostimulacija itd. [1].

U zemljama dalekog Istoka gljiva *Ganoderma lucidum* je važan dodatak raznim alkoholnim pićima zbog svog gorkog ukusa i lekovitog dejstva. Maceracijom u alkoholnim pićima se postiže efikasnija kompozicija i povećava rastvaranje biološki aktivnih materija u poređenju sa ekstrakcijom u vodenom rastvoru. Takođe, alkoholna pića poboljšavaju cirkulaciju krvi i pospešuju kurativni efekat [7]. Zbog specifičnih senzornih karakteristika i povećanja funkcionalnosti, poslednjih godina se *Ganoderma lucidum* koristi kao interesantan dodatak alkoholnim pićima [8, 9, 10].

Danas se može naći veliki broj patenata za proizvodnju jakih pića za čiju proizvodnju je korišćena gljiva, najveći broj njih odnosi se na proizvodnju piva. Pivu se može dodavati jedinjenje hloran steroid izolovan iz *G. lucidum*, koji se koristi kao zamena za

gorke materije hmelja [11] ili se gljiva može dodavati u obliku ekstrakta, koji se koristi za aromatizaciju standardnog piva [9, 10]. U proizvodnji japanskog pića sakea, koristi se za aromatizaciju u obliku arome ili ekstrakta [12]. Dodatkom gljive, ne samo da se menjaju njene senzorne karakteristike (boja, miris i ukus), nego se povećavaju i funkcionalna svojstva, jer se estrahuju biološki aktivne komponente gljive u alkoholno vodenoj smeši. Poslednjih decenija sve je veći broj patenata za proizvodnju rakija kojima se dodaje *G.lucidum*, bilo sama ili kao komponenta biljnih mešavina, kojima se pripisuju lekovita dejstva. Iako postoji veliki broj patenata, napisan je mali broj radova u kojima se ispituje efekat gljive na karakteristike jakih pića.

U jednom od malobrojnih naučnih radova, Kim i saradnici [13] ispitivali su efekat gljive *Ganoderma lucidum* na kvalitet i funkcionalne karakteristike tradicionalne pirinčane rakije, Yakje. Sa povećanjem količine dodate gljive jakji povećavao se intenzitet gorčine i travnate arome, a smanjivao se intenzitet arome na alkohol. Vukosavljević i saradnici [14] su ispitivali antioksidativnu aktivnost biljnog likera Biter 54, kojima je dodavan ekstrakt *G. lucidum* kao 55. sastojak. Upoređivanjem antioksidativnog kapaciteta Bitera 55 i komercijalnog farmaceutskog ekstrakta (EC50 = 1,055 µl/µg DPPH) i komercijalnog likera EC50 = 2,236 µl/µg DPPH), možemo zaključiti da je antioksidativnost Biter 55 (EC50 = 0,387 µl/µg DPPH) značajno veća.

CILJ RADA

U radu je ispitivan uticaj koncentracije dodate gljive i vremena ekstrakcija na sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativni kapacitet (DPPH, FRAP i TEAC metodama) specijalnih lozovih rakija sa dodatkom *G. lucidum*.

MATERIJAL I METODE

Materijal

U istraživanju je korišćeno suvo plodonosno telo gljive *Ganoderma lucidum* GL-I iz kolekcije za tehnološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Ova gljiva je izolovana u okolini Beograda. Plodonosna tela su proizvedena na supstratu od hrastove strugotine i pšeničnih mekinja u poluindustrijskim uslovima, zatim su sušena do sadržaja vlage manje od 12%. Za proizvodnju pića sa dodatkom gljive korišćena je lozova prepečena proizvedena na oglednom dobru Radmilovac Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Ekstrakcija sastojaka gljive obavljena je u alkoholnom medijumu sa sadržajem etanola 45% vol u staklenim posudama na sobnoj temperaturi. Ekstrakcija je vršena tokom: 7, 21 i 60 dana sa količinom sekanog tela gljive sa 1%, 2.5% i 4% konstantnim mešanjem na magnetnoj mešalici. Svi uzorci su filtrirani i skladišteni u zelene boce na tamnom na sobnoj temperaturi (16 – 20°C) do analize. Svi uzorci su urađeni u triplicatu.

Određivanje fenolnih jedinjenja

Sadržaj ukupnih fenola u uzorcima ekstrakta i pića sa dodatkom gljive *G. lucidum* određivan je metodom po Folin-Ciocalteu [15]. U 0.5 ml razblaženog uzorka dodato je 2.5 ml rastvora po Folin-Ciocalteu, nakon čega je epruveta sa reakcionom mešavinom

promešana i ostavljena u mraku 5 minuta. Nakon toga, u epruvetu je dodato 2 ml rastvora Na₂CO₃ (75 g/L), a zatim je promešana i ostavljena u mraku 2 sata. Nakon inkubacije merena je apsorbancija smeše na 760 nm. Za slepu probu korišćena je destilovana voda (0.5 ml). Sadržaj ukupnih fenola određen je korišćenjem standardne krive za čiju su konstrukciju upotrebljeni rastvori galne kiseline koncentracija 10-80 mg/l. Rezultati su izraženi u ekvivalentima galne kiseline (mg/l GAE). Kod uzoraka koji su pre analize razblaženi, rezultat očitani sa standardne krive množen je sa odgovarajućim stepenom razblaženja.

Određivanje antioksidativne aktivnosti

DPPH metoda

Određivanje antioksidativnog kapaciteta obavljeno je pomoću metode DPPH, koju su ustanovili Kaneda i saradnici [16]. Analizirani uzorci su razblaženi u različitom odnosu sa 96% etanolom. Uzorku (0.2 ml) dodavano je 2.8 ml radnog rastvora DPPH, koji je napravljen mešanjem 1,86 x 10⁻⁴ mol/L rastvora DPPH u etanolu sa 0.1 M rastvorom acetatnog pufera u odnosu 2:1 (v/v). Apsorbancija je merena na λ=525 nm posle inkubacije od 90 minuta u mraku na sobnoj temperaturi. Za slepu probu korišćen je etanol i rastvor DPPH. Merenje antiradikalne aktivnosti je vršeno sa standardne krive koje izražava zavisnost procenta inhibicije DPPH radikala u funkciji koncentracije rastvora Trolox-a. Rezultati su izraženi kao mM Trolox ekvivalenta po litru uzorka (mM TE). Procenat od inhibicije DPPH reagensa se izračunava iz obrazaca:

$$\% \text{ DPPH inhibicije} = [(A - A_s) / A] \times 100\%$$

Gde su: A_s - apsorbancija slepe probe, A - apsorbancija analize.

FRAP metoda

Analiza uzoraka je vršena prema metodi koju su ustanovili Benzie i Strain [17]. FRAP rastvor je napravljen mešanjem acetatnog pufera (pH=3.6), TPTZ (10 ml rastvora TPTZ se rastava u 40 ml HCl) i FeCl₃ × 6H₂O u zapreminskom odnosu 10:1:1. Pre analizi svi reagensi i uzorci su inkubirani na 37°C. U 0.1 ml razblaženog uzorka dodato je 3 ml FRAP reagensa, nakon čega su kivete inkubirane na 37°C. Apsorbancija je očitana nakon inkubacije od 40 minuta na 593 nm. Za slepu probu korišćena je voda. Za određivanje vrednosti konstruisana je standardna kriva korišćenjem serije razblaženja matičnog Trolox rastvora (1 mM). FRAP vrednost je izražena korišćenjem obrasca:

$$\text{FRAP} = \text{mM Trolox ekvivalenta} \times 2$$

TEAC metoda

Antioksidativni kapacitet je određivan i korišćenjem TEAC metode, koja je vršena prema modifikovanoj proceduri Re i saradnika [18]. Osnovni rastor ABTS*+ je proizveden mešanjem jednakih zapremina 14 mM ABTS i 4.9 mM K₂S₂O₈, koji su rastvoreni u fosfatnom puferu pH=7.4. Dobijeni tamnoplavo-zeleni rastvor je ostavljen na tamnom mestu na sobnoj temperaturi 12-14 h pre upotrebe. Radni ABTS*+ rastvor je pripreman razblaživanjem osnovnog rastvora (oko 80 puta) sa fosfatnim

puferom, tako da apsorbanca rastvora na 734 nm iznosi 0.70 ± 0.02 AU. Konstruiše se standardna kriva pripremanjem serije razblaženja osnovnog rastvora koncentracija 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125 i 0.15625 mM. U 30 μ l različitih razblaženja uzorka doda se 3 ml radnog ABTS*+ rastvora, inkubira se kiveta na 30°C 6 minuta, a zatim meri apsorbanca na $\lambda=734$ nm. Pored standardne krive, konstruiše se i kriva koja definiše procenat inhibicije u zavisnosti od koncentracije uzorka. Za slepu probu se koristi fosfatni pufer. Kriva se konstruiše prema formuli:

$$I (\%) = (As-A)/As \times 100$$

gde su: As - apsorbanca slepe probe A – apsorbanca. TEAC vrednost se izračunava:

$$TEAC (mM) = (\text{koeficijent pravca krive uzorka})/(\text{koeficijent pravca krive standarda})$$

Statistička obrada podataka

Sva merenja su urađena u triplikatu i podaci su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). Dobijeni rezultati su obrađeni analizom varijanse (ANOVA) dvofaktorijalnog ogleada kod kojih je određivan uticaj vremena ekstrakcije, količine dodate gljive i njihove međusobne interakcije na antioksidativne karakteristike, a razlika između uzoraka ispitivana je Tuckey's testom.

Korelacija između sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i antioksidativnog kapaciteta određenih DPPH, FRAP i TEAC metodom izražena je pomoću programa STAT12 [19].

REZULTATI

Rezultati sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja i antioksidativnog kapaciteta uzoraka specijalnih rakija sa *G. lucidum* za čiju proizvodnju je korišćena lozova prepečenica prikazani se u tabeli 1. Rezultatima dvofaktorijalnog ogleada izvršena je analiza varijanse

(ANOVE), a Tuckey's test je korišćen za određivanje razlike između sredina. Na osnovu rezultata sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja analiziranih uzoraka utvđeno je da faktori (vreme ekstrakcije i koncentracija gljive), kao i njihova međusobna interakcija imaju značajan efekat.

Uzorak L1 nakon 7 dana ekstrahovao je 34.3 mg/l GAE fenolnih jedinjenja. Sa povećanjem vremena ekstrakcije na 21 dan sadržaj fenolnih jedinjenja kod uzorka L2 (27.6 mg/l GAE) statistički značajno se smanjuje, usled dekompozicije fenolnih jedinjenja, dok kod uzorka L3 ekstrahovanog tokom 60 dana, dolazi do povećanja sadržaja fenolnih jedinjenja. Možemo zaključiti da i nakon 60 dana ekstrakcija fenolnih jedinjenja se još uvek odigrava.

Kod uzoraka lozovih specijalnih rakija napravljenih sa 1% gljive antioksidativna aktivnost (AO) određena DPPH i TEAC metodama se vremenom statistički značajno smanjuje. Ekstrakcija komponenti koje utiču na AO se završava nakon 7 dana, a vremenom dolazi do statistički značajnog smanjenja AO. Karakteristično je da $L1 > L3 > L2$, pa možemo zaključiti da se i nakon 21 dana ekstrahuju fenolne komponente. AO uzoraka određenih FRAP metodom imaju isti trend, dolazi do statistički neznačajnog pada antioksidativnosti nakon 21 dana, i do statistički značajnog povećanja nakon 60 dana, što je u korelaciji sa rezultatima sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja. Fenolne komponente ekstrahovane nakon 21 dana kod uzorka L3 imaju veći uticaj na antioksidativni kapacitet određen FRAP metodom u odnosu na DPPH i TEAC metodu.

Kod uzoraka specijalnih lozovih prepečenica kojima je dodavano 2.5% gljive vrednosti sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja možemo rangirati $L6 > L4 > L5$. Kao i kod uzoraka sa 1% gljive nakon 7 dana dolazi do porasta sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja, a zatim do pada sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja uzoraka kod kojih je vreme ekstrakcije 21 dan. Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja se statistički značajno povećava nakon

Tabela 1. Sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativnost uzoraka specijalnih lozovih prepečenica sa dodatkom *G.lucidum*

Rezultati				
Uzorci	TPC (mg/L GAE) ^a	DPPH (mmol TE) ^b	FRAP (FRAP jedinice)	TEAC (mM TE) ^b
L1	34.30 \pm 2.15	0.163 \pm 0.008 ^a	0.253 \pm 0.004 ^a	2.497 \pm 0.045
L2	27.60 \pm 1.80	0.102 \pm 0.009	0.212 \pm 0.009 ^a	1.977 \pm 0.025 ^a
L3	43.83 \pm 0.80	0.147 \pm 0.008 ^a	0.401 \pm 0.016	2.067 \pm 0.076 ^a
L4	80.27 \pm 1.79	0.281 \pm 0.005	0.830 \pm 0.008	2.920 \pm 0.026 ^b
L5	59.40 \pm 1.42	0.225 \pm 0.008	0.675 \pm 0.010	2.777 \pm 0.075 ^c
L6	100.27 \pm 1.46 ^a	0.349 \pm 0.006 ^b	1.138 \pm 0.025 ^b	3.180 \pm 0.075 ^d
L7	115.27 \pm 1.67	0.357 \pm 0.010 ^b	1.342 \pm 0.030	3.250 \pm 0.050 ^d
L8	98.80 \pm 0.36 ^a	0.312 \pm 0.009	1.110 \pm 0.006 ^b	2.910 \pm 0.010 ^{bc}
L9	141.17 \pm 1.66	0.492 \pm 0.002	1.580 \pm 0.024	3.687 \pm 0.032

Različitim slovima u istoj koloni označeni su uzorci, koji se ne razlikuju statistički značajni prema Tukey's test, sa značajnošću $p < 0.01$; L- lozova prepečenica.

^aSadržaj ukupnih polifenola, izražen kao miligram ekvivalenta galne kiseline na litar uzorka

^bUkupni antioksidativni kapacitet izražen kao mmol Trolox

60 dana, ekstrakcija fenolnih materija još uvek traje. Rezultate antioksidativnosti analiziranih uzoraka specijalnih lozovih prepečenica se rangiraju kao rezultati sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja $L6 > L4 < L5$, ekstrakcija komponenti koja utiču na AO kapacitet se nastavlja i nakon 60 dana.

Sa povećanjem koncentracije gljive u uzorcima vreme ekstrakcije ima statistički značajniji efekat na sadržaj ekstrahovanih fenolnih jedinjenja. Na osnovu rezultata možemo zaključiti da uzorcima sa 4% gljive sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja i nakon 60 dana se povećava, tako da se ekstrakcija ukupnih fenolnih jedinjenja nastavlja i nakon 60 dana. Antioksidativni kapacitet uzoraka specijalnih lozovih rakija sa istom koncentracijom gljive se statistički značajno smanjuje sa povećanjem vremena ekstrakcije sa 7 na 21 dan. Najveću antioksidativnost ima uzorak L9 sa 4% gljive ekstrahovane tokom 60 dana. Rezultati AO dobijeni analizom obe metode su u saglasnosti i možemo reći da ekstrakcija jedinjenja koji utiču na AO još uvek traje nakon 60 dana.

U ranijoj studiji u kojoj smo analizirali sadržaj fenolnih jedinjenja šljivovih prepečenica [20] sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja kod uzoraka lozove prepečenice kod kojih je vršena ekstrakcija tokom 60 dana, u odnosu na uzorke napravljene od šljivovih prepečenica je statistički značajno veći i iznosi 100.27 (L6) i 141.17 mg/L GAE (L9), respektivno. Možemo zaključiti da je ekstrakcija fenolnih jedinjenja gljive *G. lucidum* u lozova rakiji efikasnije nego u analiziranom alkoholnom medijumu.

Analizom korelacije između rezultata analize sadržaja fenolnih materija (TPC) i antioksidativnog kapaciteta određenog FRAP, DPPH i TEAC metodama uzoraka specijalnih lozovih rakija (Tabela 2), utvrđena je visoka korelacija između ovih uzoraka ($r_{\text{TPC-FRAP}}=0.9969$, $r_{\text{TPC-DPPH}}=0.9854$, $r_{\text{TPC-TEAC}}=0.9426$). Možemo zaključiti da sadržaj fenolnih materija ima važan uticaj na antioksidativni kapacitet uzoraka.

ZAKLJUČAK

Medicinska gljiva *Ganoderma lucidum* predstavlja perspektivnu sirovinu za proizvodnju jakih alkoholnih pića. Dodatkom gljive dolazi do statistički značajnog povećanja sadržaja fenolnih jedinjenja u svim uzorcima u odnosu na lozovu rakiju koja je korišćena kao alkoholni medijum. Sa povećanjem koncentracije dodate gljive povećava se i sadržaj fenolnih jedinjenja, ali sa povećanjem dodate količine gljive potreban je duži period za kompletniju ekstrakciju analiziranih komponenti. Sa povećanjem sadržaja fenolnih komponenti povećava se i antioksidativni kapacitet specijalnih lozovih prepečenica samim tim se poboljšavaju funkcionalne karakteristike pića.

LITERATURA

1. Lee KH, Itokawa H, Kozuka M, Oriental herbal products: the basic for development of dietary supplements and new medicines in the 21st century. In: Ho CT, Lin JK, Zheng QY eds. Oriental Food and Herbs - Chemistry and Health Effects, Washington DC, USA, 2003; 2-31.
2. Wasser SP, Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*). In: Coates PM, Betz JM, Blackman MR, Grass GM, Levine M, Moss J, White J eds. Encyclopedia of dietary supplements, New York, USA, 2005; 603-622.
3. Halpern GM, Healing mushrooms: ancient wisdom for better health. New York, USA, 2007; 55-64.
4. Kalač P, Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms. In: Andres S, Braumann N eds. Mushroom: Type, properties and Nutrition, New York, USA, 2012; 129-152.
5. Boh B, Berovic M, Zhang J, Zhi-Bin L, *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. Biotechnol. Annu. Rev. 2007; 13, 265-301.
6. Zhou X, Lin J, Yin Y, Zhao J, Sun X, Tang K, *Ganodermataceae*: Natural products and their related pharmacological functions. Am. J. Chin. Med. 2007; 35, 559-574.
7. Nikšić M, Nikićević N, Tešević V, Klaus A, Evaluation of alcohol beverages based on *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. Extract. Int. J. Med. Mushrooms. 2001; 3:192.
8. Nikšić M, Nikićević N, Tešević V, Debeljak J, Klaus A, Proizvodnja alkoholnih pića na bazi gljive *Ganoderma lucidum*, VI Savetovanje industrije alkoholnih i bezalkoholnih pića i sirćeta s međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Vrnjačka Banja, 2002; 191-196.
9. Leskošek-Čukalović I, Despotović S, Lakić N, Nikšić M, Nedović V, Tešević V, *Ganoderma lucidum* - Medical mushroom as a raw material for beer with enhanced functional properties. Food Res. Int. 2010; 43, 2262-2269.
10. Leskošek-Čukalović I, Despotović S, Nedović V, Lakić N, Nikšić M, New Type of Beer - beer with improved functionality and defined pharmacodynamic properties. Food Technol. Biotech. 2010; 48, 384-391.
11. Honda J, Sakamura S, Cholane steroids. 1985; Jpn. Pat. 85 258,197.
12. Nishiyama S, Preparation of sake drink containing *Ganoderma extracts*, 1981; Jpn. Pat. 81 6,985.
13. Kim JH, Lee DH, Lee SH, Choi SY, Lee JS, Effect of *Ganoderma lucidum* on the quality and functionality of Korean tradition wine rice,yakja. J. Biosci. Bioeng. 2004; 1, 24-28.

Tabela 2. Korelacija rezultata sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativnog kapaciteta lozovih prepečenica sa dodatkom gljive *G. lucidum*

Analize	FRAP		DPPH		TEAC	
	r	p	r	p	r	p
TPC	0.9854	0.000	0.9969	0.000	0.9426	0.000
FRAP			0.9769	0.000	0.9741	0.000
TEAC					0.9394	0.000

14. Vukosavljević P, Novaković M, Bukvić B, Nikšić M, Stanisavljević I, Klaus A, Antioxidant activities of herbs, fruit and medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* extracts produced by microfiltration process. J. Agric. Sci. 2009; 54, 24-28.
15. Singleton VL, Rossi JA, Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdcic-phospho tungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic.1965; 16,144-158.
16. Kaneda H, Kobayashi N, Furusho S, Sahara H, Koshino S, Reducing activity and flavor stability of beer. Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am. 1995; 32, 90-94.
17. Benzie IFF, Strain JJ, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Anal. Biochem. 1996; 239(1), 70-76.
18. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationde colorization assay. Free Radical Biol. Med. 1999; 26(9-10), 1231-1237.
19. STATISTICA (Data Analysis Software System), v.12, Stat-Soft, Inc., USA (2013).
20. Pecić S, Nikićević N, Veljović M, Despotović S, Leskošek-Cukalović I, Tešević V, Nikšić M, Special plum brandy with *Ganoderma lucidum*, 18th Congress of The International Society for Mushroom Science, Peking, Kina. Book of Abstracts, 146-147.

The effect of *Ganoderma lucidum* fruit body on antioxidant capacity of grape brandies

Sonja Veljović^{1,2},
Mile Veljović¹,
Saša Despotović¹,
Bojana Ivković²,
Ida Leskošek-Čukalović¹,
Miomir Nikšić¹,
Ninoslav Nikićević¹

¹Faculty of Agriculture-University of Belgrade,
Nemanjina 6, 11080 Zemun-Belgrade
²Institute of Economics,
Kralja Milana 16, 11000 Belgrade

Summary: In the Far East countries medicinal fungi *Ganoderma lucidum* has been traditionally used as an important supplement to different alcoholic beverages, because of its bitter taste and medical effects. In this paper, it was investigated the effect of extraction parameters, extraction time and concentration of fungi *Ganoderma lucidum*, on the phenolic compounds content as well as antioxidant characteristics of special grape brandies. For determination of samples antioxidant capacity FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) methods were used. In this paper we used three different concentration of fungus in the amount of 1, 2.5 and 4% and extraction was carried out for three different time periods: 7, 21 and 60 days. The addition of fungi increased the content of phenolic compounds and antioxidant capacity of all samples. With increasing the concentration of added fungi the phenolic compounds content were higher, but the extraction time must be prolonged in order to complete extraction of phenolic compounds. The highest content of total polyphenols had a sample with 4 % of *G. lucidum* extracted for 60 days (141.17 mg/L GAE). Antioxidant capacity for a given sample determined by DPPH, FRAP and TEAC methods were 0.492 mM TE, 1.580 FRAP units and 3.987 mM TE, respectively.

Key words: *Ganoderma lucidum*, grape brandies, phenolic compounds, antioxidant capacity.