

DOI: 10.59715/pntjmp.2.1.13

Tối ưu hóa quy trình chiết Triterpenoid và Polyphenol từ nấm Linh Chi đỏ (*ganoderma lucidum*)

Lê Nhất Linh¹, Trần Thị Phương Anh¹, Nguyễn Hà Phúc Tâm¹, Trương Quốc Kỳ¹

¹Khoa Dược, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Triterpenoid và polyphenol là hai nhóm hoạt chất quan trọng trong nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*). Việc khảo sát xây dựng quy trình chiết nhằm thu được hàm lượng triterpenoid và polyphenol tối ưu là một vấn đề cần thiết.

Mục tiêu: Khảo sát và tối ưu hóa điều kiện chiết triterpenoid và polyphenol từ nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*).

Đối tượng - Phương pháp nghiên cứu: Bột dược liệu nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) được chiết bởi các dung môi và thời gian chiết khác nhau nhằm thu được điều kiện phù hợp. Phần mềm Design Expert được sử dụng để tối ưu hóa nhiệt độ chiết và tỷ lệ dược liệu/dung môi.

Kết quả: Đã xây dựng quy trình chiết triterpenoid và polyphenol từ nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*). Điều kiện chiết tối ưu là dung môi chiết ethanol 70%, thời gian chiết 120 phút, nhiệt độ chiết 80°C và tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/100 (g/ml).

Kết luận: Đề tài này đã xây dựng thành công quy trình chiết triterpenoid và polyphenol từ nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*). Điều kiện chiết tối ưu là tiền đề cho việc bào chế các sản phẩm bổ trợ sức khỏe an toàn và hiệu quả tốt cho người sử dụng.

Từ khóa: Triterpenoid, polyphenol, nấm Linh chi đỏ, quy trình chiết, tối ưu hóa.

Abstract

Method optimization for the extraction of triterpenoids and polyphenols from ganoderma lucidum

Background: Triterpenoids and polyphenols from *Ganoderma lucidum* have many important pharmacological properties. Therefore, it is critical to investigate and develop an optimal method for the extraction of triterpenoids and polyphenols from *Ganoderma lucidum*.

Objectives: To investigate and optimize the extract conditions of triterpenoids and polyphenols compounds from *Ganoderma lucidum*.

Materials and methods: *Ganoderma lucidum* dry powdered samples were extracted in different conditions to obtain the appropriate solvent ratio and exaction time. The Design Expert program was used to optimize temperature and solid - liquid ratio.

Results: The optimal conditions for the extraction of triterpenoids and polyphenols from *Ganoderma lucidum* were: ethanol 70%, 120 min, 80°C and solid - liquid ratio of 1/100 (g/ml).

Conclusions: The method for the extraction of triterpenoids and polyphenols from *Ganoderma lucidum* was successfully optimized. The optimal extract conditions can serve as a reference to develop safe and efficient herbal health supplements.

Keywords: Triterpenoids, polyphenols, *Ganoderma lucidum*, extraction process, optimization.

Ngày nhận bài:

20/11/2022

Ngày phản biện:

20/12/2022

Ngày đăng bài:

20/01/2023

Tác giả liên hệ:

Lê Nhất Linh

Email: linhln@pnt.edu.vn

ĐT: 0342228379

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Linh chi đã còn được biết đến với các tên Linh chi thảo, Nấm lim, Nấm trường thọ, có tên khoa học là *Ganoderma lucidum*, họ Nấm gỗ (*Ganodermataceae*) [1]. Linh chi thường được dùng tại các nước châu Á như Việt Nam, Hàn Quốc, Trung Quốc và Nhật Bản với tác dụng tăng cường sức khỏe, kéo dài tuổi thọ [2]. Linh chi là một loại nấm hóa gỗ, mũ nấm hình thận, hình tròn hoặc hình quạt. Cuống nấm thường cắm lệch sang một phía của mũ nấm và thường có dạng hình trụ tròn hoặc dẹt, có thể phân nhánh cuống và màu khác nhau tùy loài [1]. Bộ phận dùng chính của Linh chi là quả thể và bào tử. Sau khi được thu hoạch, Linh chi được phơi sấy khô và bào chế thành các dạng bột, nước uống hoặc đông khô và các dạng bào chế khác để sử dụng hỗ trợ điều trị bệnh [3, 4].

Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong nấm Linh chi rất đa dạng như triterpenoid, polyphenol, polysaccharid, steroid, germanium hữu cơ và các nhóm hoạt chất khác [5]. Trong đó triterpenoid và polyphenol là hai nhóm hoạt chất đóng vai trò quan trọng trong Linh chi với nhiều hoạt tính giá trị như chống oxy hoá, kháng khuẩn, kháng viêm, ức chế enzyme α -glucosidase và ngừa ung thư [6, 7]. Triterpenoid đã được chứng minh có nhiều tác dụng như chống khối u [8], chống HIV-1, hạ huyết áp, điều hoà miễn dịch [9], kháng androgen, chống viêm gan B, chống oxy hóa, hoạt động kháng khuẩn [10], các triterpenoid trong nấm Linh chi cũng cho các tác dụng

tương tự thậm chí mạnh hơn, chẳng hạn như tác dụng chống ung thư của nấm Linh chi được mô tả trong nhiều báo cáo tiền lâm sàng [10]. Các hợp chất polyphenol trong thực vật đã được nghiên cứu và chứng minh nhiều tác dụng như chống viêm, chống dị ứng, chống oxy hóa và kháng khuẩn. Trên hệ tim mạch, polyphenol cho tác dụng giãn mạch, chống huyết khối [11]. Acid protocatechuic là một polyphenol trong Linh chi [12], đã được chứng minh có nhiều tác dụng dược lý như chống loét dạ dày thông qua cơ chế tăng cường và bảo vệ niêm mạc, chống ung thư thông qua cơ chế trực tiếp chặn vị trí liên kết của tác nhân gây ung thư với DNA, ức chế sinh gốc tự do và ảnh hưởng tới phản ứng chuyển hóa một số tác nhân gây ung thư [13]. Một polyphenol khác từ Linh chi là p-hydroxy benzoic acid [12], đã được nghiên cứu là có hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm, chống xơ vữa động mạch, hạ đường huyết [14].

Trên thế giới và tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu xây dựng quy trình chiết nấm Linh chi. Trong đó, nhiều nghiên cứu sử dụng phương pháp chiết với siêu âm [5, 15, 16]. Phương pháp chiết với siêu âm giúp đem lại nồng độ hoạt chất cao, tuy nhiên có nhược điểm là khó áp dụng cho quy mô công nghiệp [17]. Vì vậy, đề tài “Tối ưu hóa quy trình chiết triterpenoid và polyphenol từ nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*)” được thực hiện với phương pháp chiết nóng, nhằm tạo tiền đề cho việc đưa dược liệu vào sản xuất công nghiệp và tạo ra các chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu để tăng tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nấm Linh chi được nuôi trồng, thu hái, sơ chế và đóng gói dạng túi 500g tại Trại nấm Linh chi Ngọc Anh có địa chỉ tại Ấp 2, Xã An Nhơn Tây, Huyện Củ Chi, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Trang thiết bị, hóa chất, dung môi

Trang thiết bị

Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

Tên thiết bị	Model	Hãng (xuất xứ)
Bộ chiết soxhlet tự động	E800	Buchi (Thụy Sĩ)
Bể siêu âm	S100H	Elma (Đức)
Máy đo quang phổ UV - Vis	Lambda 365	PerkinElmer (Hoa Kỳ)

Hóa chất, dung môi

Hóa chất, dung môi sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Hóa chất, dung môi sử dụng trong nghiên cứu

Hóa chất, dung môi	Hãng (xuất xứ)
Thuốc thử Folin - Ciocalteu	Merck (Đức)
acid pecloric 70%	Alpha (Ấn Độ)
Vanillin	Shanghai Zhanyun Chemical (Trung Quốc)
Chất chuẩn acid gallic	Sigma - Aldrich (Hoa Kỳ)
Ethanol 96%	Nguyenlongtech (Việt Nam)

2.3. Thử độ tinh khiết và độ ẩm

Mẫu là nấm Linh chi đã được cắt lát, sấy khô. Xay dược liệu thành bột và tiến hành kiểm nghiệm độ ẩm và tro toàn phần theo Dược điển Việt Nam V, chuyên luận Linh Chi [18].

Độ ẩm

Không quá 17,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g; 100°C; 5h).

Tro toàn phần

Không quá 3,0% (Phụ lục 9.8).

2.4. Khảo sát điều kiện chiết

Khảo sát dung môi chiết

Dựa vào tài liệu tham khảo, dung dịch cồn là dung môi phổ biến trong việc hoà tan hai nhóm hoạt chất chính là triterpenoid và polyphenol có trong nấm Linh chi. Điều kiện chiết ban đầu được chọn ở nhiệt độ 90°C trong 80 phút [12], tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/100 trong đó có 1g dược liệu được chiết trong 100 ml dung dịch cồn với nồng độ cồn khác nhau là 40%, 50%, 60%, 70%, 80% và 90%. Dựa vào kết quả khảo sát hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần trong dịch chiết để lựa chọn dung môi chiết có

nồng độ phù hợp cho các khảo sát tiếp theo.

Khảo sát thời gian chiết

Sử dụng nồng độ cồn đã lựa chọn, tiến hành thực hiện khảo sát với điều kiện thời gian chiết là 30, 60, 90, 120, 150 và 180 phút. Dựa vào kết quả khảo sát hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần trong dịch chiết để lựa chọn thời gian chiết phù hợp cho các khảo sát tiếp theo.

Xử lý số liệu khảo sát dung môi chiết - thời gian chiết

Dùng phần mềm SPSS 20.0 để phân tích số liệu, dùng phép kiểm Kruskal - Wallis để so sánh sự khác biệt của các yếu tố khảo sát với độ hấp thu tại bước sóng xác định của dịch chiết.

Tối ưu hóa quy trình chiết bằng phần mềm

Quy trình được tối ưu hóa bằng Phần mềm Design Expert 12 (StatEase) Sử dụng mô hình central composite design (CCD), với biến độc lập là nhiệt độ chiết và tỷ lệ dược liệu/dung môi (g/ml), biến phụ thuộc là hàm lượng polyphenol toàn phần trong dịch chiết. Các mức của biến độc lập được cài đặt như Bảng 3.

Bảng 3. Các mức của từng biến độc lập

Biến độc lập	- α	-1	0	+1	+ α
Nhiệt độ chiết (°C)	37,57	50	80	110	122,43
Tỷ lệ dược liệu/dung môi (g/ml)	1/30	1/50	1/100	1/150	1/170

Dựa vào các dữ liệu thực nghiệm, phần mềm Design Expert sử dụng phân tích ANOVA để đánh giá ảnh hưởng của các biến độc lập lên biến phụ thuộc và đề xuất điều kiện chiết tối ưu. Điều kiện này sau đó được áp dụng để chiết triterpenoid và so sánh với các điều kiện khác.

2.6. Xác định hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần trong dịch chiết

Xác định hàm lượng triterpenoid toàn phần trong dịch chiết

Lấy chính xác 10 ml dịch chiết vào chén nung đã cân trước, cô dịch chiết tới gần khô.

Hòa tan cặn còn lại bằng chính xác 10 ml methanol. Lấy 200 µl dung dịch thu được, trộn với 300 µl dung dịch vanillin - acid acetic băng (5%, kl/tt), 1 ml dung dịch acid perchloric 70%. Dung dịch mẫu được ủ trong 45 phút ở 60°C sau đó làm mát trong bể nước đá, sau đó thêm 4,5 ml dung dịch acid acetic băng. Mẫu trắng được chuẩn bị với methanol. Hàm lượng triterpenoid thể hiện qua độ hấp thu tại bước sóng 548 nm [12].

Xác định hàm lượng polyphenol toàn phần trong dịch chiết

Lấy chính xác 10 ml dịch chiết vào chén nung đã cân trước, cô dịch chiết tới cặn khô. Hòa tan cặn còn lại bằng chính xác 10 ml methanol. Lấy 1 ml dung dịch trên, thêm 5 ml dung dịch thuốc thử Folin - Ciocalteu đã pha loãng với nước theo tỷ lệ 1 : 10, thêm 4 ml dung dịch Na₂CO₃ 75 g/l, vortex trong vòng 15 giây, ủ 30 phút ở 40°C. Mẫu được đo ở bước sóng 765 nm, mẫu trắng được chuẩn bị với methanol. Hàm lượng polyphenol thể hiện qua độ hấp thu tại bước sóng 765 nm và được tính toán dựa vào đường chuẩn acid gallic theo công thức sau [16]:

$$A = \frac{C \times V \times n}{m \times (100 - a)}$$

Trong đó:

A là hàm lượng polyphenol toàn phần (mg/g);

C là nồng độ tính toán từ phương trình đường chuẩn (mg/ml);

V là thể tích dịch chiết đem đi phân tích (ml);

n là hệ số pha loãng;

m là khối lượng nguyên liệu ban đầu (g);

a là độ ẩm nguyên liệu.

3. KẾT QUẢ

3.1. Khảo sát nguyên liệu đầu vào

Độ ẩm của mẫu khoảng 9,81%, độ tro toàn phần khoảng 2,19%. Do đó mẫu dược liệu đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V.

3.2. Khảo sát dung môi chiết và thời gian chiết

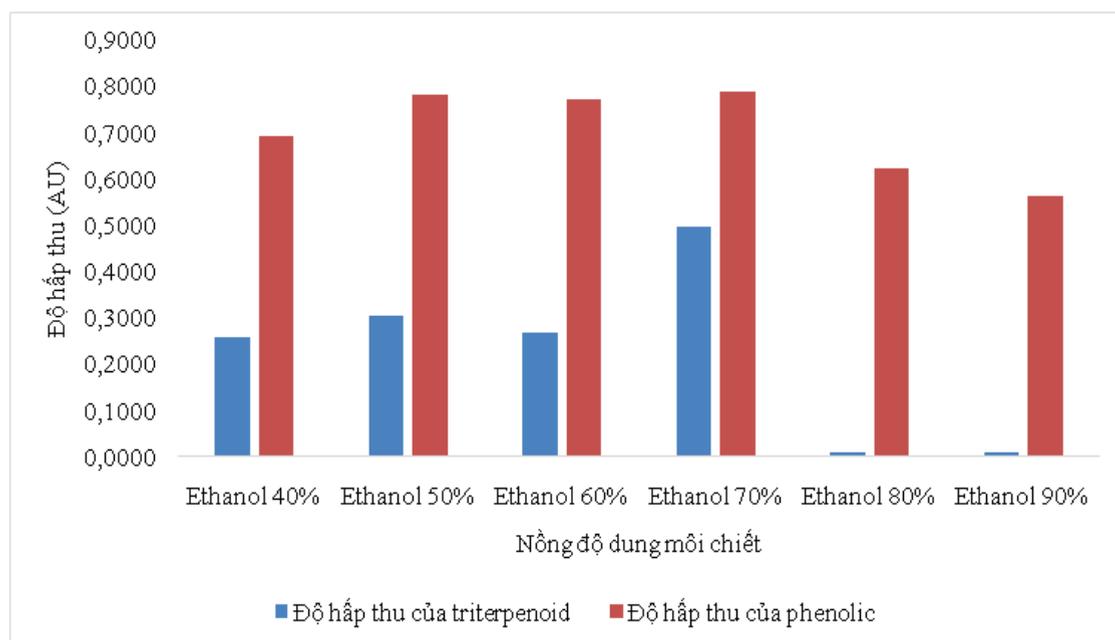
Khảo sát dung môi chiết

Kết quả khảo sát dung môi chiết với nồng độ khác nhau được trình bày ở Bảng 4 và Hình 1. Hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần trong dịch chiết thể hiện qua độ hấp thu của dịch chiết tại các bước sóng lần lượt là 548 nm và 765 nm. Các kết quả cho thấy dịch chiết ethanol 70% có hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần cao nhất. Do đó ethanol 70% được chọn làm dung môi chiết cho các thử nghiệm tiếp theo.

Bảng 4. Kết quả khảo sát nồng độ dung môi chiết

Nhóm hoạt chất	Nồng độ cồn khảo sát	Trung bình	P-value*
Triterpenoid	40%	0,2572	0,007
	50%	0,3056	
	60%	0,2672	
	70%	0,4978	
	80%	0,0102	
	90%	0,0101	
Polyphenol	40%	0,6925	0,005
	50%	0,7795	
	60%	0,7725	
	70%	0,7877	
	80%	0,6225	
	90%	0,5634	

Chú thích: *Phép kiểm Kruskal - Wallis (p - value < 0,05 được xem là có ý nghĩa thống kê)



Hình 1. Kết quả khảo sát nồng độ dung môi chiết

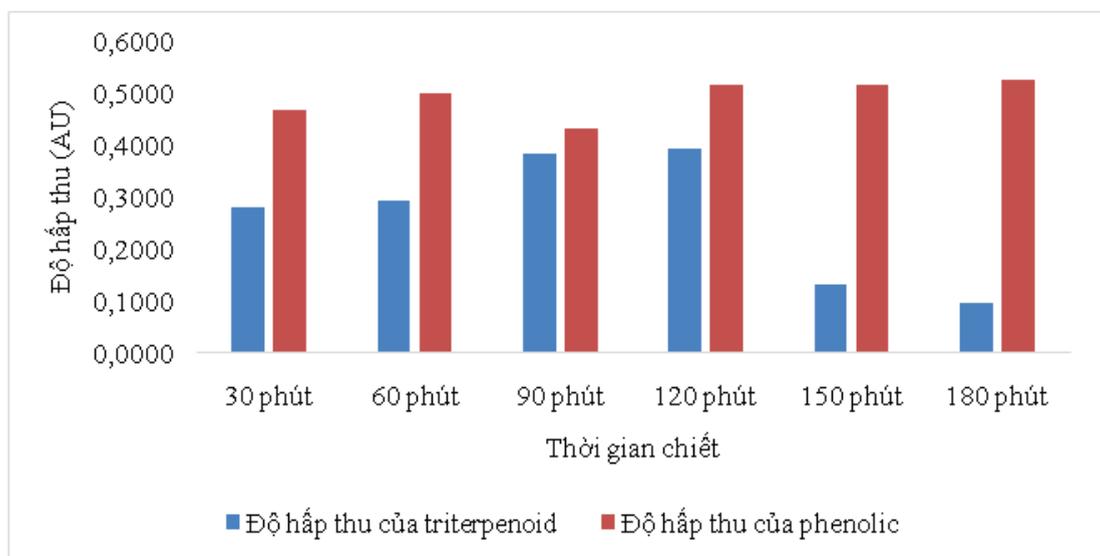
Khảo sát thời gian chiết

Kết quả khảo sát thời gian chiết được trình bày ở Bảng 5 và Hình 2. Hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần trong dịch chiết thể hiện qua độ hấp thu tại các bước sóng lần lượt là 548 nm và 765 nm. Các kết quả cho thấy dịch chiết 120 phút cho hàm lượng triterpenoid và polyphenol toàn phần tối ưu nhất, do đó điều kiện này được chọn cho các thử nghiệm tiếp theo.

Bảng 5. Kết quả khảo sát thời gian chiết

Nhóm hoạt chất	Thời gian chiết khảo sát	Trung bình	p-value
Triterpenoid	30 phút	0,2819	0,005
	60 phút	0,2942	
	90 phút	0,3839	
	120 phút	0,3920	
	150 phút	0,1327	
	180 phút	0,0973	
Polyphenol	30 phút	0,4663	0,006
	60 phút	0,5002	
	90 phút	0,4315	
	120 phút	0,5174	
	150 phút	0,5177	
	180 phút	0,5272	

Chú thích: *Phép kiểm Kruskal - Wallis (p - value < 0,05 được xem là có ý nghĩa thống kê)



Hình 2. Kết quả khảo sát thời gian chiết

3.3. Tối ưu hóa nhiệt độ chiết và tỷ lệ dược liệu/dung môi

Thiết kế và tối ưu hóa thực nghiệm

Tiến hành cài đặt giới hạn dưới, giới hạn trên của từng biến độc lập và thực hiện thí nghiệm theo các điều kiện phần mềm đề xuất. Dữ liệu của 13 thực nghiệm được trình bày trong Bảng 6.

Hàm lượng polyphenol trong dịch chiết của từng thí nghiệm được xác định thông qua phương trình đường chuẩn acid gallic: $y = 12,577x + 0,1231$; $R^2 = 0,9959$ trong đó x là nồng độ của polyphenol (mg/ml), y là độ hấp thu đo ở bước sóng 765 nm.

Bảng 6. Dữ liệu thực nghiệm theo mô hình CCD

Thí nghiệm	Nhiệt độ chiết (°C)	Tỷ lệ dược liệu/dung môi (g/ml)	Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg/g)
1	80	1/100	2,59
2	80	1/100	2,85
3	50	1/50	2,03
4	110	1/50	3,02
5	37,57	1/100	1,15
6	80	1/100	3,77
7	80	1/29,29	1,88
8	50	1/150	2,24
9	80	1/100	2,95
10	110	1/150	2,79
11	122,43	1/100	2,91
12	80	1/170,71	2,74
13	80	1/100	2,85

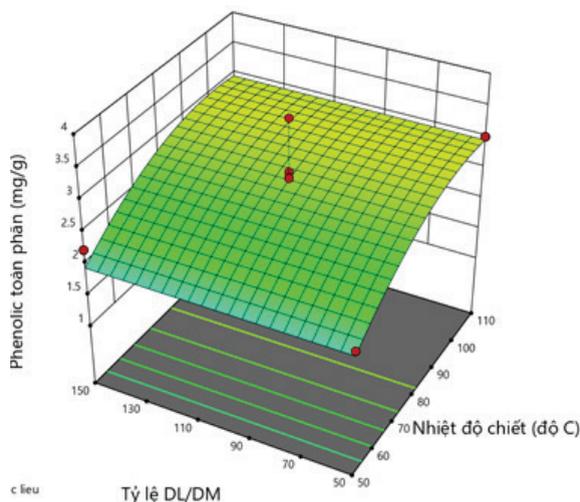
Phân tích kết quả

Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) được trình bày trong Bảng 7. Trị số p-value < 0,05 cho thấy mô hình có ý nghĩa về mặt thống kê. Các thông số còn lại trong giới hạn cho phép.

Bảng 7. Kết quả phân tích phương sai của các biến phụ thuộc

Biến phụ thuộc	p-value	R2 dự đoán (Predicted R2)	R2 hiệu chỉnh (Adjusted R2)	Độ chính xác thích hợp (Adequate precision)
Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg/g)	0,0111	0,3921	0,5123	7,2985

Ảnh hưởng của các biến độc lập lên biến phụ thuộc được thể hiện trong Hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết và tỷ lệ dược liệu/dung môi tới hàm lượng polyphenol toàn phần trong dịch chiết

Phần mềm đề xuất điều kiện tối ưu dựa trên các dữ liệu thực nghiệm và các điều kiện ràng buộc giữa các biến độc lập và biến phụ thuộc. Điều kiện có chỉ số mong muốn (desirability value) cao đồng nghĩa với khả năng tái lập cao khi so sánh dữ liệu dự đoán của phần mềm và dữ liệu từ thực nghiệm kiểm chứng. Điều kiện tối ưu được chọn là nhiệt độ chiết 80°C và tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/100 (g/ml), với chỉ số mong muốn là 0,799.

Thực nghiệm kiểm chứng

Tiến hành lặp lại 5 lần thực nghiệm tối ưu đã được đề xuất. Dữ liệu đánh giá được thể hiện trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả thực nghiệm kiểm chứng

Biến phụ thuộc	Giá trị trung bình dự đoán	Khoảng tin cậy 95% cho giá trị dự đoán		Giá trị trung bình thực nghiệm
		Giới hạn dưới	Giới hạn trên	
Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg/g)	2,997	2,410	3,584	3,002

Giá trị trung bình thực nghiệm nằm trong khoảng tin cậy của giá trị dự đoán, do đó mô hình được kiểm chứng.

Khi áp dụng điều kiện này để chiết triterpenoid trong Linh Chi, kết hợp với so sánh với các điều kiện nhiệt độ và tỷ lệ dược liệu/dung môi còn lại, các kết quả ghi nhận trong Bảng 9, cho thấy nhiệt độ chiết 80°C và tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/100 là điều kiện phù hợp để chiết triterpenoid.

Bảng 9. Khảo sát điều kiện chiết triterpenoid

Nhiệt độ (°C)	Tỷ lệ dược liệu/dung môi (g/ml)	Độ hấp thu của dịch chiết tại bước sóng 548 nm (AU)
80	1/100	0,3919
80	1/170	0,1001
80	1/30	0,2804
110	1/50	0,3892
110	1/150	0,0936
50	1/150	0,2265
50	1/50	0,2132
122	1/100	0,2059
37,5	1/100	0,0936

Điều kiện chiết tối ưu

Các kết quả khảo sát và tối ưu hóa cho thấy điều kiện chiết thu được hàm lượng triterpenoid và polyphenol cao nhất là: dung môi chiết ethanol 70%, thời gian chiết 120 phút, nhiệt độ chiết 80°C và tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/100 (g/ml).

4. BÀN LUẬN

Nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) là dược liệu quý, được sử dụng rộng rãi trong dân gian cũng như trong các bài thuốc cổ truyền. Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu quy trình chiết xuất nấm Linh chi đỏ, hướng tới hai nhóm hoạt chất chính là polysaccharides và triterpenoid [16, 19]. Tuy nhiên chưa có đề tài thực hiện nghiên cứu trên nhóm hoạt chất polyphenol. Triterpenoid và polyphenol là hai nhóm hoạt chất với nhiều tác dụng dược lý quan trọng trong Linh chi. Đề tài đã khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết triterpenoid và polyphenol trong nấm Linh chi đỏ, kết hợp với tối ưu hóa quy trình chiết bằng phần mềm, từ đó tìm ra điều kiện chiết phù hợp. Điều kiện chiết thu được hàm lượng hoạt chất cao là tiền đề trong việc bào chế các sản phẩm bổ trợ sức khỏe mang lại hiệu quả cao. Phương pháp chiết nóng với quy trình chiết đơn giản, phù hợp để phát triển tăng cỡ lô để áp dụng trên quy mô công nghiệp.

5. KẾT LUẬN

Đề tài này đã xây dựng thành công quy trình chiết triterpenoid và polyphenol từ nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*). Điều kiện chiết cho hàm lượng triterpenoid và polyphenol tối ưu, phù hợp cho các nghiên cứu tiếp theo về phát triển dạng bào chế phục vụ cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ, T.L., Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. 2013: Hồng Đức.
2. Nguyen, A.N., et al., A cross-cultural examination of Australian, Chinese and Vietnamese consumers' attitudes towards a new Australian wine product containing *Ganoderma lucidum* extract. *Food Research International*, 2019. 115: p. 393-399.
3. Chen, X., et al., Iridal-type triterpenoids with anti-HBV activity from *Iris confusa*. *Fitoterapia*, 2018. 129: p. 126-132.
4. Eom, H.J., et al., Cytotoxic Triterpenoids from the Barks of *Betula platyphylla* var.

- japonica. *Chemistry & biodiversity*, 2017. 14(4): p. e1600400.
5. Shen, S.-F., et al., Production of triterpenoid compounds from *Ganoderma lucidum* spore powder using ultrasound-assisted extraction. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 2020. 50(3): p. 302-315.
 6. Zhao, X.-R., et al., Isolation and identification of oxygenated lanostane-type triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry Letters*, 2016. 16: p. 87-91.
 7. Hennicke, F., et al., Distinguishing commercially grown *Ganoderma lucidum* from *Ganoderma lingzhi* from Europe and East Asia on the basis of morphology, molecular phylogeny, and triterpenic acid profiles. *Phytochemistry*, 2016. 127: p. 29-37.
 8. Kimura, Y., M. Taniguchi, and K. Baba, Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance. *Anticancer research*, 2002. 22(6A): p. 3309-3318.
 9. Boh, B., *Ganoderma lucidum*: a potential for biotechnological production of anti-cancer and immunomodulatory drugs. *Recent patents on anti-cancer drug discovery*, 2013. 8(3): p. 255-287.
 10. Liang, C., et al., Review of the molecular mechanisms of *Ganoderma lucidum* triterpenoids: Ganoderic acids A, C2, D, F, DM, X and Y. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019. 174: p. 130-141.
 11. Dias, R., et al., Recent advances in extracting phenolic compounds from food and their use in disease prevention and as cosmetics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021. 61(7): p. 1130-1151.
 12. Oludemi, T., et al., Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response surface methodology. *Food & function*, 2018. 9(1): p. 209-226.
 13. Batra, P., A.K. Sharma, and R. Khajuria, Probing *Lingzhi* or *Reishi* medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes): a bitter mushroom with amazing health benefits. *International journal of medicinal mushrooms*, 2013. 15(2).
 14. Manuja, R., et al., A comprehensive review on biological activities of p-hydroxy benzoic acid and its derivatives. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 2013. 22(2): p. 109-115.
 15. Ma, C.-w., et al., Optimization for the extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and their antioxidant and antiproliferative activities. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2013. 44(6): p. 886-894.
 16. Anh, N.M., et al., Khảo sát yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly triterpenoid từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng phương pháp enzyme có hỗ trợ siêu âm. *Tạp Chí Khoa Học Và Công Nghệ - Đại Học Đà Nẵng*, 2021. 19: p. 41 - 46.
 17. Geow, C.H., et al., A Review on Extraction Techniques and Its Future Applications in Industry. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2021. 123(4): p. 2000302.
 18. Bộ Y Tế, *Dược điển Việt Nam V 2017*, Hà Nội: NXB Y học
 19. Huỳnh, P.C., et al., Nghiên cứu sơ chế, chiết xuất polysaccharide và triterpenoid thô từ quả thể nấm linh chi. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ-Đại học Đà Nẵng*, 2021: p. 41-46.