Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Evaluation of biological activities of raw and cooked *Brassica oleracea* sprout extracts rich in bioactive compound Sulforaphane

Saeed Ghanbari Hassan Kiadeh[1], Somayeh Rahaiee[1]*, Hossein Azizi[2], Mostafa Govahi[2]

ABSTRACT

Background and Aims: Broccoli sprout extract (*Brassica oleracea*) has extensive biological activities that are mainly attributed to the presence of bioactive compounds, such as sulforaphane. This study aimed to investigate the antioxidant and antibacterial activities of cooked and raw extracts of broccoli sprouts.

Materials and Methods: The amount of sulforaphane in broccoli sprout extract was evaluated by high-performance liquid chromatography (HPLC). Moreover, the amount of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant capacity were investigated by the DPPH free radical scavenging method. In addition, the antibacterial activity of raw and cooked sprout extracts on some bacteria was explored using disk diffusion assay and minimum inhibitory concentration (MIC) by macro dilution method. Significant differences were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) through Duncan's multiple range test.

Results: Based on the results obtained by HPLC, the amount of sulforaphane in the raw broccoli sprout extract was determined to be 787.46 µg/mL. Moreover, the antioxidant activity of raw and cooked sprout extracts depicted a higher antioxidant activity with an increase in concentration. Furthermore, the antibacterial study showed that cooked sprout extract had higher antimicrobial activity, compared to the raw sprout extract (at a significance level of 0.05). The highest growth inhibition zone was found against Gram-positive *Bacillus cereus* strain with a diameter of 18±0.6 mm; moreover, the lowest amounts of MIC and MBC were obtained at 0.39 and 0.78 mg/mL, respectively.

Conclusion: In general, the results show that cooked broccoli sprout extract has significant antioxidant and antibacterial activities, compared to the raw sprout. Accordingly, it can be utilized in food, health, and medical products as a highly promising source. However, further studies are required to be conducted in this regard.

Keywords: Antibacterial activity, Antioxidant activity, Bioactive compounds, Broccoli sprout extract, Sulforaphane

Citation: Ghanbari Hassan Kiadeh S, Rahaiee S, Azizi H, Govahi M. [Evaluation of biological activities of raw and cooked Brassica oleracea sprout extracts rich in bioactive compound Sulforaphane]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(3): 236-247. [Persian]

DOI http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102

Received: June 20, 2021 **Accepted:** September 11, 2021

[1] Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
[2] Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

***Corresponding author:** Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

Tel: +989118675234 Fax: +9811-44154265 E-mail: S.rahaiee@ausmt.ac.ir

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی فعّالیت‌های بیولوژیکی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی (*Brassica oleracea*) غنی از ترکیب زیست فعال سولفورافان

سعید قنبری حسن کیاده[۱]، سمیه رهایی[۱]*، حسین عزیزی[۲]، مصطفی گواهی[۲]

چکیده

زمینه و هدف: عصاره جوانه کلم بروکلی (*Brassica oleracea*) دارای فعالیت‌های بیولوژیکی گسترده‌ای است که عمدتاً به علت حضور ترکیبات زیست فعال موجود در آن مانند سولفورافان نسبت داده می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره‌های جوانه پخته و خام کلم بروکلی در شرایط آزمایشگاهی است.

روش تحقیق: بررسی میزان سولفورافان موجود در عصاره جوانه بروکلی از طریق روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) انجام شد و در ادامه میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (به روش جذب رادیکال آزاد DPPH) بررسی گردید. همچنین، فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی با استفاده از روش انتشار دیسک و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) به روش رقت سازی متوالی (Broth Macro dilution) بر روی برخی باکتری‌ها مطالعه شد. اختلاف معنی‌دار توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) از طریق آزمون تعقیبی چند دامنه دانکن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: براساس نتایج به دست آمده از کروماتوگرافی، میزان سولفورافان موجود در عصاره‌ی جوانه خام بروکلی ۷۸۷/۴۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته نشان داد که با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد. همچنین نتایج ضدباکتریایی نشان داد که عصاره جوانه پخته کلم بروکلی در مقایسه با عصاره جوانه خام، فعالیت ضدمیکروبی خوبی را از خود به نمایش گذاشت ($P<0.05$)، به گونه‌ای که بیشترین میزان هاله عدم رشد با قطر ۰/۶ ± ۱۸ میلی‌متر و کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) و غلظت کشندگی (MBC)، به ترتیب در غلظت‌های ۰/۳۹ و ۰/۷۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره جوانه پخته کلم بروکلی در مقایسه با عصاره جوانه خام به طور معنی‌داری از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و به ویژه ضدباکتریایی بالاتری برخوردار است و امکان کاربرد آن به عنوان یک منبع ارزشمند امیدبخش در محصولات غذایی و فرآورده‌های بهداشتی و درمانی وجود دارد، لذا به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

واژه‌های کلیدی: فعّالیت ضدباکتریایی، فعّالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات زیست فعال، عصاره جوانه کلم بروکلی، سولفورافان

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰؛ ۲۸(۳): ۲۳۶-۲۴۷.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

[۱] گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

[۲] گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

آدرس: آمل- دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل- دانشکده زیست فناوری

تلفن: ۰۹۱۱۸۶۷۵۲۳۴ نمابر: ۴۴۱۵۴۲۶۵ - ۰۱۱ پست الکترونیکی: S.rahaiee@ausmt.ac.ir

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

مقدمه

سبزیجات چلیپائی متعلق به خانواده *Brassicaceae* و شامل سبزیجاتی مانند گل کلم، کلم و کلم بروکلی (*Brassica oleracea*) هستند. مطالعات اپیدمیولوژیک بر روی ترکیبات شیمیایی حاصل از عصاره جوانه‌های کلم بروکلی طیف گسترده‌ای از ظرفیت‌های بیولوژیکی شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی، ضدمیکروبی، ضدالتهابی و ضد دیابتی را از خود نشان داده است (۲, ۱). اثرات مثبتی که عمدتاً به ترکیبات شیمیایی فعال مانند اسیدهای هیدروکسی سینامیک، فلاونوئیدها (به عنوان مثال کوئرستین و میریستین)، کاروتنوئیدها و گلوکوزینولات‌ها (به عنوان مثال گلوکورافانین) نسبت داده می‌شود (۴, ۳). ایزوتیوسیانات‌ها نیز در واقع اشکال فعال گلوکوزینولات‌ها هستند که در رأس آن‌ها ترکیب زیستی فعالی به نام سولفورافان قرار دارد که با عملکرد آنزیم میروسیناز تولید و با خرد شدن یا جویدن بافت گیاه آزاد می‌شود (۵). در سال‌های اخیر، بذر و به خصوص جوانه‌های کلم بروکلی به دلیل داشتن مقادیر بالاتری از گلوکورافانین و سولفورافان نسبت به سایر قسمت‌های گیاه، مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (۶). ترکیب زیستی سولفورافان، فعالیت ضدباکتریایی خوبی را در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا و باکتری‌ها از جمله *لیستریا مونوسایتوژنز*، *اشریشیا کلای* و *سالمونلا تیفی موریوم* از خود نشان داده است (۸, ۷, ۳). همچنین گزارشات اخیر حاکی از آن است که کلم بروکلی به علّت غنی بودن از ترکیبات فیتوشیمیایی، دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند. فعالیت‌هایی که اغلب به انواع ویتامین‌ها، مواد معدنی، گلوکوزینولات‌ها، ایزوتیوسیانات‌ها و ترکیبات فنلی موجود در آن نسبت داده می‌شود (۱۱, ۱۰, ۹).

از آنجا که جوانه کلم بروکلی را می‌توان به دو صورت خام و پخته تهیه نمود، لازم است تا تأثیر فرآیند پخت و پز بر روی ترکیبات فعال موجود در قسمت‌های مختلف آن مورد بررسی قرار گیرد، فرآیندهایی که می‌تواند منجر به تغییر در فعالیت ترکیبات زیستی موجود در آن گردد. در طی مطالعه‌ای مشخص شد که عصاره متانولی گلچه‌های پخته کلم بروکلی، در شرایط *in vitro* اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی را از خود نشان می‌دهد، در صورتی که عصاره خام اثرات ضدمیکروبی چشمگیری را از خود به نمایش نگذاشت (۱۲). به نظر می‌رسد چندین عامل مهم، از جمله انتخاب روش‌های متفاوت پخت و پز، استفاده از قسمت‌های مختلف گیاه مانند گل، ساقه، برگ و همچنین تفاوت در ماهیت شیمیایی و روش‌های بررسی، به طور قابل توجهی بر فعالیت ضدمیکروبی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و یا میزان ترکیبات زیست فعال مانند فنل‌ها و فلاونوئیدهای موجود در کلم بروکلی تأثیر می‌گذارد که می‌تواند منجر به کاهش، ثبات و یا افزایش میزان آن‌ها شود. در مطالعه‌ای که توسط Wu و همکاران صورت پذیرفت مشخص شد که پختن کلم بروکلی به روش جوشاندن منجر به از دست رفتن قابل توجهی از فلاونوئیدها می‌شود، در حالی که روش‌های دیگر مانند بخارپز کردن و یا استفاده از مایکروویو سبب حفظ میزان فلاونوییدها و حتی افزایش میزان آزادسازی آن‌ها در عصاره می‌گردد (۱۳). در مطالعه حاضر، برای نخستین بار فعالیت‌های بیولوژیکی عصاره‌های جوانه‌ی خام و پخته کلم بروکلی مورد مقایسه قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره جوانه خام و مقایسه فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن با عصاره‌ی جوانه پخته شده کلم بروکلی می‌باشد.

روش تحقیق

تهیه عصاره جوانه خام کلم بروکلی

بذرهای کلم بروکلی از مرکز جهاد کشاورزی استان مازندران تهیه شد. جهت تهیه جوانه کلم بروکلی، ابتدا بذرهای کلم بروکلی به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در آب مقطر غوطه ور شدند و سپس به صورت وارونه در شرایط تاریکی قرار گرفتند. در مرحله بعد جوانه‌های رشد یافته توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک شده و کاملا پودر شدند. در ادامه جهت تهیه عصاره جوانه، ۱ گرم از پودر به دست آمده با ۲۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ ترکیب شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد. سپس ترکیب حاصله با کاغذ صافی شماره ۱ فیلتر شده و در مرحله بعدی، حلال توسط دستگاه روتاری تحت خلا (RV 10 Digital V_Cساخت آلمان) از عصاره جداسازی گردید (۱۴). عصاره به

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد منجمد و سپس توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تهیه عصاره جوانه پخته کلم بروکلی

جهت تهیه عصاره جوانه پخته، ۵۰ گرم از جوانه‌های ۳ روزه کلم بروکلی درون یک کیسه زیپ دار قابل انعطاف قرار گرفته و هوای داخل آن کاملا تخلیه شد. سپس کیسه زیپ دار داخل دستگاه حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ دقیقه قرار گرفت (۱۲). در مرحله بعدی جوانه‌های بروکلی بخار پز شده، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد منجمد شد و سپس توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک شدند. فرآیند عصاره‌گیری نیز طبق روش بالا انجام گرفت.

بررسی میزان سولفورافان موجود در عصاره جوانه خام بروکلی از طریق HPLC

به منظور تعیین سولفورافان موجود در جوانه‌های خام بروکلی، محلول الکلی مشابه روش بیان شده در بخش قبل، تهیه و با روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا آزمایش شد (۱۵). در این پژوهش از دستگاه کروماتوگرافی (waters 1525 ساخت امریکا) با ستون کروماتوگرافی فاز معکوس (Spherisorb C8 columns) به طول ۲۵۰ و قطر ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات پایه ۵ میکرومتر استفاده گردید. به طور خلاصه ۱۰ میکرولیتر از محلول الکلی عصاره جوانه خام بروکلی بعد از فیلتر کردن توسط فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به دستگاه کروماتوگرافی تزریق شد. از سامانه گرادیان حلال حاوی آب و استونیتریل با نسبت اولیه (v/v ۶۰/۴۰) به عنوان فاز متحرک استفاده شد. شدت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه و آشکارساز در طول موج ۲۴۲ نانومتر تنظیم گردید. جهت رسم منحنی کالیبراسیون نیز، ۲۰ میکرولیتر از استانداردهای سولفورافان تهیه شده در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دستگاه HPLC تزریق شد.

اندازه‌گیری محتوای فنل و فلاونوئید کل عصاره‌های جوانه خام و پخته

جهت تعیین میزان فلاونوئید عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. بدین منظور، ۵۰۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها با ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪ و ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار ترکیب و در ادامه به آن چهار هزار و سیصد میکرولیتر اتانول ۸۰٪ اضافه شد تا به حجم نهایی پنج هزار میکرولیتر برسد. ترکیب نهایی ورتکس شده و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس، جذب محلول حاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک مشخص گردید. منحنی استاندارد کوئرستین نیز در غلظت‌های مختلف (۱، ۲/۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) تهیه شد.

جهت سنجش میزان فنل کل عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی از روش فولین–سیوکالتو[1] به شیوه‌ی طیف سنجی استفاده شد. در ابتدا، ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها با ۵۰ میکرولیتر فولین سیوکالتو یک مولار مخلوط گردید و سپس به آن ۱/۸۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد. آن گاه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰٪ به ترکیب فوق اضافه شده و محلول حاصله مجددا ورتکس گردید. در این مرحله ۱/۷ میلی‌لیتر آب دیونیزه به ترکیب بالا اضافه شده تا حجم نهایی به چهار هزار میکرولیتر برسد، ترکیب نهایی مجددا ورتکس شده و به مدت ۹۰ دقیقه در شرایط تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. در مرحله نهایی جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت و براساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک بیان گردید. همچنین منحنی استاندارد گالیک اسید در غلظت‌های مختلف (۱، ۲/۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد.

[1] Folin–Ciocalteu

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش جذب رادیکال آزاد DPPH

جهت سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، یک میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره جوانه خام و پخته (۲/۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را با یک میلی‌لیتر از محلول DPPH (۵۰ میکرومولار) مخلوط کرده و در ادامه حجم نهایی محلول با متانول به چهار میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعدی محتوای فالکون‌ها همگن شده و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج فرابنفش-مرئی (UV/Vis) قرائت گردید (۱۶). میزان فعالیت مهارکنندگی هر یک از عصاره‌ها نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{میزان مهار رادیکال‌های آزاد (٪)} = \frac{A_D - A_S}{A_D} \times ۱۰۰$$

که در آن A_D جذب نمونه کنترل و A_s جذب نمونه عصاره است.

بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی

فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها با استفاده از روش انتشار دیسک[1] طبق استاندارد (CLSI M02-A11) تعیین گردید (۱۷). جهت ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های به دست آمده، از ۳ سویه باکتری *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)، *Bacillus cereus* (PTCC 1015)، *Escherichia coli* (PTCC 1399) و ۲ سویه بالینی *Enterococcus faecalis* و *Listeria monocytogenes* استفاده شد. به طور خلاصه سوسپانسیون‌های باکتریایی رشد یافته درون محیط کشت نوترینت براث، بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) پخش شد و پس از قرار دادن دیسک‌های کاغذی استریل روی سطح، میزان مشخصی از عصاره جوانه خام و پخته بروکلی با غلظت‌های مختلف (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به دیسک‌ها اضافه گردید. سپس پلیت‌ها درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای مدت زمان ۲۴ ساعت قرار گرفت. در این پژوهش، آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم بر دیسک) و وانکومایسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک) نیز به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد. قدرت ضدباکتریایی عصاره‌ها بر اساس قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها به چهار سطح غیرفعال (inactive) (تا ۱۲ میلی‌متر)، متوسط (moderately active) (۱۵-۱۲میلی‌متر)، فعال (active) (۲۱-۱۶ میلی‌متر) و بسیار فعال (highly active) (بالاتر از ۱۸ میلی‌متر) طبقه بندی شدند (۱).

تعیین حداقل غلظت مهاری رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

حداقل غلظت مهاری رشد (MIC) از طریق روش ماکرودایلوشن براث (Broth Macro dilution) طبق استاندارد (CLSI M07-A8) تعیین گردید. برای این منظور، ابتدا سوسپانسیون‌های باکتریایی هر کدام از سویه‌ها مطابق استاندارد ۰/۵ مک فارلند ($۱۰^۸$ CFU/mL) در محیط کشت نوترینت براث تهیه شده و پس از رقت سازی تا $۱۰^۶$ CFU/mL در لوله‌های آزمایش استریل توزیع گردید. سپس حجم معین از رقت‌های دو برابری عصاره جوانه کلم بروکلی (۰/۱ تا ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به آن اضافه شد و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرم خانه گذاری گردید. همچنین آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۰/۱ میلی‌گرم در میلی لیتر) نیز به عنوان شاهد انتخاب گردید. غلظتی که در آن هیچ کدورتی ناشی از رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان غلظت MIC در نظر گرفته شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) نیز مقدار ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های فاقد کدورت، بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت گرم خانه‌گذاری، کمترین غلظتی که توانست ۹۹/۹٪ باکتری‌ها را از بین ببرد به عنوان غلظت MBC تعیین شد (۱, ۱۸).

عصاره‌های گیاهی که میزان MIC آن‌ها کمتر از ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است، فعالیت ضدمیکروبی بالایی (highly active) را از خود به نمایش می‌گذارند و MIC های بین ۰/۵ تا ۱

[1] Disk diffusion

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

میلی‌گرم در میلی لیتر فعال (active) در نظر گرفته می‌شوند. همچنین MIC های بین ۱ تا ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از فعالیت ضدمیکروبی ضعیف تری برخوردار هستند و MIC های بالای ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز غیرفعال (inactive) در نظر گرفته می‌شوند (۱).

آنالیز آماری

جهت تحلیل داده‌های خام به‌دست آمده بنا به نیاز از نرم‌افزارهای SPSS 26 و Graph Pad Prism 9 استفاده شد. اختلاف معنی‌دار توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) از طریق آزمون تعقیبی چند دامنه دانکن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به صورت انحراف استاندارد ± میانگین (Mean±SD) گزارش شد. از نظر آماری نیز مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار محسوب گردید (P<۰/۰۵).

مطالعه حاضر پس از تأیید کمیته اخلاق دانشگاه با کد Ir.ausmt.rec.1398.11.33 انجام شد.

یافته‌ها

تعیین میزان سولفورافان موجود در عصاره‌ی جوانه خام کلم بروکلی

به منظور تعیین کیفی سولفورافان موجود در عصاره‌ی جوانه کلم بروکلی، سولفورافان استاندارد در غلظت‌های ذکر شده به دستگاه کروماتوگرافی تزریق شد تا پیک استاندارد و زمان نگهداری نمونه در ستون مشخص گردد، سپس عصاره جوانه بروکلی در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به ستون کروماتوگرافی تزریق گردید.

غلظت‌های متفاوت سولفورافان استاندارد یک طیف واحد در بازه زمانی ۰/۳± ۱۲/۵۳ دقیقه را از خود به نمایش گذاشتند (جدول ۱). از این رو تعیین کیفی سولفورافان موجود در عصاره از طریق مقایسه زمان بازداری آن با زمان بازداری سولفورافان استاندارد خالص انجام و توسط طیف‌های مشخصه به‌دست آمده از آشکارساز شناسایی گردید (تصویر۱). با توجه به معادله کالیبراسیون به دست آمده از غلظت‌های مختلف سولفورافان استاندارد نیز، غلظت سولفورافان موجود در عصاره جوانه خام بروکلی، ۷۸۷/۴۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد.

محتوای فنل و فلاونوئید کل عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی

میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی به ترتیب ۱/۹۷± ۲۵/۷۵ و ۱/۸± ۲۴/۲۴ میلی‌گرم گالیک اسید به ازای گرم ماده خشک و میزان فلاونوئید کل عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی به ترتیب ۱/۰۲ ± ۳۰/۷۸۳ و ۱/۳۵ ± ۳۳/۴۱۶ میلی‌گرم کوئرستین به ازای گرم ماده خشک به دست آمده است.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش جذب رادیکال آزاد DPPH

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی به روش جذب رادیکال آزاد DPPH نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها وابسته به غلظت افزایش می‌یابد. عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری را از خود به نمایش گذاشتند، به طوری که بیشترین مهار رادیکال آزاد DPPH برای عصاره‌های جوانه خام و پخته به ترتیب ۹۵/۳۸٪ و ۹۴/۹۰٪ در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به دست آمد. مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی در تصویر ۲ آمده است.

فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی

اثر ضـــدباکتریایی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که عصاره جوانه پخته کلم بروکلی اثرات ضدباکتریایی خوبی را در برابر گروه‌های مختلف باکتریایی از خود نشان داده است (جدول ۲-الف). در این میان، باکتری‌های گرم

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

مثبت *باسیلوس سرئوس* و گرم منفی *اشریشیا کلای* نسبت به غلظت‌های مختلف عصاره جوانه پخته حساس‌تر بوده، به طوری که هاله عدم رشد در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره به ترتیب با قطر ۰/۶± ۱۸و ۰/۶± ۱۷ میلی‌متر ایجاد شد. این درحالی است که فعالیت ضدباکتریایی عصاره جوانه خام کلم بروکلی در برابر اکثر گونه‌های باکتریایی مورد مطالعه غیرفعال بوده‌است، به طوری که هاله عدم رشد بر اساس طبقه بندی صورت گرفته تنها برای گونه باسیلوس سرئوس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در سطح متوسط مشاهده گردید (جدول۲-ب). همچنین با افزایش غلظت عصاره بر روی دیسک، اندازه قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت، چنانچه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره جوانه، بالاترین قطر هاله عدم رشد دیده شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که عصاره جوانه خام کلم بروکلی فعالیت ضدمیکروبی ندارد؛ امّا در اثر استفاده از فرایند حرارتی، این خاصیت بروز می کند.

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

میزان MIC و MBC عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی نیز در مقابل سویه‌های باکتریایی ذکر شده مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که عصاره جوانه پخته کلم بروکلی فعالیت بازدارندگی و کشندگی خوبی را در برابر باکتری‌ها از خود به نمایش گذاشته است. به گونه‌ای که کمترین مقدار MIC و MBC عصاره جوانه پخته بروکلی با بالاترین فعالیت ضدباکتریایی در برابر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و به ترتیب در غلظت‌های ۰/۳۹ و ۰/۷۸ میلی‌گرم بر میلی لیتر مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۱- مقایسه زمان بازداری و سطح زیر پیک غلظت‌های مختلف سولفورافان استاندارد با عصاره‌ی جوانه خام کلم بروکلی

	سولفورافان استاندارد خالص بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر				عصاره جوانه کلم بروکلی
	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۱۵۰۰	
زمان بازداری (دقیقه)	۱۲/۷۶۲	۱۲/۵۸۰	۱۲/۰۸۳	۱۲/۷۱۷	۱۲/۳۸۳
مساحت پیک	۱۱۸۴۲۰۳	۲۴۱۷۴۴۲	۴۷۹۰۰۵۰	۱۵۹۹۸۸۵۶	۸۵۸۶۴۸۳

جدول ۲-الف: قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره جوانه پخته کلم بروکلی و آنتی بیوتیک (بر حسب میلی‌متر)

باکتری	غلظت عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم بر میلی لیتر			آنتی بیوتیک	نوع آنتی بیوتیک
	۲/۵	۵	۱۰		
E.coli (PTCC 1399)	۱۲ ±۰/ ۲ ^{d}	۱۵ ±۰/ ۴ ^{c}	۱۷ ±۰/ ۶ ^{b}	۱۸ ±۰/۰	جنتامایسین (۱۰µg/disc)
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	۱۱ ±۰/ ۶ ^{de}	۱۵ ±۰/ ۶ ^{c}	۱۷ ±۰/ ۴ ^{b}	۲۰ ±۰/۰	وانکومایسین(۳۰µg/disc)
Bacillus cereus (PTCC 1015)	۱۲ ±۰/ ۴ ^{d}	۱۵ ±۰/ ۶ ^{c}	۱۸ ±۰/ ۶ ^{a}	۲۰ ±۰/۰	وانکومایسین
Enterococcus faecalis (بالینی)	۱۰ ±۰/ ۶ ^{ef}	۱۲ ±۰/ ۶ ^{d}	۱۵ ±۰/ ۷ ^{c}	۲۰ ±۰/۰	وانکومایسین
Listeria monocytogenes (بالینی)	۹ ±۰/ ۲ ^{f}	۱۱ ±۰/ ۴ ^{de}	۱۴ ±۰/ ۲ ^{c}	۱۸ ±۰/۰	وانکومایسین

* میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

جدول ۲-ب: قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره جوانه خام کلم بروکلی و آنتی بیوتیک (بر حسب میلی‌متر)

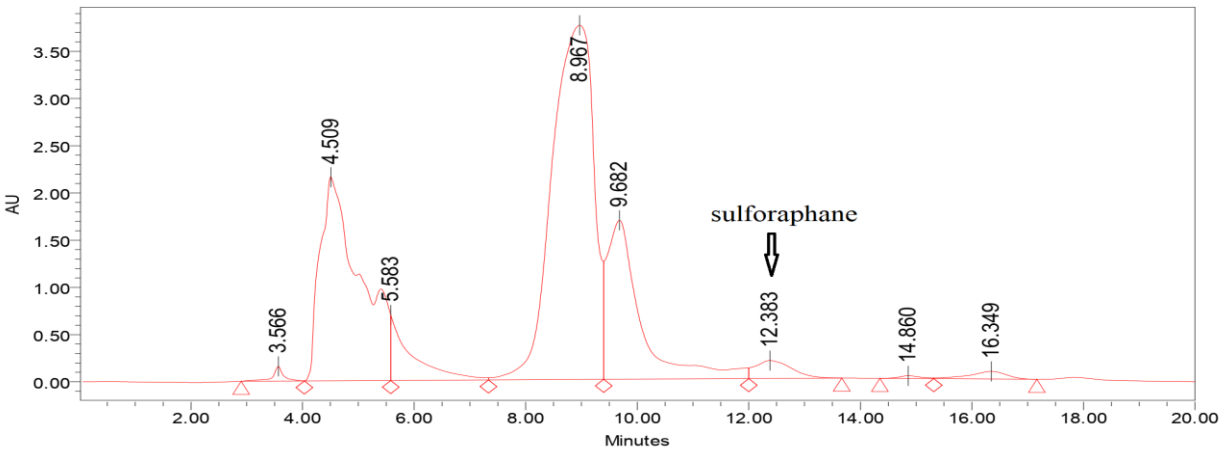
باکتری	غلظت عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم بر میلی لیتر			آنتی بیوتیک	نوع آنتی بیوتیک
	۲/۵	۵	۱۰		
E.coli (PTCC 1399)	۷ ±۰/ ۲ e	۸ ±۰/ ۲ d	۱۰ ±۰/ ۶ b	۱۸ ±۰/۰	جنتامایسین(۱۰µg/disc)
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	۰ ±۰/ ۰ f	۷ ±۰/ ۲ e	۷ ±۰/ ۲ e	۲۰ ±۰/۰	وانکومایسین(۳۰µg/disc)
Bacillus cereus (PTCC 1015)	۷ ±۰/ ۴ de	۹ ±۰/ ۲ c	۱۲ ±۰/ ۷ a	۲۰ ±۰/۰	وانکومایسین
Enterococcus faecalis	۰ ±۰/ ۰ f	۰ ±۰/ ۰ f	۰ ±۰/ ۰ f	۲۰ ±۰/۰	وانکومایسین
Listeria monocytogenes	۰ ±۰/ ۰ f	۰ ±۰/ ۰ f	۰ ±۰/ ۰ f	۱۸ ±۰/۰	وانکومایسین

* میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۳- حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی (بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر)

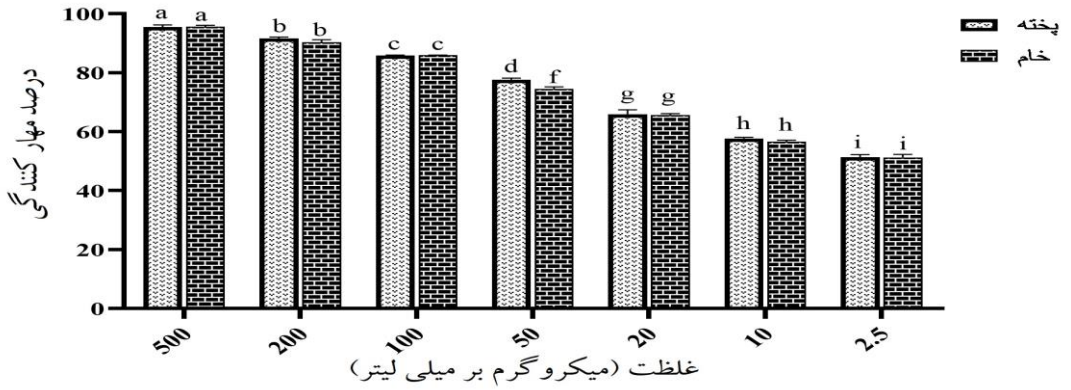
باکتری	عصاره جوانه پخته کلم بروکلی		عصاره جوانه خام کلم بروکلی	
	MIC	MBC	MIC	MBC
E.coli (PTCC 1399)	۰/۷۸ b	۱/۵۶ c	۶/۲۵ e	۱۲/۵ f
Staphylococcus aureus (ATCC 25923)	۰/۷۸ b	۱/۵۶ c	۱۲/۵ f	۲۵ g
Bacillus cereus (PTCC 1015)	۰/۳۹ a	۰/۷۸ b	۶/۲۵ e	۱۲/۵ f
Enterococcus faecalis (بالینی)	۱/۵۶ c	۳/۱۳ d	۲۵ g	> ۵۰ mg/mL h
Listeria monocytogenes (بالینی)	۳/۱۳ d	۶/۲۵ e	> ۵۰ mg/mL h	> ۵۰ mg/mL h

* میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.



تصویر ۱- کروماتوگرام عصاره جوانه خام کلم بروکلی

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]



نمودار ۱- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی (میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند)

بحث

در این پژوهش فعالیت ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره‌های جوانه پخته و خام کلم بروکلی مورد بررسی قرار گرفت. فنل‌ها و فلاونوئیدها گروهی مهم از این ترکیبات هستند که به صورت گسترده در سبزیجات چیلیپایی یافت می‌شوند. انواع و محتوای آن‌ها می‌تواند بسته به شرایط ذخیره سازی، مرحله رشد، قسمت‌های مختلف گیاه و روش پخت و پز متفاوت باشد. مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیبات می‌توانند خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را از خود به نمایش بگذارند. از این رو تعیین میزان کل فنل‌ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌های جوانه‌ی خام و پخته کلم بروکلی امری ضروری به حساب می‌آید (۲۰, ۱۹). نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی حاوی مقادیر قابل توجهی از فنل‌ها و فلاونوئیدها هستند. اگرچه میزان کل فلاونوئیدها بعد از فرآیند پخت و پز کمی افزایش پیدا کرده است؛ امّا تفاوت معناداری در بین نتایج به‌دست آمده از عصاره‌های جوانه پخته و خام وجود ندارد. این یافته‌ها تا حد زیادی با نتایج مطالعات گذشته همخوانی داشته است. در مطالعه‌ای که توسط Severini و همکاران بر روی گلچه‌های کلم بروکلی صورت گرفت مشخص شد که میزان کل ترکیبات فنلی پس از فرآیندهای پخت و پز تفاوت چندانی نیافته است (۲۱). Wu و همکاران نیز در طی مطالعه‌ای بر روی گلچه‌های بروکلی مشخص کردند که بخارپز کردن بروکلی می‌تواند باعث حفظ و یا حتی افزایش فلاونوییدهای آن شود، در حالی که پختن گلچه‌ها در آب جوش می تواند باعث از دست رفتن میزان قابل توجهی از این ترکیبات گردد (۱۳). بنابراین انتخاب روش پخت و پز مناسب می‌تواند مهم‌ترین عامل در حفظ ترکیبات زیستی موجود در کلم بروکلی تلقی شود.

از آنجا که ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها دارای توانایی بالقوه برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند، فعّالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی نیز توسط روش مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. رادیکال آزاد DPPH با پذیرش اتم هیدروژن از گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره، منجر به کاهش محتوای DPPH و تغییر رنگ محلول واکنش از بنفش تیره به زرد روشن می‌شود. نتایج بررسی حاکی از آن بود که عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی در غلظت‌های مختلف از خود به نمایش گذاشتند و فعالیت آن‌ها وابسته به غلظت افزایش یافت. همچنین طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی تنها در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشته‌است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جوانه خام و پخته را می‌توان متناسب با محتوای گلوکوزینولات و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دانست (۲۲).

بسیاری از عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات فعال زیستی در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی بالایی را از خود به نمایش گذاشته‌اند (۲۳). با این وجود اکثر پژوهش‌های صورت گرفته بر روی فعالیت‌های بیولوژیکی کلم بروکلی، متمرکز بر خواص آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی آن بوده است. اگرچه چندین مطالعه

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

فعالیت‌های ضدمیکروبی کلم بروکلی بر روی عوامل بیماری زا را مورد بررسی قرار داده‌اند (۲۵, ۲۴, ۱)؛ امّا تاکنون بررسی جامعی بر روی خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی در برابر عوامل بیماری‌زا صورت نگرفته است. علاوه بر این، نتایج برخی از مطالعات مقایسه‌ای که در مورد فعّالیت ضدباکتریایی سبزیجات رایج مانند گل کلم، بامیه، هویج و کلم سفید در برابر باکتری‌های بیماری‌زا انجام شده است، نشان داد که کلم بروکلی و گل کلم نسبت به سایر سبزیجات دارای فعالیت ضدباکتریایی بالاتری هستند (۲۳). مطالعه حاضر نیز نشان داد که عصاره‌ی جوانه پخته کلم بروکلی به طور قابل توجهی از رشد باکتری‌ها ممانعت می‌کند. در این باره، مطالعات گذشته نشان داده است که سولفورافان خالص دارای فعالیت ضدمیکروبی گسترده‌ای در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بوده است. باکتری‌هایی مانند *اشریشیا کلای* و *لیستریا مونوسایتوژنز*که با عفونت‌های دستگاه گوارش و مسمومیت‌های غذایی مرتبط هستند و می‌توانند مشکلات قابل توجهی برای انسان ایجاد کنند (۲۷, ۲۶).

باکتری *باسیلوس سرئوس* نیز یکی از پاتوژن‌های مهم مواد غذایی محسوب می‌شود که می‌تواند باعث آلودگی طیف گسترده‌ای از غذاها به خصوص فرآورده‌های لبنی شود و سبب ایجاد مسمومیت غذایی در افراد گردد (۲۸). در مطالعه حاضر نیز برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره جوانه پخته بروکلی، از پنج گونه باکتری مختلف استفاده شد. باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش، جز آن دسته از باکتری‌هایی‌اند که در برابر طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها از خود مقاومت نشان می دهند؛ لذا یافتن ترکیبات طبیعی مناسب با فعالیت ضدمیکروبی بالا می‌تواند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد (۲۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره جوانه پخته در مقایسه با عصاره جوانه خام فعالیت ضدمیکروبی بالاتری دارد؛ به طوری که بیشترین فعالیت را در مقابل باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلای* و گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* نشان داده است. همچنین فعالیت ضدمیکروبی عصاره جوانه پخته وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت عصاره بر روی دیسک‌ها، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. کمترین میزان هاله عدم رشد باکتری نیز مربوط به باکتری گرم مثبت *لیستریا مونوسایتوژنز* مشاهده شد. در مطالعه‌ای که Abukhabta و همکاران بر روی عصاره متانولی گلچه‌های پخته کلم بروکلی انجام دادند مشخص شد که به طور کلی باکتری‌های گرم منفی به استثنای گونه *باسیلوس سرئوس*، در برابر عصاره جوانه پخته بروکلی حساس‌تر بوده‌اند. احتمالاً حساسیت بالاتر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* نسبت به باکتری‌های گرم منفی می‌تواند ناشی از تفاوت در ویژگی‌های ساختاری و فیزیولوژیکی سلول باشد (۱۲). در مطالعه حاضر، اکثر گونه‌های باکتریایی، به‌جز گونه *باسیلوس سرئوس*، در برابر عصاره جوانه خام بروکلی کاملا مقاوم بوده‌اند. احتمال می‌رود که در عصاره جوانه پخته به علت استفاده از فرایند حرارتی، علاوه بر سولفورافان، ترکیبات زیست فعال دیگری آزاد شده‌اند که در نفوذ عصاره به درون سلول‌های میکروبی موثر واقع شده‌است (۱۲). تأثیر بهتر و بیشتر عصاره جوانه پخته کلم بروکلی بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و به خصوص ضدمیکروبی در مقایسه با سولفورافان خالص که در مطالعات پیشین مورد مطالعه قرار گرفته، حائز اهمیت بوده و بر نتایج به‌دست آمده در این پژوهش تأکید دارد؛ چرا که تهیه عصاره پخته نسبت به جداسازی و خالص‌سازی سولفورافان مقرون به صرفه‌تر و راحت‌تر است؛ بنابراین می‌توان از آن به عنوان یک ترکیب طبیعی مؤثر بازدارنده رشد میکروبی بهره جست. با این حال، برای ارزیابی دقیق سازوکارهایی که می‌توانند بر فعالیت ضدمیکروبی عصاره جوانه پخته کلم بروکلی مؤثر باشند، لازم است تا تحقیقات بیشتری صورت گیرد. پیشنهاد می‌شود که اثر تیمارهای مختلف حرارتی بر روی عصاره کلم بروکلی به عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بررسی شود. همچنین جهت بررسی دقیق مکانیسم‌های دخیل در فعالیت ضدمیکروبی عصاره در شرایط آزمایشگاهی و نیز سایر فعالیت‌های بیولوژیکی عصاره مانند خاصیت ضدسرطانی آن، لازم است تا در آینده تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، عصاره‌های جوانه پخته و خام کلم بروکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری را در غلظت‌های مختلف از خود نشان دادند؛ علاوه بر این فعالیت‌های ضدباکتریایی قابل توجه عصاره جوانه پخته بروکلی غنی از سولفورافان در برابر باکتری‌های مورد مطالعه نشان داد که این ترکیبات به دلیل فعالیت‌های زیستی بالقوه، می‌توانند به عنوان یک منبع ارزشمند غذایی و یا فراورده‌های بهداشتی و درمانی درنظر گرفته شوند.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

تقدیر و تشکّر

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجو با کد رهگیری ۱۵۸۶۳۴۱ بوده و از دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکّر و قدردانی به عمل می‌آید.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع:

1- Le TN, Luong HQ, Li HP, Chiu CH, Hsieh PC. Broccoli (*Brassica oleracea L. var. italica*) sprouts as the potential food source for bioactive properties: a comprehensive study on in vitro disease models. Foods. 2019; 8(11): 532. DOI: 10.3390/foods8110532

2- Subedi L, Cho K, Park YU, Choi HJ, Kim SY. Sulforaphane-enriched broccoli sprouts pretreated by pulsed electric fields reduces neuroinflammation and ameliorates scopolamine-induced amnesia in mouse brain through its antioxidant ability via Nrf2-HO-1 activation. Oxid Med Cell Longev. 2019; 2019. DOI: 10.1155/2019/3549274

3- Vale AP, Santos J, Melia N, Peixoto V, Brito NV, Oliveira MB. Phytochemical composition and antimicrobial properties of four varieties of Brassica oleracea sprouts. Food Control. 2015; 55: 248-56. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.01.051

4- Cartea ME, Francisco M, Soengas P, Velasco P. Phenolic compounds in Brassica vegetables. Molecules. 2011; 16(1): 251-80. DOI: 10.3390/molecules16010251

5- Palliyaguru DL, Yuan JM, Kensler TW, Fahey JW. Isothiocyanates: Translating the power of plants to people. Mol Nutr Food Res. 2018; 62(18): 1700965. DOI: 10.1002/mnfr.201700965

6- Fahey JW, Wade KL, Stephenson KK, Panjwani AA, Liu H, Cornblatt G, et al. Bioavailability of sulforaphane following ingestion of glucoraphanin-rich broccoli sprout and seed extracts with active myrosinase: A pilot study of the effects of proton pump inhibitor administration. Nutrients. 2019; 11(7): 1489. DOI: 10.3390/nu11071489

7- Aires A, Mota VR, Saavedra MJ, Rosa EA, Bennett RN. The antimicrobial effects of glucosinolates and their respective enzymatic hydrolysis products on bacteria isolated from the human intestinal tract. J Appl Microbiol. 2009; 106(6): 2086-95. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04180.x

8- Juge N, Mithen RF, Traka M. Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review. Cell Mol Life Sci. 2007; 64(9): 1105-27. DOI: 10.1007/s00018-007-6484-5

9- Moreira-Rodríguez M, Nair V, Benavides J, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velázquez DA. UVA, UVB light, and methyl jasmonate, alone or combined, redirect the biosynthesis of glucosinolates, phenolics, carotenoids, and chlorophylls in broccoli sprouts. Int J Mol Sci. 2017; 18(11): 2330. DOI: 10.3390/ijms18112330

10- Baenas N, Gómez-Jodar I, Moreno DA, García-Viguera C, Periago PM. Broccoli and radish sprouts are safe and rich in bioactive phytochemicals. Postharvest Biol Technol. 2017 1; 127: 60-7. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2017.01.010

11- Castillejo N, Martínez-Zamora L, Gómez PA, Pennisi G, Crepaldi A, Fernández JA, et al. Postharvest LED lighting: effect of r ed, b lue and f ar r ed on quality of minimally processed broccoli sprouts. J Sci Food Agric. 2021; 101(1): 44-53. DOI: 10.1002/jsfa.10820

12- Abukhabta S, Ghawi SK, Karatzas KA, Charalampopoulos D, McDougall G, Allwood JW, et al. Sulforaphane-enriched extracts from glucoraphanin-rich broccoli exert antimicrobial activity against gut pathogens in vitro and innovative cooking methods increase in vivo intestinal delivery of sulforaphane. Eur J Nutr. 2021; 60(3): 1263-1276. . DOI: 10.1007/s00394-020-02322-0

13- Wu X, Zhao Y, Haytowitz DB, Chen P, Pehrsson PR. Effects of domestic cooking on flavonoids in broccoli and calculation of retention factors. Heliyon. 2019; 5(3): e01310. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01310

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]

14- Sadeghi AR, Pourahmad R, Mokhtare M. Enrichment of probiotic yogurt with broccoli sprout extract and its effect on Helicobacter pylori. Appl Food Biotechnol. 2017; 4(1): 53-7 DOI: 10.22037/afb.v4i1.13828

15- Ke YY, Shyu YT, Wu SJ. Evaluating the Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Broccoli Treated with High Hydrostatic Pressure in Cell Models. Foods. 2021; 10(1): 167. DOI: 10.3390/foods10010167

16- Shabaani M, Rahaiee S, Zare M. Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of Biosynthesized Zinc oxide Nanoparticles using Aqueous Extract of Eriobotrya Japonica Seeds. J Ilam Univ Med Sci. 2020; 28(5): 21-32. DOI: 10.29252/sjimu.28.5.21

17- CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012. Link

18- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. CLSI document M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Link

19- Paśko P, Tyszka-Czochara M, Galanty A, Gdula-Argasińska J, Żmudzki P, Bartoń H, et al. Comparative study of predominant phytochemical compounds and proapoptotic potential of broccoli sprouts and florets. Plant Foods Hum Nutr. 2018; 73(2): 95-100. DOI: 10.1007/s11130-018-0665-2

20- de la Fuente B, López-García G, Máñez V, Alegría A, Barberá R, Cilla A. Evaluation of the bioaccessibility of antioxidant bioactive compounds and minerals of four genotypes of Brassicaceae microgreens. Foods. 2019; 8(7): 250. DOI: 10.3390/foods8070250

21- Severini C, Giuliani R, De Filippis A, Derossi A, De Pilli T. Influence of different blanching methods on colour, ascorbic acid and phenolics content of broccoli. J Food Sci Technol. 2016 1; 53(1):501-10. DOI: 10.1007/s13197-015-1878-0

22- Hwang ES. Effect of cooking method on antioxidant compound contents in cauliflower. Prev Nutr Food Sci.. 2019; 24(2): 210. DOI: 10.3746/pnf.2019.24.2.210

23- Hinds L, Kenny O, Hossain MB, Walsh D, Sheehy E, Evans P, et al. Evaluating the antibacterial properties of polyacetylene and glucosinolate compounds with further identification of their presence within various carrot (Daucus carota) and Broccoli (*Brassica oleracea*) cultivars using high-performance liquid chromatography with a diode array detector and ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry analyses. J Agric Food Chem. 2017; 65(33):7186-91. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02029

24- Pacheco-Cano RD, Salcedo-Hernández R, López-Meza JE, Bideshi DK, Barboza-Corona JE. Antimicrobial activity of broccoli (*Brassica oleracea var. italica*) cultivar Avenger against pathogenic bacteria, phytopathogenic filamentous fungi and yeast. J Appl Microbiol. 2018; 124(1):126-35. DOI: 10.1111/jam.13629

25- Sanz-Puig M, Pina-Pérez MC, Criado MN, Rodrigo D, Martínez-López A. Antimicrobial potential of cauliflower, broccoli, and okara byproducts against foodborne bacteria. Foodborne Pathog Dis. 2015 1; 12(1): 39-46. DOI: 10.1089/fpd.2014.1801

26- Saavedra MJ, Dias CS, Martinez-Murcia A, Bennett RN, Aires A, Rosa EA. Antibacterial effects of glucosinolate-derived hydrolysis products against enterobacteriaceae and enterococci isolated from pig ileum segments. Foodborne Pathog Dis. 2012; 9(4): 338-45. DOI: 10.1089/fpd.2011.1035

27- Nowicki D, Rodzik O, Herman-Antosiewicz A, Szalewska-Pałasz A. Isothiocyanates as effective agents against enterohemorrhagic Escherichia coli: insight to the mode of action. Sci Rep. 2016; 6(1): 1-2. DOI: 10.1038/srep22263

28- Le Lay J, Bahloul H, Sérino S, Jobin M, Schmitt P. Reducing activity, glucose metabolism and acid tolerance response of Bacillus cereus grown at various pH and oxydo-reduction potential levels. Food Microbiol. 2015; 46: 314-21. DOI: 10.1016/j.fm.2014.07.007

29- Adzitey F, Ekli R, Abu A. Prevalence and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus isolated from raw and grilled beef in Nyankpala community in the Northern Region of Ghana. Cogent food agric. 2019; 5(1): 1671115. DOI: 10.1080/23311932.2019.1671115

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102]