

Original Article

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

Saeed Ghanbari Hassan Kiadeh¹, Somayeh Rahaiee^{1*}, Hossein Azizi², Mostafa Govahi²

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
236

Fax: +9811-44154265

E-mail: S.rahaiee@ausmt.ac.ir

بررسی فعالیت‌های 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 ضد میکروبی خوبی را از خود به نمایش گذاشت ($P < 0.05$)، به گونه‌ای که بیشترین میزان هاله عدم رشد با قطر 18 ± 0.6 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: فعالیت ضدباکتریایی، فعالیت 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 نمایر: ۴۴۱۵۴۲۶۵ - ۰۱۱ پست الکترونیکی: S.rahaiee@ausmt.ac.ir

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 جوانه های کلم بروکلی طیف گسترده ای از ظرفیت های بیولوژیکی شامل فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد دیابتی را از خود نشان داده است (۱، ۲). اثرات مثبتی که عمدتاً به ترکیبات شیمیایی فعال مانند اسیدهای هیدروکسی سینامیک، فلاونوئیدها (به عنوان مثال کوئرستین و میریستین)، کاروتنوئیدها و گلوکوزینولات ها (به عنوان مثال گلوکورافانین) نسبت داده می شود (۳، ۴). ایزوتیوسیانات ها نیز در واقع اشکال فعال گلوکوزینولات ها هستند که در رأس آن ها ترکیب زیستی فعالی به نام سولفورافان قرار دارد که با عملکرد آنزیم میروسیناز تولید و با خرد شدن یا جویدن بافت گیاه آزاد می شود (۵). در سال های اخیر، بذر و به خصوص جوانه های کلم بروکلی به دلیل داشتن مقادیر بالاتری از گلوکورافانین و سولفورافان نسبت به سایر قسمت های گیاه، مورد توجه زیادی قرار گرفته اند (۶). ترکیب زیستی سولفورافان، فعالیت ضدباکتریایی خوبی را در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری زا و باکتری ها از جمله *لیستریا مونوسیتوژنز*، *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 علت غنی بودن از ترکیبات فیتوشیمیایی، دارای فعالیت های آنتی اکسیدانی بالایی هستند. فعالیت هایی که اغلب به انواع ویتامین ها، مواد معدنی، گلوکوزینولات ها، ایزوتیوسیانات ها و ترکیبات فنلی موجود در آن نسبت داده می شود (۹، ۱۰، ۱۱).

از آنجا که جوانه کلم بروکلی را می توان به دو صورت خام و پخته تهیه نمود، لازم است تا تأثیر فرآیند پخت و پز بر روی ترکیبات فعال موجود در قسمت های مختلف آن مورد بررسی قرار گیرد، فرآیندهایی که می تواند منجر به تغییر در فعالیت ترکیبات زیستی موجود در آن گردد. در طی مطالعه ای مشخص شد که عصاره متانولی گلچپه های پخته کلم بروکلی، در شرایط *in vitro* اثرات ضد میکروبی قابل توجهی را از خود نشان می دهد، در صورتی

که عصاره خام اثرات ضد میکروبی چشمگیری را از خود به نمایش نگذاشت (۱۲). به نظر می رسد چندین عامل مهم، از جمله انتخاب روش های متفاوت پخت و پز، استفاده از قسمت های مختلف گیاه مانند گل، ساقه، برگ و همچنین تفاوت در ماهیت شیمیایی و روش های بررسی، به طور قابل توجهی بر فعالیت ضد میکروبی و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره و یا میزان ترکیبات زیست فعال مانند فنل ها و فلاونوئیدهای موجود در کلم بروکلی تأثیر می گذارد که می تواند منجر به کاهش، ثبات و یا افزایش میزان آن ها شود. در مطالعه ای 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 می شود، در حالی که روش های دیگر مانند بخارپز کردن و یا استفاده از مایکروویو سبب حفظ میزان فلاونوئیدها و حتی افزایش میزان آزادسازی آن ها در عصاره می گردد (۱۳). در مطالعه حاضر، برای نخستین بار فعالیت های بیولوژیکی عصاره های جوانه ی 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 فعالیت های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن با عصاره ی جوانه پخته شده کلم بروکلی می باشد.

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 جوانه های رشد یافته توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک شده و کاملاً 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_C ساخت آلمان) از عصاره جداسازی گردید (۱۴). عصاره به

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 اندازه‌گیری 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 میلی‌لیتر) تهیه شد.

جهت سنجش میزان فنل کل عصاره‌های جوانه خام و پخته بروکلی از روش فولین-سیوکالتو^۱ 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 مجدداً 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 مجدداً 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.

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 کاملاً 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 (۷/۷) (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 میلی‌لیتر به دستگاه HPLC تزریق شد.

¹ Folin-Ciocalteu

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش جذب رادیکال آزاد DPPH

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

فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{A_D - A_S}{A_D} \times 100 = \text{میزان مهار رادیکال های آزاد (\%)} \quad (1)$$

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

بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره های جوانه خام و پخته کلم بروکلی

فعالیت ضدباکتریایی عصاره ها با استفاده از روش انتشار دیسک^۱ طبق استاندارد (CLSI M02-A11) تعیین گردید (۱۷). جهت ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره های به دست آمده، از ۳ سویه باکتری (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)، *Bacillus cereus* (PTCC 1399)، *Escherichia coli* و ۲ سویه بالینی *Enterococcus faecalis* و *Listeria monocytogenes* استفاده شد. به طور خلاصه سوسپانسیون های باکتریایی رشد یافته درون محیط کشت نوترینت براث، بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک آلمان) پخش شد و پس از قرار دادن دیسک های کاغذی استریل روی سطح، میزان مشخصی از عصاره جوانه خام و پخته بروکلی با غلظت های مختلف (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر) به دیسک ها اضافه گردید. سپس پلیت ها درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه

¹ Disk diffusion

سانتیگراد برای مدت زمان ۲۴ ساعت قرار گرفت. در این پژوهش، آنتی بیوتیک های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم بر دیسک) و وانکوماپسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک) نیز به عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد. قدرت ضدباکتریایی عصاره ها بر اساس قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک ها به چهار سطح غیرفعال (inactive) (تا ۱۲ میلی متر)، متوسط (moderately active) (۱۵-۱۲ میلی متر)، فعال (active) (۲۱-۱۶ میلی متر) و بسیار فعال (highly active) (بالتر از ۱۸ میلی متر) طبقه بندی شدند (۱).

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

حداقل غلظت مهاری رشد (MIC) از طریق روش ماکرودیلوشن براث (Broth Macro dilution) طبق استاندارد (CLSI M07-A8) تعیین گردید. برای این منظور، ابتدا سوسپانسیون های باکتریایی هر کدام از سویه ها مطابق استاندارد ۰/۵ مک فارلند (10^8 CFU/mL) در محیط کشت نوترینت براث تهیه شده و پس از رقت سازی تا 10^6 CFU/mL در لوله های آزمایش استریل توزیع گردید. سپس حجم معین از رقت های دو برابری عصاره جوانه کلم بروکلی (۰/۱ تا ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) 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 میلی گرم 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 غلظت های فاقد کدورت، بر روی پلیت های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت گرم خانه گذاری، کمترین غلظتی که توانست ۹۹/۹٪ باکتری ها را از بین ببرد به عنوان غلظت MBC تعیین شد (۱، ۱۸).

عصاره های گیاهی که میزان MIC آن ها کمتر از ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر است، فعالیت ضد میکروبی بالایی (highly active) را از خود به نمایش می گذارند و MIC های بین ۰/۵ تا ۱

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 $11/97 \pm 25/75$ و $24/24 \pm 1/8$ میلی‌گرم گالیک اسید به ازای گرم ماده خشک و میزان فلاونوئید کل عصاره‌های جوانه خام و پخته کلم بروکلی به ترتیب $1/02 \pm 30/783$ و $1/35 \pm 33/416$ 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 ضدباکتریایی 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

میلی‌گرم در میلی‌لیتر فعال (active) در نظر گرفته می‌شوند. همچنین MIC های بین ۱ تا ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از فعالیت ضد میکروبی 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 به دست 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 $\pm$ میانگین (Mean $\pm$ SD) گزارش شد. از نظر آماری نیز مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار محسوب گردید ($P < 0/05$).

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 $12/53 \pm 0/3$ 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 به دست آمده از آشکارساز شناسایی گردید (تصویر ۱). با توجه به معادله کالیبراسیون به دست آمده از غلظت‌های مختلف سولفورافان استاندارد نیز، غلظت

مثبت باسیلوس سرئوس و گرم منفی /شریشیا کلای نسبت به غلظت های مختلف عصاره جوانه پخته حساس تر بوده، به طوری که هاله عدم رشد در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به ترتیب با قطر 18 ± 0.6 و 17 ± 0.6 میلی متر ایجاد شد. این درحالی است که فعالیت ضدباکتریایی عصاره جوانه خام کلم بروکلی در برابر اکثر گونه های باکتریایی مورد مطالعه غیرفعال بوده است، به طوری که هاله عدم رشد بر اساس طبقه بندی صورت گرفته تنها برای گونه باسیلوس سرئوس در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر و در سطح متوسط مشاهده گردید (جدول ۲-ب). همچنین با افزایش غلظت عصاره بر روی دیسک، اندازه قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت، چنانچه در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره جوانه، بالاترین قطر هاله عدم رشد دیده شد. نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که عصاره جوانه خام کلم بروکلی فعالیت ضد میکروبی ندارد؛ اما

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 عصاره های جوانه خام و پخته بروکلی نیز در مقابل سویه های 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 باکتری ها از خود به نمایش گذاشته است. به گونه ای 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 غلظت های 0.39 و 0.78 میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۱- مقایسه زمان بازداري و سطح زیر پیک غلظت های مختلف سولفورافان استاندارد با عصاره ی جوانه خام کلم بروکلی

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

جدول ۲-الف: قطر هاله عدم رشد باکتری ها در مقابل غلظت های مختلف عصاره جوانه پخته کلم بروکلی و آنتی بیوتیک (بر حسب میلی متر)

باکتری	غلظت عصاره ها بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر			آنتی بیوتیک	نوع آنتی بیوتیک
	۲/۵	۵	۱۰		
<i>E.coli</i> (PTCC 1399)	12 ± 0.2^d	15 ± 0.4^c	17 ± 0.6^b	18 ± 0.0	جنتامایسین ($10 \mu\text{g}/\text{disc}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	11 ± 0.6^{de}	15 ± 0.6^c	17 ± 0.4^b	20 ± 0.0	وانکومایسین ($30 \mu\text{g}/\text{disc}$)
<i>Bacillus cereus</i> (PTCC 1015)	12 ± 0.4^d	15 ± 0.6^c	18 ± 0.6^a	20 ± 0.0	وانکومایسین
<i>Enterococcus faecalis</i> (بالینی)	10 ± 0.6^{ef}	12 ± 0.6^d	15 ± 0.7^c	20 ± 0.0	وانکومایسین
<i>Listeria monocytogenes</i> (بالینی)	9 ± 0.2^f	11 ± 0.4^{de}	14 ± 0.2^c	18 ± 0.0	وانکومایسین

* میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه ی دانکن در سطح 0.05 تفاوت معنی داری ندارند.

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

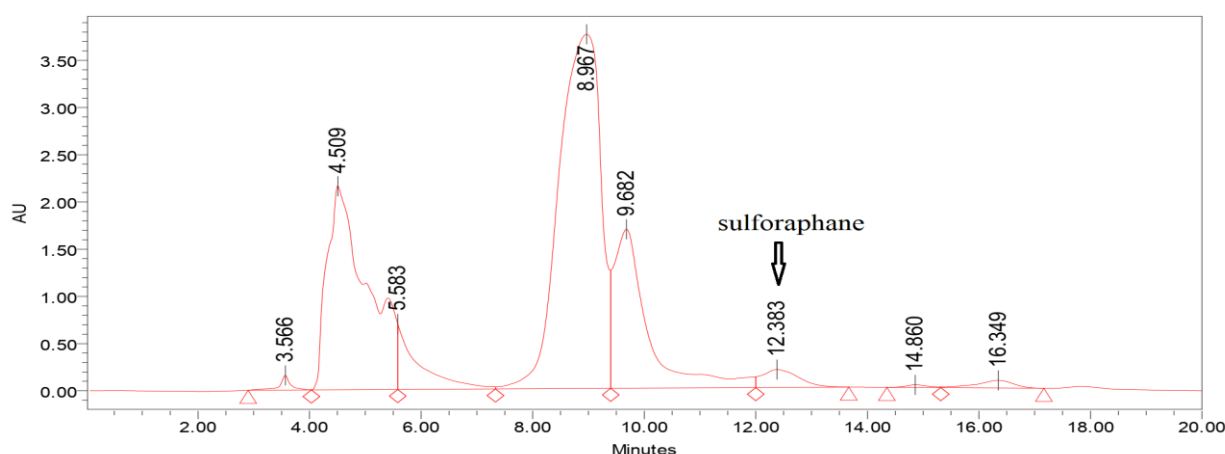
نوع آنتی بیوتیک	آنتی بیوتیک	غلظت عصاره‌ها بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر			باکتری
		۱۰	۵	۲/۵	
چنتامایسین (۱۰µg/disc)	۱۸ ± ۰/۰	۱۰ ± ۰/۶ ^b	۸ ± ۰/۲ ^d	۷ ± ۰/۲ ^e	<i>E.coli</i> (PTCC 1399)
وانکومایسین (۳۰µg/disc)	۲۰ ± ۰/۰	۷ ± ۰/۲ ^e	۷ ± ۰/۲ ^e	۰ ± ۰/۰ ^f	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
وانکومایسین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

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

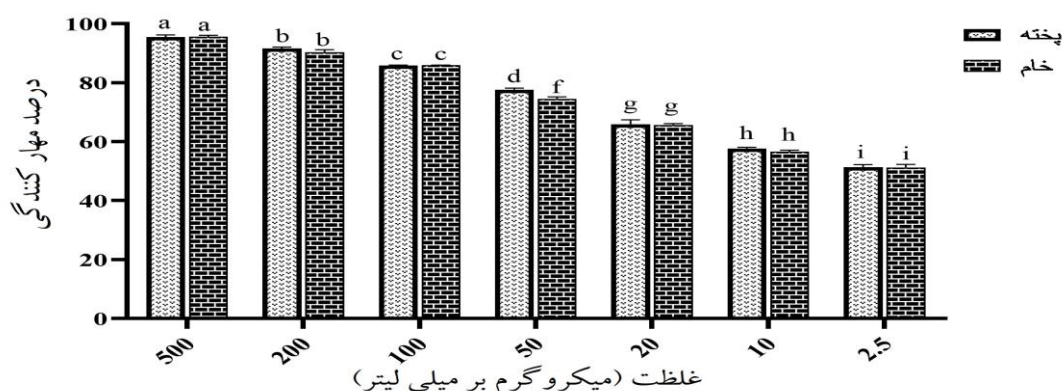
جدول ۳- حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی (بر حسب میلی گرم در میلی لیتر)

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

* 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 کلم بروکلی



نمودار ۱- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های جوانه خام و پخته کلم بروکلی (میانگین هایی که دارای حروف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند)

بحث

در این پژوهش فعالیت ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره های جوانه پخته و خام کلم بروکلی مورد بررسی قرار گرفت. فنل ها و فلاونوئیدها گروهی مهم از این ترکیبات هستند که به صورت گسترده در سبزیجات چلیپایی یافت می شوند. انواع و محتوای آن ها می تواند بسته به شرایط ذخیره سازی، مرحله رشد، قسمت های مختلف گیاه و روش پخت و پز متفاوت باشد. مطالعات نشان داده اند که این ترکیبات می توانند خاصیت ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی قابل توجهی را از خود به نمایش بگذارند. از این رو تعیین میزان کل فنل ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره های جوانه ی خام و پخته کلم بروکلی امری ضروری به حساب می آید (۲۰، ۱۹). نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره های جوانه خام و پخته بروکلی حاوی مقادیر قابل توجهی از فنل ها و فلاونوئیدها هستند. اگرچه میزان کل فلاونوئیدها بعد از فرآیند پخت و پز کمی افزایش پیدا کرده است؛ اما تفاوت معناداری در بین نتایج به دست آمده از عصاره های جوانه پخته و خام وجود ندارد. این یافته ها تا حد زیادی با نتایج مطالعات گذشته همخوانی داشته است. در مطالعه ای که توسط Severini و همکاران بر روی گلچله های 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 مطالعه ای بر روی گلچله های بروکلی مشخص کردند که بخارپز کردن بروکلی می تواند باعث حفظ و یا حتی افزایش فلاونوئیدهای آن شود، در حالی که پختن گلچله ها در آب جوش می تواند باعث از دست رفتن میزان قابل توجهی از این

ترکیبات گردد (۱۳). بنابراین انتخاب روش پخت و پز مناسب می تواند مهم ترین عامل در حفظ ترکیبات زیستی موجود در کلم بروکلی تلقی شود.

از آنجا که ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان مانند فنل ها و فلاونوئیدها دارای توانایی بالقوه برای پاکسازی رادیکال های آزاد می باشند، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های جوانه خام و پخته بروکلی نیز توسط روش مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. رادیکال آزاد DPPH با پذیرش اتم هیدروژن از گروه های هیدروکسیل ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره، منجر به کاهش محتوای DPPH و تغییر رنگ محلول واکنش از بنفش تیره به زرد روشن می شود. نتایج بررسی حاکی از آن بود که عصاره های جوانه خام و پخته بروکلی فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی در غلظت های مختلف از خود به نمایش گذاشتند و فعالیت آن ها وابسته به غلظت افزایش یافت. همچنین طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های جوانه خام و پخته بروکلی تنها در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر با یکدیگر تفاوت معنی داری داشته است. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های جوانه خام و پخته را می توان متناسب با محتوای گلوکوزینولات و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دانست (۲۲).

بسیاری از عصاره های گیاهی غنی از ترکیبات فعال زیستی در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی بالایی را از خود به نمایش گذاشته اند (۲۳). با این وجود اکثر پژوهش های صورت گرفته بر روی فعالیت های بیولوژیکی کلم بروکلی، متمرکز بر خواص آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی آن بوده است. اگرچه چندین مطالعه

فعالیت‌های ضد میکروبی کلم بروکلی بر روی عوامل بیماری‌زا را مورد بررسی قرار داده‌اند (۲۵، ۲۴، ۱)؛ اما 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 فعالیت 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 ضد میکروبی گسترده‌ای در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بوده است. باکتری‌هایی مانند *شریشیا کلای* و *لیستریا مونوسیتوژنز* 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 ضد میکروبی 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 می‌دهند؛ لذا یافتن ترکیبات طبیعی مناسب با فعالیت ضد میکروبی بالا می‌تواند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد (۲۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره جوانه پخته در مقایسه با عصاره جوانه خام فعالیت ضد میکروبی بالاتری دارد؛ به طوری که بیشترین فعالیت را در مقابل باکتری‌های گرم منفی *شریشیا کلای* و گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* نشان داده است. همچنین فعالیت ضد میکروبی 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 مونوسیتوژنز* مشاهده شد. در مطالعه‌ای که Abukhabta و همکاران بر روی عصاره متانولی گلچ‌های 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، به جز گونه *باسیلوس سرئوس*، در برابر عصاره جوانه خام بروکلی کاملاً 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 ضد میکروبی 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 ضد میکروبی 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 ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بررسی شود. همچنین جهت بررسی دقیق مکانیسم‌های دخیل در فعالیت ضد میکروبی 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 فرآورده‌های بهداشتی و درمانی در نظر گرفته شوند.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجوی با کد رهگیری ۱۵۸۶۳۴۱ بوده و از دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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; 127: 60-7. DOI: [10.1016/j.postharvbio.2017.01.010](https://doi.org/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 red, blue and far red on quality of minimally processed broccoli sprouts. *J Sci Food Agric*. 2021; 101(1): 44-53. DOI: [10.1002/jsfa.10820](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01310)

- 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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- Paško 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1671115)