

(مقاله پژوهشی)

نوشیدنی فراسودمند ترکیبی حاوی عصاره‌های گیاهان خانواده چلیپائیان جهت بهبود سیستم ایمنی

زهرا لطیفی^۱، سعید عابدیان کناری^{۲*}، علی اکبر مشایخ^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

۲- استاد، ایمنی‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران.

۳- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۸

DOI: 10.30495/jfst.2022.1949356.1772

چکیده

سیستم ایمنی بدن ارتباط تنگاتنگی با سلامت انسان دارد. بر این اساس، غذاهای فراسودمند حاوی ترکیبات فعال زیستی می‌توانند به‌عنوان بهبوددهنده سیستم ایمنی محسوب شوند. هدف از مطالعه حاضر تولید نوشیدنی فراسودمند ترکیبی، حاوی عصاره‌های گیاهان خانواده چلیپائیان (کلم سفید، کلم قرمز، کلم بروکلی و گل کلم) جهت بهبود سیستم ایمنی می‌باشد. بدین منظور عصاره‌های هیدروآتانولی (۷۰ درصد) از چهار گونه کلم تهیه شد، سپس میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH بررسی گردید. سپس نوشیدنی‌هایی ترکیبی از چهار عصاره با غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ تهیه گردید و موش‌های آزمایشگاهی با دوز یک‌سی‌سی، طی ۱۵ روز متوالی تغذیه شدند. سیستم ایمنی با بررسی فاکتورهای IgG، IFN- γ ، IL-4، IL-10 و IL-17 توسط روش الایزای غیررقابتی ارزیابی شد. نتایج به دست آمده حاکی از بالا بودن فنل ($1/63 \pm 0/024 \text{ mg GA/g}$) و فلاونوئید تام (mg) آزاد مربوط به کلم قرمز به مقدار ۹۸/۲۶ درصد در غلظت ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ بود. نتایج ارزیابی سیستم ایمنی نشان داد که سه فاکتور IgG، IL-10 و IL-17 در موش‌ها، در نوشیدنی فراسودمند با غلظت عصاره ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ افزایش یافت؛ به طوری که فاکتور IgG در گروه شاهد برابر با $10/81 \pm 6/68 \text{ mg/ml}$ و در گروه سوم با غلظت عصاره ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ به $27/35 \pm 20/86 \text{ mg/ml}$ افزایش یافت. نتایج نشان داد که عصاره گیاهان خانواده چلیپائیان واجد پتانسیل بالایی برای استفاده در محصولات غذایی با هدف افزایش کیفیت و ارزش تغذیه‌ای را دارند.

واژه‌های کلیدی: گیاهان چلیپائیان، عصاره گیاهی، خواص فیتوشیمیایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، سیستم ایمنی.

۱- مقدمه

سیستم ایمنی یک سیستم دفاعی فوق العاده پیچیده است که از میزبان در برابر میکروارگانیسم های مهاجم و در برابر سلول های بدخیم محافظت می کند. این سیستم عضو بدن، بسیار پیچیده و منظم است و شامل همکاری و تعامل تعدادی از انواع سلول های مختلف، محصولات سلولی، بافت ها و اندام ها می شود. پاسخ های ایمنی را می توان با سیستم عصبی و غدد درون ریز تنظیم کرد (۵۴). ترکیبات فیتوشیمیایی دارای پتانسیل های درمانی مانند آنتی اکسیدان، ضد دیابت، تقویت حافظه، کاهش کلسترول، خاصیت سازگاری، ضد سرطان و فعالیت تنظیم کننده سیستم ایمنی می باشند. ترکیبات طبیعی با فعالیت تحریک کننده سیستم ایمنی را می توان به صورت ترکیبات با وزن مولکولی بالا و پایین طبقه بندی کرد. ترپنوئیدها، ترکیبات فنلی و آلکالوئیدها درین ترکیبات بهبود دهنده سیستم ایمنی با وزن مولکولی پائین، پلی ساکاریدها در میان ترکیبات با وزن مولکولی بالا غالب هستند (۶). میوه ها و سبزیجات که اغلب به عنوان "محصولات تازه" نامیده می شوند، اجزای مهم یک رژیم غذایی سالم هستند. به طور کلی غذاهای گیاهی منبعی با طیف گسترده ای از ترکیبات زیست فعال هستند که به عنوان مواد فیتوشیمیایی نیز شناخته می شوند. بسیاری از مواد فیتوشیمیایی دارای خواص دارویی هستند (۲۲). خانواده چلیپائیان^۱ از بزرگ ترین خانواده های گیاهان گل دار یا آنژیوسپرم ها^۲ و متعلق به راسته کلم سانان^۳ هستند. این خانواده متشکل از گیاهان یکساله، دوساله و همچنین چند ساله است (۴۲). سبزیجات خانواده چلیپائیان، منبعی غنی از مواد تقویت کننده سلامتی می باشند که خطر بسیاری از بیماری ها را کاهش می دهند. ترکیبات فنلی و اسید آسکوربیک، آنتی اکسیدان اصلی سبزیجات خانواده چلیپائیان هستند؛ در حالی که آنتی اکسیدان های محلول در چربی ها تنها ۲۰ درصد از کل ظرفیت ضد رادیکالی را برعهده دارند (۴۰). گل کلم به خانواده چلیپائیان تعلق دارد و نام علمی آن *Brassica oleracea var. botrytis* است، که به گل نیز معروف است. گل کلم حاوی تعدادی ترکیبات مؤثر است که در پیشگیری

و مبارزه با انواع سرطان مانند سرطان سینه، روده بزرگ و پروستات مفید است و هم چنین در درمان دیابت مؤثر است. علاوه بر این، گل کلم حاوی عناصر معدنی مانند فسفر، پتاسیم، گوگرد و غیره است؛ گیاهان خانواده چلیپائیان با داشتن ترکیبی بنام سولفورافان منجر به کاهش قابل توجهی در احتمال ابتلاء به سرطان روده بزرگ می شوند (۱۸). کلم بروکلی (*Brassica oleracea var. italica*) یک گیاه سبزی خوراکی از خانواده کلم ها است که سرگل بزرگ آن به عنوان یک سبزی خورده می شود (۳۶، ۴۶) و محصول مخصوص فصل سرما است. این سبزی مهم و با ارزش سرشار از ویتامین ها، آنتی اکسیدان ها و ترکیبات ضد سرطانی است. خواص ضد سرطانی کلم بروکلی به سبب ویتامین C (اسید آسکوربیک)، ویتامین E (آلفا توکوفرول)، فلاونوئیدها (کوئرستین و کامپفرول)، کاروتنوئیدها (کاروتن ولوتین) و گلوکوزینات ها است (۱۰، ۲۹). کلم قرمز (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) یک منبع غذایی غنی از مواد شیمیایی گیاهی، به ویژه (پلی) فنولیک ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها، اسید آسکوربیک، α -توکوفرول، β -کاروتن، لوتئین و غیره است (۴۸). آنتوسیانین ها رنگدانه های واکوئولی محلول در آب با خواص سلامتی بخش هستند که بر اساس فعالیت آنتی اکسیدانی قوی آن ها است (۱۵). کلم سفید (*Brassica oleracea var. capitata f. alba*) یکی از محصولات اصلی چلیپائیان است که به طور گسترده به عنوان منبع اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، تانن ها، ترپنوئیدها و فیبر و مواد آنتی اکسیدانی گزارش شده است (۳، ۴۴). علاوه بر این، منبع غنی از ویتامین ها (مانند K، A، C، فولات، تیامین و ریوفلاوین)، مواد معدنی (کلسیم، پتاسیم و منیزیم) و اسید آمینه تریپتوفان است (۵۷). کلم یکی از سبزیجات پر مصرف در سراسر جهان به دلیل دسترسی راحت آن در بازارهای محلی و قیمت مناسب است. کلم سفید منبع غنی از مواد مغذی و سرشار از مواد فیتوشیمیایی تقویت کننده سلامتی است (۲۵، ۴۷). دریافت روزانه آنتی اکسیدان ها از طریق رژیم غذایی برای دستیابی به متابولیسم متعادل و سالم، بسیار مهم است. نوشیدنی ها و سیله ای مناسب برای انتقال مواد مغذی و ترکیبات زیست فعال به بدن و هم چنین تسهیل فراهمی زیستی

1-Brassicaceae
2-Angiosperm
3-Brassicales

گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی با اختصاص کد هر بارיום شناسایی گردید. گل کلم، کلم بروکلی، کلم سفید و گل قرمز به ترتیب دارای کدهای اختصاصی 410B0*IMPSB، 409B0*IMPSB و 411B0*IMPSB می‌باشند. مواد شیمیایی مورد استفاده شامل DPPH، معرف فولین-سیو کالتیو، اسید گالیک، اتانول و کلرید آلومینیوم از شرکت Merck (آلمان) و معرف کوئرستین و متانول از شرکت Applichem (آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- آماده‌سازی عصاره‌های گیاهی

عصاره گیری از چهار نوع کلم شامل کلم سفید، کلم قرمز، گل کلم و کلم بروکلی به روش خیساندن (ماسراسیون^۱) انجام پذیرفت. پس از خریداری این گیاهان و شستشوی کامل، آن‌ها را در شرایط سایه قرار داده تا کاملاً خشک شوند و سپس با استفاده از دستگاه آسیاب (Moulinex، مدل PDA1، فرانسه) پودر گردیدند. پودر گیاهی خشک شده در ظروف پلاستیکی در دمای یخچال تا زمان عصاره گیری نگهداری شدند. ۳۰ گرم وزن دقیق نمونه پودر خشک شده گیاه توسط ترازوی دیجیتال (شرکت FWE، مدل FH-200H، ژاپن) توزین شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق بصورت جداگانه در ۱۵۰ میلیلیتر اتانول (Merck، آلمان) ۷۰ درصد خیسانده شدند. سپس، محووبات از طریق کاغذ صافی و اتمن شماره ۴۲ در یک بشر ۲۵۰ میلی لیتری فیلتر و حلال هیدرو اتانولی توسط دستگاه روتاری اوپراتور (Stuart RE300 Rotary Evaporator) در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد تبخیر گردید. سپس توسط دستگاه خشک-کن انجمادی (شرکت ZIRBUS، مدل D-37539، آلمان) خشک و به پودر تبدیل شدند. در پایان عصاره‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد و در مکان تاریک، تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شدند (۸).

۲-۳- اندازه‌گیری میزان فنل تام

در این روش میزان ترکیبات فنلی تام به روش فولین-سیو کالتیو اندازه‌گیری شد (۳۸). در این روش ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره با غلظت ۵۰ μg/ml برداشته شد. سپس به آن ۲/۵ میلی لیتر محلول فولین-سیو کالتیو اضافه گردید. بعد از ۵ دقیقه،

آن‌ها هستند. ترکیبات زیست‌فعال، مانند مواد شیمیایی گیاهی (به عنوان مثال، فیتواستروژن‌ها، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و غیره)، فیبر رژیمی، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب، پروبیوتیک‌ها و مواد معدنی، می‌توانند در نوشیدنی‌ها گنجانده شوند. در سراسر جهان، آمارها به وضوح روند رو به رشد مصرف نوشیدنی‌های فراسودمند را به دلیل محتوای مواد مغذی، بسته‌بندی مناسب، طراحی، سهولت حمل و نقل و ذخیره‌سازی و طبیعت پایدار نشان می‌دهند (۱۳). نوشیدنی‌های فراسودمند را می‌توان به صورت لبنی، میوه و سبزیجات، بر اساس حبوبات، غلات، قهوه یا جای طبقه‌بندی کرد. ویژگی‌های عملکردی این نوشیدنی‌ها نیازها و شیوه‌های مختلف زندگی از جمله افزایش انرژی، مبارزه با روند پیری، خستگی و استرس، یا هدف قرار دادن بیماری‌ها را بر طرف می‌کند (۴۵). پلیفنول‌ها یک گروه بزرگ و متنوع از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که بسیاری از آن‌ها به طور طبیعی در گیاهان خانواده چلیپائیان وجود دارند که با حضور چندین گروه فنلی مشخص می‌شوند (۴۱). گروه‌های هیدروکسیل پلی‌فنول‌ها در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد با اهدای اتم هیدروژن یا الکترون، شلاته‌کنندگی یون‌های فلزی و غیرفعال کردن زنجیره‌های رادیکال آزاد نقش بسیار مهمی دارند (۱۹). مطالعاتی پیرامون تأثیر برخی از گونه‌های گیاهان دارویی بر سیستم ایمنی صورت گرفته است ولی تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثرات دارویی مواد مؤثره موجود در گیاهان خانواده چلیپائیان روی سیستم ایمنی صورت نگرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه، تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات مؤثره عصاره گیاهان نام‌برده و تولید نوشیدنی‌های فراسودمند حاوی عصاره این گیاهان و بررسی تأثیر این ترکیبات بر سیستم ایمنی ذاتی، اختصاصی (هومورال و سلولی) در موش و بهبود سیستم ایمنی است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

چهار نوع کلم شامل کلم سفید، کلم قرمز، کلم بروکلی و گل کلم از مزرعه‌ای در شهرستان بابل واقع در استان مازندران، ایران خریداری و پس از عملیات آماده‌سازی شد. بذور گیاهان تهیه شده با استفاده منابع معتبر گیاه‌شناسی در بانک بذر پژوهشکده

محلول عصاره با غلظت $800 \mu\text{g/ml}$ استفاده گردید تا رقت سازی انجام گردد و محلول هایی با غلظت ۲۰۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰ ساخته شد (روش رقیق سازی). در مرحله بعد از هر محلول ۱ میلی لیتر به لوله جدید منتقل و به هر کدام ۱ میلی لیتر DPPH اضافه گردید. محلول شاهد یا کنترل حاوی ۱ میلی لیتر متانول و ۱ میلی لیتر DPPH بود که برای هر عصاره یک کنترل لحاظ شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد و سپس جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر در غلظت های مختلف از عصاره های مختلف خوانده شد. سپس با استفاده از فرمول زیر درصد مهار رادیکال آزاد محاسبه شد.

$$R = \left[\frac{A_B - A_S}{A_B} \right] \times 100$$

A_B = جذب بلانک (جذب DPPH رقیق شده با متانول به نسبت ۱:۱)

A_S = جذب نمونه یا استاندارد

۲-۶- تولید نوشیدنی فراسودمند

به منظور تهیه نوشیدنی فراسودمند مطابق با روش بیان شده توسط Hajmohammadi و همکاران (۲۰۱۶) با کمی تغییرات عمل گردید. بدین منظور مقدار مشخص از غلظت عصاره ها که بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی (800 و $400 \mu\text{g/ml}$) را داشتند با 0.05 درصد اسانس خوراکی و 0.1 درصد پودر استویا به عنوان شیرین کننده طبیعی مخلوط و در ادامه برای ایجاد یکنواختی و کاهش میزان دوفاز شدن نمونه ها از 0.5 درصد صمغ کتیرا از قبل آماده شده استفاده گردید و در نهایت pH نمونه با افزودن اسید سیتریک ثابت شد؛ تمامی ترکیبات مخلوط شده با آب در یک مخزن دارای هم زدن در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه جهت دستیابی به یک مخلوط یکنواخت همزده شد. سپس با ستوریزاسیون نمونه ها درین ماری با دمای 85 درجه سانتیگراد و به مدت ۲۰ ثانیه انجام گرفت. نمونه ها پس از بسته بندی در بطری های 250 میلی لیتری در یخچال نگهداری شدند (۱۴).

۲-۷- گروه بندی و تیمار حیوان آزمایشگاهی

در این تحقیق از موش های کوچک نژاد آزمایشگاهی (C57) در محدوده وزنی 23 ± 2 گرم تهیه شده از انستیتو پاستور شهرستان آمل استفاده گردید. به موش های مورد آزمایش طرح، ۲ هفته

۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم اضافه شد و به محلول به مدت ۲ ساعت استراحت داده شد. بعد از گذشت این مدت زمان، جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش (Pharmacia Biotech, Novaspec II, Netherlands) در طول موج 760 نانومتر در برابر نمونه شاهد اندازه گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد اسید گالیک هم محلول های استاندارد اسید گالیک با غلظت های 200 ، 400 ، 1000 ، 50 و 25 تهیه شد. سپس نتایج به عنوان محتوای تام فنولی عصاره بر اساس میزان معادل (میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره) گزارش گردید.

۲-۴- اندازه گیری میزان فلاونوئید تام

در این روش میزان ترکیبات فلاونوئیدی تام در کل عصاره ها بر اساس روش جانگ و همکاران (۲۰۰۶) و با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم انجام شد (۲۳). در این آزمایش ابتدا 0.5 میلی لیتر از هر عصاره با غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ برداشته، سپس $1/5$ میلی لیتر متانول و 100 میکرو لیتر از کلرید آلومینیوم، 100 میکرو لیتر از پتاسیم استات 1 مولار و 3 میلی لیتر آب به آن اضافه شد. پس از 30 دقیقه جذب نمونه ها در ازای هر عصاره غلظت های 800 ، 200 ، 100 ، 50 ، 25 ، $12/5$ ، $6/25$ و $3/125$ اندازه گیری شد. سپس 1 میلی لیتر از هر عصاره با 1 میلی لیتر از بافر فسفات و 1 میلی لیتر پتاسیم فروسیانید مخلوط شد و به مدت 20 دقیقه در دمای 50 درجه سلسیوس در بنماری گذاشته شد. سپس به آن 1 میلی لیتر محلول تری کلرو استیک اسید اضافه شد و در نهایت 1 میلی لیتر از محلول فوق را با 1 میلی لیتر آب دیونیزه، 0.2 میلی لیتر کلرید آهن (III) مخلوط کرده و جذب نمونه ها در طول موج 415 نانومتر خوانده شد و نتیجه به عنوان محتوای تام فلاونوئید عصاره بر اساس میزان معادل "میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره" گزارش گردید.

۲-۵- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها به روش DPPH

توانایی دهنده گی الکترون یا اتم هیدروژن عصاره ها بر اساس میزان فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد ۲- و -دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) سنجش شد (۲۴). جهت آماده سازی و رقیق سازی نمونه ها، غلظت های مختلف مورد نیاز بود لذا از

۲-۷-۲- نمونه‌گیری از خون

بعد از پایان طرح آزمایشی، موش‌ها یک شب (به مدت ۱۰ ساعت) از آب و غذا محروم ماندند (۱۰). سپس برای تهیه خون به صورت استریل از قلب و سینوس چشمی موش خونگیری گردید. هم‌چنین هنگام خون‌گیری، توجه شد که خون با موی حیوان تماس پیدا نکند. عمل خون‌گیری، تحت بیهوشی عمیق با استنشاق اتر انجام شد (۵۲).

۲-۸- اندازه‌گیری سرم IgG (ایمنی هومورال)، سیتوکین‌های اینترفرون-گاما (IFN- γ)، اینترلوکین-۴ (IL-4)، اینترلوکین-۱۷ (IL-17) (ایمنی سلولی) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) سرم موش ابتدا با سانتریفیوژ خون کامل موش در 4°C به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جمع‌آوری شد. سطح IgG و سطح سیتوکین‌های مختلف، از جمله اینترفرون-گاما (IFN- γ)، اینترلوکین-۴ (IL-4)، اینترلوکین-۱۷ (IL-17) و اینترلوکین-۱۰ (IL-10) در نمونه سرم با استفاده از کیت IgG طبق دستورالعمل‌های سازنده توسط شرکت کارمانیا پارس ژن توسط دستگاه الیزا اندازه‌گیری شدند (۵۲).

۲-۹- تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار صورت پذیرفت. آنالیز آماری جهت ارزیابی این فاکتورها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام و نتایج به صورت میانگین مثبت، منفی انحراف معیار بیان شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها برای متغیرهای مورد بررسی و هم‌چنین برای اختلاف میانگین‌ها به ترتیب، از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات فنولیک کل

در شکل (۱)، نتایج میزان فنل تام در عصاره‌های هیدروآتانولی برخی از گیاهان خانواده چلیپاییان ارائه شده است. مطابق با نتایج به دست آمده بین تمام عصاره‌های هیدروآتانولی هر چهار گیاه مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$) به طوری که بالاترین میزان فنل تام در عصاره‌های هیدروآتانولی کلم سفید ($1/63 \pm 0/24 \text{ mg GAE}/100\text{g}$) و کلم بروکلی

قبل از شروع آزمایش‌ها، اجازه سازگاری داده شد. آنها در یک چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در اتاق حیوانات نگهداری شدند و به آب و غذای مخصوص جوندگان دسترسی داشتند. اتاق حیوانات در دمای ۲۹-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰-۷۰ درصد حفظ شد (۵۲). شرایط نگهداری و آزمایشگاهی برای تمام موش‌ها، یکسان در نظر گرفته شده است. لازم به ذکر است، کلیه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید وزارت بهداشت، مدنظر قرار گرفته شد (کد-IR-IAU.SARI.REC.1400-086). با توجه به مطالعات حیوانی و با در نظر گرفتن اینکه مواجهه ۱۵ روزه می‌تواند مدت زمان قابل قبولی جهت بررسی اثرات سم و بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌ها (افزایش یا کاهش) باشد (۴، ۳۱)، مواجهه به صورت ۱۵ روز متوالی مورد بررسی گرفت.

۲-۷-۱- آزمایشات ایمنی

این بخش از مطالعه روی موش‌های آزمایشگاهی ماده کوچک نژاد ($C57$) در محدوده وزنی 23 ± 2 گرم انجام گرفت ($n=5$). تعداد ۱۵ سر موش به طور تصادفی به ۳ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند و سرم فیزیولوژی را به صورت گاواژ روزانه دریافت کردند. گروه‌های دیگر به عنوان گروه‌های تیمار عمل کردند و بصورت دو دوز تیمار شدند که شامل ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای هر موش بود. نوشیدنی‌های فراسودمند به صورت گاواژ، به مدت ۱۵ روز متوالی به میزان یک‌سی‌سی به موش‌ها خوراندند (۴۳)، (۵۲). بدین منظور طرحی از گروه‌بندی موش‌های آزمایشی در زیرارائه شده است. در طول آزمایش‌ها، غذا و آب بصورت آزاد فراهم شد و وزن بدن و مصرف خوراک هفتگی اندازه‌گیری گردید (۵۰).

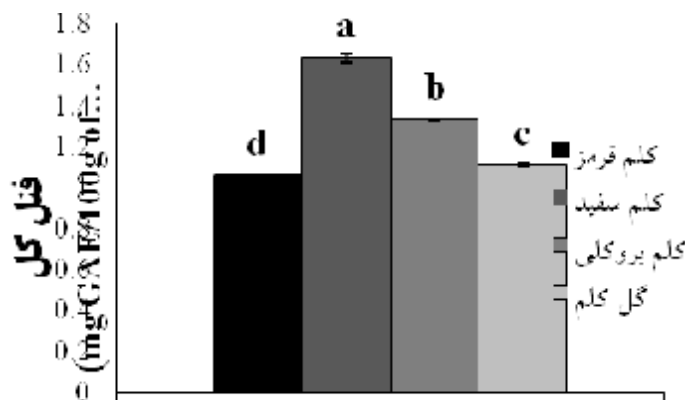
گروه ۱ نمونه شاهد یا کنترل سالم: مصرف سرم فیزیولوژی به صورت گاواژ (هر روز)

گروه ۲: تیمار عصاره انواع کلم با دوز $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ بصورت گاواژ (هر روز)

گروه ۳: تیمار عصاره انواع کلم با دوز $800 \mu\text{g}/\text{ml}$ بصورت گاواژ (هر روز)

وجود داشت که اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) با سایر گیاهان مورد بررسی داشت.

پائین ترین وجود داشت. (1.33 ± 0.04 mg GAE/100g) و بیشترین میزان فنل تام در کلم قرمز (1.62 ± 0.01 GAE/100g mg)



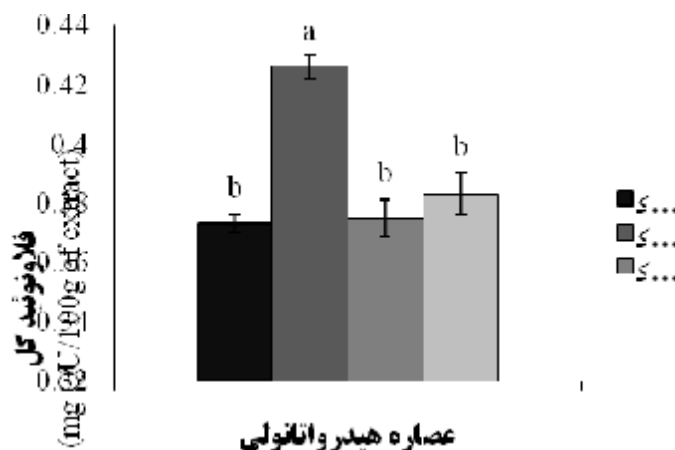
شکل ۱- بررسی میزان فنل تام (mg GA/100g) در عصاره های هیدروآتانولی گیاهان خانواده چلیپائیان (کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم)

که از مقدار فنل تام کلم بروکلی در مطالعه حاضر بالاتر می باشد. در گزارشات ذکر شده در مطالعه حاضر و سایر محققان نتایج مختلفی از میزان فنل تام وجود دارد که علت آن را می توان به تنوع گسترده بین کل فنول های موجود در میوه ها یا سبزیجات مختلف و یا حتی برای میوه یا سبزیجات مشابه بیان کرد که توسط نویسندگان مختلف گزارش شده است؛ این اختلافات ممکن است به دلیل پیچیدگی این گروه از ترکیبات و روشهای استخراج و آنالیز باشد (۳۲).

۳-۲- میزان فلاونوئید کل

نتایج میزان فلاونوئید تام در عصاره های هیدروآتانولی برخی از گیاهان خانواده چلیپائیان در شکل (۲) گزارش شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان فلاونوئید در عصاره هیدروآتانولی کلم سفید (0.426 ± 0.004 mg QE/100g) وجود داشت به طوری که با سایر گیاهان مورد بررسی اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0.05$). در چهار گیاه مورد بررسی، بین کلم قرمز (0.375 ± 0.006 QE/100g mg) و گل کلم (0.383 ± 0.007 mg QE/100g) اختلاف معنی داری در میزان فلاونوئید وجود نداشت ($p > 0.05$).

ترکیبات فنلی ممکن است مستقیماً به اثر آنتی اکسیدانی کمک کنند، بنابراین لازم است محتوای فنلی کل بررسی شود (۱). چندین مطالعه نشان داده است که مصرف فنولیک از گیاهان دارویی می تواند با کاهش خطر ابتلاء به تصلب شرایین برای سلامتی انسان مفید باشد (۹). در مطالعه حاضر میزان فنل تام در گیاهان مورد بررسی از 1.062 تا 1.63 mg GA/100g متغیر بود که بالاترین میزان مربوط به عصاره هیدروآتانولی کلم سفید و پائین ترین میزان مربوط به عصاره هیدروآتانولی کلم قرمز بود. در مطالعه Singh و همکاران (۲۰۰۷)، مقدار فنول تام در ۶ واریته کلم بروکلی بین محدوده $0.82/9$ - $4.4/5$ mg/100g، در ۱۸ واریته کلم سفید بین محدوده $0.34/4$ - $1.2/6$ و ۲ واریته گل کلم بین محدوده $0.16/3$ - $2.1/8$ mg/100g گزارش گردید (۵۲). در مطالعه ای دیگر نیز مقادیر بالای فنول تام در کلم بروکلی (82.2 ± 8.9 μg/g)، گل کلم (27.8 ± 1.5 μg/g) و کلم سفید (15.3 ± 2.1 μg/g) گزارش شده است (۴). در مطالعه Thomas و همکاران (۲۰۱۸)، محتوای پلی فنول کل بین بخش های مختلف گیاه از محصولات جانبی کلم بروکلی از 3.8 ± 0.2 mg/g تا 6.1 ± 0.3 mg/g گزارش شده است (۵۳).



شکل ۲- بررسی میزان فلاونوئید کل (mg QE/100g) در عصاره‌های هیدروآتانولی برخی از گیاهان خانواده چلیپائیان (کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم)

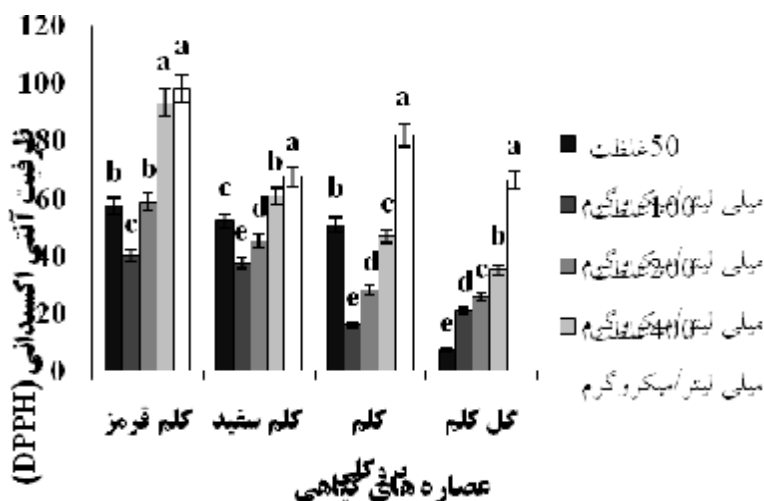
آنتی‌اکسیدانی گیاهی است. باین وجود، بازده عصاره، محتوای پلی‌فنولیک و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی حاصل از مواد گیاهی به دلیل وجود ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی با ویژگی‌های شیمیایی متنوع و قطبیت‌های مختلف که ممکن است محلول یا غیرمحلول باشند در یک حلال خاص، به شدت به ماهیت حلال و روش استخراج بستگی دارد (۵۱، ۲۱). حلال‌های قطبی اغلب برای استخراج پلی‌فنل‌ها از یک ماتریس گیاهی استفاده می‌شوند. مناسب‌ترین این حلال‌ها (گرم یا سرد) مخلوط‌های آبی حاوی اتانول، متانول، استون و اتیل استات هستند (۵۱). بنابراین نوع حلال مورد استفاده در مطالعه حاضر (حلال اتانولی ۷۰٪) انتخاب مناسبی جهت استخراج ترکیبات پلی‌فنولی بوده است.

۳-۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

مهار رادیکال آزاد عصاره‌های هیدروآتانولی برخی از گیاهان خانواده چلیپائیان با روش DPPH مقایسه شده با اسیدگالیک به عنوان استاندارد تعیین گردید. نتایج از معادله خط براساس منحنی استاندارد به دست آمده که براساس تأثیر میزان غلظت در بازدارندگی در شکل (۳) مربوط به عصاره هیدروآتانولی نشان داده شده است. شکل (۳) نشان می‌دهد که کلم قرمز نسبت به سایر گیاهان مورد بررسی در تمامی غلظت‌های تهیه شده، بالاترین توانایی مهار رادیکال DPPH را دارد به طوری که در غلظت ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ دارای بالاترین ویژگی

فلاونوئیدها طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی مانند اثرات جلوگیری از تکثیر سلولی، القاء آپوپتوز، مهار آنزیم، ضدباکتری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. علاوه بر این، برخی از یافته‌ها نشان می‌دهند که فلاونوئیدها دارای خواص بالینی مختلفی از جمله اثرات ضد التهاب، ضد تومور و ضد ویروسی هستند (۱). در مطالعه حاضر میزان فلاونوئید تام در گیاهان مورد بررسی از ۰/۳۷۳ mg QE/100g تا ۰/۴۲۶ متغیر بود که بالاترین میزان مربوط به عصاره هیدروآتانولی کلم سفید بود. در مطالعه Bahorun و همکاران (۲۰۰۴)، میزان فلاونوئید تام در کلم بروکلی (۳۱۶±۴۵ $\mu\text{g/g}$)، گل کلم (۱۷۲±۱۱ $\mu\text{g/g}$) و کلم سفید (۱۰۲±۹ $\mu\text{g/g}$) گزارش شده است (۴). در مطالعه Oancea و همکاران (۲۰۱۹)، نتایج مربوط به محتوای کل فلاونوئیدها، تغییرات بین ۱۷۷۷/۳۶-۳۰۴۷/۵۳ mgQE/100g رادرفت نمونه عصاره هیدروآتانولی و هیدروآتانولی اسیدی شده کلم قرمز بررسی شده از مناطق مختلف رومانی، لهستان، هلند و آلمان صرف نظر از نوع کاربردی سیستم‌های حلال استخراجی، گزارش شده است (۳۷). در مطالعه Thomas و همکاران (۲۰۱۸)، میزان فلاونوئید کل کلم بروکلی از mg/g ۲/۴±۰/۱ تا ۵/۴±۰/۶ گزارش شده است (۵۳). در مطالعه‌ای از Koh و همکاران (۲۰۰۹)، مقادیر فلاونوئید کل برای کلم بروکلی ۰/۰۰۳-۱/۱ mg/g گزارش شده است (۲۹). استخراج با حلال یک تکنیک پرکاربرد برای جداسازی ترکیبات

مهارکنندگی است و در مقابل، گل کلم بجز غلظت $\mu\text{g/ml}$ ۸۰۰، دارای کمترین ویژگی مهارکنندگی است.



شکل ۳-مقایسه توانایی مهار یا خنثی سازی رادیکال DPPH توسط عصاره های هیدروآتانولی برخی از گیاهان خانواده چلیپانیان (کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم)

گیاهان براسیکا بین کلم بروکلی و کلم سفید، بالاترین میزان مهارکنندگی با IC_{50} برابر با $0.75 \pm 0.07 \text{ mg/ml}$ در کلم بروکلی گزارش شده است (۲۰). که نتایج هر دو مطالعه با مطالعه حاضر مطابقت دارد و میزان بازدارندگی در کلم بروکلی علی الخصوص در غلظت بالاتر، بیشتر از کلم سفید بود. در مطالعات ذکر شده (۲۰، ۱۹)، بیان گردید که گیاهانی که ترکیبات فنولی بالایی داشتند دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نیز بوده اند و همچنین نتایج سایر مطالعات نیز نشان داده اند که گیاهانی با ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بالا، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارند (۱۷). از طرف دیگر به نظر می رسد که ترکیبات فنولی که به صورت گسترده در گیاهان یافت می شوند و قدرت آنتی اکسیدانی بالایی دارند، به صورت مؤثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل می کنند. در ضمن شاید پائین بودن میزان ترکیبات غیر قطبی در گیاهان، دلیل پائین بودن میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های تهیه شده با حلال های غیر قطبی باشد (۲۴). نتایج بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH حاکی از این بود که بین محتوای فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها ارتباط مستقیمی وجود ندارد. کلم سفید با وجود بالاتر بودن میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، فعالیت آنتی اکسیدانی

در روش مهار DPPH، فعالیت آنتی اکسیدانی با کاهش جذب اندازه گیری شد زیرا رادیکال آزاد DPPH از یک ترکیب آنتی اکسیدانی، یک رادیکال الکترون یا هیدروژن دریافت می کند تا به یک مولکول پایدار تبدیل شود (۱). رادیکال های آزاد بسیار واکنش پذیر هستند و می توانند با اکثر مولکول های مجاور خود واکنش نشان دهند. این مولکول ها شامل لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین ها و کربوهیدرات ها هستند و در ایجاد و پیشرفت چندین بیماری مزمن از جمله پیری، سرطان و بسیاری از بیماری ها ارتباط دارند (۲۰). یافته های این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، میزان درصد مهارکنندگی نیز افزایش یافت و کلم قرمز بالاترین میزان مهارکنندگی و گل کلم پائین ترین میزان مهارکنندگی را داشت. در مطالعه ای از حلال های ۶۰ درصد متانول، اتانول و استون جهت استخراج عصاره از کلم بروکلی و کلم سفید استفاده شده است، که نتایج آن ها بالاترین ظرفیت مهار رادیکال DPPH با IC_{50} $0.71 \pm 0.06 \text{ mg/ml}$ در عصاره متانولی کلم بروکلی را نشان داد؛ روند مشابهی برای کلم سفید و کلم بروکلی نیز مشاهده شد، بطوری که عصاره متانولی بیشترین ظرفیت مهار رادیکال DPPH را نشان داد (۱۹). هم چنین در بررسی ظرفیت مهار رادیکال DPPH

کم‌تراز حد انتظار و نامنظمی را نشان داد، همچنین کلم قرمز با وجود دارا بودن محتوای فنولی پائین‌تر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان داد. نتیجه آن که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی فقط بر اساس محتوای فنولی آن‌ها قابل توضیح نیست بلکه به بررسی سایر خصوصیات مناسب آنها نیز نیاز دارد (۲۶). این عدم ارتباط، با مطالعه‌ای دیگر مطابقت دارد (۱۲).

۳-۴- ارزیابی سیستم ایمنی

فاکتورهای ارزیابی سیستم ایمنی از جمله ایمنی هومورال (IgG)، اینترفرون-گاما (IFN- γ)، اینترلوکین-۴ (IL-4)، اینترلوکین-۱۰ (IL-10) و اینترلوکین-۱۷ (IL-17) در موشهای آزمایشگاهی تیمار شده با نوشیدنی‌های فراسودمند ترکیبی حاوی عصاره‌های گیاهان خانواده چلیپائیان (کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم) در جدول (۱) گزارش شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که در هر فاکتور ارزیابی شده بین تیمارها

با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). مطابق با نتایج ارائه شده در جدول (۱) سه فاکتور ایمنی هومورال (IgG)، اینترلوکین-۱۰ (IL-10) و اینترلوکین-۱۷ (IL-17) در موش‌ها با افزایش غلظت عصاره به $800 \mu\text{g/ml}$ در نوشیدنی فراسودمند افزایش یافت. به طوری که فاکتور IgG در گروه شاهد برابر با $10.81 \pm 6.68 \text{ mg/ml}$ بود، در گروه دوم این فاکتور برابر با $20.94 \pm 13.91 \text{ mg/ml}$ بود ولی در گروه سوم با افزایش غلظت عصاره از $400 \mu\text{g/ml}$ به $800 \mu\text{g/ml}$ در نوشیدنی به $27.35 \pm 20.86 \text{ mg/ml}$ افزایش یافت که این اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). فاکتور اینترفرون-گاما (IFN- γ) در گروه موش‌های تیمار شده با نوشیدنی حاوی $400 \mu\text{g/ml}$ عصاره بالاتر از دو گروه دیگر بود اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0.05$)، و اینترلوکین-۴ (IL-4) در موش‌های تحت مطالعه در گروه ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد تغییر چشمگیری نداشت و در گروه شاهد بالاتر از دو گروه تحت تیمار بود.

جدول ۱- بررسی فاکتورهای ارزیابی سیستم ایمنی در موش‌های تحت تیمار با نوشیدنی‌های فراسودمند*

فاکتورهای مورد ارزیابی	گروه (۱)	گروه (۲)	گروه (۳)
اینترفرون-گاما (pg/ml)	$5.48 \pm 1.73^{a**}$	6.31 ± 2.74^a	3.79 ± 1.30^a
ایمونوگلوبولین-G (mg/ml)	10.81 ± 6.68^a	20.94 ± 13.91^a	27.35 ± 20.86^a
اینترلوکین-۴ (pg/ml)	4.72 ± 3.63^a	2.55 ± 0.71^a	3.20 ± 1.46^a
اینترلوکین-۱۰ (pg/ml)	15.49 ± 6.72^a	13.97 ± 4.07^a	19.89 ± 12.62^a
اینترلوکین-۱۷ (pg/ml)	7.27 ± 5.01^a	5.50 ± 2.90^b	9.31 ± 4.68^a

* داده‌ها بر حسب (میانگین \pm انحراف معیار) در پنج تکرار گزارش شده است.

** حروف کوچک (a) مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنادار ($P < 0.05$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها است.

گروه (۱): نمونه شاهد یا کنترل سالم: مصرف سرم فیزیولوژی بصورت گاواژ (هر روز)

گروه (۲): تیمار عصاره انواع کلم با غلظت $400 \mu\text{g/ml}$ بصورت گاواژ (هر روز)

گروه (۳): تیمار عصاره انواع کلم با غلظت $800 \mu\text{g/ml}$ بصورت گاواژ (هر روز)

این دسته از پروتئین‌ها که دارای فعالیت آنتی‌بادی هستند بنام ایمونوگلوبولین (Ig) نیز نامیده می‌شوند، زیرا نقش مهمی در ایمنی بدن دارند و جزء پروتئین‌های کروی یا گلوبولین‌ها هستند. ایمونوگلوبولین‌ها در سرم خون و مایعات بافتی تمام پستانداران یافت می‌شوند و حدود بیست درصد پروتئین‌های پلاسما را در انسان شامل می‌شوند. بیشترین مقدار ایمونوگلوبولین بدن IgG می‌باشد و حدود ۵۰ تا ۷۵ درصد کل ایمونوگلوبولین‌ها

سیستم ایمنی انسان می‌تواند همراه با افزایش تدریجی رژیم غذایی ناکافی، سبک زندگی ناسالم، استرس و قرار گرفتن در معرض عوامل مضر محیطی مختل شود. با این حال، در مقایسه با ترکیبات فعال زیستی مشتق شده از حیوانات، اثرات تعدیل‌کننده ایمنی ترکیبات مشتق شده از گیاهان کمتر مورد بررسی قرار گرفته است (۲۹). پروتئین‌هایی که می‌توانند به طور اختصاصی به آنتی‌ژن متصل شوند، آنتی‌بادی یا پادتن خوانده می‌شوند؛

را تشکیل می‌دهد (۲۷). در مطالعه حاضر مشاهده گردید که فاکتور IgG در موش‌های تحت تیمار با غلظت عصاره $\mu\text{g/ml}$ ۸۰۰ در نوشیدنی فراسودمند ($20/86 \pm 27/35 \text{ mg/ml}$) نسبت به گروه شاهد ($10/81 \pm 6/68 \text{ mg/ml}$) افزایش چشمگیری داشته‌است که وجود ترکیبات زیست فعال در ترکیب گیاهان خانواده چلیپاییان توانسته باعث افزایش IgG و در نتیجه منجر به افزایش سیستم ایمنی در موش‌ها گردد. این نتایج با تأثیر ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان از جمله اثر عصاره پالپ و هسته پاپایا (۲) و هم‌چنین اثر عصاره برگ مورینگا اولیفر (۳۹) بر روی افزایش ایمونوگلوبولین‌های G در موش‌ها مطابقت دارد. سیتوکین‌ها، پلی‌پپتیدهایی هستند که در پاسخ به میکروب‌ها و سایر آنتی‌ژن‌ها تولید شده و باعث هدایت و تنظیم واکنش‌های ایمنی یا التهابی می‌شوند از آن‌جا که اکثر سیتوکین‌ها توسط لکوسیت‌ها تولید شده و روی سایر لکوسیت‌ها اثر می‌گذارند، لذا این سیتوکین‌ها را اینترلوکین نیز می‌نامند. دو فاکتور $\text{IFN-}\gamma$ و IL-4 جزء سیتوکین‌های التهابی هستند که با از طریق عوامل دفاع ذاتی و با عوامل دفاع اختصاصی و با هر دو عمل می‌کنند (۳۱). در مطالعه حاضر این دو فاکتور در موش‌های تحت تیمار نسبت به گروه شاهد تغییر چشمگیری نداشتند. فاکتور IL-4 جزء سیتوکین‌های ضد التهابی می‌باشد که این سیتوکین را می‌توان به لحاظ مهار ماکروفاژهای فعال به عنوان سیتوکین مهارکننده ایمنی ذاتی و ایمنی سلولی به حساب آورد. در بررسی انجام شده مشاهده گردید این فاکتور در موش‌ها با افزایش غلظت عصاره در نوشیدنی فراسودمند، افزایش یافته است. خانواده اینترلوکین-۱۷ (IL-17) مجموعه‌ای از سیتوکین‌ها است که در هر دو پاسخ التهابی و مزمن شرکت می‌کنند که در موش‌های تغذیه شده با نوشیدنی فراسودمند ترکیبی عصاره انواع کلم با غلظت $\mu\text{g/ml}$ ۸۰۰ این فاکتور نسبت به دو گروه دیگر افزایش داشته است. در مطالعه‌ای گزارش شده که اختلال در تولید IL-17، می‌تواند منجر به پاسخ‌های التهابی و آسیب بافتی ریه، به علت انباشت بیش از حد نوتروفیل شود (۵۵). ترکیبات فعال زیستی مختلف مشتق شده از غذاهای طبیعی، به ویژه حیوانی، مانند شیر، صدف، تخم مرغ، ماهی، گوسفند و غیره ثابت شده است که در تقویت ایمنی ذاتی و ایجاد سازگاری

و افزایش مقاومت در برابر عفونت‌ها و بیماری‌ها مؤثر هستند (۷، ۲۸). اما با این حال، در مقایسه با ترکیبات فعال زیستی مبتنی بر حیوانات، در چندین مطالعه اثرات تعدیل‌کننده سیستم ایمنی ترکیبات فعال زیستی مشتق شده از گیاهان گزارش شده است. در حال حاضر، چندین مطالعه گزارش شده که ترکیبات فعال زیستی مشتق شده از گندم (۱۶)، جو (۳۴)، سویا (۵۸)، ودانه کتان (۵۶) می‌تواند تأثیرات مثبتی بر سیستم ایمنی انسان داشته باشد (۳۰). نتایج مطالعه‌ای نشان می‌دهد که اولیگوپپتیدهای گردو با غلظت‌های WBmg/kg ۴۴۰-۱۱۰ باعث تعدیل سیستم ایمنی (IL-2، IL-10، IL-12) و بهبود تولید ایمونوگلوبولین (IgM و IgG و IgA) در طول دوره آزمایش گردید (۳۳). ترکیب عصاره غنی از آنتوسیانین برنج سیاه (BRAE) و اسیدرزمارینیک (RA) بر همکنش‌های افزایشی رادر کاهش سطوح میلوپراکسیداز (MPO) و اکسید نیتریک (NO) و هم‌چنین بیان برخی واسطه‌های التهابی (IL-6، IL-1 β و iNOS) به ویژه در دوز mg/kg ۱۰۰ نشان داد، هم‌چنین رژیم غذایی BRAE و RA، به تنهایی و به صورت ترکیبی، علائم و التهاب کولیت ناشی از دستران سولفات سدیم (DSS) را در موش‌ها کاهش داد (۵۹). در مطالعه‌ای نقش آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی کلم سفید و قرمز (*oleracea Brassica*) در محافظت کبدی به وسیله N-نیترودی‌اتیل‌آمین (NDEA) در کبد موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفت؛ نتایج نشان داد که کلم‌های سفید و قرمز هر دو باعث کاهش سرطان کبدی در موش‌های تحت تیمار با NDEA و CCL4 و هم‌چنین باعث بهبود عملکرد کبد و کلیه، به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی کلم قرمز شدند (۴۳). مطالعه‌ای با هدف بررسی اثر محافظتی مخلوط عصاره چای سبز (GTE) و عصاره هسته انگور (GSE) بر سرکوب ایمنی ناشی از اشعه در موش صحرائی انجام شده است، موش‌های صحرائی نر در معرض یک دوز واحد تابش گاما (۵ و ۱۰ گری) قرار گرفتند سپس با گاوآژ با مخلوط GTE و GSE (به ترتیب ۱۰۰ میلی‌گرم: ۲۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن بدن)، به مدت ۱۴ روز متوالی تیمار شدند. سطح سیتوکین‌های التهابی فاکتور نکروز توموری- α و پروتئین واکنشی C پس از تابش اشعه گاما افزایش یافته و با تجویز مخلوط به میزان قابل توجهی کاهش یافت. علاوه بر این، گروه‌های تحت تیمار با

2. Amin, A.H., Bughdadi, F.A., Abo-Zaid, M.A., Ismail, A.H., El-Agamy, S.A., Alqahtani, A., El-Sayyad, H.I., Rezk, B.M. and Ramadan, M.F., 2019. Immunomodulatory effect of papaya (*Carica papaya*) pulp and seed extracts as a potential natural treatment for bacterial stress. *Journal of food biochemistry*, 43, p.e13050.
3. Aziz, M. and Karboune, S., 2018. Natural antimicrobial /antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58, pp.486-511.
4. Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A. and Aruoma, O. I., 2004. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, pp.1553-1561.
5. Barberis, C. L., Carranza, C. S., Magnoli, K., Benito, N. and Magnoli, C.E., 2019. Development and removal ability of non-toxicogenic *Aspergillus* section *Flavi* in presence of atrazine, chlorpyrifos and endosulfan. *Revista Argentina de microbiologia*, 51, pp. 3-11.
6. Brindha, P. 2016. Role of phytochemicals as immunomodulatory agents: A review. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 10.
7. Chalamaiah, M., Yu, W. and Wu, J., 2018. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food chemistry*, 245, pp. 205-222.
8. Chauhan, H. and Singh, M., 2019. Phytochemical characterization and antibacterial potential of Indian and Chinese cabbage genotypes against human pathogens in Uttarakhand, India *International Journal of Recent Scientific Research*, 17(12), pp. 36462-36466.
9. Cruz, A. B., Pitz, H. D. S., Veber, B., Bini, L. A., Maraschin, M. and Zeni, A. L. B., 2016. Assessment of bioactive metabolites and hypolipidemic effect of polyphenolic-rich red cabbage extract. *Pharmaceutical biology*, 54, pp. 3033-3039.
10. Deng, Z., Rong, Y., Teng, Y., Mu, J., Zhuang, X., Tseng, M., Samykutty, A., Zhang, L., Yan, J. and Miller, D., 2017. Broccoli-derived nanoparticle inhibits mouse colitis by activating dendritic cell AMP-activated protein kinase. *Molecular Therapy*, 25, pp. 1641-1654.

مخلوط آنتی‌اکسیدان افزایش قابل توجهی در تمام پارامترهای خون و کاهش قابل توجهی در سطح کلسترول و تری‌گلیسرید نشان دادند (۱۱). در نهایت می‌توان بیان کرد که افزایش پاسخهای ایمنی ذاتی و انطباقی در موش‌های آزمایشگاهی با تیمار نوشیدنی فراسودمند ترکیبی عصاره گیاهان خانواده چلیپائیان شامل کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم باعث ایجاد تغییراتی در مکانیسم فیزیولوژیکی شده که منجر به بهبود ایمنی‌های سلولی و هومورال گردیده است.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اتانول حلالی کارآمد برای استخراج عصاره از چهار گیاه خانواده چلیپائیان (کلم قرمز، کلم سفید، کلم بروکلی و گل کلم) بوده است. نتایج به دست آمده حاکی از بالا بودن میزان فنل و فلاونوئید تام در عصاره هیدراتانولی کلم سفید بود. در بررسی‌های انجام شده تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، در روش DPPH، بالاترین میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد به عصاره هیدراتانولی کلم قرمز تعلق داشت. در این مطالعه، ارزیابی سیستم ایمنی با بررسی فاکتورهای ایمنی هومورال (IgG)، اینترفرون-گاما (IFN- γ)، اینترلوکین-4 (IL-4)، اینترلوکین-10 (IL-10) و اینترلوکین-17 (IL-17) در موش‌های آزمایشگاهی تیمار شده با نوشیدنیهای فراسودمند ترکیبی حاوی عصاره‌های گیاهان خانواده چلیپائیان توسط روش ELISA صورت پذیرفت. با مقایسه تأثیرات بر پاسخ‌های ایمنی هومورال ناشی از ترشح سیتوکین‌ها و تولید آنتی‌بادی توسط فاکتور IgG، تأثیرات مثبت تیمار نوشیدنی‌های فراسودمند بر ایمنی هومورال سبب تحریک تولید آنتی‌بادی و تعامل بین سیستم ایمنی ذاتی و سازگار شده است. این نتایج نشان می‌دهد که نوشیدنی فراسودمند تولید شده می‌تواند یک عامل درمانی امیدوارکننده با توانایی بهبوددهندگی سیستم ایمنی در غلظت ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ عصاره باشد.

۵- منابع

1. Ahmed, F. A. and Ali, R. F., 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. *BioMed research international*, 2013.

- Product Communications*, 6, 1934578X1100600923.
21. Jakopic, J. and Veberic, R., 2009. Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agriculturae Slovenica*, pp. 93, p. 11.
 22. Jongen, W. 2002., *Fruit and vegetable processing: Improving quality*, Elsevier.
 23. Jung, C.-H., Seog, H.-M., Choi, I.-W., Park, M.-W. and Cho, H.-Y., 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 39, pp. 266-274.
 24. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A., 2007. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food chemistry*, 100, pp.584-589.
 25. Kaulmann, A., Andre, C. M., Schneider, Y.-J., Hoffmann, L. and Bohn, T., 2016. Carotenoid and polyphenol bioaccessibility and cellular uptake from plum and cabbage varieties. *Food chemistry*, 197, pp. 325-332.
 26. Kaur, S. and Mondal, P., 2014. Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *J Microbiol Exp*, 1, p. 00005.
 27. Khan, S.R., Van Der Burgh, A.C., Peeters, R.P., van Hagen, P.M., Dalm, V.A. and Chaker, L., 2021. Determinants of Serum Immunoglobulin Levels: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in immunology*, 12, p.1103.
 28. Kiewiet, M.B., Faas, M.M. and De Vos, P., 2018. Immunomodulatory protein hydrolysates and their application. *Nutrients*, 10, p. 904.
 29. Koh, E., Wimalasiri, K., Chassy, A. and Mitchell, A., 2009. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of food composition and analysis*, 22, pp.637-643.
 30. Kure, C., Timmer, J. and Stough, C., 2017. The immunomodulatory effects of plant extracts and plant secondary metabolites on chronic neuroinflammation and cognitive aging: a mechanistic and empirical review. *Frontiers in pharmacology*, 8, pp. 117.
 31. Lippitz, B.E., 2013. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *The lancet oncology*, 14, pp. 218-228.
 32. Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D.R. and Carle, R., 2009. Residues of grape
 11. El-Desouky, W., Hanafi, A. and Abbas, M. M., 2017. Radioprotective effect of green tea and grape seed extracts mixture on gamma irradiation induced immune suppression in male albino rats. *International journal of radiation biology*, 93, pp. 433-439.
 12. Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M. A., 2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*, 22, pp. 277-281.
 13. Ghoshal, G. & Kansal, S. K. 2019. The emerging trends in functional and medicinal beverage research and its health implication. *Functional and medicinal beverages*. Elsevier.
 14. Hajmohammadi, A., Pirouzifard, M., Shahedi, M. and Alizadeh, M., 2016. Enrichment of a fruit-based beverage in dietary fiber using basil seed: Effect of Carboxymethyl cellulose and Gum Tragacanth on stability. *LWT*, 74, pp. 84-91.
 15. He, J. and Giusti, M. M., 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual review of food science and technology*, 1, pp.163-187.
 16. Horiguchi, N., Horiguchi, H. and Suzuki, Y., 2005. Effect of wheat gluten hydrolysate on the immune system in healthy human subjects. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 69, pp. 2445-2449.
 17. Hussain, H., Al-Harrasi, A. and Green, I. R. 2016 .Frankincense (*Boswellia*) Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier.
 18. Jaafar, N. A., 2020. In vitro efficacy assessment of cauliflower (*Brassica oleracea* Var Botrytis) alcoholic extract in mortality percentage of motile stage of mite (*Teranychusurticae* Koch). *Annals of Tropical Medicine and Health*, 23, pp.94-102.
 19. Jaiswal, A. K., Abu-Gahnam, N. and Gupta, S., 2012. A comparative study on the polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of *Brassica oleracea* vegetables. *International journal of food science & technology*, 47, pp. 223-231.
 20. Jaiswal, A. K., Rajauria, G., Abu-Gahnam, N. and Gupta, S., 2011. Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of selected Irish *Brassica* vegetables. *Natural*

42. Raza, A., Hafeez, M.B., Zahra, N., Shaukat, K., Umbreen, S., Tabassum, J., Charagh, S., Khan, R.S.A. and Hasanuzzaman, M., 2020. The plant family *Brassicaceae*: Introduction, biology, and importance. *The plant family brassicaceae*. Springer.
43. Rezq, A. A., 2017. Antioxidant Role of Cabbage (*Brassica oleracea*) Ethanolic Extract in Hepatoprotective of N-nitrosodiethylamine Induced Initiation of Hepatocellular Carcinoma in Rat Liver. *Egyptian Journal of Nutrition*, 32, p. 2.
44. Seong, G.U., Hwang, I.W. and Chung, S.K., 2016. Antioxidant capacities and polyphenolics of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) leaves. *Food Chemistry*, 199, pp. 612-618.
45. Sethi, S., Tyagi, S.K. and Anurag, R.K., 2016. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of food science and technology*, 53, pp. 3408-3423.
46. Shu, J., Liu, Y., Li, Z., Zhang, L., Fang, Z., Yang, L., Zhuang, M., Zhang, Y. and Lv, H., 2016. Detection of the diversity of cytoplasmic male sterility sources in broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) using mitochondrial markers. *Frontiers in plant science*, 7, p. 927.
47. Silambarasan, T., Manivannan, J., Raja, B. and Chatterjee, S., 2016. Prevention of cardiac dysfunction, kidney fibrosis and lipid metabolic alterations in L-NAME hypertensive rats by sinapic acid—Role of HMG-CoA reductase. *European Journal of Pharmacology*, 777, pp. 113-123.
48. Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.P. and Rai, M., 2006. Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *Scientia Horticulturae*, 108, pp. 233-237.
49. Singh, J., Upadhyay, A.K., Prasad, K., Bahadur, A. and Rai, M., 2007. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in *Brassica* vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, pp. 106-112.
50. Subramanian, V. and Gowry, S., 2011. Antitumor activity and antioxidant role of *Brassica oleracea Italica* against ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2, pp. 275-285.
51. Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M., 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 112, pp. 551-559.
33. Mao, R., Wu, L., Zhu, N., Liu, X., Hao, Y., Liu, R., Du, Q. and Li, Y., 2020. Immunomodulatory effects of walnut (*Juglans regia* L.) oligopeptides on innate and adaptive immune responses in mice. *Journal of Functional Foods*, 73, p. 104068.
34. Mao, R., Wu, L., Zhu, N., Liu, X., Liu, R. and Li, Y., 2019. Naked Oat (*Avena nuda* L.) Oligopeptides: Immunomodulatory Effects on Innate and Adaptive Immunity in Mice via Cytokine Secretion, Antibody Production, and Th Cells Stimulation. *Nutrients*, 11, p. 927.
35. Marigoudar, S.R., Mohan, D., Nagarjuna, A. and Karthikeyan, P., 2018. Biomarker and histopathological responses of Lates calcarifer on exposure to sub lethal concentrations of chlorpyrifos. *Ecotoxicology and environmental safety*, 148, pp. 327-335.
36. Marino, D., Ariz, I., Lasa, B., Santamaría, E., Fernández-Irigoyen, J., González-Murua, C. and Aparicio Tejo, P.M., 2016. Quantitative proteomics reveals the importance of nitrogen source to control glucosinolate metabolism in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica oleracea*. *Journal of experimental botany*, 67, pp. 3313-3323.
37. Oancea, S., Mila, L. and Ketney, O., 2019. Content of Phenolics, in vitro Antioxidant Activity and Cytoprotective Effects against Induced Haemolysis of Red Cabbage Extracts. *Biotech. Lett*, 24, pp. 1-9.
38. Ordonez, A.A.L., Gomez, J.D. and Vattuone, M.A., 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food chemistry*, 97, pp. 452-458.
39. Patel Rameshvar, K., Patel, M.M., Kanzariya, N.R., Vaghela, K.R., Patel, R.K. and Patel, N.J., 2010. In-vitro hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* Lam. leave on isolated rat hepatocytes. *Int. j. ph. sci*, 2, pp. 457-463.
40. Podsedek, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40, pp. 1-11.
41. Qaderi, M.M., Kurepin, L.V. and Reid, D.M., 2006. Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to three components of global climate change: temperature, carbon dioxide and drought. *Physiologia Plantarum*, 128, pp. 710-721.

- heteromeric receptor complex. *The Journal of Immunology*, 177, pp. 36-39.
56. Udenigwe, C.C., Lu, Y.L., Han, C.H., Hou, W.C. and Aluko, R.E., 2009. Flaxseed protein-derived peptide fractions: Antioxidant properties and inhibition of lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in murine macrophages. *Food Chemistry*, 116, pp. 277-284.
 57. Verma, A.K., Pathak, V., Singh, V.P. and Umaraw, P., 2016. Storage study of chicken meatballs incorporated with green cabbage (*Brassica oleracea*) at refrigeration temperature (4±1°C) under aerobic packaging. *Journal of applied animal research*, 44, pp. 409-414.
 58. Yimit, D., Hoxur, P., Amat, N., Uchikawa, K. and Yamaguchi, N. 2012. Effects of soybean peptide on immune function, brain function, and neurochemistry in healthy volunteers. *Nutrition*, 28, pp.154-159.
 59. Zhao, L., Zhang, Y., Liu, G., Hao, S., Wang, C. and Wang, Y., 2018. Black rice anthocyanin-rich extract and rosmarinic acid, alone and in combination, protect against DSS-induced colitis in mice. *Food & function*, 9, pp.2796-2808.
 - activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14, pp.2167-2180.
 52. Sy, J.B.A., Hsu, T.C., Limaye, A. and Liu, J.R., 2020. Oral administration with a traditional fermented multi-fruit beverage modulates non-specific and antigen-specific immune responses in BALB/c mice. *Plos one*, 15, e0233047.
 53. Thomas, M., Badr, A., Desjardins, Y., Gosselin, A. and Angers, P., 2018. Characterization of industrial broccoli discards (*Brassica oleracea* var. *italica*) for their glucosinolate, polyphenol and flavonoid contents using UPLC MS/MS and spectrophotometric methods. *Food chemistry*, 245, pp. 1204-1211.
 54. Tometten, M., Blois, S., Kuhlmei, A., Stretz, A., Klapp, B.F. and Arck, P.C., 2006. Nerve growth factor translates stress response and subsequent murine abortion via adhesion molecule-dependent pathways. *Biology of reproduction*, 74, pp. 674-683.
 55. Toy, D., Kugler, D., Wolfson, M., Bos, T.V., Gurgel, J., Derry, J., Tocker, J. and Peschon, J., 2006. Cutting edge: interleukin 17 signals through a

(Original Research Paper)

Functional Beverage Containing Extracts of Plants of the Family *Brassicaceae* to Improve the Immune System

Zahra Latifi¹, Saeid Abedian Kenari^{2*}, Ali Akbar Mashayekh³

1-Ph.D. Student of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

2-Professor, Department of immunology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

3-Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities and Social Sciences, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

Received:08/01/2022

Accepted:07/03/2022

Abstract

The immune system is closely related to human health. Accordingly, functional foods containing bioactive compounds can be considered as of the immune system boosters. The aim of the present study was to produce a functional beverage containing extracts of family *Brassicaceae* plants (white cabbage, red cabbage, broccoli and cauliflower) to improve the immune system in female laboratory mice. For this purpose, hydroethanolic extracts were prepared from four types of cabbage, then the amount of total phenolic and flavonoid compounds and antioxidant capacity by DPPH method for extracts were evaluated. The functional beverage were prepared by combining four extracts with concentrations of 400 and 800 µg/ml and laboratory mice were fed daily with doses of 1 cc for 15 consecutive days. Immune system was assessed by examining IgG, IFN-γ, IL-4, IL-10 and IL-17 by Non-competitive ELISA method. The results showed high levels of phenol (1.63 ± 0.024 mg GA/g) and total flavonoids (0.426 ± 0.004 mg QE/g) in white cabbage hydroethanolic extract. Also in DPPH method, the highest rate of free radical scavenging was related to red cabbage with 98.26% at a concentration of 800 µg/ml. The results of immune system evaluation showed that three factors of IgG, IL-10 and IL-17 in mice were increased by increasing the concentration of the extract to 800 µg/ml in the functional beverage; IgG factor increased to 10.81 ± 6.68 mg/ml in the control group and to 27.35 ± 20.86 mg/ml in the third group with 800 µg/ml extract concentration. The results showed that the extracts of plants of the *Brassicaceae* family have a high potential for use in food products with the aim of increasing the quality and nutritional value.

Keywords: *Brassicaceae* Plants, Plant Extract, Phytochemical Properties, Antioxidant Capacity, Immune System.

*Corresponding Author: abedianlab@yahoo.co.uk