

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره هسته خرما و تاثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی کیک فنجانی

فاطمه باغبانی^۱، علیرضا شیرازی نژاد^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سروستان، استان فارس، ایران
۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سروستان، استان فارس، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۵)

چکیده

هسته‌ی خرما به عنوانضایعات می‌تواند بطور گسترده‌ای برای کاربردهای مختلف استفاده شود و امروزه مطالعات زیادی بر روی خواص آن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی انجام می‌گیرد. در این پژوهش با استفاده از روش مهار رادیکال DPPH، خواص آنتی‌اکسیدانی و با استفاده از آزمون شمارش میکروبی و ویژگی آنتی میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره هسته خرما (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ $\mu\text{g/mL}$) که با استفاده از حلال آب استخراج شده بود ارزیابی شد. همچنین تاثیر آن‌ها بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی کیک فنجانی مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌های اندازه‌گیری عدد پراکسید، اسیدیته، pH، ترکیب شیمیایی و ارزیابی حسی نیز انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد. IC50 برای عصاره هسته خرما، ۱۵۶۸/۹۳ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. مقدار فنول کل عصاره $119/53 \pm 0/28$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بود. فعالیت آنتی‌میکروبی عصاره با استفاده از حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب ۰/۸ و ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد. اجزای عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا سنجش شد و وجود ترکیبات گالیک اسید، کاتچین، کلروژنیک، روتین، وانیلین، p-کوماریک اسید و سیناپیک اسید به اثبات رسید. تمامی کیک‌های تهیه‌شده حاوی غلظت‌های مختلف عصاره از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی در محدوده استاندارد قرار داشتند. نمونه حاوی ۰/۲ درصد عصاره‌ی هسته‌ی خرما از نظر شمارش میکروبی نسبت به سایر نمونه‌های مورد بررسی در محدوده مناسب قرار داشت و از نظر ویژگی‌های حسی مقبولیت کلی نیز بالاترین امتیاز را کسب نمود. در نتیجه، عصاره هسته خرما به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده ارزان قیمت و طبیعی در فرمولاسیون کیک فنجانی مورد استفاده قرار بگیرد.

کلید واژگان: کیک فنجانی، عصاره، هسته خرما، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی

*مسئول مکاتبات: drshirazinejad@gmail.com

۱- مقدمه

امروزه یکی از مسائل مورد توجه، میزان " ضایعات و پسماند " بخش کشاورزی است به طوری که بر اساس گزارش فائو در سال ۱۳۹۴، حدود ۳۳ درصد از محصولات کشاورزی جهان با ارزش قریب به ۱/۳ میلیارد دلار در سال به ضایعات تبدیل می‌شوند [۱]. علیرغم تلاش‌های انجام گرفته در راستای رشد تولید در بخش کشاورزی، میزان تولید ضایعات و پسماند بخش کشاورزی نیز رو به افزایش است. ازین رو سطح تأثیر ضایعات در تولید ناخالص ملی بسیار نگران‌کننده است [۲].

هسته خرما به عنوان ضایعات در بسیاری از کارگاه‌های بسته بندی و فرآوری خرما و به صورت خرمای نامرغوب زیر درختی تولید می‌شود که دارای خواص درمانی گسترده‌ای در طب سنتی است [۳]. هسته خرما در حدود ۱۰ تا ۴۶ درصد از وزن میوه را بسته به رقم خرما به خود اختصاص می‌دهد [۴]. در کشورهای خرماخیز جهان، قسمت عمده هسته خرما دور ریخته می‌شود و یا به عنوان خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد. مزیت استفاده از آن به عنوان خوراک دام در افزایش وزن، بهبود بازده خوراک و بهبود کیفیت گوشت است [۵].

مطالعات انجام گرفته در زمینه ترکیب شیمیایی محصولات کشاورزی و امکان استفاده از آن‌ها در صنایع مختلف حاکی از آن است که ضایعات این حوزه می‌تواند در موارد مختلفی مورد استفاده قرار بگیرد. برای مثال فیبر غذایی موجود در هسته خرما نقش مهمی در پیشگیری از دیابت و هیپرلیپدمی و همچنین نقش محافظتی در برابر فشار خون، بیماری عروق کرونر قلب، کلسترول، سرطان روده بزرگ، سرطان پروستات و اختلالات روده ای دارد [۶]. هسته خرما در درمان ترکیبی یا به عنوان یک ماده جدید در درمان بیماری ایدز قابلیت کاربرد دارد [۷]. نتایج حاصل از مطالعات نشان می‌دهد که عصاره پوست پرتقال خاصیت ضد میکروبی داشته و در مقایسه با نگهدارنده‌ای مانند سوربات پتاسیم تأثیر بهتری بر خواص حسی کیک دارد [۸]. همچنین گزارش‌ها حاکی از قابلیت ضد میکروبی محصولاتی نظیر مرزنجوش، بادرنجویه، ارقام مختلف خرما و بسیاری دیگر از محصولات کشاورزی است [۹، ۱۰]. عصاره هسته خرما، اثر مهارکنندگی نسبتاً خوبی در مقابل رشد انواعی از سویه‌های

باکتریایی مقاوم و غیرمقاوم به دارو و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد [۱۱-۱۳]. ترکیبات فنولی از جمله گالیک اسید، آسکوربیک اسید، وانیلین و کافئیک اسید، این خاصیت ضد میکروبی را به هسته خرما بخشیده‌اند [۱۲، ۱۴].

با توجه به ارزان بودن هسته خرما، به‌کاربردن عصاره هسته خرما می‌تواند در جهت پیشرفت اقتصادی، موجب بالا رفتن میزان ارزش افزوده محصول و در نهایت افزایش بهره‌وری در صنعت تولید محصولات غذایی گردد. از این رو این پژوهش با هدف بررسی خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته خرما و تأثیر عصاره بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی کیک فنجان‌ی صورت گرفته است.

۲- مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی در آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سروستان انجام شده است.

۲-۱- مواد

مواد اولیه کیک شامل آرد گندم (با نام تجاری گلها)، شکر (با نام تجاری شیرین شهد طبرستان)، تخم مرغ (با نام تجاری تلاونگ)، بیکنینگ پودر (با نام تجاری هرمین)، روغن (با نام تجاری بهار) و شربت اینورت (از کارخانه کیک درنا تهیه شد) مورد استفاده قرار گرفت. همه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش محصول شرکت آلمانی با نام تجاری مرک بود.

۲-۲- تهیه عصاره هسته خرما

به منظور استخراج عصاره، هسته‌های خرما به صورت دستی خارج و با آب شسته شد تا بقایای خرما بطور کامل از سطح آن جدا شود. پس از آن به مدت یک هفته هسته‌ها در محیط آزمایشگاه بر روی صافی قرار داده شد تا خشک شدند. هسته خشک شده را توسط آسیاب پودر کرده و پودر حاصل از غربالی با قطر منافذ یک میلی متر عبور داده شد. بدین صورت که مقدار ۵۰ گرم از پودر هسته با یک لیتر آب داغ ۸۰ درجه سلسیوس دوبار تقطیر مخلوط شد و مخلوط حاصل به مدت ۷ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تکان داده شد تا عمل استخراج عصاره صورت گیرد. سپس عصاره حاصل

(رابطه ۱)

۲-۵- فعالیت ضد میکروبی عصاره بر باکتری**سالمونلاتیفی موریوم**

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌میکروبی از روش حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره بر باکتری سالمونلاتیفی موریوم انجام شد. باکتری سالمونلاتیفی موریوم روی محیط کشت نوترینت‌براث کشت داده و سپس کشت سطحی داده شد و یک کلنی از آن برداشته و در اولین لوله ریخته شد. عصاره را با غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۶، ۰/۰۸، ۰/۱ و ۰/۲ و ۰/۴ در سری لوله‌های نوترینت‌براث رقت سریالی تهیه شد. رقت نمونه شاهد صفر بود. پس از آن لوله‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. پس از این مدت کمترین رقت که از کدورت لوله جلوگیری کرده است (مهار رشد) یادداشت شده و از آن برای MIC استفاده شد. به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها (MBC)، با توجه به نتایج بدست آمده از MIC استفاده شد. میزان ۵ میکرولیتر از چاهک‌های روش MIC که رشد باکتری‌ها در آن‌ها کاملاً متوقف شده بود به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد و کشت سطحی انجام گرفت. پلیت‌ها به مدت ۲۲-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. پایین‌ترین غلظت عصاره که هیچ باکتری نتواند در آن‌ها رشد کند، به عنوان مقادیر MBC گزارش شدند.

۲-۶- شناسایی ترکیبات عصاره با دستگاه**HPLC**

برای شناسایی اجزای سازنده عصاره از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. دستگاه دارای پمپ چهار قسمتی، نمونه‌گیر و آشکارساز اتوماتیک ۱۱۰۰ کروماتوگراف بود. نوع ستون Zorbax Eclipse، اندازه ستون ۱۵۰×۴/۶ میلی‌متر و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. تنظیمات ES¹ شامل درجه حرارت ۳۰ درجه سلسیوس، یونیزاسیون الکترواسپری ۴۵۰۰ ولت، گاز (curtain gas) با فشار ۸ psi، آشکارساز CEM ۲۳۰۰ ولت بود. محلول ۱٪ فرمیک‌اسید در متانول با نسبت‌های ۱۰:۹۰، ۲۵:۷۵، ۶۰:۴۰، ۷۰:۳۰

با کاغذ واتمن شماره ۴ صاف شده، سپس برای خشک کردن عصاره از آن با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد استفاده شد. تا زمان آنالیز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد [۱۵].

۲-۳- فنول کل عصاره

رسم منحنی گالیک اسید با روش دونالد و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفت. بدین منظور ابتدا ۳۲۰۰ میکروگرم گالیک‌اسید در یک میلی‌لیتر متانول حل شد، و با استفاده از روش رقیق‌سازی متوالی غلظت‌های ۱۶۰۰ تا ۱۲/۵ μg/mL تهیه گردید. تعیین مقدار محتوای کل ترکیبات فنولی با استفاده از روش رنگ‌سنجی فولین سیو کالتو انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های ۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از عصاره را برداشته و به آن ۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیو کالتو و ۴ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات یک مولار اضافه شد. سپس با استفاده از ورتکس به خوبی هم‌زده شد و پنج دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مخلوط فولین سیو کالتو و سدیم کربنات به عنوان بلانک استفاده شد. معرف فولین سیو کالتو و محتوای فنولی تشکیل کمپلکس آبی رنگی می‌دهد که در طول موج ۷۶۵ نانومتر قابل خواندن است [۱۶].

۲-۴- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. بدین منظور نمونه‌هایی شامل (۱) ۲۰۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH و ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره شامل ۶/۲۵-۱۲/۵-۲۵-۵۰-۱۰۰-۲۰۰-۴۰۰-۸۰۰-۱۶۰۰-۳۲۰۰ (۲ ppm) میکرولیتر متانول و ۲۰ میکرولیتر محلول عصاره (۳) ۲۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH و ۲۰ میکرولیتر متانول تهیه شد. بعد از مخلوط نمودن حلال‌ها به مدت ۱۰ ثانیه توسط میکروپلیت‌ریدر، جهت انجام واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در جای تاریک و در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از این مدت توسط دستگاه میکروپلیت‌ریدر جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. درصد فعالیت ضد اکسیدانی از فرمول زیر محاسبه شد [۱۷].

$$\text{نسبت بازداری} = 100 - \left(\frac{A_{\text{test}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \right)$$

1. Electrospray Ionization

میلی لیتری در ۷۵ میلی لیتر آب حل نموده و ۲ میلی لیتر محلول استات روی و مقدار مساوی آن از محلول فروسیانور پتاسیم به آن اضافه شد. سپس به خوبی تکان داده و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. به وسیله کاغذ صافی صاف شد. ۱۰ میلی لیتر از محلول بدست آمده را به یک بالن ۱۰۰ میلی لیتری منتقل کرده و به آن مقداری آب مقطر و ۲/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد. سپس در بن ماری ۷۰ درجه به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از سرد کردن به کمک شناساگر فنل فتالین و سپس سود غلیظ و سود ۰/۱ نرمال آن را خنثی کرده و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس عمل سنجش انجام گرفت. مقدار قند کل موجود در ۱۰۰ گرم نمونه مورد آزمایش از رابطه زیر محاسبه و برحسب دکستروز گزارش گردید.

$$T \times V \times W = 100 \times T \times V \times W$$

که در آن :

T = عیار فهلینگ برحسب دکستروز به میلی گرم، V = حجم مصرف شده از محلول نمونه برای خنثی کردن فهلینگ و W = وزن آزمونه به گرم (رابطه ۲)

۲-۱۰- اندازه گیری عدد پراکسید

برای اندازه گیری عدد پراکسید از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷ استفاده شد [۲۱]. به این ترتیب محلول اشباع پتاسیم یدید و محلول چسب نشاسته ۱٪ تهیه شد. ۲ گرم روغن در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری توزین و سپس ۳۰ میلی لیتر محلول اسید استیک و کلروفرم (با نسبت ۳ به ۲) به آن اضافه گشت و کاملاً باهم مخلوط شدند. سپس ۰/۵ میلی لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع به آن اضافه و ۱ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. بعد از خروج از تاریکی، ۳۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد؛ سپس با تیتراژول تیوسولفات ۰/۱ نرمال تیتراژ گردید تا رنگ زرد زایل شود. در هنگام تیتراژ کردن مخلوط به شدت همزده شد تا یخ لایه کلروفرم جدا شود. سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف شناساگر نشاسته اضافه و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه یافت. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد (مخلوط اسید استیک و کلروفرم بدون روغن) نیز انجام و در نهایت عدد پراکسید با استفاده از فرمول مورد نظر

حجمی/حجمی تهیه شد. نرخ جریان فاز متحرک یک میلی لیتر بر دقیقه بود. ترکیبات فنولی موجود در عصاره با استفاده مقایسه زمان بازداری ترکیبات با ترکیب استاندارد شناسایی شدند و مقدار آن‌ها برحسب درصد بیان شد [۱۸].

۲-۷- تهیه کیک

در تهیه خمیر کیک فنجانی، مواد اولیه لازم شامل آرد گندم (۳۵ درصد)، شکر (۲۲/۵ درصد)، آب (۱۷ درصد)، تخم مرغ (۱۰/۹ درصد)، روغن (۱۰ درصد)، شربت اینورت (۲ درصد)، بیکینگ پودر (۱/۷ درصد) و عصاره در ۳ سطح (۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲) استفاده شد. برای تولید کیک در مرحله اول تخم مرغ به همراه شکر در مخلوط کن با دور بالا به مدت ۳ دقیقه کاملاً مخلوط شدند. در مرحله دوم، روغن و آب به مخلوط اضافه و با دور بالای همزن، به مدت ۳ دقیقه مخلوط شدند. در مرحله سوم، آرد، بیکینگ پودر، شربت اینورت و عصاره اضافه شدند و با سرعت متوسط، عمل مخلوط کردن انجام شد تا خمیر یکنواختی تشکیل شود. خمیر پس از آماده شدن در کاغذهای روغنی مخصوص کیک فنجانی ریخته و به مدت ۱۷ دقیقه در دمای ۱۷۰ درجه سلسیوس پخته شد. در نهایت نمونه‌های کیک پس از خنک شدن به مدت نیم ساعت در دمای محیط، در بسته‌های فیلم پلاستیکی نازک بسته‌بندی شدند تا از آلودگی‌های ثانویه جلوگیری شود و سپس آزمایش‌های لازم بر روی نمونه‌های کیک فنجانی انجام شد [۱۹].

۲-۸- ترکیب شیمیایی کیک فنجانی

برای اندازه گیری میزان رطوبت کیک مطابق روش استاندارد ملی ایران به شماره ۲۷۰۵ عمل شد [۲۰]. چربی کل با روش سوکسله و مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷ تعیین شد [۲۱]. میزان پروتئین با روش کلدال و مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۶۳ تعیین شد [۲۲]. خاکستر کل مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷ تعیین شد [۲۱].

۲-۹- اندازه گیری قند کل

اندازه گیری قند کل با روش استاندارد ملی ایران به شماره ۲۵۵۳ اندازه گیری شد [۲۳]. محلول‌های فهلینگ A و B به صورت تجاری تهیه و آزمون‌های اندازه گیری عیار فهلینگ و محلول استاندارد انجام شد. ۳ گرم نمونه کیک در یک بالن ژوژه ۱۰۰

تمامی رقت‌ها ادامه داده شد و در آخر پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به صورت وارونه به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شد. بعد از این مدت پلیت‌ها به وسیله کلنی شمار شمارش شد.

۲-۱۴- ارزیابی حسی

از ده نفر ارزیاب آموزش دیده جهت بررسی ویژگی‌های کیک‌های تهیه شده در این آزمون استفاده گردید. آزمون مورد استفاده روش هدونیک ۵ نقطه‌ای (۱=عالی، ۲=بسیارخوب، ۳=خوب، ۴=متوسط، ۵=ضعیف) بود. بدین ترتیب کیک‌ها کدگذاری شد و خصوصیات حسی شامل رنگ، بافت، طعم و مزه، بو و ارزیابی کلی توسط ارزیابان آموزش دیده بررسی شدند. فرم‌های ارزیابی حسی تهیه و در اختیار گروه ارزیابی چشایی قرارگرفت. ارزیابی حسی تمام نمونه‌های کیک یک روز پس از پخت و در دمای اتاق انجام شد. آب تازه برای هر مرحله در اختیار ارزیابان قرار داده شد [۲۵].

۲-۱۵- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده از آزمون‌های مختلف در قالب فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سطح معنی داری ۹۵٪ مورد بررسی قرارگرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 و برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و بر اساس روش آنووا استفاده شد. به منظور کاهش خطا کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- فنول کل عصاره

جهت اندازه‌گیری مقدار کل فنول در نمونه‌های عصاره هسته خرما از نمودار استاندارد گالیک اسید^۱ استفاده شد. از غلظت‌های ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هسته خرما استفاده شد و جذب نمونه‌ها در ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد گالیک اسید بر اساس رابطه ۴ و ضریب تصحیح ۹۹/۸۲، مقدار فنول کل عصاره هسته خرما $119/53 \pm 0/28$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره محاسبه شد (شکل ۱).

محاسبه و بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن بیان شد.

=عدد پراکسید

که در آن:

V₂: حجم تیوسولفات سدیم مصرفی برای نمونه، V₁: حجم تیوسولفات مصرفی برای شاهد، N: نرمالیه تیوسولفات مصرفی و m: وزن روغن مصرفی برحسب گرم (رابطه ۳)

۲-۱۱- اندازه‌گیری اسیدیته

برای اندازه‌گیری اسیدیته چربی از استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷ استفاده شد [۲۱]. بدین منظور ۳ گرم از چربی استخراج شده در مراحل قبل در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری توزین شد و سپس ۳۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ به همراه چند قطره معرف فنل‌فتالین به آن اضافه شد. تیتراسیون با استفاده از محلول سود ۰/۰۱ نرمال تا ایجاد رنگ صورتی کم‌رنگ ادامه یافت و مقدار اسیدیته بر حسب اسیداولئیک در ۱۰۰ گرم نمونه از طریق رابطه ۲-۸ محاسبه شد.

وزن نمونه / (حجم سود مصرفی $\times 0/1 \times 28/2$) = درصد اسیدیته

(رابطه ۴)

۲-۱۲- اندازه‌گیری pH

سنجش pH با استفاده از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷ و با استفاده از pH متر دیجیتال انجام شد [۲۱]. ۱۰ گرم نمونه خرد شده کیک داخل ارلن مایر ۲۵۰ توزین شد و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و با یک میله شیشه‌ای محتوی ارلن همزده شد و سپس ساکن قرار گرفت تا دو فاز ایجاد شود؛ سپس مایع شفاف داخل بشر ریخته شد و pH اندازه‌گیری شد.

۲-۱۳- شمارش کلی میکروب‌ها

شمارش کلی میکروب مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۹۵ انجام شد [۲۴]. بدین منظور ابتدا محیط کشت ساخته و درون اتوکلاو استریل شد. ۱۰ گرم از کیک در ۹۰ میلی لیتر محلول رینگر حل شد. سپس ۱ میلی لیتر از این محلول در یک لوله حاوی ۹ میلی لیتر رینگر حل شده و به همین ترتیب تا ساخت رقت ۱۰-۵ ادامه داده شد. نمونه‌ها به صورت پورپلیت با استفاده از محیط کشت PCA انجام شد. کشت دادن برای

2. Acid Galic

آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش یافته است و اختلاف معنی‌دار آماری ($p < 0.05$) ایجاد شده است. اختلاف فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm عصاره با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشت. همچنین در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ ppm و همچنین غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ ppm اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. در سایر غلظت‌ها نمونه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار آماری داشتند. IC₅₀ که معادل غلظتی از عصاره است که ۵۰٪ فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشد، برای عصاره هسته خرما بر اساس معادله زیر، ۱۵۶۸/۹۳ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد.

$$Y = 0.0129x + 20.409$$

رابطه (۵)

Table 1 DPPH radical scavenging activities of different concentrations of extracts

Radical scavenging activities (%)	Extract (ppm) concentration
17.29 ± 1.30 ^e	6.25
17.03 ± 1.37 ^e	12.5
17.56 ± 1.45 ^e	25
19.65 ± 2.47 ^f	50
19.42 ± 1.12 ^f	100
23.61 ± 1.75 ^e	200
24.21 ± 3.98 ^e	400
33.59 ± 8.59 ^d	800
50.08 ± 11.91 ^e	1600
71.04 ± 12.66 ^b	3200
95.39 ± 0.41 ^a	6400

Different lowercase letters in each column indicate significant differences ($P < 0.05$).

ترکیبات فنولی می‌توانند به گروه‌های در معرض اکسیداسیون، هیدروژن یا الکترون بدهند [۲۸] بنابراین، میزان ترکیبات فنولی می‌تواند به عنوان شاخصی مهم برای برآورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی به کار رود. توجه به این نکته می‌تواند گیاهان دارویی را به عنوان منابع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در تولید داروهای با پایه گیاهی، غذا داروهای فوموله شده و غذاهای فراسودمند معرفی کند [۲۹].

اساس این آزمایش بر مبنای احیاء رادیکال‌های آزاد DPPH به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها در غیاب سایر رادیکال‌های آزاد در محیط می‌باشد که نتیجه این عمل باعث ایجاد رنگی در محیط می‌شود که شدت آن با دستگاه طیفسنجی قابل اندازه‌گیری است. DPPH یک رادیکال پایدار است که محلول متانولی آن دارای رنگ بنفش می‌باشد که بیشترین جذب نوری را در ۵۱۵-۵۲۰

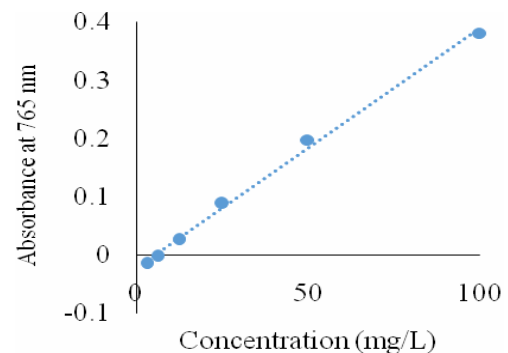


Fig 1 Gallic acid standard curve

(رابطه ۴)

$$Y = 0.00412x - 0.02257$$

سلیمانی‌ده و همکاران (۱۳۹۵) مقدار ترکیبات فنولی در عصاره هسته ۳ واریته خرما می‌مضافی بم، جیرفت و کلوته را به ترتیب ۱۸۹۸/۲۷، ۱۸۴۰/۹۳ و ۱۹۵۲/۹۳ میلی‌گرم گالیک‌اسید در صد گرم ماده خشک محاسبه نمودند که با نتایج به دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد [۱۴]؛ در پژوهشی الفارسیولی (۲۰۰۸) میزان ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌ها در هسته ارقام مختلف خرما را به ۳۱۰۲ تا ۴۴۳۰ میلی‌گرم اکی والان گالیک‌اسید، ۵۸۰۰۰ و ۹۲۹۰۰ میکرومول اکی والان ترلوکس به ازای ۱۰۰ گرم پودر هسته گزارش کردند [۲۶]. تفاوت در این مقادیر نیز می‌تواند ناشی از تأثیر عوامل محیطی، زیستگاهی و تغذیه‌ای درخت خرما باشد. همچنین مقدار ترکیبات فنولی عصاره هسته خرما واریته کبکاب را که با روش مایکروویو و حلال متانول استخراج شده بود را ۴۹/۴ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم عصاره محاسبه نمودند که از مقدار بدست‌آمده از پژوهش کمتر است [۲۷]. به نظر می‌رسد حلال آب و روش ماسراسیون نقش بیشتری در استخراج ترکیبات فنولی از عصاره داشته است. مقدار فنول کل عصاره در خرماهای واریته‌های مختلف را بین ۳۲/۲۴ تا ۳۵/۸۵ میلی‌گرم کافئیک‌اسید بر ۱۰۰ گرم خرما تازه عنوان نمودند [۱۲].

۳-۲- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره

برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره از روش مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد که نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت عصاره از ۶/۲۵ تا ۶۴۰۰ ppm فعالیت

عصاره هسته خرما علیه باکتری‌ها خاصیت کشندگی و مهارکنندگی دارد [۳۴]. صباح و همکاران (۲۰۰۷) اثرات ضدمیکروبی عصاره استونی هسته خرما را علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار دادند. این عصاره اثرات ضدمیکروبی بالایی علیه باکتری مذکور داشت [۷]. گاربا و همکاران (۲۰۱۳) عصاره اتانولی هسته خرما را علیه اشرشیاکلی، گونه‌های پروتئوس و یرسیینیا/نتروکولیتیکا مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که حداقل غلظت مهارکنندگی ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر است [۳۵]. این نتایج با یافته‌های دادجو و همکاران (۱۳۹۲) در مورد اثرات ضدمیکروبی عصاره هسته خرما برای باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اپیدرمیس و همچنین با گزارش تحقیقی الدایهان و همکاران (۲۰۱۲) هم‌راستا می‌باشد [۳۶]. همچنین امیر و همکاران (۲۰۱۲) نیز مقدار MIC و MBC برای عصاره متانولی هسته خرما و عصاره قشطه صدفی را علیه باکتری سالمونلاتیفی موریوم ۰/۰۴ و ۰/۲ گزارش نمودند که دلیل کمتر بودن این مقدار نسبت به مقادیر بدست آمده از این پژوهش را می‌توان مرتبط با اثر سینرژیستی عصاره قشطه صدفی دانست [۱۱].

۳-۴- ترکیبات مؤثره عصاره

جهت شناسایی ترکیبات مؤثره عصاره هسته خرما از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد. ترکیبات مؤثره جدا شده از عصاره که در نتیجه مقایسه با نمونه استاندارد تزریق شده به دستگاه بدست آمده است در شکل ۲ نشان داده شده است، جدول ۲ نیز مشخصات کمی ترکیبات مؤثره عصاره را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود ۷ ترکیب مؤثره گالیک اسید، کاتچین^۴، کلروژنیک^۵، روتین^۶، وانیلین^۷، p-کوماریک اسید^۸ و سیناپیک اسید^۹ در عصاره خرما شناسایی شده است (شکل ۲ و جدول ۲).

نانومتر نشان می‌دهد. پایه و اساس این روش به این صورت است که رادیکال DPPH به عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول اهداکننده مانند آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و در نتیجه DPPH به DPPH₂ تبدیل می‌شود. در این حالت رنگ بنفش به زرد تغییر می‌کند. بنابراین شدت جذب در ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد و از روی اندازه‌گیری شدت جذب می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی پی برد [۳۱، ۳۰].

همانطور که نشان داده شد عصاره هسته خرما در غلظت‌های مختلف دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت مهار رادیکال‌های آزاد بود که با افزایش غلظت عصاره این خاصیت افزایش یافت. این نتایج با نتایج جلالی جیوان و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد. آنها نشان دادند که عصاره‌های مختلف هسته خرما بر اساس روش رادیکال‌های ۲، ۲-آزینویس^۳ (ABTS) دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند [۱۵]. اردکانی و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که هسته ۱۴ رقم از خرماهای ایران (شاهانی، خاصویی، سایر، زاهدی، شکار، شهابی، کبکاب، خنیزی، مکتوب، مجول، گفتار، لاشت، کبکاب‌الاکلی، شهابی) دارای فعالیت نسبتاً بالای آنتی‌اکسیدانی هستند [۳۲] و می‌توان آن‌ها را به عنوان منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای اهداف دارویی و تجاری در نظر گرفت [۳۳]. الحرتی و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند که عصاره هسته خرما دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش مهار رادیکال آزاد DPPH است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد [۱۲].

۳-۳- فعالیت ضدمیکروبی

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره هسته خرما با روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری سالمونلا تیفی موریوم انجام شد که مقادیر MIC و MBC به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

در یک پژوهش، شریعتی و همکاران (۱۳۸۹) عصاره‌های اتانولی و استونی هسته خرما را استخراج و فعالیت ضدمیکروبی آن را علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اندازه‌گیری نمودند و نشان دادند که این عصاره دارای خاصیت ضدباکتریایی است [۱۳]. در پژوهش ابوحر فیل و همکاران (۱۹۹۹) نیز نشان داده شد که

3. 2,2'-azino-bis Acid

4. Catechin
5. Chlorogenic Acid
6. Rutin
7. Vanillin
8. p-Coumaric Acid
9. Sinapic Acid

Table 2 Date seed extract chromatogram

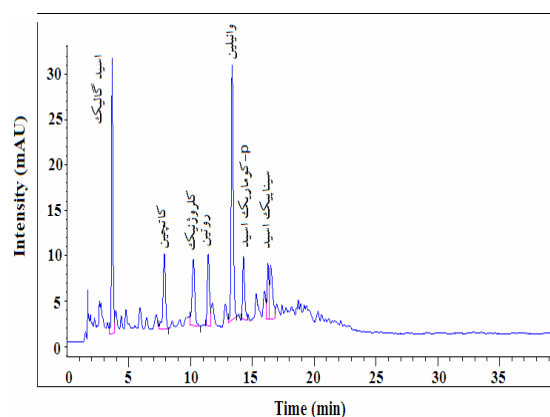
Compound	Amount of compound (mg/L)	Retention Time (min)	Width (min)	Area (mA.sec)	Height (mA)	Area(%)
Gallic acid	0.59	3.65	0.12	241.24	30.29	21.31
Catechin	26.7	8.3	0.21	117.38	8.28	10.37
Chloregenic acid	4.96	10.5	0.22	110.96	7.28	9.80
Rutin	33.21	12.6	0.18	96.42	7.91	8.51
Vanilin	4.0	13.5	0.17	328.43	28.05	29.01
p-Coumaric acid	1.51	15.6	0.14	61.65	6.10	5.44
Sinapic acid	17.49	16.5	0.21	97.43	5.91	8.6

تاکنون گالیک اسید، پروتوکاتگوتیک اسید^{۱۰}، پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید^{۱۱}، وانیلیک اسید^{۱۲}، کافئیک اسید^{۱۳}، پاراکوماریک اسید^{۱۴}، فرولیک اسید^{۱۵}، متاکوماریک اسید^{۱۶} و اورتوکوماریک اسید^{۱۷} در هسته ارقام خرما یافت شده‌اند که بنابر یافته‌های الفارسیو لی (۲۰۱۱) پروتوکاتگوتیک، پاراهیدروکسی بنزوئیک و متاکوماریک اسیدها بیشترین میزان را دارا هستند. همین طور نتایج آنالیز HPLC الحرتهی و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که ترکیبات موثره در عصاره هسته خرما به ترتیب سینیرژیک اسید، وانیلین، کافئیک اسید، p-کوماریک اسید و گالیک اسید است. وانیلین، p-کوماریک اسید و گالیک اسید در پژوهش ما نیز شناسایی شد که از این منظر با نتایج پژوهش ذکر شده همسو می‌باشد [۶، ۱۲].

۳-۵- ترکیب شیمیایی کیک

نتایج مربوط به تجزیه شیمیایی کیک فنجانی حاوی عصاره هسته خرما در جدول ۳ مشاهده می‌شود.

مشاهده می‌شود که روتین بیشترین مقدار ترکیب موثره عصاره را به خود اختصاص داده است و بعد از آن به ترتیب کاتچین و سیناپیک اسید قرار دارند. اسیدکلروژنیک، وانیلین، p-کوماریک اسید و گالیک اسید به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. اولین ترکیبی که شناسایی شد گالیک اسید و آخرین ترکیب شناسایی شده سیناپیک اسید بود. بلندترین و کمترین ارتفاع پیک به ترتیب برای گالیک اسید و سیناپیک اسید مشاهده شد. تاکنون اثر ضد میکروبی گالیک اسید [۳۷]، کلروژنیک [۳۸]، روتین [۳۹] و p-کوماریک اسید [۴۰] به اثبات رسیده است.

**Fig 2** Date seed extract chromatogram

10. Protocategoic Acid
11. Parahydroxibenzoic Acid
12. Vanillic Acid
13. Caffeic Acid
14. Paracoumaric Acid
15. Ferulic Acid
16. Metacoumaric Acid
17. Ortocoumaric Acid

Table 3 The effect of extract concentration on chemical properties of cupcakes

Concentration	Moisture content (%)	Sugar (%)	Peroxide value	Acidity according to Oleic Acid	pH	Protein (%)	Acid-Insoluble ash (%)
S ₀	19±1.2d	25.2±0.4a	0.2±0.02a	0.01±0c	6.92±0.15a	7.61±0.05a	0.043±0.01c
S _{0.05}	19.25±0.95c	25.31±0.75a	0.18±0.01b	0.02±0c	6.84±1.11a	7.52±0.09a	0.045±0b
S _{0.1}	19.66±0.84b	25.18±0.9a	0.15±0.03c	0.03±0.01b	6.75±0.89b	7.72±0.06a	0.048±0b
S _{0.2}	19.87±1.0a	25.64±1.2a	0.11±0.02d	0.05±0a	6.68±0.96c	7.66±0.02a	0.050±0.01a

Different lowercase letters in each row indicate significant differences ($P < 0.05$)

S₀ (control sample), S_{0.05} (sample containing 0.05% extracts), S_{0.1} (sample containing 0.1% extracts), S_{0.2} (sample containing 0.2% extracts).

خرما مشاهده شد. مقدار پروتئین در کیک‌های روغنی (کیک فنجان‌ی نوعی از کیک روغنی است) مطابق با استاندارد ملی ایران بایستی بالای ۷ درصد باشد که تمام نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش در این محدوده قرار داشتند [۲۳].

با افزایش مقدار عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد خاکستر نامحلول در اسید در نمونه‌های مختلف کیک افزایش یافته است و اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) ایجاد شده است. نمونه شاهد کمترین مقدار خاکستر نامحلول در اسید را داشت. بین دو نمونه کیک حاوی ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد عصاره اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد اما در سایر نمونه‌ها اختلاف میزان خاکستر نامحلول در اسید از نظر آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) بود. بیشینه مقدار خاکستر نامحلول در اسید در کیک روغنی مطابق با استاندارد ملی ایران ۰/۰۵ درصد است و تمام نمونه‌های مورد بررسی در محدوده استاندارد قرار داشتند [۲۳].

۳-۶- میزان قند

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، مقدار قند کل در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۲۵/۴۶-۲۵/۱۸ درصد متغیر است. استفاده از عصاره هسته خرما تاثیر معنی‌دار آماری بر میزان قند کل در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی نداشته است. مطابق با استاندارد ملی ایران مقدار قند کل در نمونه‌های کیک روغنی بایستی بالای ۲۵ درصد باشد که تمام نمونه‌ها در این محدوده استاندارد قرار داشتند [۲۳].

۳-۷- عدد پراکسید

مقدار عدد پراکسید نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۰/۱۱-۰/۲ متغیر بود. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بالاترین

مقدار رطوبت نمونه‌های مختلف در محدوده ۱۹-۱۹/۸۷ درصد قرار داشت. مشاهده می‌شود که با افزایش مقدار عصاره از ۰/۰۵ درصد به ۰/۲ درصد در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی، میزان رطوبت کیک افزایش یافته و اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.05$) ایجاد شده است. نمونه حاوی ۰/۲ درصد عصاره هسته خرما بالاترین میزان رطوبت و نمونه شاهد فاقد عصاره کمترین میزان رطوبت را داشت. مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۵۵۳، مقدار رطوبت استاندارد برای کیک روغنی در محدوده ۲۰-۱۵ درصد وزنی مجاز می‌باشد که تمام نمونه‌ها در محدوده مجاز قرار دارند [۲۳].

میزان چربی در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۱۳/۹۶ تا ۱۴/۱ درصد متغیر است. نمونه‌ها از نظر میزان چربی با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند. در واقع افزودن مقادیر مختلف عصاره تاثیری بر میزان چربی نداشته است. بیشترین میزان چربی در نمونه شاهد فاقد عصاره و کمترین میزان چربی در نمونه حاوی ۰/۱ درصد عصاره هسته خرما مشاهده شد. استاندارد ملی ایران مقدار مجاز چربی در نمونه‌های کیک روغنی را حداکثر ۱۳ درصد عنوان نموده است؛ [۲۳] در واقع در مطالعه حاضر افزودن مقادیر مختلف عصاره تاثیری بر میزان چربی نداشت و میزان چربی در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۱۳/۹۶ تا ۱۴/۱ درصد متغیر بود که در محدوده استاندارد ملی قرار می‌گیرد.

مقدار پروتئین در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۷/۷۲-۷/۵۲ درصد متغیر است اما اختلاف آن از لحاظ آماری معنی‌دار نیست و مقدار عصاره بر میزان پروتئین کیک موثر نبوده است. بیشترین میزان پروتئین در نمونه حاوی ۰/۱ درصد عصاره و کمترین میزان پروتئین در نمونه حاوی ۰/۰۵ درصد عصاره هسته

۳-۸- اسیدیته

مقدار اسیدیته در محدوده ۰/۰۱ تا ۰/۰۵ درصد متغیر بود. نمونه شاهد کمترین میزان اسیدیته را داشت و با نمونه های حاوی ۰/۱ و ۰/۲ عصاره هسته خرما اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) نشان داد. که دلیل آن را میتوان به وجود ترکیبات اسیدی از جمله گالیک اسید، p-کوماریک اسید و سیناپیک اسید موجود در عصاره نسبت داد. با افزایش غلظت عصاره هسته خرما در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی اسیدیته کیک افزایش یافت و اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) ایجاد شد. بجز دو نمونه حاوی ۰/۰۵ هسته خرما و شاهد، سایر نمونه‌ها باهم اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) داشتند.

۳-۹- مقادیر pH

مقادیر pH در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۶/۶۸ تا ۶/۹۲ متغیر بود. مشاهده شد که با افزایش مقدار عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی pH کیک کاهش یافته و اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) ایجاد شده است. که دلیل آن را میتوان به وجود ترکیبات اسیدی از جمله گالیک اسید، p-کوماریک اسید و سیناپیک اسید موجود در عصاره نسبت داد. بیشترین مقدار pH در نمونه شاهد مشاهده شد که با نمونه‌های حاوی عصاره اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) داشت. بین دو نمونه کیک حاوی ۰/۰۵ و صفر درصد عصاره هسته خرما اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ولی اختلاف pH سایر نمونه‌ها معنی‌دار ($P < 0/05$) بود.

همانطور که در جدول ۳ نشان داده شد مقدار اسیدیته در محدوده ۰/۰۱ تا ۰/۰۵ درصد متغیر بود. نمونه شاهد کمترین میزان اسیدیته را داشت. با افزایش غلظت عصاره هسته خرما در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی اسیدیته کیک افزایش یافت. تمام نمونه‌های مورد بررسی از نظر اسیدیته در محدوده استاندارد تعیین شده ایران قرار داشتند. مقادیر pH در نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی بین ۶/۶۸ تا ۶/۹۲ متغیر بود. مشاهده شد که با افزایش مقدار عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی، pH کیک کاهش می‌یابد. برای pH محدوده استاندارد ۶-۷ می‌باشد؛ در مطالعه حاضر این گزاره برای تمام نمونه‌ها در محدوده استاندارد قرار داشت. این نتایج با نتایج

عدد پراکسید مربوطه نمونه شاهد فاقد عصاره بود که با نمونه‌های حاوی عصاره دارای اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) بود. با افزایش مقدار عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی، عدد پراکسید کاهش یافت و اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0/05$) بین عدد پراکسید نمونه‌های مختلف ایجاد شد. بالاترین عدد پراکسید مربوط به نمونه شاهد فاقد عصاره بود. با افزایش مقدار عصاره هسته خرما عدد پراکسید کاهش یافت. علاوه بر ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدها که رنگدانه اصلی موجود در هسته خرما هستند، نقش آنتی‌اکسیدانی در جلوگیری و مهار فرآیندهای مخرب ایجاد شده توسط اکسیژن منفرد و رادیکال‌های آزاد نشان می‌دهند [۴۱] لذا دلیل پایین‌تر بودن عدد پراکسید در نمونه‌های کیک حاوی مقادیر بالاتر عصاره به خوبی قابل توجیه است. پلاتات و همکاران طی مطالعه خود پیشنهاد نمودند که عصاره هسته خرما می‌تواند به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان دارای خواص تغذیه‌ای در فرمولاسیون مواد غذایی استفاده شود [۳۳]. همانطور که نشان داده شد عصاره هسته خرما حاوی ترکیبات فنولی فراوانی بود که این ترکیبات خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره را افزایش داده و مانع افزایش عدد پراکسید کیک می‌شود. همچنین در پژوهشی دیگر، لو و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که استفاده از عصاره چای سبز در فرمولاسیون کیک منجر به افزایش خصوصیات آنتی‌اکسیدانی محصول می‌شود که آن را به خصوصیات ترکیبات فنولی مانند کاتچین در عصاره سبز چای نسبت دادند؛ [۴۲] این یافته همچنین با نتایج پورحاجی و همکاران مطابقت دارد. محققین مذکور غلظت‌های مختلف عصاره چای سبز را در فرمولاسیون شیرینی دونات به کار بردند و نشان دادند که با افزایش مقدار چای سبز به کار رفته در فرمولاسیون، عدد پراکسید کاهش می‌یابد که به دلیل تاثیر آنتی‌اکسیدانی فنول‌های عصاره چای سبز است [۴۳]. بالسترا و همکاران با افزودن پودر زنجبیل به نان میزان ترکیبات فنولیک در سطح ۴/۵ درصد را به ۳ برابر افزایش دادند. نتایج آنها نشان داد که میزان ترکیبات فنولیک در سطح همه کیک‌ها بیشتر از مغز آنهاست، آنها این یافته را به افزایش آزاد شدن ترکیبات فنولیک در سطح و دسترسی بیشتر آن‌ها هنگام استخراج نسبت دادند [۴۴].

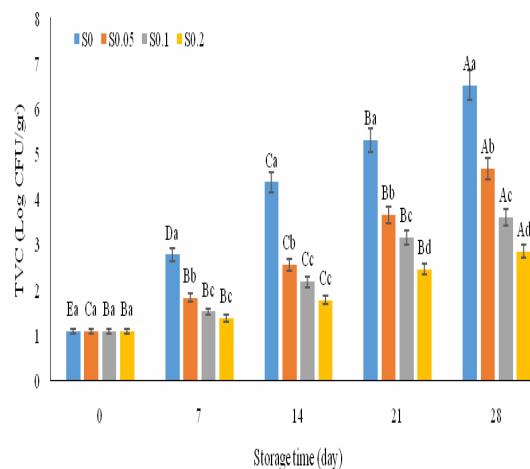


Fig 3 Total microbial count of sample during storage. Different capital letters and lowercase ones in each row indicate significant differences ($P < 0.05$) between storage time and samples, respectively.

مطالعات انجام شده در خصوص آثار ضد میکروبی گیاهان دارویی بیانگر تمایل مردم به استفاده بیشتر از این گیاهان به لحاظ پایین بودن عوارض جانبی آنها نسبت به نگهدارنده‌های شیمیایی است. اسناد تاریخی نشان می‌دهد که کاربرد گیاهان برای درمان انواع بیماری‌ها از گذشته‌های دور مورد توجه بوده است [۴۷]. از سوی دیگر گیاهان دارویی علاوه بر مصارف درمانی به عنوان طعم دهنده، معطر کننده و تقویت کننده نیز مصرف سستی دارند [۴۸، ۴۹]. در نمودار ۳ نشان داده شد که با گذشت زمان نگهداری تا انتهای هفته چهارم تعداد کلی میکروب در تمام نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافت. افزایش مقدار عصاره منجر به کاهش شمارش میکروبی شد. در بخش ۵-۱ وجود ترکیبات فنولی در عصاره هسته خرما تایید شد. به‌طور کلی باید گفت عصاره‌ها مکانیسم‌های متفاوتی در نابودی میکروارگانیسم‌ها دارند. این ترکیبات با دارا بودن خواص ضد میکروبی به لیبیدهای غشای سلولی و میتوکندری وارد می‌شوند و همین مسئله سبب اختلاف در ساختمان سلول‌ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر آنها می‌گردد و در نتیجه آن خروجی و نوع دیگر محتویات سلولی اتفاق می‌افتد. اگرچه خروج مقادیر مشخص از مواد داخلی باکتری می‌تواند برای سلول قابل تحمل باشد ولی خروج مقادیر زیاد محتویات سلولی و یا خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی سبب مرگ سلول می‌شود و از اینرو عمل بازدارندگی بر رشد

افشاریان طبقه و همکاران نیز مطابقت دارد. آنها تاثیر اسانس پرتقال را بر خصوصیات حسی و فیزیکی شیمیایی کیک مورد بررسی قرار دادند و اعلام نمودند که کمترین میزان pH در نمونه‌های حاوی اسانس مشاهده شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد [۸]. در این زمینه احمد و همکاران با افزودن اسانس پرتقال به کیک فنجان‌ی کاهش pH خمیر این محصول را گزارش نمودند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۴۵]. به نظر می‌رسد افزودن عصاره‌ها که منجر به افزودن ترکیبات فنولی به خمیر می‌شود در کاهش pH موثر است. چرا که عصاره‌ها حاوی گروه‌های کربوکسیل هستند که این ترکیبات با ایجاد خاصیت اسیدی منجر به کاهش pH می‌شود [۴۶]. همچنین به دلیل وجود ترکیبات اسیدی از جمله گالیک اسید، p-کوماریک اسید و سیناپیک اسید موجود در عصاره این اتفاق رخ می‌دهد.

۳-۱۰- شمارش میکروارگانیسم‌ها

در آزمون شمارش میکروارگانیسم‌ها با گذشت زمان تا انتهای هفته چهارم نگهداری تعداد کلی میکروب‌ها در تمام نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافت و اختلاف معنی‌دار آماری ایجاد شد. در نمونه‌های حاوی عصاره در آغاز و در روز هفتم از نظر شمارش کلی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد ولی در سایر زمان‌های نگهداری همواره بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. افزایش مقدار عصاره منجر به کاهش شمارش میکروبی شد و با افزایش غلظت عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲، اختلاف معنی‌دار آماری ایجاد شد. بیشترین شمارش کلی میکروب‌ها در نمونه شاهد مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌دار آماری با سایر نمونه‌ها بود. در آغاز زمان نگهداری، نمونه‌ها از نظر شمارش کلی میکروب‌ها، با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند.

این نتایج با نتایج مطالعات دیگر مطابقت دارد که نشان داد استفاده از ۳۰٪ عصاره چای سبز در فرمولاسیون کیک اسفنجی باعث بهبود خواص حسی بافت می‌شود و این نمونه امتیاز بالاتری را نسبت به نمونه‌های حاوی ۱۰٪ و ۲۰٪ عصاره کسب نموده‌است [۵۱].

نتایج مربوط به ارزیابی حسی طعم و مزه نمونه‌های مختلف کیک فنجان‌ی نشان می‌دهد که از نظر طعم و مزه، با افزایش مقدار عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی امتیاز ارزیابی حسی طعم و مزه افزایش یافته‌است و تغییر معنی‌دار آماری ایجاد شده‌است. کمترین امتیاز حسی مربوط به نمونه شاهد و بیشترین امتیاز حسی طعم و مزه مربوط به نمونه حاوی ۰/۲ درصد عصاره هسته خرما بود. پورحاجی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که در نمونه‌های دونات با افزایش غلظت عصاره چای سبز امتیاز حسی طعم افزایش می‌یابد که هم‌راستا با نتایج این پژوهش می‌باشد [۴۳]. اما در پژوهش آنها نمونه شاهد فاقد عصاره بالاترین امتیاز حسی را کسب نمود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد.

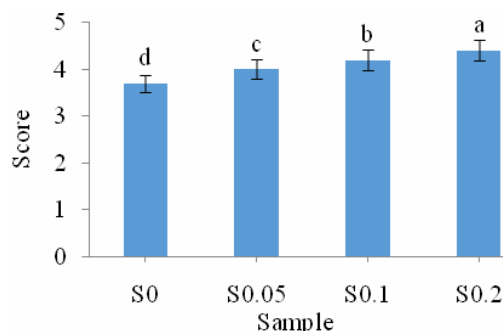


Fig 6 Sensory evaluation of taste of the cupcakes

افزایش مقدار عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد منجر به افزایش امتیاز حسی بو در نمونه‌های کیک فنجان‌ی شد و نمونه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار آماری پیدا کردند. همانطور که در نمودار ۷ مشاهده می‌شود نمونه شاهد کمترین امتیاز حسی بو را داشت و با نمونه‌های حاوی عصاره اختلاف معنی‌دار نشان داد. بیشترین امتیاز حسی بو نیز به نمونه کیک حاوی ۰/۲ درصد عصاره تعلق داشت. مقدار عصاره همچنین بر امتیاز ارزیابی کل نمونه‌ها تأثیر داشت بدین صورت که با افزایش مقدار عصاره امتیاز کلی ارزیابی حسی عصاره نیز افزایش می‌یافت و اختلاف معنی‌دار

میکروارگانسیم‌ها اعمال می‌گردد [۵۰]. این نتایج با نتایج افشاریان طبقه و همکاران در مورد استفاده از اسانس پرتقال در کیک روغنی مطابقت دارد [۸].

۳-۱۱- ارزیابی حسی

نتایج مربوط به ارزیابی حسی نمونه‌های مختلف کیک در شکل ۴ تا شکل ۸ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نمونه شاهد فاقد عصاره کمترین امتیاز ارزیابی حسی رنگ را داشته است و با سایر نمونه‌های مورد بررسی دارای اختلاف معنی‌دار آماری است. با افزایش غلظت عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ در فرمولاسیون کیک فنجان‌ی امتیاز حسی رنگ افزایش یافته است. کمترین امتیاز حسی رنگ مربوط به نمونه کیک فاقد عصاره بود.

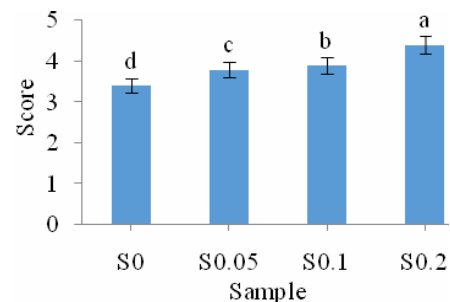


Fig 4 Sensory evaluation of color of the cupcakes

از نظر ویژگی‌های بافتی نمونه شاهد کمترین امتیاز بافت را داشته‌است و با نمونه‌های حاوی عصاره اختلاف معنی‌دار آماری داشت. دو نمونه حاوی ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد عصاره هسته خرما از نظر ویژگی‌های بافتی با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند. افزایش غلظت عصاره هسته خرما از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد منجر به افزایش امتیاز حسی بافت شد.

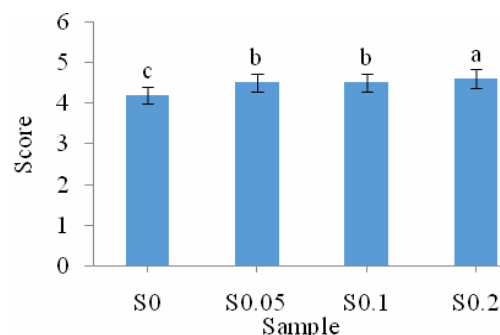


Fig 5 Sensory evaluation of texture of the cupcakes

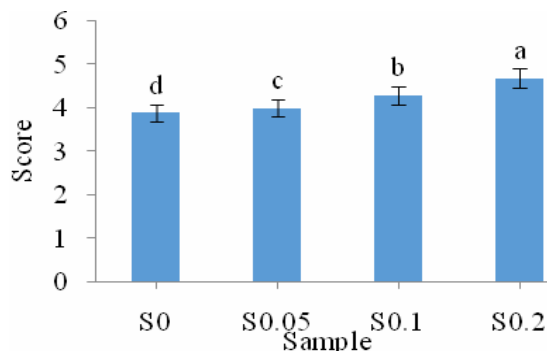


Fig 8 Overall acceptability of treated cupcake samples with date seed extract

آماری بین نمونه‌های مختلف ایجاد می‌شد. بالاترین امتیاز ارزیابی حسی کلی مربوط به نمونه حاوی ۰/۲ عصاره بود و نمونه شاهد کمترین امتیاز ارزیابی حسی را داشت.

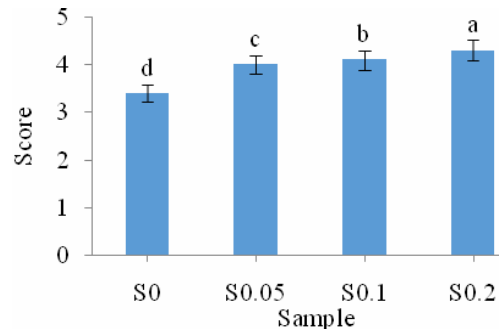


Fig 7 Sensory evaluation of odor of the cupcakes

در تحقیق آلتیما (۲۰۱۲) گزارش شد که مرزنجوش در سطوح ۱، ۲ و ۳ درصد می‌تواند جایگزین آرد شود به گونه ای که تفاوت معنی‌داری از نظر خواص حسی (رنگ، بافت و پذیرش عمومی) ایجاد نمی‌گردد، درحالی که طعم و بوی محصولات تفاوت معنی‌داری با شاهد خواهد داشت. در آن مطالعه نمونه شاهد روشن‌تر و زردتر از دیگر کیک‌ها بود و نتایج نشان داد که کیک مرزنجوش به عنوان محصولی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌تواند توسعه یابد [۹].

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مقدار عصاره همچنان بر امتیاز ارزیابی کل نمونه‌ها تاثیر دارد و با افزایش مقدار عصاره امتیاز کلی ارزیابی حسی عصاره افزایش می‌یابد. بالاترین امتیاز ارزیابی حسی کلی مربوط به نمونه حاوی ۰/۲ عصاره بود و نمونه شاهد کمترین امتیاز ارزیابی حسی را داشت. در پژوهشی المانا و محمود (۱۹۹۴) از مقادیر مختلفی از پودر هسته خرما در فرمولاسیون نان مسطح استفاده نمودند و نشان دادند که نان‌های حاوی ۱۰ درصد پودر زیر هسته خرما از لحاظ خصوصیات حسی بهتر یا مشابه با نان‌های حاوی سبوس گندم بودند [۵۲]. همچنین آویس و همکاران (۲۰۰۷) با افزودن پوست پرتقال به کیک فنجانی بهبود عطر و طعم محصول تولیدی را گزارش نمودند. [53] نخعی مقدم (۲۰۰۹) نیز با اضافه نمودن عصاره متانولی پوست پرتقال به فرمولاسیون اولیه کیک باعث بهبود ویژگی‌های حسی از جمله بافت، رنگ و عطر و طعم شد [۵۴].

۴- نتیجه‌گیری نهایی

امروزه با توجه به سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و لزوم کاهش مصرف آنها، استفاده از محصولات حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش تاثیر عصاره هسته خرما بر خصوصیات فیزیکی شیمیایی، میکروبی و حسی کیک فنجانی مورد بررسی قرار گرفت. مطابق با نتایج این پژوهش عصاره هسته خرما به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی نشان داد. تمامی کیک‌های تهیه شده حاوی غلظت‌های مختلف عصاره ۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ از نظر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی در محدوده استاندارد قرار داشتند. با توجه به نتایج شمارش میکروبی مشخص گردید که نمونه حاوی ۰/۲ درصد عصاره هسته خرما از نظر شمارش میکروبی نسبت به سایر نمونه‌های مورد بررسی در محدوده مناسب قرار دارد و از نظر ویژگی‌های حسی ارزیابی کلی نیز بالاترین امتیاز را کسب نموده است. هسته خرما به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی می‌تواند به عنوان یک منبع ارزان قیمت طبیعی در فرمولاسیون کیک مورد استفاده قرار بگیرد.

منابع

- [1] FAO. Country data collection of Iran (Islamic Republic of). 2015 2017/6/23]; Available from: <http://countrystat.org/home.aspx?c=IRN>.
- [2] Shadan, A. Economical investigating of agricultural product losses in Iran. Sixth conference on agricultural economics of Iran. 2007.

- [15] Jalalijivan, M. Sadeghi, S. Madadlou, A. Yarmand, MS. Journal of food research. Effect of heating and acidification on total phenolic content and antioxidant activity of date palm pit extract ;23(2):237-248.
- [16] Slinkard, K., V.L.J.A.j.o.e. Singleton, and viticulture, Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. 1977. 28(1):49-55.
- [17] Shimada, K., et al., Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. 1992. 40(6):945-948.
- [18] Justesen, U., P. Knuthsen, and T.J.J.o.C.A. Leth, Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. 1998. 799(1-2):101-110.
- [19] Bitagsir, M. Kadivar, M. and Shahei, M. Investigation of the possibility of producing low-calorie cake containing flaxseed mucilage as fat replacer. Iranian journal of nutrition sciences and food technology. 2014; 9(3):78-82.
- [20] Organization INS. The method of measuring moisture content of grain and its products conventional method. Vol 27051366.
- [21] Organization INS. Biscuit properties Standard. Vol 37.
- [22] Organization INS. The method of measuring moisture content of grain and its products conventional method. Vol 2863.
- [23] Organization INS. The method of measuring moisture content of grain and its products conventional method. Vol 25531377.
- [24] Organization INS. The method of measuring moisture content of grain and its products conventional method. Vol 23951372.
- [25] Ronda, F., et al., Effects of polyols and nondigestible oligosaccharides on the quality of sugar-free sponge cakes. 2005. 90(4):549-555.
- [26] Al-Farsi, M.A. and C.Y.J.F.C .Lee, Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. 2008. 108(3):977-985.
- [27] Dadjou, A. Golmakani, MT. and Mousavi Nasab, M. Investigating antioxidant features of date seed extract of kabkab by microwave. Twenty-twoth congrate of national science and food industry. 2014; Gorgan university of agricultural sciences and natural resources.
- [28] Cuvelier, M.-E., et al., Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. 1992. 56(2):324-325.
- [29] Liu, H., et al., Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals
- [3] Boukouda, M. Phytochemical study of date seeds lipids of three fruits (Phoenix dactylifera L) produced in Ouargla region. 2009.
- [4] Hamada, J., I. Hashim, and F.J.F.c. Sharif, Preliminary analysis and potential uses of date pits in foods. 2002. 76(2):135-137.
- [5] Hussein, A., G. Alhadrami, and Y.J.B.T. Khalil, The use of dates and date pits in broiler starter and finisher diets. 1998. 66(3):219-223.
- [6] Al-Farsi, M.A. and C.Y. Lee, Usage of date (Phoenix dactylifera L.) seeds in human health and animal feed, in Nuts and seeds in health and disease prevention. 2011, Elsevier. 447-452.
- [7] Jassim, S.A. and M.A. Naji, In vitro evaluation of the antiviral activity of an extract of date palm (Phoenix dactylifera L.) pits on a Pseudomonas phage. J Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2010. 7(1):57-62.
- [8] Afsharian Torghabe, S. Sheikholeslami, Z. Ataye Salehi, E. Effect of orange peel essential oils as a natural preservative on rheological, sensory and microbial properties of cup cake. Food science and technology. 2015;13(50):133-143.
- [9] Hafez, A.A. and A. Sciences, Physico-chemical and sensory properties of cakes supplemented with different concentration of marjoram. Australian Journal of Basic, 2012. 6(13):463-470.
- [10] Sadat Noorizadeh, N., M. Hojatoleslami, and J. Keramat, Total phenolic contents in sponge cake with different concentrations of the leaves of lemon balm. Journal of Herbal Drugs, 2014. 4(4):184-188.
- [11] Aamir, J., et al., Evaluation of the combinational antimicrobial effect of Annona Squamosa and Phoenix Dactylifera seeds methanolic extract on standard microbial strains. 2013. 2(5):68-73.
- [12] Al Harthi, S., et al., Quantification of phenolic compounds, evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity of four date (Phoenix dactylifera L.) varieties of Oman. 2015. 10(3):346-352.
- [13] Shariati, A. Pordeli, HR. Khademiyan, A. and Kyaie, E. Evaluation of the Antibacterial Activity of the Extracts of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Fruits and Pits on Multi-Resistant Staphylococcus aureus. Food technology and nutrition. 2010; 7(4):42-47.
- [14] Solaimani Dahdivan1, S. Golshan Tafti A. and Yasini Ardakani SA. Investigating antioxidant activity, polyphenols content, pigments and total crude fiber of date pits of Mazafati and Kalutah varieties in Kerman province. 2016; 26(1):113-122.

- [43] Pourhaji, F., Karimi, M., Tavakolipour, H. and Sheikoleslami, Z. Effect of green tea extract and ascorbic acid on chemical and organoleptic properties and colour of doughnut. *Food processing and preservation*. 2012;4:29-43.
- [44] Balestra, F., et al., Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. 2011. 44(3):700-705.
- [45] Ahmed, H., A. Abu-Zaid, and H.J.M.U.J.o.A.S. Sayed, Antimicrobial effect of orange juice, peel and its essential oil on the shelf life of cake. 2009.
- [46] Hostettmann, K. and A. Marston, *Chemistry and Pharmacology of Natural Products: Saponins*: 1995. Cambridge university press.
- [47] Cowan, M.M.J.C.m.r., *Plant products as antimicrobial agents*. 1999. 12(4):564-582.
- [48] Amin, G.J.M.o.h., *Popular medicinal plants of Iran*. 1991:40-47.
- [49] Zargari, A., *Medicinal plants*. Vol. 1050400844. 1995: Tehrani University Publications. ISBN.
- [50] Pauli, A.J.I.J.o.A., α -Bisabolol from Chamomile—A specific ergosterol biosynthesis inhibitor? 2006. 16(1): 21-25.
- [51] Pourhaji, F., Karimi, M., Tavakoli pour, H. and Sheikoleslami, Z. Effect of green tea extract and ascorbic acid on chemical and organoleptic properties and colour of doughnut. *Food processing and preservation*. 2012;4 (2):29-43.
- [52] Almana, H., R.J.E.o.F. Mahmoud, and Nutrition, Palm date seeds as an alternative source of dietary fiber in Saudi bread. 1994. 32(3-4): p. 261-270.
- [53] Benjamin, A.C., J.O. Akingbala, and B.-T. Gail, Effect of drying and storage on flavour quality of orange (*Citrus cinensis* (Linn) Osbeck) peel for cupcakes. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 2007. 5(2): 78-82.
- [54] Nakhaiee-Moghadam, M., Antimicrobial in vitro effects of methanol extract of orange peel (*Citrus sinensis*) against clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of Biological and Microbial Technology, Islamic Azad University*, 2009. 1(5):37-43.
- suitable for medical or food uses. 2008. 41(4): 363-370.
- [30] Chen, Z., R. Bertin, and G.J.F.c. Froldi, EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. 2013. 138(1): p. 414. ۴۲۰-
- [31] Mishra, K., H. Ojha, and N.K.J.F.c. Chaudhury, Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. 2012. 130(4):1036-1043.
- [32] Ardekani, M.R.S., et al., Comparison of antioxidant activity and total phenol contents of some date seed varieties from Iran. 2010. 9(2):141.
- [33] Platat, C., et al., Identification of date seeds varieties patterns to optimize nutritional benefits of date seeds. 2014. 8:2.
- [34] Abuharfeil, N.M., et al., Effect of date fruits, *Phoenix dactylifera* L., on the hemolytic activity of streptolysin O. 1999. 37(5):335-339.
- [35] Garba, L., M. Yusha'u, and A. Yerima, *Phoenix dactylifera* Leaves against some.
- [36] Al-Daihan, S. and R.S.J.A.J.o.B. Bhat, Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed and bark of *Phoenix dactylifera*. 2012. 11(42):10021-10025.
- [37] Lima, V.N., et al., Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microbial pathogenesis*, 2016. 99:56-61.
- [38] Mujtaba, A., et al., Antibacterial Activity by Chlorogenic Acid Isolated through Resin from Apricot (*Prunus Armeniaca* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 2017. 30(2).
- [39] Danciu, C., et al., Antiproliferative and antimicrobial properties of pure and encapsulated rutin. *FARMACIA (BUCHAREST)*, 2018. 66(2):302-308.
- [40] Khatkar, A., et al., Synthesis, antimicrobial evaluation and QSAR studies of p-coumaric acid derivatives. *Arabian Journal of Chemistry*, 2017. 10 :S3804-S3815.
- [41] Menichini, F., et al., The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. 2009. 114(2):553-560.
- [42] Lu, T.-M., et al., Quality and antioxidant property of green tea sponge cake. 2010. 119(3): p. 1090-1095.

Study of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Date Seed Extract and its Effects on Physicochemical, Microbial and Sensory Properties of Cupcake

Baghbani, F.¹, Shirazinejad, A.^{2*}

1. MSc. Candidate of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University Sarvestan Branch, Fars, Iran

2. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University Sarvestan Branch, Fars, Iran

(Received: 2018/10/01 Accepted: 2019/03/16)

Date seed as waste product can be used widely for many applications and nowadays many studies are carried out on its properties as natural preservative of food products. In this study, antioxidant and antimicrobial properties of different date seed extracts and their effects on the physicochemical, microbial and sensory properties of cupcakes were investigated. The date seed extract was obtained by using the water solvent and shaker method. The antioxidant activity of the extract was evaluated using DPPH radical scavenging method. The results showed that increasing the concentration of the extract increases the antioxidant activity. IC₅₀ of date seed extract 1568.93 mg/L was calculated. The total phenol content of the extract was 119.53 ± 0.28 mg Gallic acid/gram extract. The antimicrobial activity of the extract against *Salmonella typhimurium* was evaluated by using minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (0.08 and 0.4 mg/ml respectively). The fraction of the extract components was evaluated using a high-performance liquid chromatography and different phenolic compounds such as Gallic acid, Catechin, Chlorogenic acid, Rutin, Vanilin, p-Coumaric acid, Sinapic acid were identified. The extracts were added to the cupcake formulation at 4 levels 0, 0.05, 0.1 and 0.2%. Peroxide number, acidity, pH, proximate analysis and sensory evaluation tests were performed on cupcake samples. All cakes containing different concentrations of the extract (0, 0.05, 0.1 and 0.2 μg/ml) were in the standard range for physicochemical properties. The total microbial count was performed for 28 days at 7-day intervals. The sample containing 0.2% of the date seed extract in terms of the microbial count was in the appropriate range, and in terms of sensory properties, the overall evaluation also received the highest score. Due to the presence of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activity, date seed can be used as a natural inexpensive preservative in food formulations.

Keywords: Cupcake, Extract, Date Seed, Antioxidant, Antimicrobial

* Corresponding Author E-Mail Address: drshirazinejad@gmail.com