# بررسی خصوصیات عملکردی ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته خرما در مقایسه با عصاره چای سبز بر زنده مانی باکتری پروبیوتیک منتخب

**مژگان مقدم[1]، مهرنوش تدینی*[1]، علی فضل ارا[2]**

[1]گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه اسلامی، اهواز، ایران

[2]گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

*نویسنده مسئول:m.t.tadayoni@gmail.com

**چکیده**

ترکیبات فنولی باداشتن خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی وحفظ سلامت انسان ایفا کنند. فنل‌ها ازترکیبات مهم هسته خرما هستندکه معمولا فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نیز نشان می‌دهند. درمطالعه حاضر اثرترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته خرما در مقایسه با عصاره چای سبز بر باکتری پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفته است. میزان فنول کل عصاره اتانولی هسته خرما با استفاده ازمعرف فولین ـ سیو کالتیو و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته خرما با استفاده از ترکیبDPPH در مقایسه باBHT مورد ارزیابی قرارگرفت. بررسی تاثیر پریبیوتیک ترکیبات فنولیک هسته خرما بر رشد و زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *پلانتاروم*(ATCC14917 )، در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و۱ درصد در مقایسه با عصاره چای سبز و اثر ضد میکروبی عصاره برعلیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی در سطح ۰/۵و ۱درصد انجام شد. میزان ترکیبات فنولیک کل عصاره خشک اتانولی هسته خرما۶/۶۲ میکروگرم گالیک اسید در گرم عصاره به دست آمد. درصد مهار رادیکال آزاد۴۸/۲۷ و IC50 برای عصاره اتانولی هسته خرما ۱۸۳/۷۳µg/mL محاسبه گردید. با توجه به خروجیHPLC که مقادیر بالایی از Gallic acid و Catechin را به عنوان ترکیبات فنولی در عصاره هسته خرما تایید می‌کنند، می‌توان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره فنولی هسته خرما را تایید کرد. نتایج نشان داد، که ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته خرما زنده مانی باکتری پروبیوتیک را در سطح ۰/۵ و۱ درصد افزایش داده و تا حدودی اثر ضد میکروبی در غلظت ۱٪ بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد. با توجه به نتایج به دست آمده ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته خرما قابلیت پریبیوتیکی خوبی نشان دادند. همچنین به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوب گزینه مناسبی برای استفاده تکنولوژیکی و اثرات سلامتی بخش برای تولید موادغذایی فراسودمند باشند.

**کلمات کلیدی:**ترکیبات فنولیک، خاصیت آنتی اکسیدانی، عصاره هسته خرما، عصاره چای سبز. باکتری پروبیوتیک

**مقدمه**

گرایش قابل توجه محققین به جداسازی ترکیبات زیست فعال از منابع طبیعی با توجه به داشتن خصوصیاتی همچون تحریک سیستم ایمنی، اثرات ضد سرطانی، غیر سمی بودن و مشابهت با گیرنده های موجود در ترکیبات بیولوژیک در سیستم ایمنی میزبان و نداشتن عوارض جانبی منجربه استفاده گسترده از این ترکیبات در صنایع دارویی وغذایی شده است. خصوصیات زیست فعال گیاهی به ویتامین‌ها، لیپیدها، اسیدهای فنولیک، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای موجود در آن‌ها برمی‌گردد (قادری قهفرخی وهمکاران، ۱۳۹۱؛ Pasha et al., 2022). ترکیبات فنولی جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند و به طورطبیعی بالغ بر۸۰۰۰ ترکیب فنولی مختلف با تاثیرهایی ازقبیل دخالت درساخت دیواره سلولی، مکانیسم دفاعی گیاه و دخیل در خصوصیات میوه مانند رنگ، طعم و مزه درگیاهان وجود دارد (رستگاروهمکاران، ۱۳۹۲).

خرما یکی از قدیمترین میوه‌های مصرفی توسط انسان است که اثرات فوق‌العاده‌ای بر ارتقاء سلامت انسان دارد. از زمان‌های قدیم، به دلیل تأثیر مثبت آن بر باروری، جلوگیری از بروز اختلالات گوارشی و همچنین درمان بیماری‌های تنفسی مانند برونشیت و آسم مورد استفاده قرار می گرفت(Maisto et al., 2021). از عمده‌ترین و شناخته‌ترین ترکیب فنولی در هسته خرما می‌توان به پی-هیدروکسی بنزوئیک، پروتوکاتکوئیک و ام-کوماریک اسید اشاره کردکه هم به شکل آزاد وهم به شکل ترکیب شده با سایر اجزاءدرهسته خرما وجود دارند (Shahidi,Naczk., 1995; Maqsood et al., 2020).

هسته خرما (۱۵-۱۰ درصد از وزن میوه کامل را تشکیل می‌دهد)(Noorbakh and Rabbani Khorasgani, 2021) درمقدار بسیار زیاد درخاورمیانه به عنوان محصول جانبی خرما تولید می‌شود اما اغلب به هدر رفته و یا به خوراک دام می‌رسد. مطالعات نشان داده است که هسته خرما کیفیت تغذیه‌ای بالایی داشته ویک منبع خوب از اجزاء فعال زیستی است و می‌تواند به عنوان منبع ارزان قیمت و با ارزش در تولید مواد غذایی فراسودمند و سالم با خاصیت پریبیوتیکی مورد استفاده قرار بگیرد( Thouri et al., 2019).

هسته خرما دارای رطوبتی بین ۳ الی ۱۰ درصد وزنی/وزنی، دارای ۸۳-۸۱ درصد کربوهیدرات، ۶/۳-۵ درصد پروتئین، ۱۲/۶۷-۱۰/۱۹ درصد روغن و ۱/۵-۱ درصد خاکستر است (Ghnimi et al., 2017) که به دلیل داشتن ترکیبات پلی فنلی و فیبرهای تغذیه‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته است (۹۲۹-۵۸۰ میکرومول ترولوکس در گرم (Shi et al., 2021)) و دارای توان کاهندگی و نقش چشم‌گیری در مهار رادیکال‌های آزاد دارد (Dong et al., 2021). وجود گالیک اسید، آسکوربیک اسید، وانیلین و کافیئیک اسید بخشی از ترکیبات فنولی هسته خرما با خاصیت ضدباکتریایی هستند (Bouhlali et al., 2020). چای سبز با نام علمی (Camellia sciensis) یکی از رایج ترین گیاهان دارویی پرمصرف در جهان است که در انواع محصولات آرایشی، دارویی و غذای کاربرد دارد. چای سبز یک منبع طبیعی از کاتچین، کافئین، تئوفیلین، تیانین و آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. همچنین دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد ویروسی است. یکی دیگر از خواص چای سبز، پریبیوتیک بودن آن است که باعث افزایش رشد پروبیوتیک‌ها می‌شود( Donsì et al., 2011) بنابراین هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات عملکردی و تأثیر ترکیبات فنولیک‌های استخراج شده از هسته خرما بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک در مقایسه با عصاره چای سبز بود.

**مواد وروش ها**

**آماده سازی هسته‌های خرما**

هسته‌های خرما از مرکز تهیه خوراک دام در شهرستان شادگان تهیه شد. به منظور حذف مواد جامد اضافی، هسته‌های خرماپس از سورت شدن، با آب شهری شسته شده و به مدت ۱روز در هوای آزاد ودرمعرض آفتاب، خشک شدند. جهت تکمیل فرآیند خشک شدن، هسته-های خرما در در آون (Memmert, Germany) در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شدند. هسته‌های خشک شده توسط آسیاب چکشی خرد و به پودر هسته‌ی خرما تبدیل شدند. سپس با عبور از صافی با قطر منافذ ۱میلی متر، پودر نرم و یکدستی از هسته‌های خرما به دست آمد (Pasha et al., 2022).

**تهیه عصاره تام**

۳۰۰ تا ۴۰۰ گرم پودرهسته‌ی خرما در۱۵۰۰میلی-لیتراتانول۸۰ درصد(مرک، آلمان) غوطه‌ور شد.عمل استخراج عصاره به مدت ۷ ساعت دردمای ۳۰ درجه سلسیوس و توسط شیکر (Rashno, Iran) با سرعت rpm ۱۳۰صورت گرفت.سپس نمونه توسط کاغذ واتمن شماره ۴ فیلترشد. به منظور تبخیر حلال، عصاره در دمای ۵۰-۴۰ درجه سلسیوس در دستگاه روتاری اواپراتور (ParsFarso, Iran)(تحت خلاء و دمای ۵۰ درجه سلسیوس) حرارت داده شد. عصاره هسته‌ی خرما در آون تحت خلاء (LS۱۴۴۵-۲) دردمای ۴۰ درجه سلسیوس تا زمان تبخیرکامل محلول قرارداده شد. پودر عصاره‌های بدست آمده از نمونه، باکاردک از پیلت جدا و پودرها تا زمان انجام آزمایش در دمای (۱۸ـ ) درجه سلسیوس نگهداری شدند. عصاره خشک چای سبز به صورت آماده از شرکت دارویی ابن ماسویه تهیه شد.

**فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPHبرای عصاره اتانولی هسته خرما در مقایسه با چای سبز**

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته خرما با استفاده ازرادیکال‌های پایدار DPPHو مطابق با روش ویلیام بررسی شد (Brand-William, 1995).برای انجام آزمایش از غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ppmاز عصاره استفاده شد و با استفاده از روش DPPH درصد جذب و درصد مهار رادیکال و میزان IC50 اندازه‌گیری شد. برای انجام این آزمایش ۰/۲ میلی لیترعصاره، به ۴ میلی لیترمحلول متانولی $۶\times۱۰^{-۵}$مولار رادیکال آزاد افزوده و۶۰ دقیقه در دمای محیط نگه داشته شد. سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (LAMBDA 365, Perkin Elmer, USA) قرائت شد. میزان فعالیت گیرندگی رادیکال عصاره با فرمول زیر تعیین گردید.فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز (به عنوان کنترل مثبت) مطابق با روش اندازه-گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما، اندازه‌گیری شد.

$$\%DPPH=(A_{cont}-A_{sample})/A_{cont}\times100$$

**اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل عصاره اتانولی هسته خرما در مقایسه با چای سبز**

با استفاده ازروش فولین– سیوکالتیو (Merck 3252562)، انجام شد. دراین روش معرف فولین در حضورترکیبات فنولیک در محلول قلیایی، احیاء و رنگ آبی در محلول تولید شد. به منظور انجام آزمایش، ابتدا ۴۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت‌های مختلف استاندارد گالیک اسید به ۳۱۶۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. سپس۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین ودر نهایت ۶۰ درصد(وزنی/ حجمی) کربنات سدیم ۷ درصد اشباع شده به آن اضافه گردید. جذب نمونه‌ها پس از یک ساعت نگهداری در دمای اتاق و تاریکی، توسط اسپکتروفتومترکالیبره شده با گالیک اسید در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار ترکیبات فنولیک کل بر اساس میکروگرم معادل گالیک اسیددر هرگرم نمونه خشک بیان شد (Beretta et al., 2005). مطابق با روش اندازه‌گیری فنول کل عصاره هسته‌ی خرما، برای عصاره چای سبز نیز عمل شد. برای

شناسایی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در عصاره اتانولی هسته خرما و چای سبز از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC 1100, Agilent, USA)، در ۲۶۰ نانومتر استفاده شد.

**فعال‌سازی اولیه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم***

باکتری پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*(ATCC14917)، به صورت لیوفلیزه، از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. برای فعال‌سازی باکتری، ۰/۳ تا ۰/۴ میلی لیتر از محلول استریل (محیط کشت اختصاصی مایع) به ماده خشک درون آمپول اضافه و به دقت مخلوط گردید تا به شکل سوسپانسیونی یکنواختی درآمد. کل سوسپانسیون به یک لوله بزرگ حاوی۲۰ میلی لیتر محیط کشت مایع منتقل گردید. محیط کشت تلقیح شده در دمای ۳۷درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت این مدت زمان، مجددا از محیط گرمخانه گذاری شده ۰/۱ میلی لیتر برداشته و به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت مایع (MRS brots ) اضافه شد و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انجام گردید(Molan et al., 2008).

**رفتارسنجی باکتری**

پس از فعال‌سازی باکتری پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*(ATCC14917) لیوفلیزه شده، برای شمارش باکتری ۲ کشت ۲۴ ساعته انجام شد. پس از تهیه سریال رقت و کشت سطحی بر روی MRS Agar ماکزیمم جمعیت باکتری (cfu/ml $۱\times۱۰^{۹}$)بدست آمد. پس از تعیین ماکزیمم تعداد باکتری در میلی لیتر محیط کشت (عکس رقت×۱۰× تعدادشمارش شده =تعداد) جهت به دست آوردن میزان ماده تلقیح ( $۱\times۱۰^{۵}$cfu/ml)، cc ۱ از لوله حاوی جمعیت شمارش شده باکتری به لوله حاویcc۹محیط کشت MRSBroth منتقل شد، سپس میزان cc ۱ از آن لوله را به لوله دوم حاویcc ۹محیط کشت MRSBroth منتقل گردید. در نتیجه در لوله سوم که معادل $۱\times۱۰^{۶}$cfu/ml بود، برای تلقیح در لوله‌های MRSBroth به میزان ۱میلی لیتر در نه میلی لیتر ($\frac{1}{10}$) انجام شد که میزان اینوکلوم معادل $۱\times۱۰^{۵}$ cfu/ml گردد (Molan et al., 2008).

**تهیه عصاره جهت تلقیح**

مقداری از پودر عصاره اتانولی هسته خرما، به آب مقطر اضافه و با تنظیم غلظت وحجم لوله‌ها، غلظت‌های ۰/۱ درصد، ۰/۵ درصد و ۱ درصد (حجمی/ حجمی) تهیه و لوله‌ها استریل شدند. تهیه عصاره چای سبز از پودر خشک عصاره چای سبز نیز مطابق همین فرایند صورت پذیرفت (Molan et al., 2008).

**تلقیح باکتری به عصاره اتانولی هسته خرما و چای سبز و بررسی اثر عصاره ها بر رشد**

به لوله‌های حاوی پودر عصاره اتانولی هسته خرما که غلظت و حجم آنها تنظیم شده است، ۱ میلی لیتر از استوک باکتری که حاوی جمعیت $۱\times۱۰^{۶}$ cfu/ml باکتری اضافه گردید تا دوز باکتری در لوله‌های حاوی عصاره‌ها به $۱\times۱۰^{۵}$ cfu/ml رسید.

برای عصاره چای سبز نیز عمل تلقیح به روشی مشابه صورت پذیرفت. به منظور بررسی تأثیر پریبیوتیکی ترکیبات فنولیک هسته خرما بر روی باکتری پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، پس از فعال سازی باکتری و تلقیح عصاره با باکتری، کشت و انکوبه کردن لوله‌های حاوی غلظت‌های مورد نظر(۰/۱٪، ۰/۵٪ و۱٪ ) در زمان-های صفر، ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت انجام شد. در زمان صفر محیط کشت از لوله‌های حاوی غلظت‌های ۰/۱٪، ۰/۵٪ و ۱٪ با حجم مشخص بر روی پلیت حاوی محیط کشت MRS Agarمنتقل شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس وبه مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط بی‌هوازی در

جارهای حاوی گازپک نوع A، گرمخانه‌گذاری شدند. برای لوله‌های زمان ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت نیز همانند لوله‌های زمان صفر عمل گردید و پس از گذشت زمان مورد نظر، کشت انجام شد. محیط کنترل مثبت حاوی عصاره چای سبز و محیط شاهد(کنترل منفی) حاوی باکتری بدون افزودن عصاره هسته خرما و عصاره چای سبز در غلظت و زمان مشابه تهیه شد(Molan et al., 2008).

**بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی هسته خرما**

بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره هسته خرما با استفاده از روش Agar Disc Method انجام پذیرفت (Mackie and Mccartney, 1989). باکتری‌های مورد بررسی از آزمایشگاه میکروبی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران تهیه گردید. از سوسپانسیون باکتریایی از استافیلوکوکوس اورئوس(گرم مثبت) و *اشریشیا کلی*(گرم منفی) سرم فیزیولوژی حاوی ۰/۵ مک فارلند (۱/۵/× ۱۰$^{8}$cfu/ml) تهیه و کشت برروی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. دیسک پنبه‌ای حاوی ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۱ درصد و نیز ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت ۰/۵ درصد عصاره هسته خرما با پنس بر روی آنها قرار داده شد( مقدار ۱۰۰میکرولیتر به دفعات و در مقدار-های ۲۰ میکرولیتر بر روی دیسک پنبه‌ای قرار داده شد) و به مدت ۲۴ ساعت در گرم خانه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرارداده شد. پس از سپری شدن زمان گرم خانه گذاری، قطر هاله‌های مهاری براساس میلی متر اندازه گیری شد.

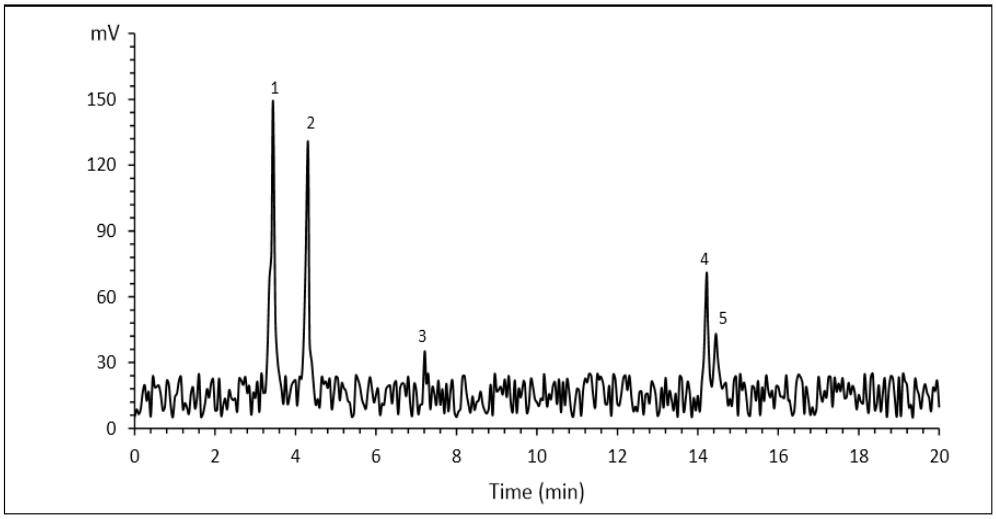
**آنالیز آماری**

اختلاف معنی دار یا عدم آن برای داده‌های انتقال یافته واحدهای شمارش کلنی یا لگاریتم تعداد/میلی لیتربا استفاده از نرم افزار SAS نسخه۹/۱ مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و آنالیز ANOVA واختلاف معنی دار و عدم آن در سطح ۱ درصد بررسی شد (P<۰/۰۱).

**نتایج**

از ۱۰۰ گرم پودر هسته خرمای آسیاب شده پس ازآماده سازی نهایی عصاره اتانولی و انجام استخراج، مقدار ۵/۹۶ گرم عصاره خشک اتانولی هسته خرما (راندمان استخراج ۵/۹۶ درصد) به دست آمد.

**تعیین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره اتانولی هسته خرما با HPLC**



| Gallic acid | Catechin | Rutin | Caffeic acid | Syringic acid |
|---|---|---|---|---|

شکل ۱- HPLC کروماتوگرام ترکیبات فنلی عصاره اتانولی هسته خرما

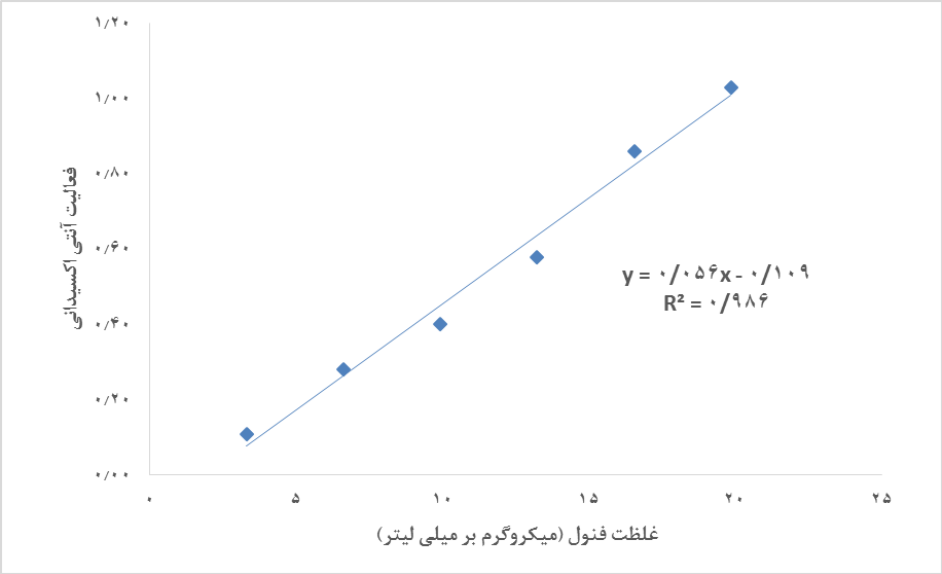
نتایج حاصل از بررسی نوع ترکیبات فنولی در عصاره هسته خرما با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد ترکیباتی مانند گالیک اسید، کاتچین، روتین، کافئیک اسید و سیرنجیک اسید به ترتیب به میزان ۰/۰۰۶۴ ، ۰/۰۰۶۳، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۳و ۰/۰۰۱۵ میلی گرم بر گرم در عصاره وجود دارد.

## بررسی ترکیبات فنولی کل عصاره اتانولی هسته خرما

میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره اتانولی هسته خرما برحسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله بدست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میکروگرم اسید گالیک در هر گرم عصاره خشک اتانولی هسته خرما بیان شد. میزان ترکیبات فنولیک کل عصاره خشک اتانولی هسته خرما۶/۶۲ میکروگرم گالیک اسید در گرم عصاره به دست آمد. نتایج حاصل از بررسی ارتباط غلظت و میزان ترکیبات فنولیک نشان داد با افزایش غلظت عصاره میزان جذب افزایش یافت.

## رابط بین ترکیبات فنلی کل وفعالیت آنتی کسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما

در شکل۳، منحنی رابطه ترکیبات فنلی کل با فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما نشان داده شده است. نتایج همبستگی مثبتی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار فنول کل در عصاره اتانولی هسته خرما را نشان داد.

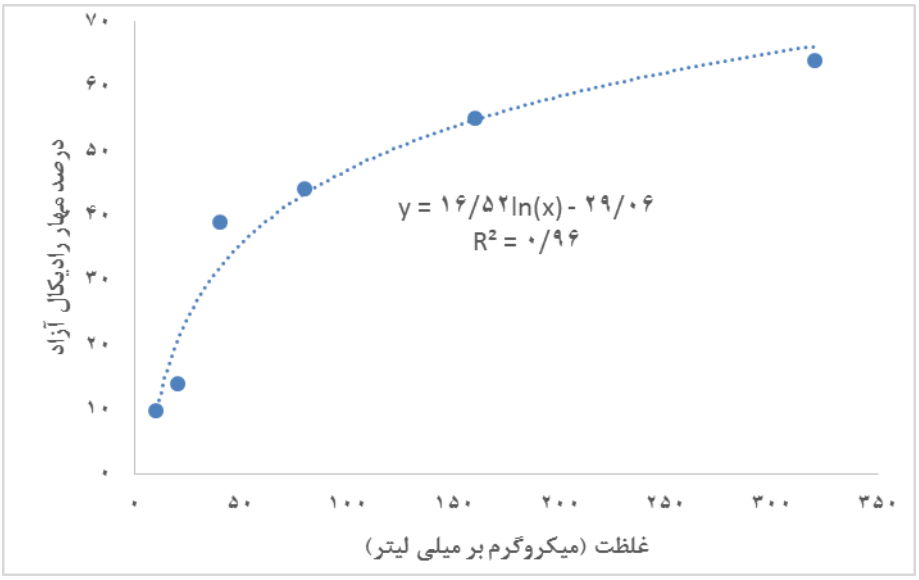



شکل ۳- منحنی بررسی رابطه بین ترکیبات فنلی کل وفعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما

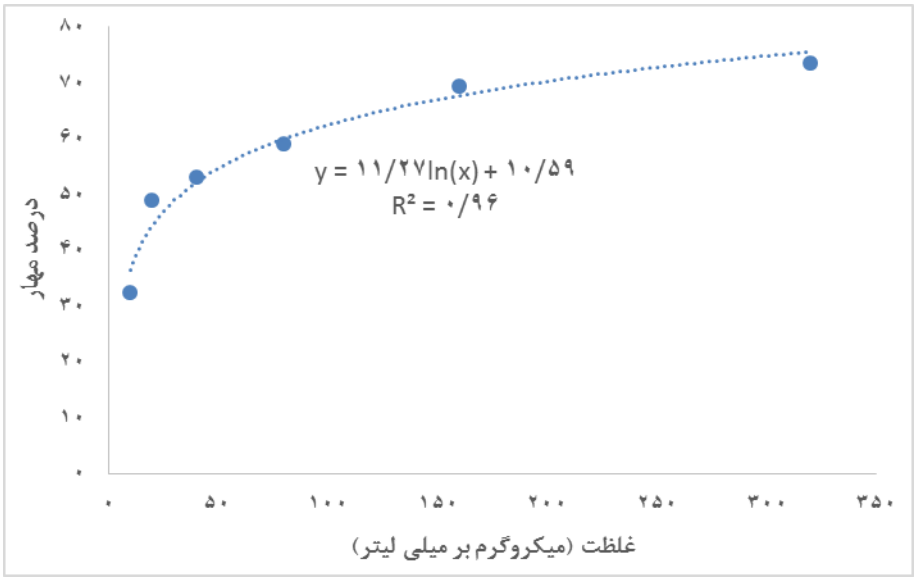
## بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما

درشکل۴، منحنی بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما و در شکل ۶ منحنی بررسی فعالیت آنتی اکسیدانیBHT به عنوان کنترل مثبت آورده شده است.طبق نتایج بدست آمده با افزایش غلظت خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره نیز افزایش یافت و اثرمعنی‌دار بین

افزایش غلظت وخاصیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما وجود داشت (P<۰/۰۱).

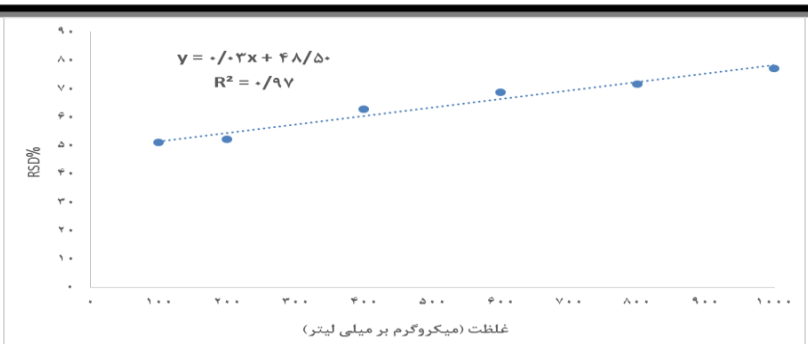



شکل۴- منحنی بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما




شکل۶- منحنی فعالیت آنتی اکسیدانی BHT

درشکل ۶ منحنی بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز به عنوان کنترل مثبت آورده شده است. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز که به عنوان محیط کنترل مثبت، در آزمایش بررسی خاصیت پریبیوتیک عصاره هسته خرما مورد استفاده قرار گرفته بود، در۶ غلظت مختلف اندازه گیری شد.




شکل ۶- منحنی بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز

**بررسی IC50 عصاره اتانولی هسته خرما**

نتایج بررسی میزان IC50 عصاره اتانولی هسته خرما در جدول ۱ نشان داده شده است.از استانداردBHT و عصاره چای سبز به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. با توجه به بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما و BHT میزان IC50 بدست آمده برای عصاره اتانولی هسته خرما برابربا ۱۸۳ /۷۳ میکروگرم برمیلی لیتر،BHT برابربا ۴۸/۰۶ میکروگرم بر میلی لیتر و برای عصاره چای سبز برابر با ۵۰/۴۹ میکروگرم برمیلی لیتر به دست آمد. درصد بالاتر مهار رادیکال‌های آزاد را توسط عصاره چای سبز نشان می‌دهد(P<۰/۰۱).

جدول ۱- نتایج آنالیز عصاره اتانولی هسته خرما، عصاره چای سبز وBHT

| | درصدمهارراديكال (µg/mL) | مهار(IC50µg/mL) | معادله خط |
|---|---|---|---|
| عصاره هسته خرما | ۴۸/۲۷±۰/۳۹$^{c}$ | ۱۸۳/۷۳±۰/۶۲$^{a}$ | y=16.52ln(x)-29.06, $R^2$=96٪ |
| BHT | ۵۶/۰۵±۰/۵۸$^{b}$ | ۴۸/۰۶±۰/۵۷$^{c}$ | y=11.27ln(x)+10.59, $R^2$=96٪ |
| عصاره چای سبز | ۶۳/۹± ۰/۰۹ $^{a}$ | ۵۰/۴۹±۰ /۱۹$^{b}$ | y=0.03x+48.50, $R^2$ =97٪ |

حروف غیر مشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ در هر ستون است (P<۰/۰۱).

**فعالیت پریبیوتیکی عصاره هسته خرما**

دراین تحقیق اثرپریبیوتیکی عصاره اتانولی هسته خرما بر باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درجدول ۲ مورد بررسی قرارگرفته است. در بررسی اثر پریبیوتیکی عصاره اتانولی هسته خرما بر با کتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ATCC1417، از عصاره چای سبز که خاصیت پریبیوتیکی آن در مطالعات قبلی گزارش شده، به عنوان محیط کنترل مثبت استفاده شد. تأثیر هرکدام از عصاره‌ها بر باکتری مورد نظر در سه غلظت و در چهار زمان مورد بررسی قرارگرفت و پس از آن کشت و شمارش باکتری‌ها بعد از گذشت ۲۴ ساعت انجام پذیرفت. در هریک از اثرات مستقل زمان، غلظت، نوع عصاره و اثرات متقابل عصاره درزمان، اثرات عصاره در غلظت و اثرات غلظت در زمان، اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد وجود داشت(P<۰/۰۱).

با توجه به داده‌های جدول ۲، اختلاف معنی‌داری بین تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی چای سبز و خرما در بهبود رشد پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بجز در غلظت ۰/۱ و زمان ۲۴ ساعت و غلظت ۰/۵ در زمان ۴۸ ساعت وجود نداشت. در مورد عصاره خرما بالاترین کارایی در بهبود رشد در ساعت ۲۴ در تیمار ۰/۵ درصد عصاره اتانولی خرما و در ساعت ۲۴ و بدون اختلاف معنی‌دار در هر سه غلظت اندازه‌گیری شد(P<۰/۰۱).

جدول ۲- بررسی خاصیت عصاره اتانولی هسته خرما درمقایسه با چای سبز در بهبود رشد پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

| عصاره | زمان | شاهد | درصد غلظت عصاره | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | ۰/۱ | ۰/۵ | ۱ |
| خرما | ۰ | ۵/۰±۱۱/۱۳$^{Aa}$ | ۵/۰±۰۸/۱۱$^{Aa}$ | ۵/۰±۱۷/۹۱$^{Aa}$ | ۵/۰±۱۲/۳۳$^{Aa}$ |
| | ۲۴ | ۸/۰±۴۹/۴۳$^{Ab}$ | ۵/۰±۵۵/۶۴$^{Aa}$ | ۸/۰±۹۹/۳۳$^{Ab}$ | ۸/۰±۶۲/۲۲$^{Ab}$ |
| | ۴۸ | ۷/۰±۳۸/۹۱$^{Ab}$ | ۷/۰±۳۱/۴۰$^{Ab}$ | ۵/۰±۸/۴۵$^{Aa}$ | ۸/۰±۷/۱۰$^{Ac}$ |
| | ۷۲ | ۷/۰±۴۹/۷۹$^{Ac}$ | ۵/۰±۱۸/۳۲$^{Aa}$ | ۶/۰±۵۳/۱۵$^{Ab}$ | ۶/۰±۹۵/۳۱$^{Bb}$ |
| چای سبز | ۰ | ۵/۰±۱۱/۵۰$^{Aa}$ | ۵/۰±۰۷/۸۶$^{Aa}$ | ۴/۰±۷۸/۳۲$^{Aa}$ | ۵/۰±۱۶/۱۵$^{Aa}$ |
| | ۲۴ | ۸/۰±۴۹/۸۸$^{Aa}$ | ۸/۰±۶/۷۸$^{Ba}$ | ۸/۰±۹۵/۰۴$^{Aa}$ | ۸/۰±۹۹/۴۸$^{Aa}$ |
| | ۴۸ | ۷/۰±۳۸/۱۹$^{Aa}$ | ۷/۰±۵۲/۵۲$^{Aa}$ | ۸/۰±۶۶/۲۲$^{Bb}$ | ۸/۰±۹۴/۵۲$^{Ab}$ |
| | ۷۲ | ۷/۰±۹۷/۰۹$^{Aa}$ | ۵/۰±۲۶/۲۶$^{Ab}$ | ۶/۰±۷۴/۷۰$^{Ac}$ | ۸/۰±۲۶/۶۲$^{Ad}$ |

حروف غیر مشابه کوچک به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ در هر ردیف است ($P<0/01$).

حروف غیر مشابه بزرگ به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ بین تیمارهای خرما و چای در تیمارهای مشابه است ($P<0/01$).

نتایج هر عصاره از سه غلظت در چهار زمان درمقایسه با نمونه شاهد بدست آمده است.هرستون نشان دهنده غلظتی از عصاره‌های مورد بررسی است.

**اثرضد میکروبی عصاره اتانولی هسته خرما**

در غلظت ۰/۵درصد، هاله عدم رشد در هیچ کدام از باکتری‌های مورد بررسی ملاحظه نشد. ولی در غلظت ۱ درصد هاله عدم رشد برروی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* به ترتیب ۰/۸۱ ± ۶ و ۱ میلی متر مشاهده گردید و قطر هاله عدم رشد در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به شکل معنی‌داری بزرگتر از اشریشیا کلی بود ($P<0/01$).

**بحث**

با توجه به منحنی جذب ترکیبات فنولیک عصاره اتانولی هسته خرما، با افزایش غلظت عصاره‌ی خرما و چای سبز میزان ترکیبات فنولی کل عصاره افزایش یافت. میزان ترکیبات فنولی عصاره چای سبز به عنوان کنترل مثبت، ۱/۲۱۵ میکروگرم اسید گالیک درگرم عصاره بود که مقدارآن از میزان ترکیبات فنولیک عصاره اتانولی هسته خرما (۶/۶۲) کمتر بود که نشان می‌دهد هسته خرما دارای مقادیر بسیار بالایی ترکیبات پلی فنلی می‌باشد.

Habib وهمکاران (۲۰۱۴)، در بررسی خصوصیات کمی، شناسایی وتعیین ترکیبات فنلی هسته خرما نشان دادند که هسته خرما یک منبع بسیار غنی از ترکیبات فعالی زیستی است درنتیجه می‌تواند یک گزینه مناسب به عنوان یک ماده افزودنی بیولوژیکی فعال در تولید غذاهای عملگرا باشد. باغبانی و شیرازی نژاد (۱۳۹۸) میزان ترکیبات فنولی هسته خرما را ۱۱۹/۵۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره گزارش کرد که با توجه به مقدار ۲/۲۷ ±۶/۱۹۰ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره تقریبا با یکدیگر هم‌خوانی دارند. Solaimani Dahdivani و همکاران (۱۳۹۵)، مقدار ترکیبات فنولی در عصاره هسته ۳ واریته خرمای مضافتی بم، جیرفت و کلوته را به ترتیب ۱۸۹۸/۲۷، ۱۸۴۰/۹۳ و ۱۹۵۲/۹۳ میلی‌گرم گالیک اسید در صد گرم ماده خشک گزارش کردند. Eimad din و همکاران (۲۰۱۵)، میزان محتوای فنول کل ارقام هسته خرما در جنوب مراکش را بین ۲۰۵۸-۲۹۸۳ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گالیک اسید گزارش نمودند. تنوع در مقدار ترکیبات فنولیک هسته خرما به واریته، شرایط رشد، بلوغ،

فصل، خاستگاه جغرافیایی، کود، بیماری، نوع خاک، شرایط ذخیره سازی و همچنین به نوع سیستم استخراج بستگی دارد. به‌طور کل همبستگی خوبی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار توتال فنل در عصاره اتانولی هسته خرما وجود داشت. از این رو می‌توان عنوان کرد فعالیت آنتی اکسیدانی مرتبط با مقدار ترکیبات فنولیک خواهد بود. Safaa و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنلی خرما نیز همبستگی مثبت بین فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل در نمونه‌های گیاهی را نشان دادند.

آزمون DPPH به‌طور گسترده‌ای به منظور تعیین فعالیت بازدارندگی رادیکال‌های آزاد ترکیبات خالص یا گیاهی مختلف به کار می‌رود( Devahastin, 2008Mayachiew and). طبق نتایج بدست آمده در مطالعه‌ی حاضر، با افزایش غلظت خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره نیز افزایش یافت و اثر معنی‌دار بین افزایش غلظت و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما وجود داشت (P<۰/۰۱). بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته خرما نشان از فعالیت آنتی اکسیدانی بالای عصاره‌ی استخراج شده از هسته‌ی خرما دارد. در مطالعه باغبانی و شیرازی‌نژاد (۱۳۹۸) نیز با افزایش غلظت عصاره هسته خرما میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش معنی‌داری پیدا کرد. Alharthi و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی ترکیبات فنلی چهار رقم از ارقام خرمای عمان، گزارش نمودند که فعالیت مهار رادیکال آزاد برای هسته خرما وابسته به غلظت عصاره است و بالاترین درصد بازدارندگی رادیکال DPPH برای خرما ۷۰/۶۲ درصد نشان داده شد،که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد.

Din (۲۰۱۵)، در بررسی ترکیبات فیتوشیمیای و ظرفیت آنتی اکسیدانی سه رقم هسته خرما عنوان نمودند که در نتایج بدست آمده، همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنلی و همچنین محتوای فلاونوئیدی در هر سه رقم هسته خرما وجود داشت که با نتایج بدست آمده از بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی هسته خرما در این تحقیق مطابقت دارد. Sadaf و همکاران (۲۰۱۵)، در بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما، درصد مهار رایکال آزاد عصاره خرما را ۴۲٪ گزارش کرده و آن را ناشی از حضور درصد بالای از ترکیبات فنولی که عنوان گروه‌های دهنده الکترون، سبب خنثی سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند، گزارش کردند که با توجه به خروجیHPLC که مقادیر بالایی از Gallic acid و Catechin را به عنوان ترکیبات فنولی در عصاره هسته خرما تایید می‌کنند، می‌توان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره فنولی هسته خرما را تایید کرد. در مطالعه‌ی باغبانی و شیرازی نژاد (۱۳۹۸) گالیک اسید و سپناپیک اسید بلندترین پیک را در خروجی HPLC داشتند.

Ic50 نشان دهنده قدرت آنتی اکسیدانی بالای عصاره هسته خرما می‌باشد. هرچه مقدار آن کمتر باشد نشان دهنده میزان فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی خواهد بود (باغبانی و شیرازی‌نژاد، ۱۳۹۸). همانطور که نتایج نشان داد (جدول ۱)، IC50در مقایسه باBHT بالاتر بود و برای عصاره اتانولی هسته خرما کمترین مقدار را داشت. در واقع استاندارد BHT قوی‌تربوده که توانست در غلظت کمتر ۵۰ ٪ از رادیکال آزاد را مهار کند. در مطالعه‌ی دادجو و همکاران (۱۳۹۳) مقدارIC50 به دست آمده برای هسته خرما ۰/۰۰۱۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتربود که در مقایسه با مقدار ۱۸۳/۷۳میکروگرم بر میلی‌لیتر مطالعه‌ی حاضرمقدار بسیار پایین‌تری را نشان می‌دهد. تفاوت موجود را می‌توان به تفاوت در مقدار و نوع ترکیبات فنولی ناشی از نوع خرما و نیز روش استخراج عصاره، نسبت داد(Noorbakh and Rabbani Khorasgani, 2021).

مقایسه بین زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت برای عصاره اتانولی هسته خرما نشان داد که غلظت ۰/۵ درصد عصاره اتانولی هسته خرما در زمان ۲۴ ساعت اولیه رشد،

بیشترین تأثیر را بر تعداد باکتری زنده داشت. ولی از زمان ۴۸ تا ۷۲ ساعت که سلول باکتری از فعالیت آن کاسته شد غلظت ۱ درصد عصاره اتانولی هسته خرما یک افزایش نسبی در تعداد سلول باکتری زنده نسبت به شاهد و دو غلظت دیگر در این زمان‌ها نشان داد که در واقع زمان زنده مانی باکتری را افزایش داد (P<۰/۰۱). بطور کلیمیزان رشد و افزایش باکتری در غلظت ۰/۱درصد عصاره اتانولی هسته خرما مشابه عصاره چای سبز بوده و هردو عصاره در این غلظت نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشتند (P<۰/۰۱).نتایج مقایسه عصاره اتانولی هسته خرما با محیط کنترل مثبت نشان داد که عصاره اتانولی هسته خرما در زمان ۲۴ ساعت وغلظت ۰/۵ درصد توانست با عصاره چای سبز در زمان ۲۴ ساعت و غلظت‌های ۰/۵ و۱درصد و زمان ۴۸ ساعت در غلظت ۱ درصد رقابت کند (P<۰/۰۱).به طور کل عصاره چای سبز در غلظت ۱درصد نسبت به عصاره اتانولی هسته خرما عملکرد بالاتری در افزایش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نشان داده است. این نتایج با نتایج Molan و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر پریبیوتیکی عصاره چای سبز مطابقت دارد. آنها عنوان نمودند که عصاره چای سبز فعالیت پریبیوتیک قابل ملاحظه‌ای به همراه فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوب داشتبه طوریکه فعالیت پریبیوتیکی آن با فعالیت آنتی اکسیدانی مرتبط بوده است. در مورد عصاره اتانولی هسته خرما افزایش غلظت تا حدی می‌تواند اثر خود را بگذارد و از یک حدی به بعد با افزایش غلظت تأثیری در تعداد باکتری مشاهده نشد. عصاره اتانولی هسته خرما در غلظت ۰/۵ و ۱ درصد توانست شرایطی مشابه عصاره چای سبز ایجاد کند ولی عصاره چای سبز در غلظت ۱ درصد و زمان ۷۲ ساعت بهتراز عصاره هسته خرما عمل نمود.

نکته اساسی در تعریف پریبیوتیک‌ها امکان رشد باکتری پروبیوتیک در حضور آن و افزایش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک و از طرفی اثر بر افزایش زنده مانی پروبیوتیک است. این مسئله بخصوص در ترکیب‌های سینبیوتیک که در موادغذایی استفاده می‌شوند بسیار حائز اهمیت است. یعنی در مواد غذایی پروبیوتیک، ترکیب پریبیوتیک به عنوان ترکیب حمایت کننده رشد و افزایش زنده مانی عمل می‌کند(El-Kholy et al., 2019). این موضوع به پیچیدگی ساختاری ترکیبات پریبیوتیک و عدم دسترسی به قندهای ساده در محیط رشد میکروب مربوط می‌شود. در محیط‌های حاوی قند ساده به دلیل پدیده مهار کاتابولیکی و مهار فعالیت آنزیم‌ها رشد محدود می‌شود (Griffiths *et al*.,1999). ولی در محیط‌های حاوی ترکیبات پریبیوتیک به دلیل پیچیدگی ساختاری امکان تولید آنزیم‌های بیشتر که برای متابولیزه شدن ترکیبات غذایی لازم است فراهم شده و به میکرواورگانیسم قدرت حفظ ثبات و پایداری می‌دهد. تاثیر محیط پریبیوتیک بر روی رشد و بهبود ساختار پروبیوتیک در مطالعه‌ی حاضر، با نتایج مطالعه‌یMaisto و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد. Maisto و همکاران(۲۰۲۱) گزارش کردند که پالپ خرما میزان رشد پروبیوتیک‌های لاکتیکی *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum (L. plantarum), Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus (L. bulgaricus), Lactobacillus acidophilus (L. acidophilus) and Lactinocaseibacillus rhamnosus (L. rhamnosus* را به شکل معنی‌داری افزایش داد. از طرفی اثر افزایشی عصاره چای سبز، مربوط به توانایی پلی فنل‌های چای سبز به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکال می‌باشد که با افزایش فعالیت آنتی بیوتیکی در محیط، شرایط مساعدتری برای رشد و تکثیر باکتری‌های پروبیوتیک فراهم می‌کند(Molan *et al*., 2008). Yang و همکاران (2009)، دربررسی استخراج پلی ساکاریدها از ضایعات سس سویا و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و پریبیوتیکی آن، گزارش نمودند که با وجود اینکه پلی‌ساکاریدهای

استخراجی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیفی بودند ولی با افزایش غلظت پلی ساکاریدهای استخراج شده، تعداد باکتری نسبت به محیط کنترل افزایش نشان داده است و پلی ساکاریدهای استخراج شده از ضایعات سس سویا اثر پریبیوتیکی بر باکتری داشته‌اند. این در حالیست که پیش از این عنوان شده بود فعالیت پریبیوتیکی با فعالیت آنتی اکسیدانی ارتباط دارد(Yang et al.,2011 ) برای نشان دادن اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی هسته خرما و همچنین قابلیت انتخابی عمل کردن این عصاره در مقابل میگرواورگانیسم‌های مفید و مضر، بررسی خاصیت ضدمیکروبی این عصاره بر دو نمونه باکتریایی *استافیلوکوکوساورئوس* و *اشریشیا کلی* آزمایش شد. نتایج نشان داد عصاره هسته خرما توانایی مقابله با هر دو باکتری را داشت که پیش ازاین نیز در پژوهش‌های Sabah و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی عصاره استونی هسته خرما علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* و Ammar و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی عصاره متانولی هسته خرما علیه باکتری سالمونلاتیفی موریوم نیز تائید شده است.

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد توان عصاره اتانولی هسته خرما در مهار رشد باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت پایین‌تر بود که علت آن می‌تواند مقاومت بالاتر باکتری‌های گرم منفی نسبت به ترکیبات فنولیک و تفاوت در ساختمان دیواره سلولی آن‌ها باشد ( Negi*et al.*, 2003). گزارش‌های مشابهی از فعالیت ضدباکتری عصاره آبی هسته خرما در مقابل سودوموناس، پروتئوسوالگاریس، کبسیلاپنومونیه و اشریشیا کلی در دسترس می‌باشد (Yassein, 2015). نتایج این تحقیق با نتایج Keddari و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی تاثیر عصاره خرما بر روی باکتری‌های اسید لاکتیکی، عنوان کردند که کارایی عصاره خرما در مقابله با باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بالاتر بود. اثر ترکیبات فنولیک وابسته به غلظت می‌باشد و درغلظت‌های پایین، ترکیبات فنولیک بر فعالیت آنزیم‌ها به ویژه آنزیم‌هایی که در ارتباط با تولید انرژی هستند اثر می‌گذارند در حالی که در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولیک باعث غیر طبیعی شدن پروتئین‌ها می‌شوند. اثر ترکیبات فنولیک (گالیک اسید، کلروژنیک و روتین (Maqsood et al., 2020)) برروشد میکروب‌ها وتولید سم می‌تواند درنتیجه قابلیت ترکیبات فنولیک در تغییرپذیری دیواره‌ی سلولی و خروج ماکروملکول‌ها از درون سلول نیز باشد. همچنین این ترکیبات می‌توانند با پروتئین‌های غشاء واکنش داده و باعث تغییر شکل این پروتئین‌ها و به تبع آن تغییر در عملکرد آن‌ها شوند (Fernandez-Lopez et al., 2022). ترکیب اصلی دیواره سلول باکترهای گرم مثبت، پپتیدوگلیکان به همراه مقدار کمی پروتئین است. اما دیواره سلولی باکترهای گرم منفی با وجود ضخامت کمتر، پیچیدگی بیشتری داشته و علاوه بر پپتیدوگلیکان حاوی پلی ساکاریدهای مختلف، پروتئین‌ها ولپیدها می‌باشد (Keddari et al., 2021). همچنین دیواره سلولی باکتری گرم منفی دارای غشاءخارجی است که سطح خارجی دیواره را می‌پوشاند (Black, 1996). مجموعه این عوامل سبب افزایش مقاومت باکتری‌های گرم منفی، نسبت به باکتری‌های‌گرم مثبت می‌باشد. نتایج بدست آمده از این تحقیق تا حدودی با نتایج بدست آمده از پژوهش‌های شریعتی و همکاران(۱۳۸۹)، در بررسی اثرضد میکروبی عصاره‌های استونی و اتانولی هسته خرما مطابقت دارد، که تنها ۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس حساسیت نسبی در حضور عصاره اتانولی و استونی هسته خرما از خود نشان دادند. فعالیت کمتر عصاره اتانولی هسته خرما در مقابل باکتری اشرشیا کلی مطابق با نتایج Ayachi و همکاران (۲۰۰۹)، می‌باشد. که نشان دادند که عصاره هسته خرما فعالیت ضدمیکروبی کمتری در مقابل اشریشیا کلی از خود نشان داده است. نتایج حاصل از این بررسی همچنین

با نتایج محمودی و همکاران (۱۳۹۱) در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس زیره سبز مطابقت دارد. در این بررسی گزارش نمودند که حساس‌ترین باکتری نسبت به اسانس زیره سبز باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اسانس، باکتری گرم منفی اشریشیا کلی بود.

**نتیجه گیری**

با توجه به نتایج به‌دست آمده ترکیبات فنولیک استخراج شده از هسته خرما قابلیت پریبیوتیکی خوبی را نشان دادند. عصاره اتانولی هسته خرما با داشتن مقادیر قابل قبولی از ترکیبات فنولیک دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی، پریبیوتیکی و اثرات ضد میکروبی بود. با توجه به اثرات نامطلوب مصرف آنتی اکسیدان‌ها و نگهدارنده‌های مصنوعی عصاره هسته خرما می‌تواند به عنوان منبع غنی از ترکیبات فنولیک وبا داشتن خاصیت پریبیوتیکی وضد میکروبی طبیعی در صنعت غذا ودارو، آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرارگیرد. همچنین به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوب گزینه مناسبی برای استفاده تکنولوژیکی و اثرات سلامتی بخش برای تولید مواد غذایی فرا سودمند باشند.

**منابع**


۱. باغبانی، ف.، شیرازی نژاد، ع. ۱۳۹۸. بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره هسته خرما و تاثیر آن بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی کیک فنجانی. علوم و صنایع غذایی. ۸۸: ۳۴۲-۳۲۷.

۲. دادجو،عطیه؛گلمکانی،ت؛موسوی نسب،م؛مصباحی،غ؛بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره هسته خرما کبکاب استخراج شده به کمک ماکروویو. بیست ودومین کنگره ملی علوم وصنایع غذایی ایران.دانشگاه شیراز. ۱۳۹۳

۳. رستگار،سمیه؛روشن،و؛راحمی،م؛بررسی ترکیبات فنلی وفعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه سه رقم خرمادرمراحل مختلف رشد.۱۳۹۲.بیستمین کنگره ملی علوم وصنایع غذایی ایران دانشگاه شیراز.

۴. شریعتی، مهرداد؛پردلی،ح؛خادمیان،آ؛کیائی،ا؛بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره های میوه وهسته ی خرما علیه‌سویه‌های‌استافیلوکوکوس‌اورئوس‌مقاوم.۱۳۸۹.علوم-وفناوری‌وتغذیه.سال‌هفتم،شماره۴،صفحات ۴۲تا۴۷ .

۵. قادری قهفرخی، م، اعلمی، مهران. ۱۳۹۱. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی دو واریته ی بلوط *Q.branti var persica* و *Q.castaneifolia var castaneifolia* در روغن آفتاب گردان. مجله علوم و صنایع غذایی ایران. شماره۱. ۱۲۷-۱۱۷

۶. محمودی،رزاق،احسانی،ع،زارع،پ،ویژگیهای ترکیبات شیمیایی،ضدباکتریایی وآنتی اکسیدانی اسانس زیره سبز،نشریه پژوهش‌های صنعتی ایران/جلد۲۲شماره۳/سال۱۳۹۱،صفحات۳۲۱-۳۱۱

7. Aldhaheri,A.,G.Alhadrami.,N.Aboalnaga.,I.Wasfi .,and M.Elridi.2004.Chemical composition of date pits and reprodactive hormonal ststus of rats fed date pits .FOOD Chemistry,86,93-97
8. Ammar, N.M., Lamia, T., Nabil, H., El-Sayed, M., and Tom JM (2009). Flavonoid constituents and antimicrobial activity of date (Phoenix dactylifera L.) seeds growing in Egypt. In: Proceedings of 4th conference on research and development of pharmaceutical industries (Current Challenges). Med. Arom. Plant Sci. Biotechnol., 3: 1-5.
9. Ayachi A, Alloui N, Bennoune O, Yakhlef G, Daas Amiour S, Bouzid W, Djemai Zoughlache S, Boudjellal K, Abdessemed H (2009). Antibacterial activity of Some Fruits; Berries and Medicinal Herb Extracts Against Poultry Strains of Salmonella American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 6(1): 12-15.
10. Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., Maffei Facino, R. (2005) Standardization of an tioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. Anal Chim Acta. 533: 185-191
11. Besbes S, Blecker C, Deroanne C, Lognay G, Drira N E, and Attia H, 2004. Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. Food Chemistry 84: 577-584.
12. Black, J. C. (1996). Growth and culturing of bacteria: Microbiology Principles and Application. Pp. 80-82
13. Bouhlali, E.D.T.; Hmidani, A.; Bourkhis, B.; Khouya, T.; Ramchoun, M.; Filali-Zegzouti, Y.; Alem, C. Phenolic profile and anti-inflammatory activity of four Moroccan date (*Phoenix dactylifera* L.) seed varieties. *Heliyon* **2020**, *6*, e03436
14. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 28, 25–30.
15. Deng J, Zhong J, Long J, Zou X, Wang D, Song Y, Zhou K, Liang Y, Huang R, Wei X (2020) Hypoglycemic effects and mechanism of different molecular weights of konjac glucomannans in type 2 diabetic rats. Int J Biol Macromol 165:2231–2243
16. Din (2015). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15:7313-7352; doi: 10.3390/molecules 15107313.

17. Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., Ferrari, G. (2011) Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. Food Sci Technol. 44: 1908-1914
18. Eimad dine Tariq Boahlali, Chacib Alem, Jamal Ennassir,Mohamed Benlyas,AddiNati Mbark,Younes Filali Zegzouti, Phytochemical composition and antioxidant capacity of three date (Phoenix dactylifera L.) seeds varieties grown in the South East Morocco, Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences (2015).
19. El-Kholy WM,Soliman TN, DarwishAMG (2019) Evaluationof date palm pollen (Phoenix dactylifera L.) encapsulation, impact on the nutritional and functional properties of fortified yoghurt. PLoS ONE 14(10): e0222789.https://doi. org/10.1371/journal.pone.0222789
20. Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M.; Sayas-Barberá, E.; Navarro-Rodríguez de Vera, C.; Pérez-Álvarez, J.Á. Biological, Nutritive, Functional and Healthy Potential of Date Palm Fruit (Phoenix dactylifera L.): Current Research and Future Prospects. Agronomy 2022, 12, 876. https://doi.org/10.3390/ agronomy12040876
21. Ghnimi S, Umer S, Karim A, Kamal-Eldin A (2017) Date fruit (Phoenix dactylifera L.): An underutilized
food seeking industrial valorization. NFS J 6:1–10
22. Griffiths, A.J.F., Gelbart, W.M., Miller, J.H Le-wontin, R.C. (1999). Modern genetic analysis, WH Freeman and company, New York, New York, pp.336-346
23. Habib HM, Platat C, Meudec E, Cheynier V, Ibrahim WH (2014) Polyphenolic compounds in date fruit seed (Phoenix dactylifera): characterisation and quantification by using UPLC-DAD-ESI-MS. J Sci Food Agri 94:1084–9.
24. Keddari S, Boufadi My, Mokhtar M, Hamed D. Culture Of Lactic Acid Bacteria In Natural Environments Based On Dates. Pharmacog J. 2021;13(3): 675-81
25. Mackie & Mc cartney. Practical medical microbiology;1989.
26. Maisto, M.; Annunziata, G.; Schiano, E.; Piccolo, V.; Iannuzzo, F.; Santangelo, R.; Ciampaglia, R.; Tenore, G.C.; Novellino, E.; Grieco, P. Potential Functional Snacks: Date Fruit Bars Supplemented by Different Species of Lactobacillus spp. Foods 2021, 10, 1760. https://doi.org/ 10.3390/foods10081760
27. Maisto, M.; Annunziata, G.;Schiano, E.; Piccolo, V.; Iannuzzo, F.;Santangelo, R.; Ciampaglia, R.;Tenore, G.C.; Novellino, E.; Grieco, P.Potential Functional Snacks: Date Fruit Bars Supplemented by Different Species of *Lactobacillus* spp. *Foods* **2021**, *10*, 1760. https://doi.org/10.3390/foods1008176
28. Masqsood, s., Adiamo, O., Ahmad, M., Mudgil, P. 2020. Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. Food chem. 308: 125522.
29. Mayachiew, P. and Devahastin, S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. LWT. 41, 1153–1159.
30. Molan, A. L., Flanagan, J., Wei, W. P. and J. Moughan. 2009. Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. *Food Chem*. 114: 829–835.
31. Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. 2003. Antioxidant and and antimutagenic activities of pomegranate peelextracts. Food Chem 2003; 80(3); 393-7.
32. Noorbakhsh, H., Khorasagani, M. 2022. Date (Phoenix dactylifera L.) polysaccharides: prebiotic potential & health properties, a Clinical Trial. Research Aquare. DOI: https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1705400/v1
33. Pasha, A.Z., Bukhari, S.A., Enshasy, H.A.E., Adawi, H.E., Obaid, S.A. 2022. Composition analysis and Physicochemical evalution of date palm (Phenix dactylifera) mucilage for medicainal purposes. Saudi Journal of Biological Sciences. 29: 774-780.
34. Pranoto, Y., Rakshit, S. K., & Salokhe, V. M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT-Food Science and Technology, 38(8), 859-865.
35. Sabah, A., Jassim, A. & Naji, M. A. (2007). In vitro evaluation of the antibacterial activity of an extract of date palm (Phoenix dactylifera L.) pits on a Pseudomonas phage. Oxford Journals, Evid. Based Complement Altem. Med, 1-6.
36. Sadaf Zehra, Abeer Saeed and Sameera Fatima, Antioxidant and antibacterial studies of Phoenix

dactylifera and its varieties, Waljat College of Applied Sciences, BIT International Center, Muscat, PO Box 197, P.C. 124, Rusayl, Sultanate of Oman. IJAMBR 3 (2015) 81-88

37. Safaa Y. Qusti , Ahmed N. Abo-Khatwa And Mona A. Bin Lahwa, Screening Of Antioxidant Activity And Phenolic Content Of Selected Food Items Cited In The Holly Quran, Ejbs 2 (1) . Jan-March 2010.
38. Shahidi, F., & Naczk, M. (1995). Food phenolics: Sources, chemistry, effects, applications. Lancaster PA: Technomic Publishing Company Inc.
39. Shi Q, Yan J, Jiang B, Chi X, Wang J, Liang X, Ai X (2021) A general strategy for the structural determination of carbohydrates by multi-dimensional NMR spectroscopies. Carbohydr Polym
267:118218
40. 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
41. Thouri, A.; Chahdoura, H.; El Arem, A.; Omri Hichri, A.; Ben Hassin, R.; Achour, L. Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). *BMC Complement. Altern. Med.* **2017**,*17*, 248
42. Yang, B., Jiang, Y. M., Zhao, M. M., Chen, F., Wang, R., Chen, Y. L., et al. (2009). Structuralcharacterisationofpolysaccharidespurifiedfromlongan(Dimocarpus longan Lour.) fruit pericarp. Food Chemistry, 115, 609–614.
43. Yassein N. N. (2012). Antibacterial effect of date palm (Phoenix dactylifera L.) pit aqueous extract on some bacteria cause urinary tract infection. Diyala J. Pure Sci. 8(3):112-120

# Evaluation of functional properties of phenolic compounds extracted from date palm (*Phoenix dactylifera L.*) pit in comparison to green tea extract on viability of selected probiotic bacteria

**Mojgan Moghadam[1], Mehrnoosh Tadayoni[1*], Ali Fazlara[2]**
1. Food science and technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
2. Food hygiene, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.
[*]Corresponding author: m.t.tadayoni@gmail.com

**Abstract**
Phenolic compounds with antioxidant and antiradical properties have important role in food preservation and human health. Phenolic compounds are important compounds ofdate palm seeds usually show high antioxidant activity. In this study, the effect of phenolic compounds extracted from date palm seeds on probiotic bacteria is studied, the total amount of ethanol extract date palm seeds, using the Folin-Ciocateu reagent and the antioxidant activity of the extract using the DPPH reagent was evaluated against BHT. Prebiotic effect of phenolic compounds of date palm seeds on growth and survival of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum*, (ATCC14917) in three concentrations 0.1, 0.5, 1 % compared with green tea extract and extract antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* and *E.coli* were performed at 0.5, 1 %.The total dry extract ethanol date palm seeds phenolic compounds was found 6.62 % on galic acid. Free radical scaverning rate 48.27 %, $IC_{50}$for ethanol palm seeds183.73 µg/mL was calculated. According to the HPLC output, which confirm high amounts of Gallic acid and Catechin as phenolic compounds in from date palm seed. The results showed that phenolic compounds extracted from date palm seeds has increased the viability of probiotic bacteria in the level 0.5, 1% and some what have antibacterial effect on the concentration of 1% on bactria *Staphylococcus aureus*. Acording to the results, phenolic compounds extracted from date palm seeds showed good prebiotic functionality. Also, due to the antioxidant activity are desirable option for technology use and health effects for the production of functional food ingredients.

**Keywords:** Phenolic compounds, Antioxidant property, Date palm seeds extract**,** Green tea extract