

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE

“AMEDEO AVOGADRO”

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

Caratterizzazione chimico-nutrizionale di diverse varietà di datteri

(Phoenix dactylifera L.)

Relatore

Prof. Monica LOCATELLI

Candidato

Francesca SALA

Correlatore

Dott. Yassine JAOUHARI

Anno Accademico 2022-2023

Sessione straordinaria

INDICE

| | |
|--|------------|
| ABBREVIAZIONI | III |
| 1 INTRODUZIONE..... | 1 |
| 1.1 LA PALMA DA DATTERO (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) E I SUOI FRUTTI | 1 |
| 1.1.1 <i>Origine e descrizione botanica</i> | 1 |
| 1.1.2 <i>Frutticoltura</i> | 2 |
| 1.1.3 <i>Produzione mondiale e principali cultivar</i> | 4 |
| 1.1.3.1 <i>Produzione in Arabia Saudita</i> | 6 |
| 1.2 FILIERA PRODUTTIVA | 8 |
| 1.2.1 <i>Maturazione e raccolta dei frutti</i> | 8 |
| 1.2.2 <i>Essiccazione</i> | 11 |
| 1.3 COMPOSIZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE | 12 |
| 1.3.1 <i>Zuccheri</i> | 12 |
| 1.3.2 <i>Fibra</i> | 13 |
| 1.3.3 <i>Proteine</i> | 14 |
| 1.3.4 <i>Minerali</i> | 14 |
| 1.3.5 <i>Composti antiossidanti</i> | 15 |
| 1.4 PRODOTTI DERIVATI DAI DATTERI | 18 |
| 1.4.1 <i>Aceto di datteri</i> | 19 |
| 2 SCOPO DELLA TESI..... | 21 |
| 3 MATERIALI E METODI..... | 23 |
| 3.1 CAMPIONI ANALIZZATI | 23 |
| 3.1.1 <i>Preparazione del campione</i> | 24 |
| 3.2 COMPOSIZIONE CENTESIMALE | 24 |
| 3.2.1 <i>Determinazione dell'umidità</i> | 24 |
| 3.2.2 <i>Determinazione delle ceneri</i> | 25 |
| 3.2.3 <i>Determinazione delle proteine totali</i> | 26 |
| 3.2.4 <i>Determinazione della fibra insolubile e solubile</i> | 29 |
| 3.3 CARATTERIZZAZIONE DEGLI ZUCCHERI SEMPLICI | 33 |
| 3.3.1 <i>Estrazione:</i> | 33 |
| 3.3.2 <i>Analisi cromatografica e quantificazione degli zuccheri semplici</i> | 33 |
| 3.4 CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE POLIFENOLICA | 33 |
| 3.4.1 <i>Estrazione</i> | 33 |
| 3.4.2 <i>Determinazione dei polifenoli totali</i> | 35 |
| 3.4.3 <i>Determinazione dei flavonoidi totali</i> | 36 |
| 3.4.4 <i>Attività antiossidante</i> | 38 |
| 3.4.4.1 <i>DPPH*</i> | 39 |
| 3.4.4.2 <i>FRAP</i> | 41 |
| 3.4.4.3 <i>ABTS*+</i> | 42 |
| 3.5 ANALISI STATISTICA | 43 |

| | |
|--|-----------|
| 4 RISULTATI E DISCUSSIONE | 45 |
| 4.1 CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE | 45 |
| 4.2 COMPOSIZIONE CENTESIMALE | 47 |
| 4.2.1 <i>Umidità, ceneri e proteine</i> | 47 |
| 4.2.2 <i>Fibra dietetica</i> | 50 |
| 4.2.3 <i>Zuccheri semplici</i> | 53 |
| 4.3 CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE POLIFENOLICA | 55 |
| 4.3.1 <i>Polifenoli totali</i> | 56 |
| 4.3.2 <i>Flavonoidi totali</i> | 57 |
| 4.4 ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE..... | 58 |
| 4.4.1 <i>DPPH*</i> | 60 |
| 4.4.2 <i>ABTS*⁺</i> | 61 |
| 4.4.3 <i>FRAP</i> | 62 |
| 4.5 ANALISI STATISTICA MULTIVARIATA | 64 |
| 5 CONCLUSIONI..... | 69 |

ABBREVIAZIONI

ABS: Assorbanza

ABTS: Acido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-solfonico)

CAE: Catechina Equivalenti

DPPH•: Radicale 2,2 difenil-1-picrilidrazilico

FAO: *Food and Agriculture Organization*

FRAP: *Ferric Reducing Antioxidant Power*

HPLC: *Hight Performance Liquid Chromatography*

LARN: valori di riferimento per l'alimentazione

MES: acido 2-(N-morfolino) etansulfonico

PCA: *Principal Component Analysis*

RPM: Rotazioni per minuto

s.s: sostanza secca

SPE: *Solid-phase extraction*

TE: Trolox equivalenti

TFC: *Total Flavonoid Content*

TPC: *Total Poliphenols content*

TRIS: Tris(idrossimetil)amminometano cloridrato

UV/VIS: *Ultraviolet/Visible*

1 INTRODUZIONE

1.1 LA PALMA DA DATTERO (*Phoenix dactylifera* L.) E I SUOI FRUTTI

1.1.1 Origine e descrizione botanica

Il frutto della palma da datteri (*Phoenix dactylifera* L.), comunemente chiamato dattero, ha un'origine molto antica così come la sua coltivazione; la sua diffusione è documentata sia da antichi testi religiosi, come il Corano, sia da testi civili, come il Codice di Hammurabi. Difatti il dattero ha origine proprio nelle regioni del Medio Oriente, più precisamente nell'attuale Iran e Iraq, ma anche nel nord Africa, in quanto era noto anche tra i Cartaginesi e Berberi.

Nei paesi del Medio Oriente il dattero non rappresenta solo un frutto, ma ha un significato più profondo e sacro, in quanto è simbolo di vita, prosperità, fertilità, salute ed ospitalità; infatti, spesso nella cultura araba viene consumato come segno di benvenuto insieme ad ospiti o amici [1].

La sua identificazione botanica (*Phoenix dactylifera*) è di derivazione greca: “*phoenix*” significa fenicio, perché si pensava che fossero stati i Fenici a diffondere queste piante, mentre il termine *dactylifera* deriva da “*dactylos*” (dito) e “*fero*” (portare) ad indicare come questa pianta sia “portatrice” di frutti oblunghi a forma di dito [1].

A livello tassonomico, la palma da dattero è una pianta legnosa e dioica, la cui altezza può arrivare fino ai 20 metri. In natura l'impollinazione avviene tramite il vento oppure, per le piante coltivate a scopi commerciali, artificialmente. A livello morfologico i fiori androcei e ginecei non differiscono particolarmente, ma presentano colori differenti: quelli maschili sono biancastri, mentre quelli femminili verde-giallastro [1].

I frutti, più comunemente chiamati datteri, sono delle drupe e assumono colorazioni differenti a seconda del grado di maturità. Inizialmente le drupe presentano tonalità tendenti al giallo-arancione, ma a maturità mutano al castano-rossastro a seconda della varietà; presentano esocarpo liscio, mesocarpo carnoso ed endocarpo membranoso dal sapore dolce e gradevole. Al suo interno ritroviamo un seme legnoso e con forma oblunga (**Figura 1**).

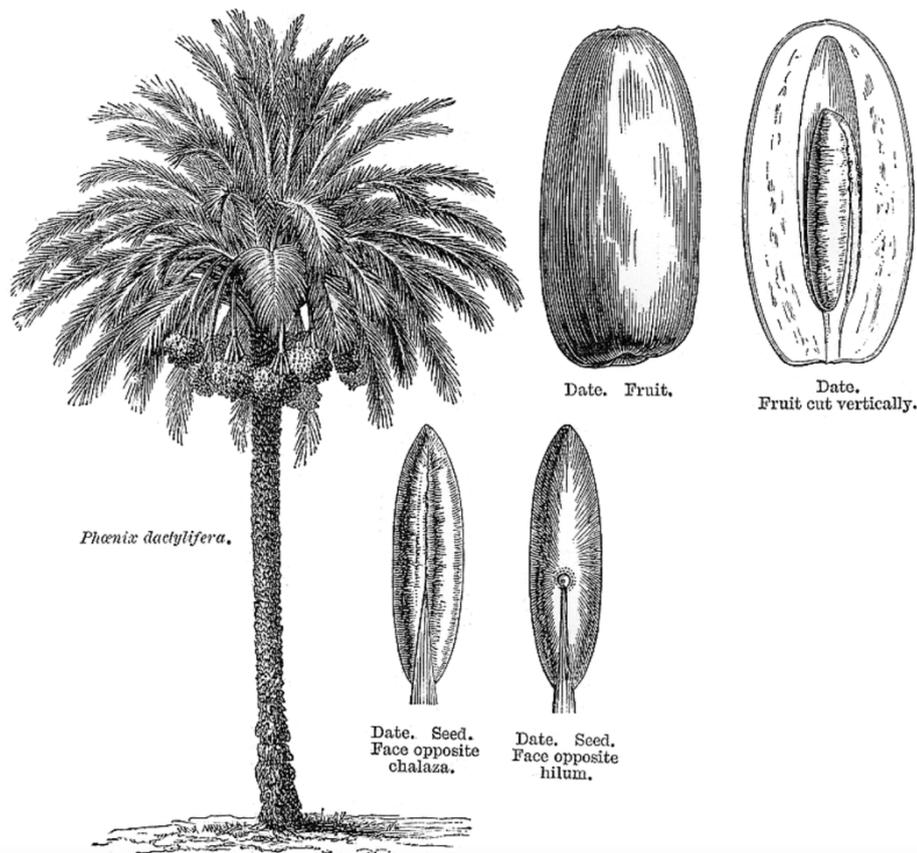


Figura 1. Raffigurazione della palma da dattero e del suo frutto [2]

1.1.2 Frutticoltura

La coltivazione dei datteri ebbe inizio in Medio Oriente e nel nord dell'Africa grazie al clima favorevole, caratterizzato da estati calde e secche ed inverni miti. La temperatura ottimale durante il periodo di maturazione è di 40 °C, accompagnata da valori di umidità molto bassi, al fine di ottenere le caratteristiche organolettiche e nutritive che contraddistinguono il dattero stesso. Oltre a precisi requisiti climatici, la pianta da dattero necessita di un terreno fertile con irrigazione controllata al fine di fornire la giusta quantità di acqua che le radici delle palme necessitano. Il terreno non deve essere né troppo arido né eccessivamente umido, altrimenti si rischierebbe di danneggiare la palma stessa [3].

Un altro requisito per consentire lo sviluppo e la maturazione desiderata del dattero è la salinità del terreno, poiché un terreno eccessivamente salino può compromettere il suo sviluppo e portare precocemente alla degradazione del frutto. Nell'ultimo decennio, a causa delle scarse precipitazioni, i terreni non hanno mostrato requisiti salini idonei e ciò si sta ripercuotendo sulle coltivazioni delle palme da dattero.

Per ovviare a questa problematica, in particolare nelle zone più aride, i coltivatori hanno iniziato a ricavare maggiore acqua attraverso canali sottosuolo in modo da consentire più disponibilità di acqua per la pianta stessa. D'altro canto, in alcuni casi, il flusso di acqua sotterranea è di provenienza marina, causando ulteriori danni sulla produzione [3].

Alcune cultivar di datteri sono comunque in grado di resistere a condizioni di salinità più estreme; quindi, quello che si sta cercando di attuare è incrociare le varie specie più resistenti con l'obiettivo di ottenere frutti maggiormente resistenti.

In paesi diversi dal Medio Oriente, come ad esempio in Italia, la coltivazione del dattero risulta essere particolarmente difficile a causa della comparsa del *Rhynchophorus ferrugineus*, comunemente conosciuto come punteruolo rosso (**Figura 2**). Il punteruolo rosso, un parassita originario dell'Asia, ha causato negli ultimi anni numerosi danni a diverse palme appartenenti alla specie *Aracaceae*, tra cui quelle da dattero e quelle ornamentali (*Phoenix canariensis L.*) maggiormente diffuse nel sud Italia.



Figura 2. Rhynchophorus ferrugineus (punteruolo rosso)[4]

La reale minaccia non è rappresentata propriamente dal punteruolo rosso, ovvero dall'insetto adulto, bensì dalle larve che in seguito alla deposizione delle uova iniziano a introdursi e a migrare in diverse regioni della pianta cibandosi dei tessuti della palma stessa. I danni causati da questo parassita sono particolarmente riconoscibili esternamente poiché le palme perdono le loro caratteristiche morfologiche. Il principale segno di allerta si manifesta a livello della struttura della chioma, che non risulta più simmetrica ed eretta ma sfaldata, assumendo un aspetto denominato “ad ombrello aperto”, come mostrato in **Figura 3**.



Figura 3. Rappresentazione di una palma sana (a sinistra) e di una danneggiata dal punteruolo rosso (a destra) [5]

Quando la chioma risulta essere ormai danneggiata si assiste alla migrazione degli adulti che, attraverso fori di uscita a livello delle foglie, si dirigono verso nuove palme all'interno delle quali ripartirà il ciclo produttivo e il danneggiamento della pianta [6].

Qualora le piante risultino essere già infestate esistono vari approcci di difesa. La misura più comune ed efficace è quella chimica: le palme colpite vengono irrorate sia esternamente sia internamente con soluzioni insetticide; l'applicazione diretta all'interno del tronco permette di raggiungere in modo più selettivo le regioni infestate dalle larve [6].

Oltre all'approccio chimico è possibile attuare delle misure di difesa che si basano sulla dendrochirurgia, ovvero sull'asportazione dei tessuti danneggiati al fine di rimuovere tutte le forme vitali dell'insetto. Nel momento in cui si opta per questo metodo è bene avvalersi di accorgimenti specifici, poiché è bene non compromettere la vita della pianta, in particolar modo sia l'apice vegetativo che la germogliazione.

1.1.3 Produzione mondiale e principali cultivar

La produzione dei datteri sta alla base dell'economia dei paesi produttori, principalmente nelle aree del Nord Africa e del Medio Oriente. In questi paesi il dattero non viene coltivato unicamente per la commercializzazione, ma una buona quota è riservata anche al consumo interno; infatti, il dattero rappresenta un elemento essenziale della dieta nei paesi islamici, non solo perché il frutto è ricco di sostanze nutritive particolarmente apprezzate dalle popolazioni native, ma anche perché è considerato il frutto venerato da Maometto [7].

In **Figura 4** sono mostrati i 15 paesi annoverati negli ultimi anni come i maggiori produttori di datteri nel mondo; tra i primi spiccano Egitto, Arabia Saudita, Iran e Algeria.

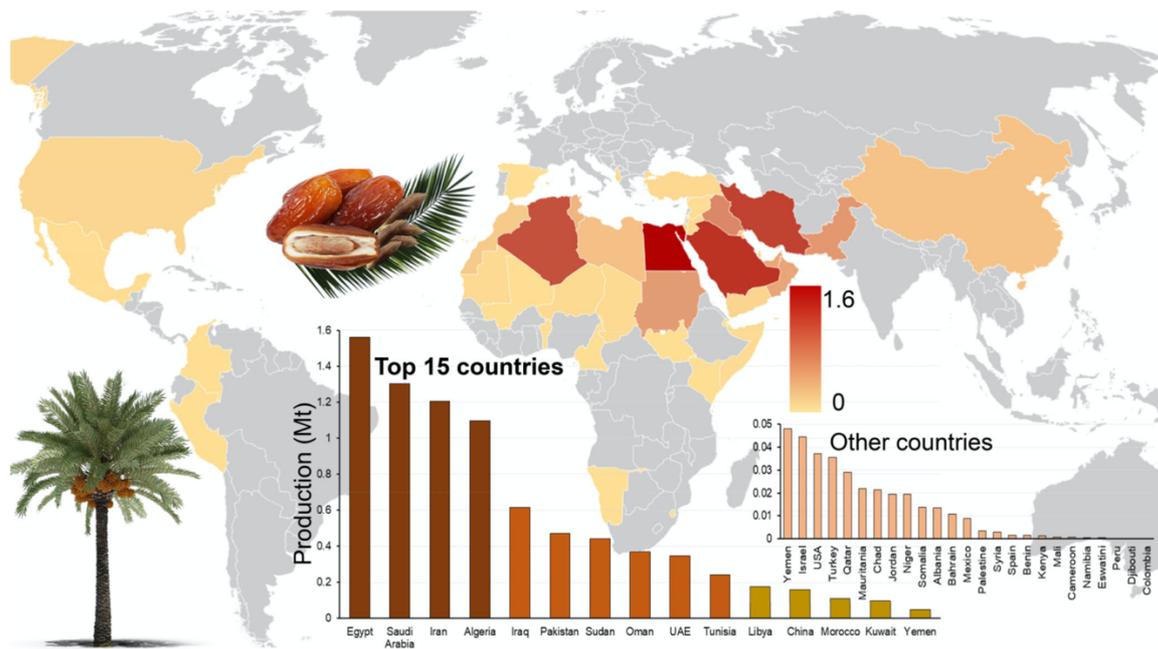


Figura 4. Principali paesi produttori di datteri [3]

La maggior parte dei datteri prodotti in Medio Oriente e nel Nord Africa è destinata al mercato interno, e solamente una piccola parte, circa il 18%, è relativa all’esportazione internazionale [3].

Tra i principali mercati importatori vi è l’Europa, con il 48% di datteri importati, in particolar modo dalla Tunisia. Infatti quest’ultimo paese risulta essere il mercato cardine nelle importazioni europee, con esportazioni che nel giro di un anno (2022-2023) sono cresciute del 6,7% [8].

Secondo gli ultimi dati dell’Organizzazione delle Nazioni Unite per l’Alimentazione e l’Agricoltura (FAO), nel 2022 l’Egitto è risultato il maggior produttore di datteri con 1.733.432 tonnellate, seguito dall’Arabia Saudita con (1.610.731 t) ed Iran (1.030.460 t) [9]. Negli ultimi anni, la produzione mondiale ha visto concretizzarsi un netto aumento, passando dagli 8,4 milioni di tonnellate nel 2017 fino ad arrivare alle 9 milioni di tonnellate raccolte nel 2022 [10].

Negli ultimi anni, data la loro notorietà a livello gastronomico e nutrizionale, ma anche come conseguenza di cambiamenti culturali e della crescita di informazione che ne hanno ampliato

la diffusione, la produzione mondiale di datteri è cresciuta di oltre il 15% rispetto all'ultimo decennio.

La produzione di datteri a livello europeo è decisamente limitata. Le coltivazioni più importanti si trovano nelle città spagnole di Elche ed Alicante. Qui si trova il più antico e rilevante palmento di tutta Europa, dove viene coltivata una varietà autoctona, ormai divenuta famosa, conosciuta come *Confitera* [11]; grazie alla sua rilevanza gastronomica e notorietà in tutta Europa, la varietà *Confitera* è entrata a far parte del patrimonio dell'UNESCO.

Attualmente si stimano oltre 3000 varietà di datteri coltivati in più di 100 paesi nel mondo. In Arabia Saudita si contano circa 400 cultivar, mentre in Iraq quasi 600 varietà che differiscono a livello organolettico e morfologico [10].

Medjool e *Deglet Nour* rappresentano ad oggi le due cultivar più diffuse a livello mondiale, maggiormente conosciute anche in Italia poiché rappresentano le tipologie più facilmente reperibili sui nostri mercati e nella maggioranza dei casi vengono ad essere importate dalla Tunisia [12].

In alcuni momenti dell'anno le richieste del prodotto aumentano notevolmente, soprattutto durante le festività natalizie e durante il mese del Ramadan. In quest'ultimo periodo religioso, il dattero, visto il suo apporto calorico, rappresenta il primo alimento che viene consumato al tramonto per terminare il digiuno [12].

Oggi giorno, i datteri stanno assumendo sempre più notorietà perché oltre ad essere consumati come tali, si prestano molto bene anche in diverse tipologie di preparazioni sia dolci che salate; infatti, possono essere utilizzati come dei validi sostituti dello zucchero (saccarosio) grazie alla loro elevata dolcezza, dovuta all'alto contenuto di zuccheri, ma con il vantaggio di apportare anche sostanze benefiche come molecole antiossidanti e fibra dietetica.

1.1.3.1 Produzione in Arabia Saudita

Nel 2022 l'Arabia Saudita ha rappresentato il secondo più grande produttore di datteri a livello mondiale, raggiungendo circa il 17% della produzione globale (1.610.731 tonnellate) di datteri coltivati su una superficie di oltre 150.000 ettari di terreno. Non sono valori costanti poiché sia la produzione che l'esportazione sono in continua crescita. Secondo attestati arabi, le esportazioni di datteri sono cresciute notevolmente in varie parti del mondo dove la domanda era sempre più alta, in particolare Europa, Nord America e Australia [13].

In Arabia Saudita sono state stimate circa 400 cultivar diverse di datteri, ma fra le varietà locali coltivate nell'area di Al-Hasa, la più vasta oasi del mondo e patrimonio dell'Unesco, prevalgono *Ajwa*, *Safawi*, *Sukari*, *Anbar* e *Sagai*, tutte con caratteristiche sia morfologiche che organolettiche differenti. Sono considerate le migliori al mondo e alcune risultano essere ancora poco conosciute dalle altre popolazioni mondiali.

L'oasi di Al-Hasa, situata nella fascia orientale della penisola arabica, annovera circa 2,5 milioni di palmeti (**Figura 5**). Oltre alle coltivazioni di datteri, quest'oasi è ritenuta importante per le sue immense piantagioni di orzo e limoni, ma anche per i suoi siti archeologici, giardini e moschee.



Figura 5. Palmeti dell'oasi di Al-Hasa [15]

Nel 2018 è entrata a far parte come bene culturale del patrimonio dell'UNESCO poiché è una dimostrazione di come l'uomo sia riuscito perfettamente a insediarsi, sviluppando una vera e propria economia per il paese, in un ambiente prettamente desertico. Nel corso degli anni

l'uomo si è adattato sia alle esigenze della società sia a quelle ambientali, con lo scopo di mantenere integra la funzione agricola dell'oasi [15].

1.2 FILIERA PRODUTTIVA

1.2.1 Maturazione e raccolta dei frutti

La maturazione dei datteri è un processo estremamente critico e non banale, poiché al variare delle condizioni climatiche cambia il modo in cui questi frutti possono raggiungere il loro stato di maturazione ottimale.

È un processo che richiede molto tempo, infatti dall'impollinazione alla maturazione possono passare ben oltre 200 giorni, durante i quali i datteri attraversano 5 fasi di maturazione; in questo lasso di tempo si assiste ad una variazione sia di colore che di composizione nutrizionale (*Figura 6*).

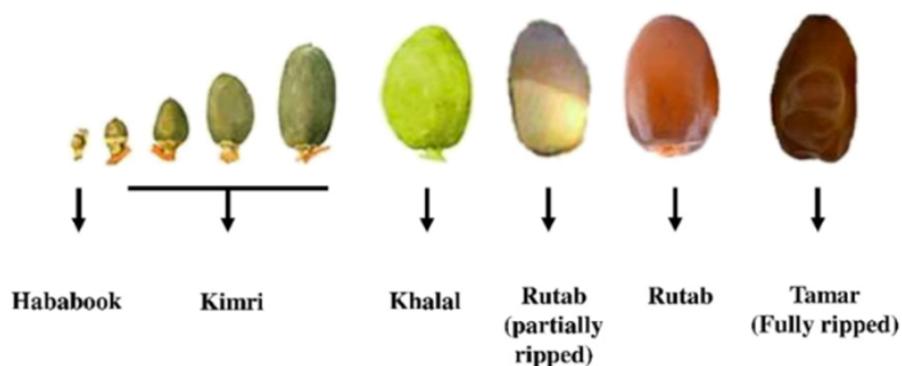


Figura 6. I principali stadi della maturazione del frutto [16]

Gli stadi di maturazione sono i seguenti:

- Stadio *Hababouk*: è la prima fase e inizia subito dopo la fecondazione del frutto, dura all'incirca 4 settimane e in questo periodo di tempo il frutto è acerbo.
- Stadio *Kimri*: in questa fase il dattero risulta essere ancora astringente, ma si assiste ad un aumento sia di dimensioni che di tenore zuccherino.
- Stadio *Khalaal*: fase in cui si ha un cambio di colore, a seconda della varietà, da verde a giallo-arancione e, grazie alla perdita notevole di tannini, il frutto acquisisce un sapore sempre meno astringente e più gradevole al palato, poiché aumenta anche il contenuto di glucosio.

- Stadio *Rutab*: il frutto inizia ad acquistare le caratteristiche tipiche del dattero, imbrunisce e si assiste ad un continuo aumento di zuccheri semplici. Alcune varietà di datteri, già in questa fase, vengono raccolti.
- Stadio *Tamar*: ultima fase della maturazione. I frutti appaiono morbidi, di colorazione scura e con un valore di umidità intorno al 25%, rispetto all'80% delle fasi iniziali. A questo punto sono pronti per essere raccolti ed essere sia essiccati che stoccati, poiché possono essere commercializzati sia in forma fresca sia in forma essiccata [17].

I frutti della palma da dattero non possono essere raccolti impiegando mezzi meccanici a causa della loro estrema fragilità, dunque necessitano di metodi manuali, più meticolosi e meno aggressivi, ma che allo stesso tempo richiedono tempi più lunghi e con maggiori accortezze. A seconda delle caratteristiche della palma, la raccolta può avvenire da terra, se la pianta non supera i 4 metri di altezza, e in questo caso viene sfruttata una scala di alluminio estendibile, ma se l'altezza della pianta supera i 4 metri è necessario l'intervento di addetti specializzati e agili, in grado di arrampicarsi senza riscontrare alcune difficoltà (*Figura 7*).



Figura 7. Raccolta manuale dei frutti [18]

Date le possibili condizioni critiche che si possono riscontrare durante la raccolta, si è pensato di progettare metodi alternativi che salvaguardassero la vita degli operatori durante la salita e l'accesso alla chioma delle palme. È stato riscontrato che il sistema più efficiente per raggiungere i frutti e le foglie (anche in caso di potatura) è l'impiego di piattaforme elevabili dotate di bracci estensibili che permettono di raggiungere altezze differenti, e di una cesta all'interno della quale l'operatore può rimanere in posizione eretta, permettendo una raccolta più semplice attraverso l'utilizzo di tradizionali utensili. Questo metodo di raccolta ha consentito negli anni di migliorare e ridurre la manodopera, poiché si tratta di macchine che consentono di raggiungere fino a quattro palme contemporaneamente [7].

Generalmente la raccolta viene effettuata fra agosto e settembre, anche se alcune cultivar necessitano un tempo di maturazione più lungo, per cui la loro raccolta viene posticipata in autunno [19].

Una prima selezione avviene quando i frutti sono ancora attaccati ai rami, poiché, a seconda delle dimensioni, alcuni maturano in un tempo più breve; dunque, per non oltrepassare il periodo di maturazione, gli operatori tra settembre e inizio ottobre effettuano un primo controllo procedendo a staccare i frutti che sono giunti a maturazione [20].

Quando le temperature non sono più favorevoli per la maturazione, tendenzialmente a fine ottobre, avviene l'ultima fase della raccolta, dove i frutti rimanenti vengono raccolti, selezionati e classificati a seconda del loro aspetto.

Inoltre, nell'imminenza del periodo di raccolta, i rami carichi di datteri vengono rivestiti da idonei teli, al fine di proteggerli da eventuali danni ambientali, come mostrato in **Figura 8**.

I frutti che non raggiungono e soddisfano determinati requisiti per la commercializzazione sono destinati all'alimentazione animale oppure prodotti di lavorazione secondaria come prodotti da forno, sciroppo e derivati della fermentazione alcolica (aceto).



Figura 8. Raffigurazione del telo di rivestimento posto a protezione dei frutti [2]

1.2.2 Essiccazione

In post raccolta i frutti subiscono destini differenti, a seconda delle varietà, delle caratteristiche qualitative e del grado di maturazione. I datteri trovano impiego principalmente nel mercato interno, infatti la maggior parte dei datteri coltivati sono destinati al consumo locale, anche se una buona quota è comunque destinata alla commercializzazione internazionale. Devono essere, quindi, sottoposti a requisiti specifici di conservazione e di stoccaggio al fine di prolungare il tempo di conservazione e limitare il deterioramento del prodotto.

La conservazione ottimale e lo stoccaggio avvengono a basse temperature e in confezioni sottovuoto, ma solo dopo un processo di essiccazione. Questo processo consente sia di aumentare i tempi di conservazione dopo la raccolta sia di aumentare il tenore zuccherino, in funzione dell'allontanamento di una buona percentuale di acqua nel frutto. Di conseguenza si ha anche un maggior controllo della proliferazione di batteri e microrganismi, oltre che dello sviluppo di muffe [7].

L'essiccazione del prodotto può essere effettuata mediante metodi naturali, considerati tradizionali, oppure attraverso l'utilizzo di stufe o forni [19]. Il metodo tradizionale prevede un'essiccazione al sole abbinata a una ventilazione forzata. In alcuni casi potrebbe non risultare il metodo migliore poiché le condizioni climatiche possono essere variabili e non prevedibili, andando a impattare sul risultato finale. Oltre a questo, i frutti risultano essere sottoposti a contaminazioni e attacchi naturali da parte di insetti, causando un peggioramento delle caratteristiche qualitative.

Lo stoccaggio può avvenire sia a temperatura ambiente sia in celle frigorifere, anche se il metodo migliore rimane quello a basse temperature per consentire un periodo di conservazione più lungo e più favorevole senza riscontrare fenomeni di deterioramento.

1.3 COMPOSIZIONE CHIMICO-NUTRIZIONALE

Nella cultura arabo islamica il dattero è considerato “l’oro del deserto” grazie alle sue notevoli proprietà nutritive e l’elevato apporto calorico.

La composizione del dattero può variare a seconda della varietà e degli stadi di maturazione, non è quindi possibile attribuire al dattero dei valori nutrizionali univoci. Ciononostante, considerando le varie tipologie di frutti, si possono definire dei range di valori, come riportato in *Tabella 1*.

È possibile osservare che la componente più abbondante è costituita dagli zuccheri semplici, mentre fibra e proteine rappresentano una percentuale minore della composizione chimico-nutrizionale del dattero [21].

Tabella 1. Valore nutrizionale dei datteri espressi su s.s. [22]

| Nutrienti | Valori nutrizionali (g/100g) |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Acqua | 8-10 g |
| Proteine | 4-6 g |
| Zuccheri semplici | 50-70 g |
| Fibra totale | 7-8 g |
| Fibra solubile | 1 g |
| Fibra insolubile | 6-8 g |

Di seguito sono descritti nel dettaglio i componenti predominanti che caratterizzano la composizione del dattero.

1.3.1 Zuccheri

Come evidenziato in *Tabella 1*, gli zuccheri rappresentano la principale componente del dattero. Quando si parla di zuccheri è importante differenziare gli zuccheri semplici da quelli

complessi. In particolar modo i datteri contengono una notevole quantità di zuccheri semplici come glucosio, fruttosio e saccarosio, mentre zuccheri complessi come ad esempio la cellulosa, quest'ultima facente parte della fibra insolubile, sono presenti in quantità più ridotte. Inoltre, in seguito all'allontanamento dell'acqua, dopo essiccazione il frutto contiene un quantitativo maggiore di zuccheri rispetto alla versione fresca, rendendo il frutto notevolmente più dolce.

In **Tabella 2** è riportato il contenuto medio dei principali zuccheri semplici presenti nei datteri.

Tabella 2. Valori medi delle frazioni di zuccheri presenti nei datteri [23]

| | |
|---------------------------------|--------|
| Zuccheri semplici totali | 64,1 g |
| Saccarosio | 11,6 g |
| Fruttosio | 29,4 g |
| Glucosio | 30,4 g |

È bene tuttavia specificare che diverse varietà di dattero possono presentare profili di zuccheri semplici differenti; infatti, ci sono varietà che sono più ricche di saccarosio, altre di glucosio e fruttosio. Ad esempio, la varietà *Deglet Nour* presenta, oltre a glucosio e fruttosio, anche saccarosio, mentre in altre cultivar, come nella varietà *Ajwa*, quest'ultimo disaccaride non è presente [22].

Nella dieta gli zuccheri rivestono un ruolo cruciale poiché rappresentano la principale fonte di energia per le nostre cellule. Di conseguenza i datteri sono un alimento prezioso per gli sportivi, in quanto dagli zuccheri semplici, in particolare glucosio e fruttosio, è possibile ricavare energia nell'immediato. Vari studi hanno dimostrato che il rapporto ottimale di glucosio e fruttosio per fornire in maniera efficiente energia durante lo sforzo fisico è di 1:0,8 e questo rapporto è riscontrabile nel frutto del dattero [24].

1.3.2 Fibra

Negli alimenti i carboidrati oltre a trovarsi sottoforma di zuccheri semplici si trovano anche in forma di fibra, con l'unica differenza che quest'ultima non contribuisce a fornire energia, non essendo digeribile, ma concorre nell'esplicare funzioni benefiche per l'organismo attraverso, l'aumento della velocità del transito intestinale, l'aumento del senso di sazietà e l'aumento dei

processi digestivi, e, nel caso di alcune componenti della frazione solubile, svolgendo anche proprietà prebiotiche [25]. Le linee guida di una corretta e sana alimentazione consigliano almeno 25 g di fibra al giorno per beneficiare delle sue proprietà.

Nella composizione del dattero la fibra ricopre una discreta percentuale, con valori variabili nel range 8,1-12,7%, esplicando proprietà sazianti e benefiche per la flora intestinale, rappresentando, infatti, una soluzione in caso di stipsi [26].

In dettaglio, la fibra alimentare può essere classificata in solubile e insolubile. La frazione solubile, che nel dattero è presente in minore quantità (6-16% rispetto alla fibra totale) (*Tabella 1*), è quella componente che disgregandosi in acqua forma una sostanza altamente viscosa di consistenza gelatinosa all'interno dell'intestino e ciò permette di conferire un senso di sazietà proprio perché viene rallentato lo svuotamento gastrico. Al contrario, la frazione insolubile è quella maggiormente presente nel dattero (84-94%) ed è costituita da strutture polimeriche, quali cellulosa, emicellulosa e lignina; si tratta di sostanze in grado di trattenere l'acqua e favorire effetti positivi sullo svuotamento gastrico.

1.3.3 Proteine

Le proteine sono il macronutriente contenuto in quantità più limitata nei datteri. A seconda delle varietà, ma soprattutto a seconda che sia fresco o essiccato, il quantitativo proteico varia da un contenuto medio di 2,15 g/100g nel dattero essiccato, a un valore medio di 1,50 g/100g nel prodotto fresco.

Più in particolare, il dattero è ricco di amminoacidi essenziali, ovvero quegli amminoacidi che contribuiscono al buon funzionamento dell'organismo e che necessariamente devono essere introdotti tramite la dieta, poiché il corpo umano non è in grado di sintetizzarli in maniera sufficiente a livello endogeno [23,27].

1.3.4 Minerali

I sali minerali non forniscono un apporto calorico, ma concorrono a esplicare una funzione plastica. Alcuni di questi svolgono funzioni protettive per l'organismo, come Mg, Ca, K, Na e P, e necessitano di un apporto giornaliero maggiore, che in una dieta sana viene raggiunto grazie al consumo di frutta e verdura, ma anche con alimenti del mondo animale.

I minerali ricoprono un ruolo fondamentale nel profilo chimico-nutrizionale del dattero. Come mostrato in *Tabella 3*, i minerali presenti in maggiore quantità sono potassio, fosforo, magnesio e calcio, mentre in concentrazioni più moderate si riscontrano zinco, rame e selenio [28].

Tabella 3. Contenuto medio di sali minerali in 100 g di datteri su s.s. [22]

| Minerale | Valore su 100 g |
|-----------------|-----------------|
| Sodio | 5 mg |
| Potassio | 750 mg |
| Ferro | 2,70 mg |
| Calcio | 69 mg |
| Fosforo | 65 mg |
| Magnesio | 43 mg |

Dunque, i frutti della *Phoenix dactylifera* risultano essere un ottimo alleato nel raggiungimento del fabbisogno giornaliero di magnesio e potassio, in particolare per gli sportivi.

1.3.5 Composti antiossidanti

Il dattero, più precisamente la sua polpa, è particolarmente ricco di composti antiossidanti quali composti fenolici, tra cui antociani, procianidine e flavonoidi, steroli e carotenoidi.

Questi componenti cambiano di concentrazione a seconda del periodo di raccolta e del grado di maturazione, della posizione geografica e dalle caratteristiche del terreno, oltre che in funzione delle diverse varietà di dattero. Non sono solo sostanze che conferiscono al frutto proprietà benefiche, ma contribuiscono anche alla determinazione delle sue proprietà organolettiche [29].

Gli antiossidanti sono molecole note per esplicitare effetti benefici al nostro organismo poiché sono in grado di contrastare l'azione dei radicali liberi proteggendo l'organismo dalla loro azione negativa.

In linea generale, all'interno di questa categoria, che caratterizza il mondo vegetale, rientrano molteplici sostanze ognuna delle quali aventi effetti diversi, ma accomunate dall'essere molecole derivanti dal metabolismo secondario delle piante. I metaboliti secondari svolgono diverse funzioni nella pianta che concorrono al suo adattamento all'ambiente, agendo a difesa e protezione da parassiti, predatori, condizioni climatiche avverse, oppure ancora attrazione di animali impollinatori [30].

Tra gli antiossidanti più noti nei vegetali vanno sicuramente ricordati i composti polifenolici. A livello chimico, i polifenoli sono caratterizzati da uno o più anelli fenolici e a seconda della loro struttura (numero di atomi di carbonio presenti e in che modo i diversi anelli sono legati tra di loro) vengono suddivisi in diverse classi, quali acidi fenolici, flavonoidi, stilbeni e lignani.

Tra i flavonoidi che si riscontrano nei datteri ritroviamo glicosidi di luteolina, quercetina e apigenina [29]. Queste sostanze sono in grado di svolgere un'azione protettiva e preventiva in quanto principalmente contrastano l'azione dei radicali liberi, da qui la loro azione antiossidante. Giocano un ruolo positivo anche sulla microcircolazione, hanno infatti vantaggi sia sul sistema cardiovascolare che pressorio, oltre ad essere dei potenti antiinfiammatori. Nei datteri sono stati riscontrati anche gli antociani, ovvero pigmenti idrosolubili di rilevanza significativa per le loro numerose proprietà, tra cui quella antiossidante. Nel dattero, tali sostanze sono presenti solo nel frutto fresco; in seguito, all'essiccazione il loro contenuto diminuisce notevolmente fino a scomparire. Alcuni studi hanno riportato che il contenuto di antociani nel dattero fresco rientra in un intervallo tra 0,24 e 1,52 mg (espressi come cianidina-3-glucoside equivalenti) su 100g [29].

Il dattero contiene anche acidi fenolici, in particolare acido cumarico, ferulico e sinapico, alcuni derivati dell'acido cinnamico e diversi isomeri dell'acido 5-O-caffeoil shikimico (*Figura 9*) [29].

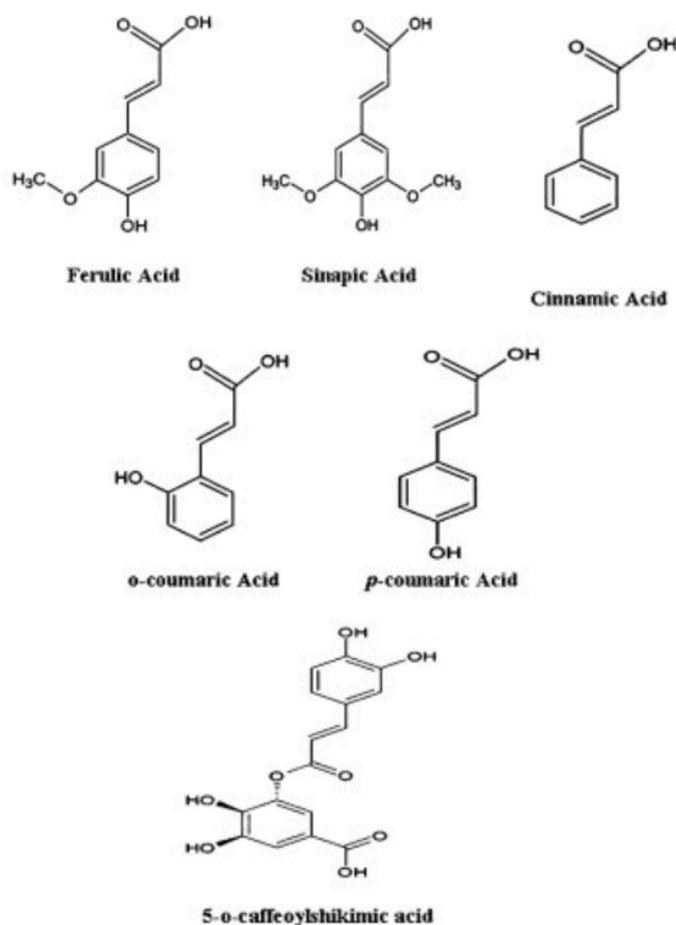


Figura 9. Strutture chimiche dei principali acidi fenolici presenti nel dattero

Diversi studi hanno dimostrato che il contenuto fenolico nei datteri aumenta notevolmente in seguito al processo di essiccazione; questo effetto sembrerebbe dovuto alla degradazione dei tannini in seguito all'aumento delle temperature.

Il dattero risulta essere ricco anche in steroli; in particolare, gli steroli del mondo vegetale assumono il nome di fitosteroli. Sono sostanze che apportano innumerevoli benefici all'organismo umano; ad esempio, proteggono dall'insorgenza di patologie cardiovascolari, che rappresentano una delle principali cause di mortalità nella nostra popolazione. Inoltre, grazie alla loro somiglianza con il colesterolo, sono in grado di ridurre a livello ematico i livelli di colesterolo e, dunque, proteggono anche da eventuali rischi di aterosclerosi [31]. Più nel dettaglio, il dattero risulta essere ricco in campesterolo e stigmasterolo (*Figura 10*).

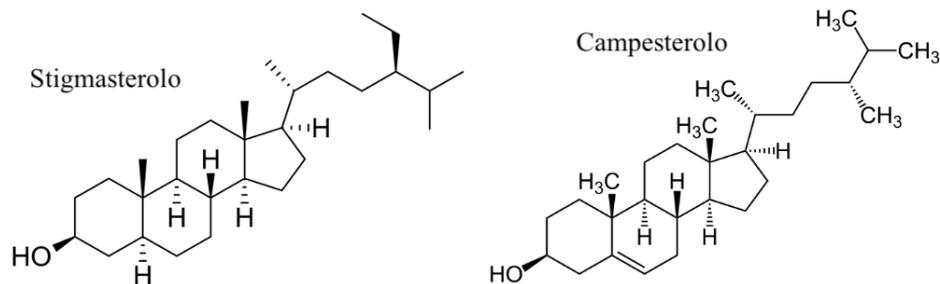


Figura 10. Strutture chimiche dei principali steroli presenti nel dattero

I carotenoidi, infine, sono pigmenti naturali che conferiscono agli alimenti una colorazione caratteristica di colore giallo-arancione e rosso. Inoltre, sono precursori della vitamina A, ciò vuol dire che possono essere convertiti in vitamina A o retinolo attraverso specifici enzimi a livello dell'organismo. In particolare, il dattero risulterebbe ricco di luteina, β -carotene e neoxantina. È stato osservato che i livelli di carotenoidi diminuiscono notevolmente durante il processo di essiccazione al sole, rispetto al contenuto totale presente nel prodotto fresco.

1.4 PRODOTTI DERIVATI DAI DATTERI

Grazie al loro contenuto zuccherino e di micronutrienti, i datteri vengono ad essere impiegati in diverse preparazioni culinarie come sostituto dello zucchero, ma anche in ambito sportivo come energizzanti.

Grazie alle gradevoli proprietà organolettiche, il dattero può essere utilizzato sottoforma di sciroppo nella produzione di prodotti dolci, ad esempio per aromatizzare il latte, favorendo contemporaneamente il consumo di latte anche da parte dei bambini [1].

Lo sciroppo di dattero sta trovando sempre di più impiego anche nella produzione di molti altri prodotti come marmellate, yogurt, prodotti da forno e di pasticceria sempre con lo scopo di migliorare sia le caratteristiche organolettiche che nutritive. Inoltre, essendo particolarmente ricco di fruttosio con proprietà dolcificanti maggiori del saccarosio, il dattero può essere utilizzato in quantità ridotte per dolcificare i prodotti alimentari [32].

Oltre a ciò, gli zuccheri non trovano solo impiego in ambito alimentare, bensì hanno un'estrema importanza anche in ambito farmaceutico. Difatti, a seconda del tipo di forma farmaceutica, gli zuccheri vengono impiegati come eccipienti per conferire proprietà differenti ai medicinali.

Studi recenti hanno mostrato che lo sciroppo di dattero ha proprietà migliori rispetto al saccarosio, nell'andare a mascherare sapori sgradevoli in sciroppi e compresse masticabili ad uso pediatrico [33,34].

1.4.1 Aceto di datteri

I datteri, poiché ricchi di zuccheri, sono una potenziale materia prima impiegabile per ottenere bevande fermentate, tra cui l'aceto. L'aceto di datteri viene prodotto a partire dalla fermentazione alcolica e dalla successiva fermentazione acetica grazie all'ossidazione, da parte dei microrganismi, dell'alcol etilico in acido acetico. I microrganismi in grado di fermentare gli zuccheri naturali del dattero sono i batteri lattici, lieviti e batteri acetici.

È grazie a questa conversione e alla formazione dell'acido acetico che l'aceto, come prodotto, risulta avere numerosi effetti benefici. Infatti, l'acido acetico sembrerebbe essere in grado di ridurre i livelli del substrato necessario per la produzione di colesterolo. Tali effetti risultano essere potenziati associando l'aceto di datteri con prodotti a base di aglio, indicato per abbassare il contenuto totale di colesterolo [35]. Apporta inoltre diversi benefici, tra cui proprietà antibatteriche, antidiabetiche e di riduzione della pressione sanguigna.

Recentemente è stato condotto uno studio, relativo agli effetti dell'aceto di datteri, su un gruppo di adulti affetti da una lieve ipercolesterolemia. In modo casuale ai candidati è stato richiesto di assumere 30 mL di aceto di datteri o di placebo all'interno della loro dieta quotidiana e al termine di quattro settimane sono stati valutati gli andamenti di determinati parametri, tra cui lipidi plasmatici, biomarcatori infiammatori, carotenoidi, potassio, urea e carnitina. Grazie alla valutazione di questi biomarcatori, si è evidenziato che i soggetti che hanno assunto aceto di datteri nell'arco delle quattro settimane hanno avuto dei miglioramenti [36].

Dunque, l'aceto di datteri ha mostrato risultati positivi sulla modulazione dei parametri lipidici, in particolare nei soggetti affetti da una lieve condizione di ipercolesterolemia. Sulla base di questi studi, le bevande fermentate a base di dattero sono attualmente molto studiate per valutarne gli effetti e il potenziale impiego anche in altri contesti patologici [37].

I datteri, non vengono solamente utilizzati per produrre aceto, ma grazie alla sua composizione chimico-nutrizionale vengono anche trasformati in altri sottoprodotti, tra cui lievito di birra, biocarburanti e alcool.

In particolar modo il bioetanolo risulta essere un combustibile che apporta innumerevoli vantaggi: ha una bassa tossicità, è biodegradabile e non causa problemi ambientali come i classici combustibili. Il bioetanolo (alcol etilico), viene ottenuto a partire dalla fermentazione enzimatica o dall'idrolisi enzimatica di diversi substrati, tra cui i datteri, che presentino come requisito fondamentale l'elevata concentrazione di zucchero [38].

2 SCOPO DELLA TESI

In questo progetto di Tesi sono state analizzate cinque varietà differenti di datteri (*Phoenix dactylifera* L.) originarie dell'Arabia Saudita e reperite *in loco* (*Ajwa*, *Anbar*, *Safawi*, *Sagai*, *Sukari*), in confronto con una varietà tunisina (*Deglet Nour*) utilizzata come riferimento di un prodotto commerciale, essendo stata acquistata in Italia presso la grande distribuzione.

Lo scopo è stato quello di effettuare una caratterizzazione quali-quantitativa della polpa dei frutti per comparare le sei varietà, prendendo in considerazione sia i macronutrienti principali sia la frazione polifenolica antiossidante.

Inizialmente sono state effettuate le analisi più significative per la determinazione della composizione centesimale dei datteri, quindi umidità, ceneri, proteine e fibra dietetica. In particolare, la fibra dietetica è stata analizzata sia nella sua componente solubile che in quella insolubile.

Per completare il profilo centesimale, siccome è noto che nei datteri il contenuto di zuccheri spicca notevolmente rispetto agli altri macronutrienti principali, è stata sfruttata la collaborazione con il laboratorio dell'Università di Vigo (*Facultad de Ciencias-Ingeniería Química, Ourense*) in Spagna, che ha condotto la caratterizzazione della composizione degli zuccheri semplici, fornendo i dati per l'elaborazione finale.

Oltre al profilo nutrizionale, sono state effettuate anche analisi per la caratterizzazione del contenuto di sostanze bioattive, tra cui polifenoli e flavonoidi totali, ed analisi relative all'attività antiossidante. Anche in questo contesto, il laboratorio dell'Università di Vigo ha contribuito a completare il profilo dell'attività antiossidante fornendoci i dati relativi ai saggi FRAP e ABTS^{•+}.

Al termine sono state condotte analisi di tipo statistico al fine di evidenziare eventuali differenze significative tra le varietà di datteri.

3 MATERIALI E METODI

3.1 CAMPIONI ANALIZZATI

Per questo progetto di Tesi sono state analizzate cinque varietà di datteri coltivate in Arabia Saudita ed un campione commerciale dichiarato di origine tunisina (varietà *Deglet Nour*, *Figura 11*) acquistato in un supermercato locale italiano.



Figura 11. Dattero commerciale Deglet Nour

I datteri originari dell'Arabia Saudita, coltivati nella città di Medina, appartengono alle cultivar *Safawi*, *Sukari*, *Ajwa*, *Sagai* e *Anbar* (*Figura 12*).

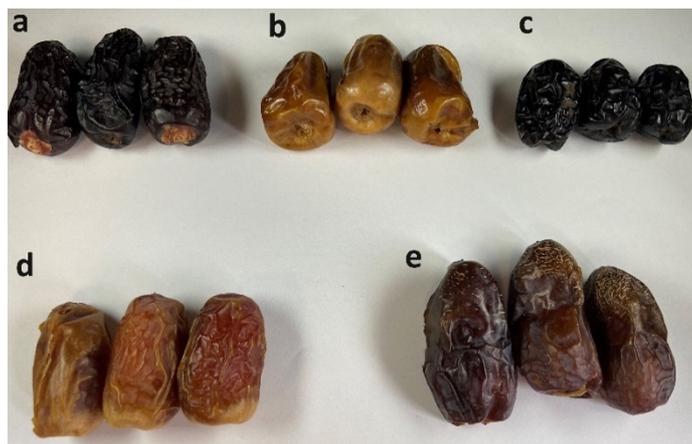


Figura 12. Varietà di datteri provenienti dall'Arabia Saudita. Safawi (a), Sukari (b), Ajwa (c), Sagai (d), Anbar (e)

3.1.1 Preparazione del campione

Inizialmente i datteri sono stati denocciolati con l'aiuto di un coltello, al fine di separare i semi dalla polpa, porzione del frutto su cui sono state svolte le analisi di questo lavoro di tesi. In seguito, la polpa di ogni varietà di frutto è stata sminuzzata in un frullatore di cucina e successivamente posta in un mortaio con azoto liquido allo scopo di rendere la polpa il più fine e omogenea possibile (*Figura 13*).



Figura 13. Raffigurazione del dattero polverizzato all'interno del mortaio in trattamento con azoto liquido

L'azoto liquido, infatti, viene ampiamente sfruttato per la preparazione di campioni alimentari per la sua caratteristica di essere criogenico ed inerte. Dunque, date le caratteristiche del dattero, è stato necessario trattare la materia prima con azoto liquido al fine di renderla il più lavorabile possibile.

3.2 COMPOSIZIONE CENTESIMALE

3.2.1 Determinazione dell'umidità

L'umidità dei campioni è stata valutata con l'utilizzo di una bilancia termogravimetrica (SARTORIUS MC30).

Procedimento:

- Taratura dello strumento: posizionare al centro della bilancia l'idoneo ed erogare qualche goccia di acqua deionizzata. Impostare lo strumento ad una temperatura di 130 °C e aspettare che l'acqua sia evaporata. Terminato il tempo di evaporazione si ottiene un valore percentuale di umidità (in questo caso 100%).

- Analisi del campione: seguire il medesimo procedimento sostituendo l'acqua con circa 1 g di campione; il valore di percentuale visualizzato corrisponde all'umidità e alle eventuali sostanze volatili presenti nel campione.

La percentuale di umidità è determinata secondo la formula:

$$\text{umidità (\%)} = \frac{(\text{peso umido}) - (\text{peso secco})}{\text{peso umido}} * 100$$

L'analisi è stata effettuata in triplicato.

3.2.2 Determinazione delle ceneri

La determinazione delle ceneri permette di ricavare la quota di sali minerali presenti all'interno di un alimento. In seguito al processo di carbonizzazione, il campione necessita di essere calcinato all'interno della muffola ad una temperatura di 525 °C, fino a peso costante. Il peso ottenuto dopo il periodo in muffola coincide con il contenuto di ceneri presenti nel campione.

Procedimento:

- Pesare sulla bilancia analitica (Precisa XB220A) un crogiolo di porcellana a fondo piatto.
- Successivamente pesare esattamente circa 1 g di campione all'interno del crogiolo.
- Con l'aiuto di guanti termoprotettori e pinze di acciaio porre il crogiolo sulla fiamma di un becco di Bunsen e carbonizzare il campione.
- Al termine della carbonizzazione, posizionare attentamente i crogioli all'interno della muffola ad una temperatura di 525 °C ± 25 °C per una notte intera.
- Terminata la calcinazione, raffreddare i crogioli in essiccatore e pesarli.

Per ottenere la percentuale di ceneri presenti nel campione è stata utilizzata la seguente formula:

$$\text{ceneri (\%)} = \frac{(\text{PF} - \text{T})}{\text{Pi}} * 100$$

Dove:

PF = peso crogiolo + ceneri (g)

T = tara crogiolo (g)

Pi = peso iniziale del campione (g).

L'analisi è stata condotta in triplicato.

3.2.3 Determinazione delle proteine totali

La determinazione delle proteine totali, quantificate attraverso la determinazione dell'azoto totale, è stata condotta secondo il metodo di Kieldahl. Questo metodo analitico consta di tre fasi, descritte di seguito:

- Fase di mineralizzazione: ciò che avviene al termine di questo primo stadio è la conversione dell'azoto presente all'interno del campione in solfato di ammonio, per trattamento con acido solforico concentrato ad alte temperature.
- Fase di distillazione: avviene sfruttando un eccesso di idrossido di sodio e correnti di vapore al fine di recuperare l'ammoniaca libera in una soluzione di acido solforico diluito.
- Fase di titolazione: ultima fase dell'analisi in cui viene quantificata l'ammoniaca per retrotitolazione.

Procedimento:

- Preparazione del campione: pesare un quantitativo opportuno di campione (per questa analisi si sono pesati 0,7 g) all'interno di appositi tubi di vetro termoresistenti.
- Inserire in ciascun tubo 3 granelli di pietra pomice e una compressa di catalizzatore contenente 0,4 g di $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ e 3,5 g di K_2SO_4 .
- Procedere con l'erogazione di 8 mL di H_2SO_4 97-98% (p/p) e 2 mL di H_2O_2 30% (p/p).
- Porre i tubi nel mineralizzatore (Digestion System 6, 1007 Digester) ad una temperatura di 420 °C per circa un'ora o fino a completa digestione (**Figura 14**).



Figura 14. Aspetto del campione dopo la fase di mineralizzazione: la colorazione è tendente al verde in assenza di residui neri.

- Terminata la mineralizzazione, spegnere lo strumento e lasciar raffreddare per circa 30 minuti.
- Successivamente aggiungere in ciascun tubo 30 mL di acqua deionizzata e lasciare a riposo per altri 10 minuti. Il campione in questa fase assume una colorazione azzurra (*Figura 15*).

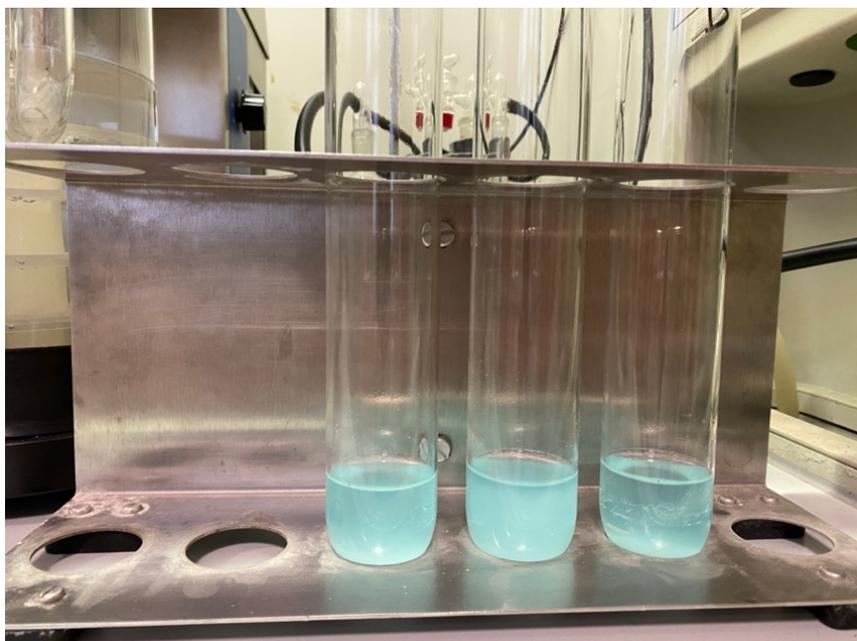


Figura 15. Durante la fase di riposo in seguito all'aggiunta di acqua deionizzata, si osserva una colorazione azzurrina.

- Erogare in ciascun tubo 40 mL di NaOH 40% (p/p) tramite il distillatore (2100 Kjelttec Distillation Unit) e raccogliere il distillato in una beuta in cui sono stati precedentemente aggiunti 25 mL di acido solforico 0,1 N. Il processo di distillazione ha una durata di 6 minuti.
- Retrotitolare l'eccesso di acido solforico presente nella beuta utilizzando come indicatore una miscela di rosso di metile 0,2 g e blu di metilene 0,1 g in 100 mL di metanolo e come titolante NaOH 0,1 N. La titolazione deve essere fatta goccia a goccia fino a quando non si assiste al viraggio di colore da viola ad azzurro tendente al grigio, come raffigurato in **Figura 16**.

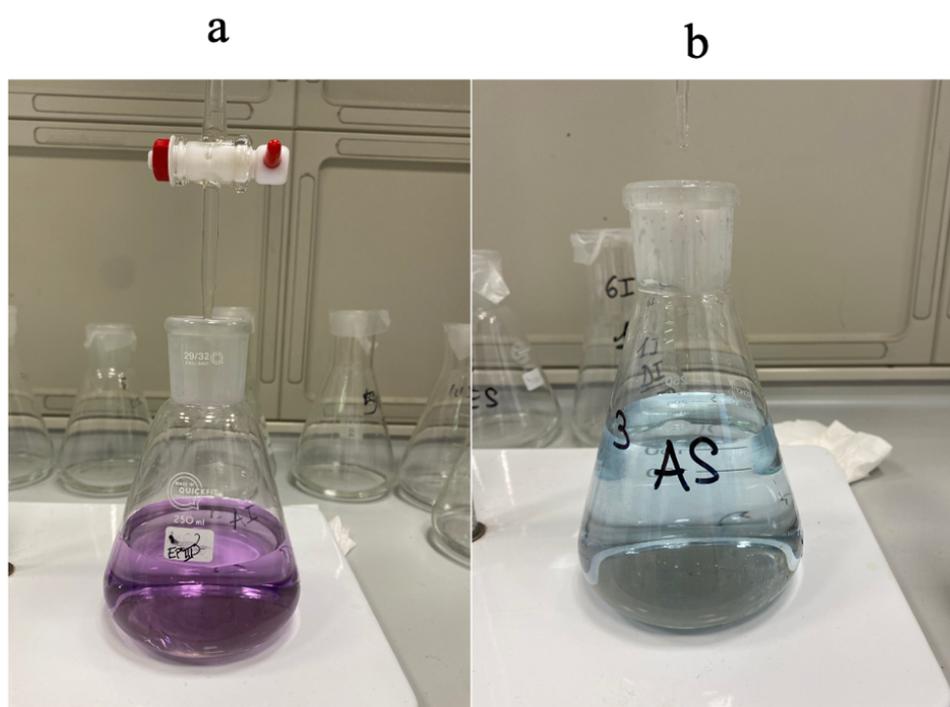


Figura 16. Rappresentazione del campione dopo l'aggiunta dell'indicatore (a) e dopo il viraggio di colore in seguito alla titolazione (b).

Il contenuto di azoto totale, espresso in percentuale, presente nel campione è stato calcolato utilizzando la seguente formula:

$$N_{tot} (\%) = \frac{[(25 \text{ mL} - \text{mL NaOH}) * 14,01 * 0,1]}{\text{peso campione (g)} * 1000} * 100$$

Dove:

25 mL = volume di H₂SO₄ 0,1 N inizialmente presente nella beuta.

14,01 g/mol = peso atomico dell'azoto.

0,1 N = normalità della soluzione titolante di NaOH.

1000 = fattore di conversione per il passaggio da mg a g.

Dall'ottenimento del valore in percentuale del quantitativo di azoto totale (N_{tot} %) è stato ricavato il contenuto proteico, sempre in percentuale, moltiplicando per il fattore di conversione 6,25.

3.2.4 Determinazione della fibra insolubile e solubile

Questa analisi è stata condotta con il metodo enzimatico utilizzando lo strumento Fibertech (FOSS) ed il kit "Total dietary fibre assay" della ditta Megazyme. I diversi enzimi, impiegati nelle diverse fasi del processo, hanno permesso la precipitazione prima della frazione insolubile e successivamente di quella solubile.

Preparazione del campione:

- Pesare in un becker 1 g di campione su bilancia analitica.
- Aggiungere 40 mL di MES/TRIS e omogenizzare con omogeneizzatore Ultra-Turrax® (T 25 basic).
- Effettuata questa procedura per ciascuna varietà, trasferire il campione omogenizzato nelle specifiche fiasche del Fibertech e aggiungere all'interno delle quali è stato aggiunto 100 µL di α-amilasi e successivamente, quindi coprire con un foglio di alluminio.
- Incubare le fiasche per 1 ora a 105 °C in stufa precedentemente preriscaldata.
- Trascorsa l'ora, togliere le fiasche dalla stufa, aggiungere rispettivamente 10 mL di acqua deionizzata e 100 µL di proteasi.
- Ricoprire nuovamente le fiasche con alluminio e incubarle in bagno termostato (FOSS Shaking Water Bath 1024) a 60 °C, precedentemente portato a temperatura, per 30 minuti a una velocità di 4.5.

- Aggiungere 5 mL di HCl 0,561 M e procedere alla misurazione del pH mediante il pHmetro. Regolare il pH con HCl 6 M, eventualmente aggiustando con NaOH 3 M, al fine di raggiungere un valore compreso tra 4,2 e 4,8.
- Aggiungere 200 μ L di α -amiloglucosidasi e porre nuovamente le fiasche nel bagno termostato per ulteriori 30 minuti.
- Nei periodi di attesa, pesare esattamente circa 1 g di celite in un crogiolo e porlo nell'apposito spazio dello strumento Fibertech, quindi impaccare la celite aggiungendo acqua deionizzata.
- Terminati i 30 minuti di digestione con α -amiloglucosidasi, posizionare i crogioli precedentemente impaccati con celite nello spazio specifico sottostante. Agganciare adeguatamente le fiasche, tolte precedentemente dal bagno, avendo cura di ripulire eventuali residui presenti sul tappo e/o sulle pareti. Azionare lo strumento fino a completa filtrazione (*Figura 17*).



Figura 17. Strumentazione Fibertech per la determinazione della fibra dietetica. Le fiasche superiori contengono il campione in fase di filtrazione, mentre le fiasche inferiori saranno impiegate per la raccolta del filtrato contenente la fibra solubile.

- Terminata la filtrazione, spegnere lo strumento e aggiungere in ciascuna fiasca di recupero 200 mL di EtOH 95% (v/v). Lasciare riposare 1 ora fino a precipitazione della fibra solubile (**Figura 18**).



Figura 18. Precipitazione della fibra solubile

- Posizionare nuovamente i crogioli nella parte superiore dello strumento ed effettuare la filtrazione della fibra insolubile, seguita dai lavaggi con EtOH 95%, EtOH 75% e acetone.
- Al termine della filtrazione, porre in stufa a 105 °C per tutta la notte i crogioli, precedentemente siglati con la lettera “I” ad indicare la frazione “insolubile”.
- Durante l’ora di attesa, impaccare nuovamente altri crogioli, precedentemente pesati con celite ed effettuare i lavaggi con acqua deionizzata.
- Trascorsa l’ora, spostare i crogioli nello spazio sottostante, agganciare le fiasche, pulire eventuali residui ed effettuare nuovamente la filtrazione della fibra solubile precipitata.
- Al termine, eseguire i lavaggi con EtOH 95%, EtOH 75% e acetone al fine di rimuovere eventuali impurità dalla fibra solubile (“S”).
- Porre i crogioli “S” in stufa a 105 °C per tutta la notte.
- Il giorno successivo, pesare i crogioli contenenti la fibra solubile e insolubile, e annotare il peso ottenuto (**Figura 19**).



Figura 19. Crogioli contenenti fibra solubile (crogioli più chiari) e insolubile (crogioli più scuri)

- Procedere con la determinazione dell'azoto totale (metodo Kjeldahl) sui residui di fibra solubile e insolubile per la determinazione di eventuali residui azotati, quindi porre negli appositi tubi il contenuto dei crogioli come precedente descritto nel paragrafo 3.2.3.

Al termine della determinazione, per ogni frazione di fibra calcolare il contenuto percentuale utilizzando la seguente formula:

$$fibra (\%) = \frac{(\text{peso estratto residuo} - \text{peso proteine} - \text{bianco})}{\text{peso campione}} * 100$$

Il valore del bianco corrisponde al peso del residuo ottenuto dallo svolgimento dell'analisi in assenza di campione; tale valore è pari a 0,00115.

Sommando le quantità di fibra solubile e insolubile è stato infine determinato il contenuto di fibra dietetica totale.

3.3 CARATTERIZZAZIONE DEGLI ZUCCHERI SEMPLICI

Gli zuccheri semplici rappresentano la frazione predominante nella composizione nutrizionale dei datteri. La caratterizzazione è stata condotta per via cromatografica grazie alla collaborazione del gruppo di ricerca diretto dalla professoressa Beatriz Gullon dell'Università di Vigo (*Facultad de Ciencias-Ingeniería Química, Ourense*) in Spagna. Le analisi sono state svolte dal dott. Yassine Jaouhari, dottorando del Dipartimento di Scienze del Farmaco, che ha svolto all'Università di Vigo parte del suo progetto di dottorato.

3.3.1 Estrazione:

- Pesare in una provetta da 50 mL circa 0,5 g di campione macinato e aggiungere 7 mL di acqua ultrapura.
- Successivamente inserire i campioni in un bagno termostato per 5 ore ad una temperatura di 40 °C, in continua agitazione.
- Terminato il tempo, centrifugare per 10 minuti a 4500 rpm.
- Infine, filtrare il surnatante su filtro a membrana da 0,45 µm.

3.3.2 Analisi cromatografica e quantificazione degli zuccheri semplici

L'analisi degli zuccheri è stata effettuata mediante cromatografia liquida utilizzando un sistema HPLC AGILENT 1200 accoppiato con rivelatore a Indice di Rifrazione (RID). Gli zuccheri quantificati sono stati identificati mediante comparazione dei tempi di ritenzione delle diverse molecole standard (glucosio, fruttosio e saccarosio). Le componenti e le condizioni analitiche impiegate sono le seguenti:

- Colonna CARBOSep CHO-782 Pb (Transgenomic, Inc., Omaha, NE, USA)
- Fase mobile: acqua ultrapura (condizione isocratica)
- Flusso: 0,6 mL/min
- Volume iniettato: 5 µL
- Temperatura: 40 °C
- Durata della corsa cromatografica: 30 minuti.

3.4 CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE POLIFENOLICA

3.4.1 Estrazione

L'estrazione della componente polifenolica è stata inizialmente condotta applicando il metodo estrattivo descritto da Bahiani et al (2022) [39].

Successivamente, l'estratto liquido ottenuto è stato purificato mediante SPE (*solid-phase extraction*) al fine di eliminare la componente zuccherina che potrebbe dare interferenze nei successivi saggi analitici [34].

Procedimento:

- In una provetta da 15 mL pesare esattamente circa 1 g di campione e aggiungere 10 mL di soluzione metanolo/acetone/ acqua in rapporto 7:7:6 (v/v).
- Passare al vortex per omogenizzare e porre in bagno a ultrasuoni (Branson 1510) per 30 minuti.
- Al termine del tempo, mettere le provette su piastra basculante per altri 30 minuti e successivamente separare l'estratto (surnatante) centrifugando per 15 minuti a 5000 rpm alla temperatura di 4 °C.
- Evaporare il solvente mediante l'utilizzo di un evaporatore rotante (Rotavapor BUCHI R-210).
- Riprendere l'estratto concentrato con 3 mL di HCl 0,01 N.

3.4.1.1 Purificazione mediante SPE

L'estratto ottenuto è stato sottoposto a purificazione attraverso SPE per la rimozione degli zuccheri.

- Il primo step del metodo prevede l'attivazione del supporto solido (Bond Elut Plexa PCX, 500 mg, 6 mL), inserendo in ciascuna colonnina 5 mL di metanolo e successivamente 5 mL di acqua deionizzata. Questa fase del processo deve essere condotta senza portare a secco il supporto solido.
- In seguito all'attivazione, caricare il campione facendolo scaricare lentamente (**Figura 20**).

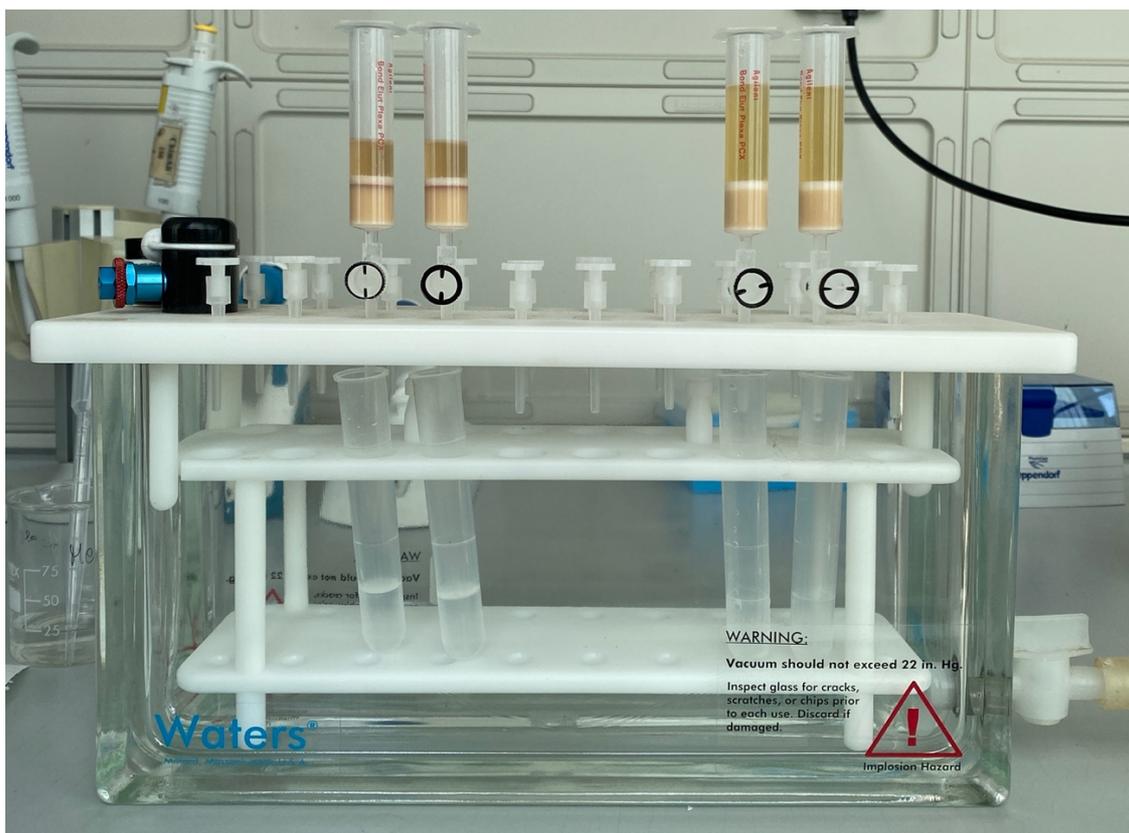


Figura 20. Processo di eluizione del campione attraverso SPE

- Procedere con l'eluizione degli zuccheri, utilizzando 5 mL di HCl 0,01 N e 5 mL di acqua deionizzata, portando a secco le colonnine.
- Lo step successivo prevede l'eluizione dei polifenoli tramite l'utilizzo di 15 mL di metanolo.
- L'eluato ricco di polifenoli è stato portato a secco tramite Rotavapor. L'estratto secco è stato ripreso con 1 mL di metanolo.
- Il campione è stato conservato in freezer a -20 °C.

3.4.2 Determinazione dei polifenoli totali

L'analisi per la determinazione del contenuto in polifenoli totali è stata eseguita utilizzando il saggio di Folin-Ciocalteu. È una metodologia colorimetrica in cui viene utilizzato un reattivo ossidante costituito dall'acido fosfotungstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e dall'acido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Questa miscela, in ambiente alcalino (ottenuto con Na_2CO_3 5% p/v), reagisce con i gruppi riducenti dei composti polifenolici, ossidandoli. Nel momento in cui si verifica

questa reazione di ossidoriduzione, si assiste a un viraggio della colorazione del reattivo da giallo a blu.

Al termine dell'analisi, eseguita in triplicato, i valori spettrofotometrici sono stati interpolati su una retta di taratura e i risultati finali sono stati espressi come equivalenti di catechina.

Preparazione del bianco: la cuvetta di bianco prevede l'aggiunta di 50 μL di reattivo di Folin-Ciocalteu, 175 μL di Na_2CO_3 al 5% p/v e acqua distillata fino ad un volume totale di 1450 μL .

Preparazione della soluzione standard di catechina (1 mg/mL): in una provetta da 2 mL pesare esattamente 1 g di catechina e aggiungere lo stesso valore in volume di MeOH ottenendo una concentrazione finale di 1 mg/mL.

Preparazione retta di taratura: per la preparazione della retta di taratura, si utilizza la soluzione standard di catechina precedentemente realizzata.

- Ciascuna cuvetta viene allestita con un quantitativo di volume crescente di standard, rispettivamente 5 μL , 10 μL , 15 μL , 20 μL , 25 μL , 30 μL .
- Successivamente aggiungere 50 μL di reattivo di Folin-Ciocalteu e 175 μL di Na_2CO_3 (5% p/v).
- A seconda del quantitativo di soluzione di catechina, ciascuna cuvetta deve essere portata a un volume finale pari a 1450 μL con acqua distillata.

Le cuvette devono essere lasciate a riposo per 1 ora al buio in modo tale che la reazione di ossidazione possa avvenire.

Terminata l'ora, si procede alla lettura dell'assorbanza alla lunghezza d'onda di 760 nm, (spettrofotometro SHIMADZU UV-1900), azzerando lo strumento con il bianco.

Preparazione del campione: l'allestimento delle cuvette di campione è la medesima della retta di taratura, con la differenza dell'aggiunta di un quantitativo di volume idoneo di campione, valutato pari a 50 μL .

3.4.3 Determinazione dei flavonoidi totali

Per la determinazione dei flavonoidi totali è stato usato un metodo colorimetrico con cloruro di alluminio, il quale sviluppa una colorazione rossa in seguito alla formazione di un complesso con i flavonoidi presenti nel campione (*Figura 21*).

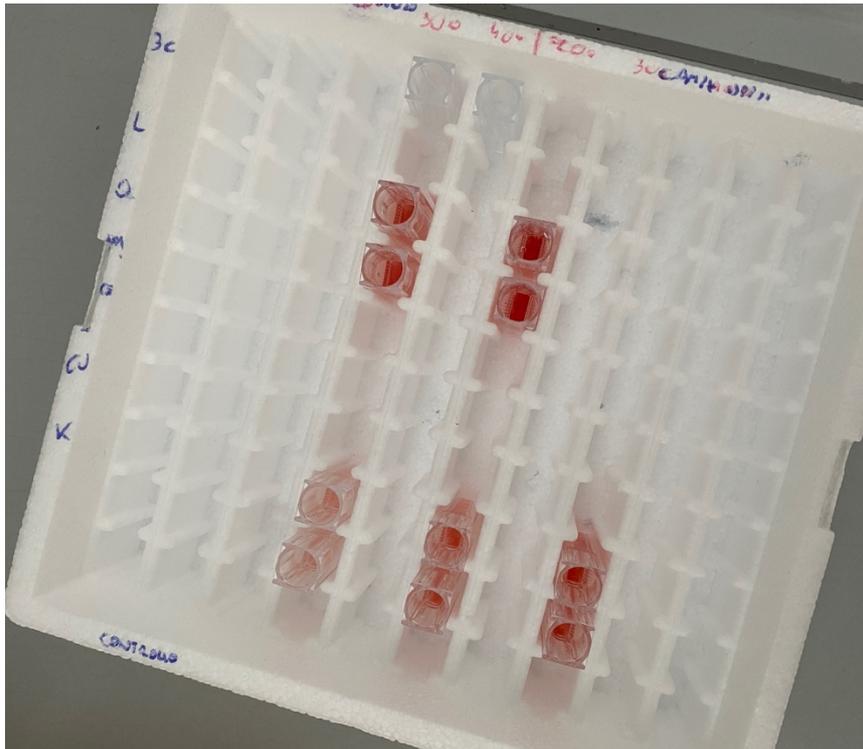


Figura 21. Cuvette durante l'analisi dei flavonoidi totali

Preparazione del campione: in ciascuna cuvetta aggiungere un volume opportuno di campione (*Tabella 4*) e diluire con MeOH al fine di raggiungere un volume finale di 300 μL .

Tabella 4. Volume di campione utilizzato per la determinazione dei flavonoidi totali.

| Varietà | μL campione |
|-------------|------------------------|
| Aiwa | 70 μL |
| Safawi | 80 μL |
| Anbar | 70 μL |
| Sagai | 80 μL |
| Sukari | 80 μL |
| Commerciale | 70 μL |

Aggiungere in successione, nel seguente ordine:

- 300 μL NaNO_2 lasciando reagire per 5 minuti al buio
- 300 μL AlCl_3 lasciando reagire per 6 minuti al buio
- 300 μL NaOH 0,8 M miscelando la soluzione e procedere con la lettura allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda pari a 510 nm.

Preparazione bianco: per il bianco si preparano due cuvette identiche contenenti gli stessi reattivi elencati precedentemente per la preparazione del campione senza aggiungere i volumi relativi al campione. Dunque, in successione e rispettando i tempi di reazione, aggiungere:

- 300 μL MeOH
- 300 μL NaNO_2
- 300 μL AlCl_3
- 300 μL NaOH 0,8 M

Preparazione della soluzione standard di catechina (1 mg/mL): in una provetta pesare esattamente circa 0,25 g di catechina alla bilancia analitica, alla quale devono essere aggiunti un quantitativo di MeOH ottenendo una concentrazione finale di 0,25 mg/mL.

Preparazione retta di taratura: per la preparazione della retta di taratura, si utilizza la soluzione standard di catechina precedentemente realizzata.

- Ciascuna cuvetta viene allestita con un quantitativo di volume crescente di standard rispettivamente 25 μL , 50 μL , 75 μL , 110 μL , 125 μL .
- Aggiungere un volume opportuno di metanolo per arrivare a un volume finale di 300 μL .
- Successivamente, aggiungere nel seguente ordine: 300 μL NaNO_2 lasciando reagire per 5 minuti, 300 μL di AlCl_3 lasciando reagire 6 minuti e infine aggiungere 300 μL di NaOH 0,8 M miscelando la soluzione.
- Procedere alla lettura allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 510 nm.

3.4.4 Attività antiossidante

L'attività antiossidante è stata valutata attraverso diverse analisi spettrofotometriche. Il saggio del radicale DPPH, quello del radical catione ABTS e il saggio FRAP.

In particolare, i saggi del DPPH• e dell'ABTS•+ permettono di determinare l'azione scavenger nei confronti di radicali liberi. Il saggio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), si basa invece sulla reazione di riduzione del Fe³⁺, che in presenza di un antiossidante genera la forma ridotta Fe²⁺.

I saggi FRAP e ABTS•+ sono stati condotti in collaborazione con il gruppo di ricerca diretto dalla professoressa Beatriz Gullon dell'Università di Vigo (*Facultad de Ciencias-Ingeniería Química, Ourense*) in Spagna. Le analisi sono state svolte dal dott. Yassine Jaouhari, dottorando del Dipartimento di Scienze del Farmaco, che ha svolto all'Università di Vigo parte del suo progetto di dottorato.

3.4.4.1 DPPH•

Per la quantificazione dell'attività antiossidante è stato impiegato il metodo del radicale DPPH (radicale 2,2-difenil-1-picrilidrazilico), una sostanza di colore viola. Durante l'analisi ciò che si verifica è il trasferimento di un atomo di idrogeno dal campione al radicale ed è grazie alla presenza di composti antiossidanti che avviene la neutralizzazione del radicale; in seguito, a ciò si assiste a una decolorazione della soluzione da viola a giallo.

L'analisi è stata effettuata in triplicato.

Preparazione della soluzione di DPPH•: alla bilancia analitica (Precisa XR 205SM-DR), pesare esattamente 2 mg di DPPH• in un matraccio da 50 mL e portare a volume con metanolo.

Per valutare la funzionalità del controllo porre in cuvetta 700 µL di metanolo e 700 µL della soluzione di DPPH• e misurare l'assorbanza a 515 nm; l'assorbanza deve rientrare in un range di valori compreso tra 0,460 e 0,540. Dunque, se il valore di assorbanza è troppo elevato diluire ulteriormente la soluzione di DPPH• con metanolo al fine di ottenere l'assorbanza corretta.

La soluzione deve essere conservata in freezer al riparo dalla luce.

Preparazione del campione: diluire opportunamente il campione con MeOH; in particolare, per ogni estratto prelevare l'opportuno volume (*Tabella 5*) e portare a un volume finale di 900 µL.

Tabella 5. Volume di campione, relativo ad ogni varietà, utilizzato nell'analisi

| Varietà | μL campione |
|-------------|-------------|
| Ajwa | 20 μL |
| Safawi | 25 μL |
| Anbar | 40 μL |
| Sagai | 15 μL |
| Sukari | 30 μL |
| Commerciale | 10 μL |

Procedura:

- Allestire le cuvette prelevando 700 μL di DPPH• e aggiungere 700 μL di campione diluito
- Preparare il controllo prelevando 700 μL di DPPH• e aggiungere 700 μL di MeOH
- Lasciare riposare le cuvette al buio per 30 minuti.
- Trascorso il tempo, si procede alla lettura dell'assorbanza mediante spettrofotometro (SHIMADZU UV-1900) alla lunghezza d'onda di 515 nm.

Per ogni campione è stata determinata la percentuale di inibizione del radicale, seguendo la seguente formula:

$$inibizione (\%) = \frac{(\text{Abs controllo} - \text{Abs campione})}{\text{Abs controllo}} * 100$$

I risultati sono stati espressi in mg di Trolox equivalenti (TE), analogo idrosolubile della vitamina E, per interpolazione su una retta di taratura in cui la quantità di Trolox è stata messa in relazione alla percentuale di inibizione del radicale.

3.4.4.2 FRAP

Il saggio FRAP permette di valutare la capacità antiossidante attraverso la reazione di riduzione dello ione ferrico (Fe^{3+}) a ione ferroso (Fe^{2+}) in ambiente acido.

Preparazione dei reattivi:

- Tampone acetato 3 mM (500 mL, pH 3.6): la soluzione tampone si prepara miscelando 463 mL di acido acetico (0,6 M) e 37 mL di acetato di sodio (0,6 M).
- Soluzione di 2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina (TPTZ) 10 mM: solubilizzare 0,03124 g di TPTZ in 10 mL di acqua distillata e 35,2 μL di HCl 37%.
- Soluzione di $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM: pesare 0,05 g di cloruro ferrico e solubilizzarli in 10 mL di acqua distillata
- Reattivo FRAP: il reattivo per il saggio spettrofotometrico si prepara unendo il tampone acetato, la soluzione TPTZ e la soluzione di $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in proporzione 10:1:1.

Procedura:

Diluire opportunamente gli estratti polifenolici con etanolo in una provetta Eppendorf (in particolare è stata condotta una diluizione 1:10 fino a raggiungere un volume finale di 1 mL), quindi prelevare 100 μL di estratto diluito e porli in una provetta di vetro. Aggiungere 3 mL di reattivo FRAP e miscelare bene con l'aiuto del vortex. Incubare i campioni al buio per 6 minuti e leggere l'assorbanza in una cuvetta di vetro alla lunghezza d'onda di 593 nm.

Lo strumento è stato azzerato utilizzando etanolo.

Preparazione retta di taratura:

In un matraccio tarato da 50 mL solubilizzare 0,0250 g di Trolox con metanolo, ottenendo quindi una soluzione madre a concentrazione 0,5 mg/mL. Si prelevano aliquote crescenti di soluzione madre (da 100 a 900 μL) e si diluisce con etanolo, in provette Eppendorf, fino al raggiungimento di un volume finale di 1 mL. Le soluzioni diluite, che rappresentano i punti della retta, sono state poi analizzate come spiegato precedentemente.

L'attività antiossidante è stata infine espressa come mg di Trolox equivalenti (TE) per grammo di sostanza secca attraverso interpolazione sulla retta di taratura.

3.4.4.3 ABTS^{•+}

Il saggio dell'ABTS^{•+} consente di determinare il potere antiossidante di diverse matrici attraverso la reazione fra il radical catione e il campione da analizzare.

Preparazione dei reattivi:

Reattivo ABTS^{•+}: pesare 0,192 g acido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-solfonico) (ABTS) e 0,0331 g di persolfato di potassio. Solubilizzare mediante agitazione costante e lasciar reagire per 16 ore con 50 mL di acqua distillata. Diluire la soluzione ottenuta e leggere l'assorbanza a 734 nm in una cuvetta di vetro. Controllare che la soluzione presenti un valore di assorbanza compreso nel range 0,700-0,740. Se necessario diluire ulteriormente con acqua al fine di ottenere l'assorbanza corretta.

Procedura:

Diluire opportunatamente gli estratti polifenolici con etanolo in una provetta Eppendorf (in particolare è stata condotta una diluizione 1:10 fino a raggiungere un volume finale di 1 mL), quindi prelevare 30 µL di estratto diluito e porli in una provetta di vetro. Aggiungere 3 mL di reattivo ABTS^{•+} e miscelare bene con l'aiuto del vortex. Incubare i campioni al buio per 6 minuti e leggere l'assorbanza in una cuvetta di vetro alla lunghezza d'onda di 734 nm.

L'azzeramento dello strumento è stato eseguito misurando l'assorbanza dell'acqua distillata.

Preparazione retta di taratura:

Preparare la soluzione madre in un matraccio tarato da 50 mL solubilizzando 0,0250 g di Trolox in metanolo al fine di ottenere una concentrazione finale pari a 0,50 mg/mL. Si prelevano aliquote crescenti di soluzione madre (da 100 a 900 µL) e si diluisce con etanolo, in provette Eppendorf, fino al raggiungimento di un volume finale di 1 mL. Le soluzioni diluite che rappresentano i punti della retta sono state poi analizzate come spiegato precedentemente.

L'attività antiossidante è stata infine espressa come mg di Trolox equivalenti (TE) per grammo di sostanza secca attraverso interpolazione con la retta di taratura del Trolox.

3.5 ANALISI STATISTICA

I risultati delle diverse analisi sono stati espressi come media \pm deviazione standard (DS) di due determinazioni indipendenti per quanto riguarda l'analisi relativa alla fibra e proteine totali e tre determinazioni per tutte le altre analisi.

Al fine di evidenziare eventuali differenze significative tra le varietà di datteri, i dati sono stati analizzati mediante analisi della varianza (ANOVA) e successivamente test di Tukey (*Honest Significant Difference test*). È stata effettuata, inoltre, l'analisi di correlazione di Pearson tra i risultati ottenuti per la caratterizzazione della componente polifenolica e la relativa attività antiossidante. Infine, tutti i dati ottenuti sono stati analizzati mediante analisi delle componenti principali (PCA, *Principal Component Analysis*). Per tutte le analisi la significatività è stata posta a valori di $p < 0,05$.

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

In questo progetto di Tesi sono state analizzate sei varietà di datteri, cinque provenienti dall'Arabia Saudita (*Ajwa*, *Anbar*, *Safawi*, *Sagai*, *Sukari*) e una acquistata in Italia presso la grande distribuzione, dichiarata di origine tunisina (*Deglet Nour*). I campioni sono stati caratterizzati in primo luogo per le loro caratteristiche morfologiche, successivamente è stata determinata la composizione centesimale e quantificato il contenuto di composti polifenolici, nonché le loro proprietà antiossidanti. Nel dettaglio, il contenuto di umidità, ceneri, proteine, fibra dietetica, polifenoli e flavonoidi totali, e l'attività antiossidante determinata con il metodo del DPPH•, sono stati determinati presso il laboratorio di Chimica degli Alimenti del Dipartimento di Scienze del Farmaco (Novara); le analisi relative alla composizione degli zuccheri semplici e i saggi FRAP e ABTS^{•+} sono invece state condotte presso l'Università di Vigo (*Facultad de Ciencias-Ingeniería Química, Ourense*) in Spagna, che ha fornito i risultati per ottenere un profilo di caratterizzazione completo.

4.1 CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE

Per ogni varietà sono stati selezionati in maniera casuale tre datteri, i quali sono stati misurati e pesati per ottenere un profilo di caratterizzazione tra le diverse varietà in termini di dimensioni, diametro e lunghezza (**Tabella 6**).

Tabella 6. Caratteristiche morfologiche delle diverse varietà di datteri: peso (espresso in grammi), diametro e lunghezza (espressi in millimetri)

| Varietà | Peso | Diametro | Lunghezza |
|--------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Ajwa | 8,5 ± 0,7 ^c | 20,5 ± 0,5 ^b | 32,7 ± 2,0 ^c |
| Safawi | 11,4 ± 0,9 ^{ab} | 20,6 ± 1,5 ^b | 50,0 ± 1,7 ^a |
| Anbar | 12,7 ± 0,7 ^a | 22,0 ± 2,0 ^{ab} | 43,5 ± 1,4 ^b |
| Sagai | 11,3 ± 1,1 ^{ab} | 21,6 ± 1,5 ^{ab} | 40,5 ± 1,3 ^b |
| Sukari | 12,2 ± 1,5 ^a | 26,2 ± 2,9 ^a | 35,6 ± 1,2 ^c |
| Commerciale | 9,4 ± 0,6 ^{bc} | 12,6 ± 0,6 ^c | 33,6 ± 0,6 ^c |

Il peso medio delle diverse varietà analizzate è circa di 11 g. Le varietà caratterizzate dai frutti più grandi sono *Anbar* e *Sukari*, con un peso rispettivamente di 12,7 g e 12,2 g. In particolare, queste sono anche le varietà con valori di diametro tra i più elevati; il dattero che riporta il valore di diametro maggiore è la varietà *Sukari*, con un valore pari a 26,2 mm. Il dattero *Ajwa* è quello con il peso minore, pari a 8,5 g, associato anche al valore più basso di lunghezza, insieme al dattero commerciale. Il campione commerciale tunisino (varietà *Deglet Nour*) presenta anche il valore più basso di diametro (12,6 mm), mentre la varietà *Ajwa* ha un diametro significativamente più elevato (20,5 mm), pur mostrando similitudini per le altre caratteristiche.

La **Tabella 7** riporta i valori relativi al rapporto tra lunghezza e diametro di ciascuna varietà presa in esame.

Tabella 7. Rapporto lunghezza/diametro relativo alle varietà analizzate

| Varietà | Rapporto lunghezza/diametro |
|--------------------|------------------------------------|
| Ajwa | 1,59 |
| Safawi | 2,41 |
| Anbar | 1,97 |
| Sagai | 1,86 |
| Sukari | 1,36 |
| Commerciale | 2,66 |

Considerando il rapporto tra la variabile “lunghezza” e la variabile “diametro” è possibile definire in maniera approssimativa la forma di ciascuna varietà. Dunque, più i valori sono alti, più la forma del dattero risulta essere allungata.

Ciò che si può osservare è che le varietà *Sukari* e *Ajwa* risultano avere un rapporto lunghezza/diametro rispettivamente pari a 1,36 e 1,59. Considerando infatti la **Figura 12** riportata al paragrafo 3.1, si può notare come queste due varietà presentino una forma meno allungata rispetto alle altre cultivar. Il dattero con il valore di questo rapporto più alto è quello commerciale, quindi *Deglet Nour* è la varietà con la forma più oblunga (**Figura 11**), seguita dalla varietà *Safawi*.

4.2 COMPOSIZIONE CENTESIMALE

Per la determinazione della composizione centesimale sono state prese in considerazione umidità, ceneri, proteine totali, fibra dietetica e zuccheri. In questo lavoro di tesi non sono stati presi in considerazione i lipidi, poiché è noto che nei datteri la componente lipidica è limitata e poco caratteristica; il contenuto lipidico medio dei datteri (polpa), secondo i dati presenti in letteratura, si attesta nel range 0,1-1,4 g/100 g. Diversi studi hanno evidenziato che i semi del dattero, rispetto alla polpa stessa, hanno un quantitativo maggiore di lipidi e di proteine, e sono anche più ricchi in fibra alimentare [29].

4.2.1 Umidità, ceneri e proteine

In **Tabella 8** sono riportati i valori ottenuti dalla quantificazione di umidità, proteine e ceneri.

Tabella 8. Dati riferiti alla composizione centesimale espressi come media \pm deviazione standard. Per ogni colonna, lettere diverse indicano differenze significative tra le varietà ($p < 0,05$).

| Varietà | Umidità | Ceneri | Proteine |
|-------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Ajwa | 13,48 \pm 0,29 ^{ab} | 2,82 \pm 0,09 ^a | 3,24 \pm 0,23 |
| Anbar | 13,40 \pm 0,68 ^{ab} | 2,19 \pm 0,07 ^b | 2,58 \pm 0,11 |
| Safawi | 8,81 \pm 0,65 ^c | 1,45 \pm 0,09 ^c | 3,12 \pm 0,09 |
| Sagai | 12,06 \pm 0,98 ^b | 2,02 \pm 0,06 ^b | 2,83 \pm 0,10 |
| Sokari | 13,19 \pm 0,87 ^{ab} | 2,20 \pm 0,20 ^b | 2,69 \pm 0,09 |
| Commerciale | 14,71 \pm 0,65 ^a | 2,39 \pm 0,28 ^{ab} | 2,42 \pm 0,16 |

La quantificazione del contenuto di umidità è stata rilevante sia per definire la composizione dei datteri sia per esprimere i successivi risultati di caratterizzazione rispetto alla sostanza secca (s.s.).

Come mostrato in **Figura 22**, le diverse varietà analizzate hanno evidenziato valori variabili nel range 14,7 - 8,8%, confermando dati presenti in letteratura, secondo i quali il contenuto di

acqua presente nei datteri è pari a circa 13,8% [41]. Tali valori sono conformi con il processo di maturazione, ma soprattutto con quello di essiccazione attuato per prolungare la conservazione del prodotto finale.

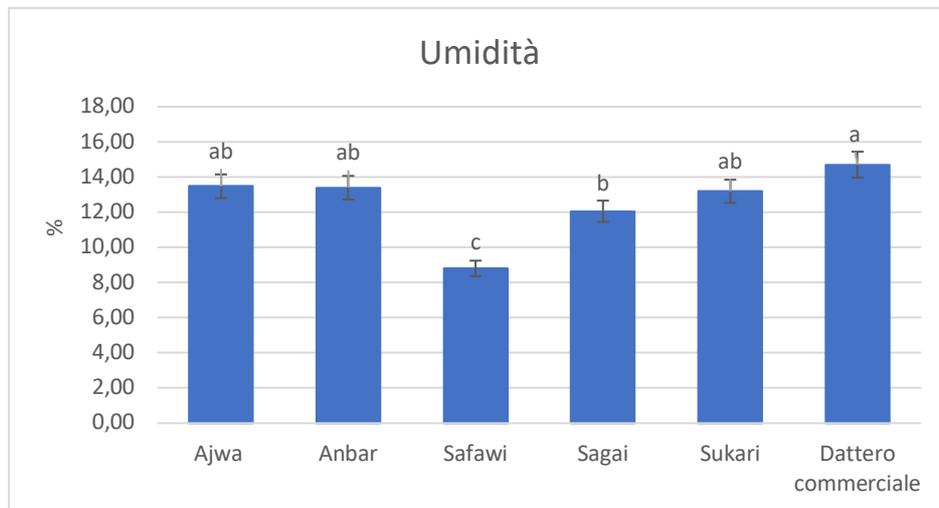


Figura 22. Rappresentazione grafica del contenuto di umidità nelle diverse varietà di datteri, espressa in percentuale come media \pm deviazione standard; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

Più nel dettaglio, si può evidenziare come il campione commerciale (*Deglet Nour*) sia quello con il maggior contenuto di umidità, pari a 14,72%, seguito da *Aiwa*, *Anbar* e *Sukari*, mentre la varietà *Safawi* è quella caratterizzata dal minor contenuto (8,81%).

La valutazione del contenuto di ceneri di un alimento, invece, risulta fondamentale perché rappresenta il suo contenuto di sali minerali. Il contenuto di ceneri è stato ottenuto attraverso combustione e incenerimento in muffola.

I risultati dell'analisi, espressi in percentuale su sostanza secca e riportati come media \pm deviazione standard, sono rappresentati in **Figura 23**.

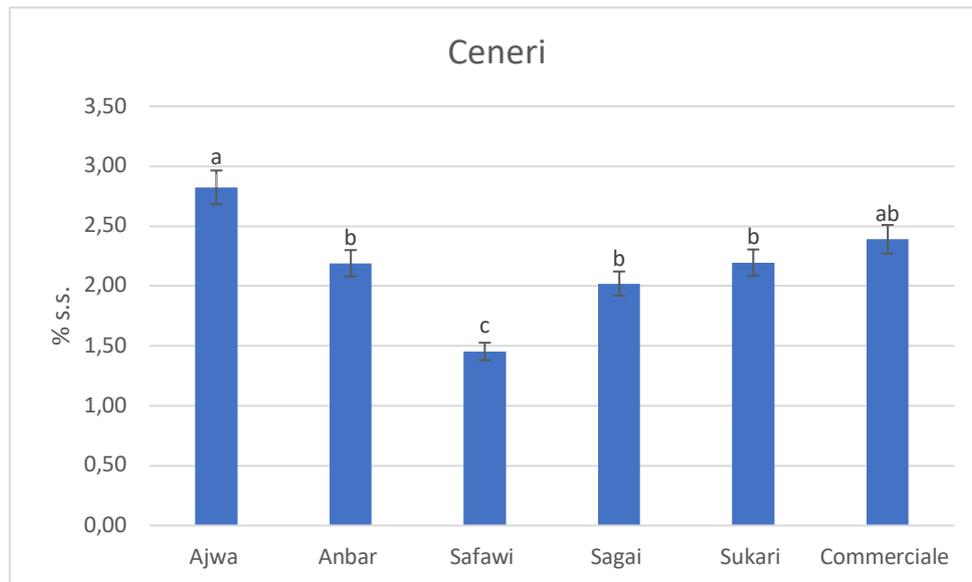


Figura 23. Rappresentazione grafica del contenuto di ceneri nelle diverse varietà di datteri, espresso in percentuale su s.s. come media \pm deviazione standard; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

Il contenuto di ceneri varia in modo significativo a seconda della varietà. Il campione con la percentuale maggiore di ceneri è la varietà *Ajwa* con un valore percentuale pari a 2,82%, mentre la varietà con il quantitativo più basso è la varietà *Safawi* con un valore di 1,45%. Le altre varietà hanno un contenuto di ceneri mediamente pari a 2,2%.

I valori ottenuti sono in linea con quanto riportato in letteratura, secondo cui il contenuto di ceneri dei datteri provenienti dall'Arabia Saudita varia da 1,68-3,94% [42].

Il contenuto proteico è stato calcolato attraverso la quantificazione dell'azoto totale utilizzando il metodo Kjeldahl; i risultati sono stati espressi come percentuale di proteine totali utilizzando il fattore di conversione generale 6,25.

Il grafico di **Figura 24** riporta, per ciascuna varietà, i risultati espressi come media \pm deviazione standard.

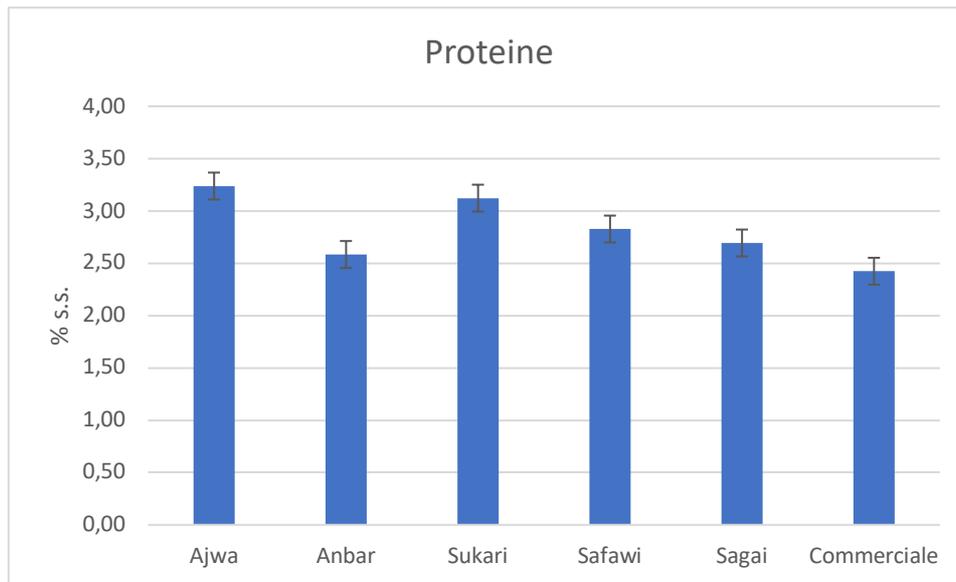


Figura 24. Rappresentazione grafica delle proteine totali nelle diverse varietà di datteri, espresso in percentuale su s.s. come media \pm deviazione standard; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. L'assenza delle lettere sopra le barre indica che i risultati non sono statisticamente differenti.

Osservando il grafico di **Figura 24** si può notare che la varietà *Ajwa* possiede il contenuto proteico più elevato, pari a 3,24%, mentre *Anbar* è caratterizzata dal contenuto più basso, con un valore di 2,58%. Nonostante ciò, dall'analisi statistica è emerso che i valori ottenuti per le diverse varietà sono tra di loro equiparabili; dunque, non si osservano differenze significative nel contenuto proteico. Considerando le sei varietà analizzate, mediamente presentano un contenuto proteico del 2,81%. Questo valore ottenuto conferma quanto riportato in letteratura, in quanto il contenuto medio di proteine nei datteri provenienti dall'Arabia Saudita è compreso in un intervallo tra 1,72% e 4,73% [42].

4.2.2 Fibra dietetica

La fibra dietetica è stata quantificata sia in termini di frazione insolubile che di frazione solubile, ricavando complessivamente il contenuto di fibra dietetica totale; ciò ha permesso di ottenere un profilo di composizione completo.

I risultati sono riportati in **Tabella 9** ed espressi come media \pm deviazione standard del contenuto di fibra insolubile e solubile ottenuti attraverso il saggio gravimetrico/enzimatico; il contenuto di fibra totale è stato ricavato dalla somma delle due frazioni.

Tabella 9. Dati riferiti alla composizione del contenuto di fibra insolubile, solubile e totale espresse come media \pm deviazione standard. Lettere diverse rappresentano differenze significative tra i campioni ($p < 0,05$).

| Varietà | Fibra insolubile | Fibra solubile | Fibra totale |
|--------------------|------------------|-----------------|--|
| Ajwa | 7,12 \pm 0,80 | 1,14 \pm 0,21 | 8,26 \pm 0,59^{ab} |
| Anbar | 7,49 \pm 0,92 | 0,56 \pm 0,10 | 8,05 \pm 0,82^{ab} |
| Safawi | 6,09 \pm 0,21 | 0,51 \pm 0,05 | 6,61 \pm 0,26^b |
| Sagai | 8,25 \pm 0,10 | 0,59 \pm 0,20 | 8,85 \pm 0,10^a |
| Sukari | 7,78 \pm 0,70 | 1,14 \pm 0,26 | 8,92 \pm 0,44^a |
| Commerciale | 6,21 \pm 0,38 | 0,98 \pm 0,13 | 7,18 \pm 0,25^{ab} |

Il contenuto di fibra insolubile varia nel range 6,06 - 8,25%, evidenziando come i datteri ne siano una buona fonte, mentre i valori di fibra solubile risultano decisamente inferiori, con un valore medio di 0,82%. Valutando statisticamente i risultati è emerso che il contenuto di fibra insolubile e fibra solubile nelle diverse varietà non è significativamente differente. Questi dati sono in linea con quanto riportato in letteratura, secondo cui, nelle diverse varietà di datteri presi in considerazione, il contenuto medio di fibra insolubile rientra in un intervallo compreso tra 3,03 e 7,40%, mentre i valori della frazione solubile sono compresi tra 0,4-1,3 % [43].

In seguito alla valutazione statistica (test di Tukey) è emerso che le varietà *Sagai* e *Sukari* possiedono il maggior contenuto di fibra totale, rispettivamente pari a 8,85% e 8,92%, mentre *Safawi*, con un valore pari a 6,62%, risulta la varietà con il minor contenuto. *Ajwa*, *Anbar* e il campione commerciale *Deglet Nour* si pongono a un livello intermedio (**Figura 25**).

I valori di fibra totale sono in linea con quanto riportato in letteratura, secondo cui il dattero presenta valori compresi tra 6,26% e 8,44% [44].

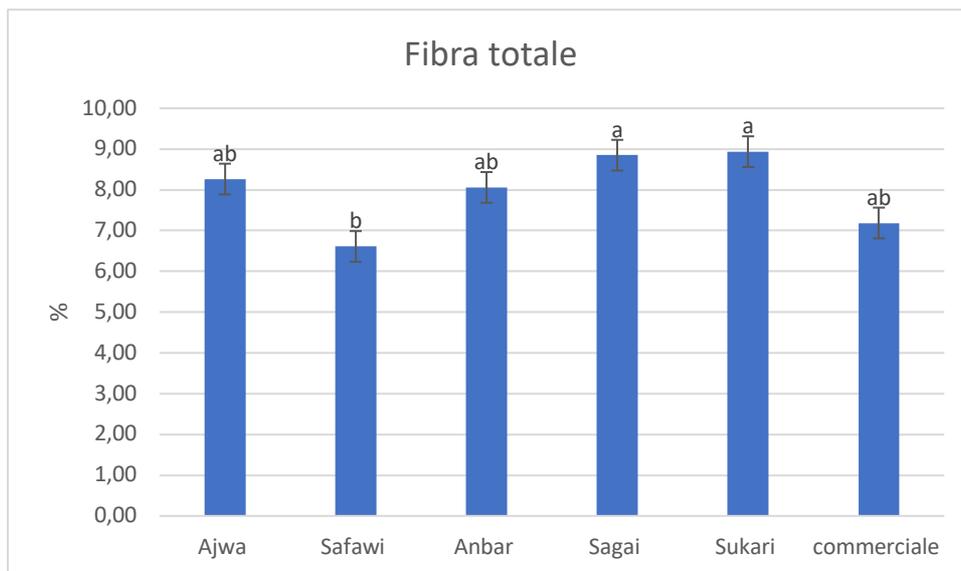


Figura 25. Rappresentazione grafica del contenuto di fibra totale nelle diverse varietà di datteri, espresso in percentuale su s.s. come media \pm deviazione standard; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

I dati ottenuti hanno confermato, come riportato anche in letteratura [43], che nei datteri il contenuto di fibra insolubile prevale su quella solubile.

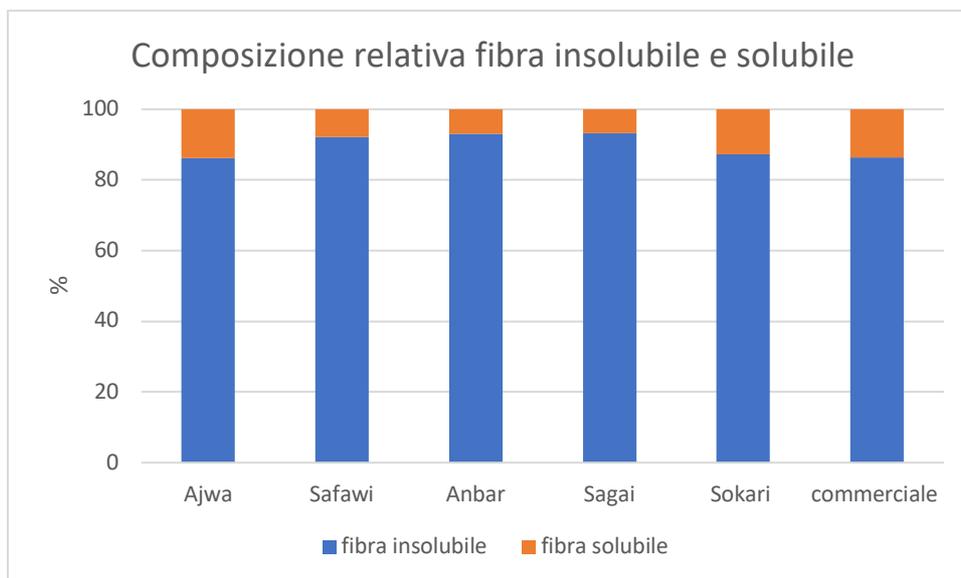


Figura 26. Percentuale relativa del contenuto di fibra insolubile e solubile.

Dal grafico di **Figura 26**, che riporta le percentuali relative di fibra solubile e insolubile rapportate al contenuto di fibra totale, si può osservare che la varietà *Anbar* è quella con la maggiore porzione relativa di fibra insolubile (93%, contro il 7% di fibra solubile). Dal lato opposto, *Ajwa* presenta solo l'86% di fibra insolubile, rispetto al 14% di fibra solubile. Si tratta di valori in linea con quanto riportato in letteratura, in cui i valori relativi di fibra solubile sono nel range 8,4%-22%, mentre i valori di fibra insolubile sono compresi tra 77,8% e 91,6% [45].

4.2.3 Zuccheri semplici

Per completare la caratterizzazione centesimale, grazie alla collaborazione con l'Università di Vigo (Spagna) è stata determinata la presenza degli zuccheri semplici presenti nel dattero. In particolare, mediante metodica di cromatografia liquida, è stato quantificato il contenuto di saccarosio, glucosio e fruttosio.

I risultati sono stati espressi come media \pm deviazione standard ed espressi in percentuale riferendosi alla sostanza secca (**Tabella 10**).

Tabella 10. Contenuto di zuccheri semplici espressi in percentuale s.s. come media \pm deviazione standard. In ciascuna colonna, lettere diverse indicano differenze significative tra le varietà

| Varietà | Saccarosio | Glucosio | Fruttosio | Zuccheri totali |
|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------|
| Ajwa | 0 | 38,04 \pm 1,09 ^{ab} | 33,32 \pm 1,49 ^a | 71,37 \pm 2,58 |
| Safawi | 0 | 41,04 \pm 0,46 ^a | 36,60 \pm 0,57 ^a | 77,65 \pm 1,04 |
| Anbar | 0 | 39,77 \pm 0,43 ^{ab} | 36,28 \pm 0,71 ^a | 76,05 \pm 1,14 |
| Sagai | 0 | 40,04 \pm 0,57 ^a | 36,41 \pm 0,30 ^a | 76,45 \pm 0,88 |
| Sukari | 27,97 \pm 1,91 ^a | 24,88 \pm 3,20 ^c | 20,72 \pm 1,22 ^c | 73,57 \pm 6,33 |
| Commerciale | 13,83 \pm 0,03 ^b | 33,70 \pm 4,69 ^b | 29,01 \pm 0,36 ^b | 76,54 \pm 1,65 |

Osservando la **Tabella 10** ed il seguente grafico di **Figura 27**, si può evidenziare innanzitutto che il saccarosio è stato registrato solo in due delle sei varietà prese in esame, in particolare nel

campione commerciale *Deglet Nour*, con un valore di 13,83%, e nella varietà *Sukari*, con un quantitativo più elevato pari a 27,97%.

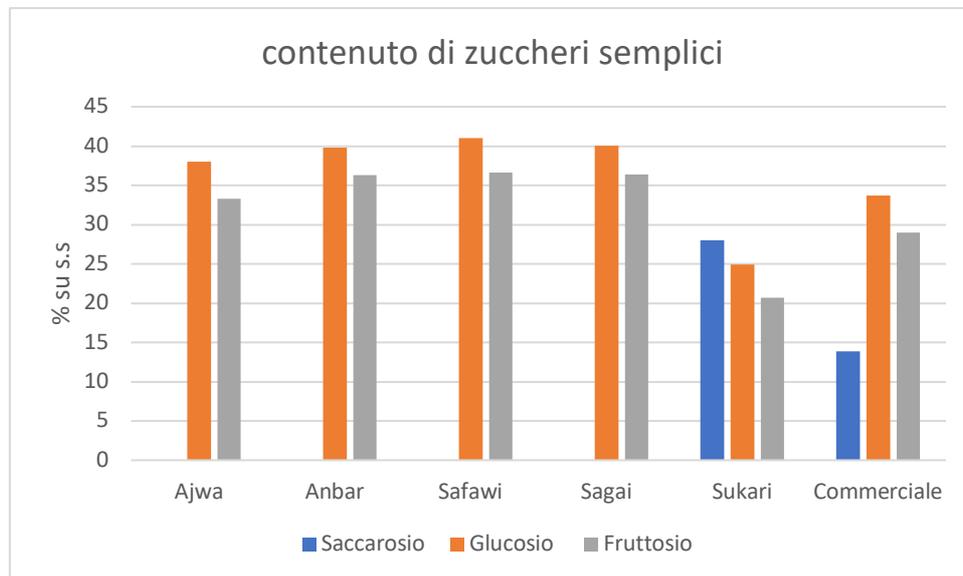


Figura 27. Rappresentazione grafica del contenuto di zuccheri semplici presenti in ciascuna varietà espressa in percentuale.

Come delineato in letteratura e confermato con le analisi, tra le diverse varietà di datteri il contenuto di zuccheri varia. Alcune sono più ricche di saccarosio, altre di glucosio e fruttosio [42].

Nelle varietà in cui non è presente il saccarosio, lo zucchero semplice che prevale e che ricopre la percentuale più elevata è il glucosio, con valori tra il 35% e il 40%. Invece, nelle varietà in cui si ha anche la presenza del saccarosio, si osserva un andamento diverso: nel campione commerciale *Deglet Nour*, glucosio e fruttosio sono prevalenti, mentre nella varietà *Sukari* si evidenzia un quantitativo più elevato di saccarosio.

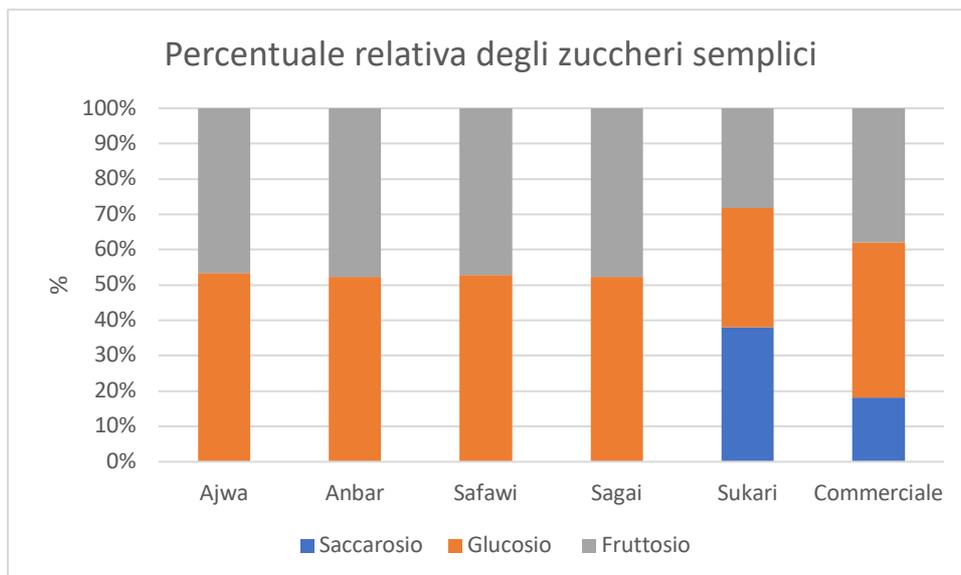


Figura 28. Percentuale relativa degli zuccheri semplici

Considerando invece la percentuale relativa, quello che si può osservare dal grafico di **Figura 28** è che glucosio e fruttosio nelle varietà saudite (*Ajwa*, *Anbar*, *Safawi* e *Sagai*) hanno lo stesso peso e quindi entrambi gli zuccheri contribuiscono al 50% del peso totale. Invece, se si considera la varietà *Sukari* tutti e tre gli zuccheri rivestono circa il 30%, ma con un impatto maggiore per il saccarosio; al contrario nella varietà commerciale si ha un impatto minore per il saccarosio che contribuisce circa al 20% rispetto a glucosio e fruttosio che concorrono nella composizione totale per circa il 40%.

Considerando infine la totalità di zuccheri semplici, tra le diverse varietà prese in esame non si osservano differenze significative. Sommando tra loro gli zuccheri identificati (**Tabella 10**) si osservano valori compresi tra 71,37% e 76,54%. Tali valori, sono in linea con quanto riportato in letteratura, in cui i valori di zuccheri presenti nel dattero sono compresi tra 71,2% e 81,4% [42].

4.3 CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE POLIFENOLICA

I polifenoli sono sostanze che caratterizzano il mondo vegetale e sono di nota rilevanza per le loro proprietà antiossidanti.

Prima di svolgere i saggi spettrofotometrici, l'estratto polifenolico ottenuto attraverso estrazione convenzionale con una miscela metanolo/acetone/acqua come solvente di estrazione è stato purificato mediante estrazione in fase solida (SPE).

L'obiettivo è stato quello di eliminare la frazione zuccherina presente nella matrice, ed eventualmente co-estratta, al fine di evitare interferenze analitiche con i reagenti utilizzati per la determinazione dei polifenoli e delle proprietà antiossidanti.

Polifenoli totali e flavonoidi totali, dunque, sono stati quantificati sull'estratto purificato mediante SPE (*Tabella 11*).

Tabella 11. Contenuto di polifenoli e flavonoidi totali, espressi come media \pm deviazione standard. Per ogni colonna, lettere diverse indicano differenze significative tra le varietà ($p < 0,05$).

| Varietà | Polifenoli totali | Flavonoidi totali |
|--------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Ajwa | 0,67 \pm 0,02 ^a | 0,27 \pm 0,02 ^{bc} |
| Safawi | 0,70 \pm 0,02 ^a | 0,28 \pm 0,02 ^b |
| Anbar | 0,52 \pm 0,05 ^b | 0,15 \pm 0,02 ^d |
| Sagai | 0,66 \pm 0,02 ^a | 0,23 \pm 0,01 ^c |
| Sukari | 0,52 \pm 0,04 ^b | 0,18 \pm 0,01 ^d |
| Commerciale | 0,66 \pm 0,03 ^a | 0,33 \pm 0,04 ^a |

4.3.1 Polifenoli totali

I risultati del contenuto di polifenoli totali, determinati attraverso il saggio di Folin-Ciocalteu, sono stati riportati come media \pm deviazione standard ed espressi in milligrammi di catechina equivalenti (CE) per grammo di sostanza secca (*Figura 29*).

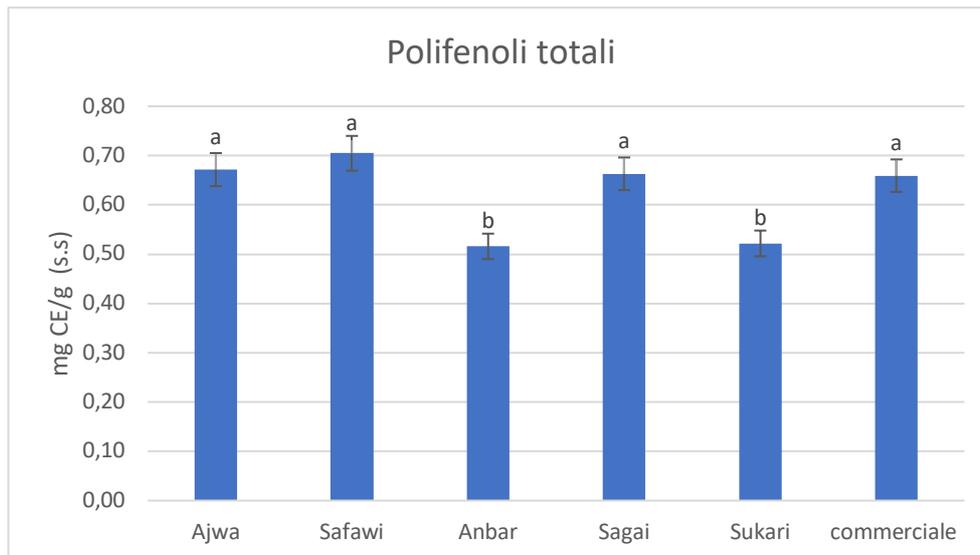


Figura 29. Rappresentazione grafica del contenuto di polifenoli totali nelle diverse varietà di datteri, espressi come mg CE/g su s.s.; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

Il campione commerciale tunisino (*Deglet Nour*) e le varietà saudite *Ajwa*, *Safawi*, *Sagai* sono quelle che presentano il contenuto polifenolico più elevato, con valori compresi tra 0,66 e 0,70 mg/g s.s.; le varietà *Anbar* e *Sukari*, invece, presentano un contenuto di circa 0,52 mg/g s.s., con valori tra loro paragonabili.

Tali valori non sono conformi con quanto riportato in letteratura, in cui i valori sono compresi in un intervallo tra 1,94 e 2,34 mg/g s.s. [38]; probabilmente i valori riscontrati in letteratura risultano sovrastimati, poiché dagli estratti analizzati non erano stati eliminati gli zuccheri.

4.3.2 Flavonoidi totali

Per una caratterizzazione più completa del profilo polifenolico, è stato effettuato anche il saggio colorimetrico dell'alluminio cloruro, che permette di determinare la sottoclasse dei flavonoidi.

I risultati, espressi in mg CE/g su sostanza secca, sono riportati nel grafico di **Figura 30**.

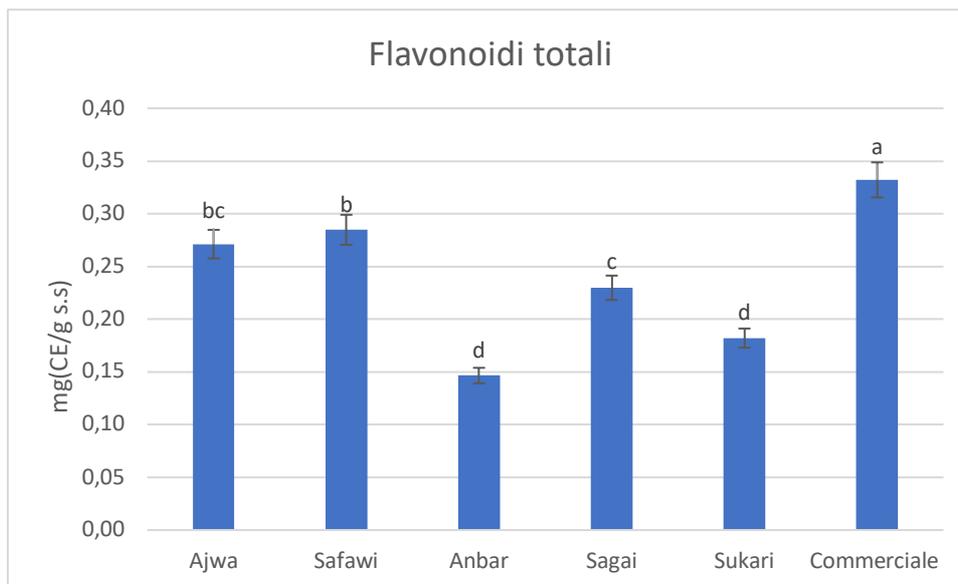


Figura 30. Contenuto di flavonoidi totali presenti nei campioni espressi come mg CE/g su s.s.; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

Osservando il grafico di **Figura 30** si può affermare che la varietà commerciale *Deglet Nour* è la più ricca di flavonoidi, con un valore circa pari a 0,33 mg CE/g, mentre le varietà saudite *Anbar* e *Sukari* sono quelle che presentano un minor contenuto di flavonoidi totali, con valori rispettivamente di 0,15 mg e 0,18 mg. Tali cultivar sono anche quelle che presentano un minor contenuto di polifenoli totali, come riportato nel paragrafo precedente.

Le varietà commerciali *Ajwa*, *Safawi*, *Sagai* presentano valori equiparabili con quanto riportato in letteratura, dove il contenuto di flavonoidi totali rientra in un range tra 0,25 e 0,34 mg/g s.s., mentre i valori relativi alla varietà *Anbar* e *Sukari* si discostano leggermente dai valori minimi presenti in letteratura [38].

4.4 ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE

L'attività antiossidante è stata determinata attraverso tre diversi saggi colorimetrici: il saggio del radicale DPPH, che è stato svolto presso i laboratori di Chimica degli Alimenti del DSF (UPO), e i saggi FRAP e ABTS^{•+}, i cui risultati sono stati forniti dal laboratorio dell'Università di Vigo (*Facultad de Ciencias-Ingeniería Química, Ourense*) in Spagna.

I saggi DPPH• e ABTS•+ si basano sulla valutazione dell'attività scavenger, mentre il saggio FRAP misura la capacità riduttiva di un antiossidante basandosi sulla reazione di riduzione del Fe³⁺ a Fe²⁺.

I risultati delle analisi sono stati riportati come media \pm deviazione standard ed espressi in Trolox equivalenti (TE) (**Tabella 12**).

Tabella 12. Attività antiossidante espressa come media \pm deviazione standard mg TE/g s.s.; lettere diverse indicano differenze significative tra le varietà ($p < 0,05$).

| Varietà | DPPH• | ABTS•+ | FRAP |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Ajwa | 0,35 \pm 0,03 ^c | 0,53 \pm 0,007 ^{ab} | 1,32 \pm 0,006 ^b |
| Safawi | 0,32 \pm 0,02 ^c | 0,56 \pm 0,001 ^a | 1,33 \pm 0,001 ^b |
| Anbar | 0,21 \pm 0,02 ^d | 0,28 \pm 0,001 ^d | 0,72 \pm 0,001 ^e |
| Sagai | 0,44 \pm 0,05 ^b | 0,52 \pm 0,003 ^b | 1,20 \pm 0,005 ^c |
| Sukari | 0,23 \pm 0,02 ^d | 0,36 \pm 0,002 ^c | 0,99 \pm 0,012 ^d |
| Commerciale | 0,69 \pm 0,05 ^a | 0,56 \pm 0,009 ^a | 1,44 \pm 0,005 ^a |

4.4.1 DPPH•

I risultati del saggio del DPPH•, riportati come media \pm deviazione standard ed espressi in mg di Trolox equivalenti (TE) su sostanza secca, sono rappresentati nel grafico di **Figura 31**.

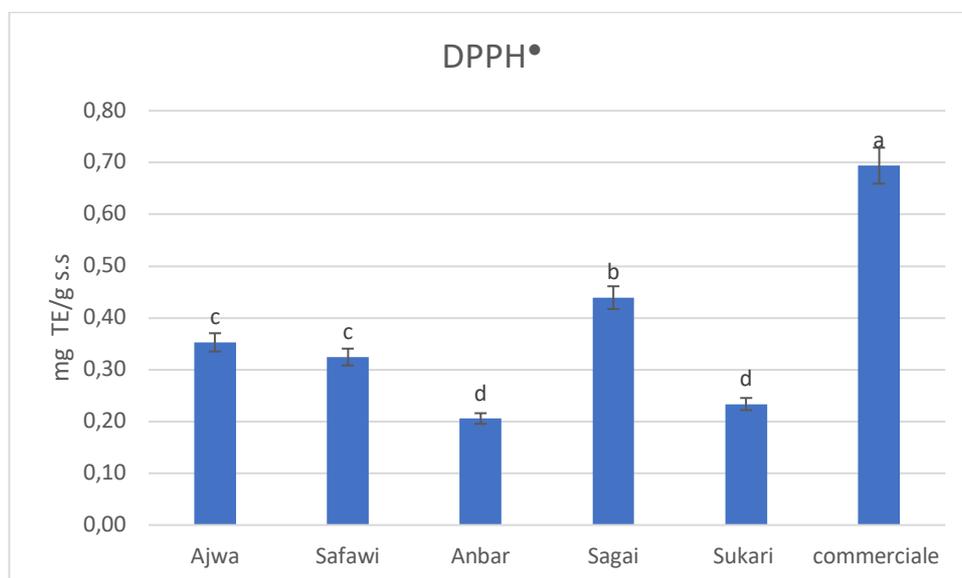


Figura 31. Attività antiossidante espressa come mg TE/g su s.s.; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey

La varietà commerciale tunisina *Deglet Nour* presenta l'attività antiossidante significativamente più elevata, con valori di 0,69 mg TE/g s.s.; le varietà saudite registrano valori di attività antiossidante più bassi, il cui valore medio è di circa 0,34 mg TE/g s.s..

Più precisamente, tra le varietà saudite *Sagai* è quella che presenta una maggior attività antiossidante con un valore pari a 0,44 mg/g TE s.s., a seguire le varietà *Ajwa* e *Safawi* (rispettivamente 0,35 mg/g TE e 0,32 mg/g TE) ed infine *Anbar* e *Sukari* con valori di 0,23 e 0,22 mg/g TE s.s..

4.4.2 ABTS^{•+}.

La determinazione dell'attività antiossidante è stata integrata dal saggio che sfrutta il radical catione ABTS.

I risultati sono riportati come media \pm deviazione standard ed espressi in mg di Trolox equivalenti (TE) su sostanza secca (**Figura 32**).

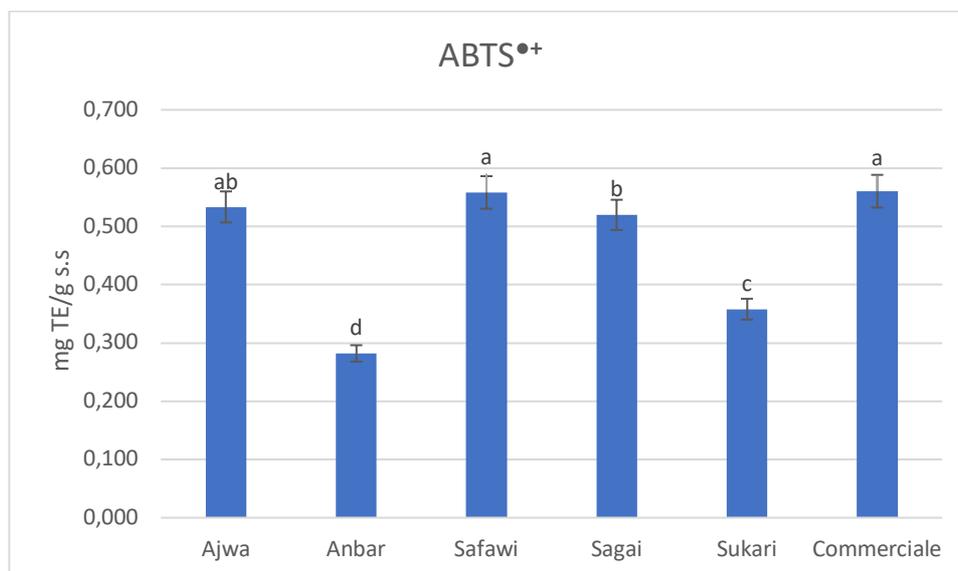


Figura 32. Attività antiossidante (mg TE/g s.s.) espressa come media \pm deviazione standard; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

Ciò che si può osservare per questo saggio è che, oltre alla varietà commerciale, come riportato per il radicale DPPH, anche le varietà saudite *Safawi* e *Ajwa* presentano elevate proprietà antiossidanti, con valori compresi tra 0,56 e 0,52 mg TE/g s.s..

Anbar e *Sukari* sono le due varietà che, anche in questa analisi, presentano una minore attività antiossidante, con valori rispettivamente di 0,282 mg TE/g s.s. e 0,358 mg TE/g s.s..

I valori ottenuti dall'analisi non sono equiparabili ai dati presenti in letteratura, in cui i valori medi sono compresi tra 3,8 e 8,6 mg TE/g [46]. I valori di letteratura potrebbero essere sovrastimati per l'elevata presenza di zuccheri; al contrario, in questo lavoro di tesi, come già specificato, gli estratti analizzati sono stati precedentemente purificati attraverso l'estrazione in fase solida al fine di eliminare eventuali interferenti durante lo svolgimento di questi saggi.

Dunque, i valori non sono confrontabili con quanto riportato in letteratura poiché questo passaggio non è stato effettuato.

4.4.3 FRAP

Il saggio FRAP è anch'esso un'analisi utilizzata per la quantificazione dell'attività antiossidante, con la differenza che non viene misurato il potere radicalico, ma si valutano le proprietà riducenti attraverso la reazione di riduzione dello ione ferrico (Fe^{3+}) a ione ferroso (Fe^{2+}) in ambiente acido.

I risultati sono stati espressi in mg TE/g s.s., come media \pm deviazione standard (**Figura 33**).

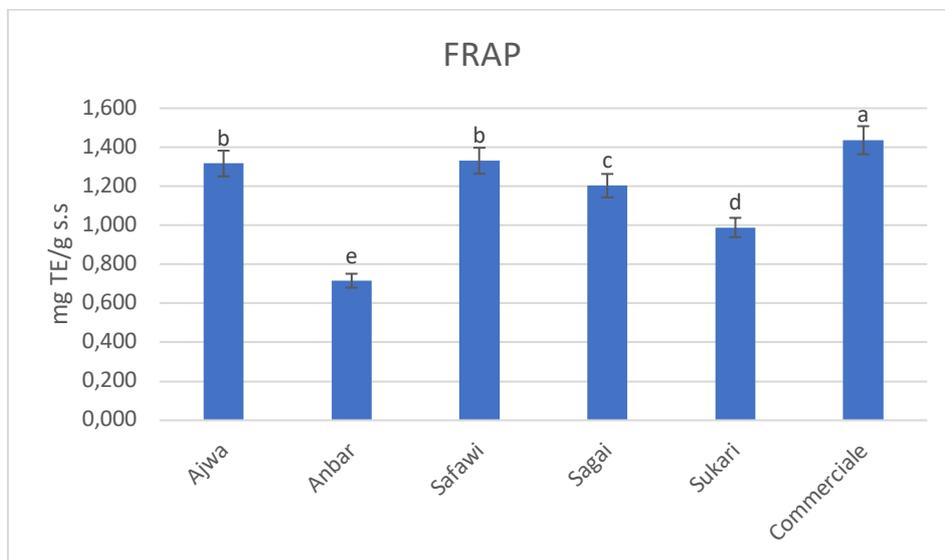


Figura 33. Rappresentazione grafica dell'attività antiossidante (mg TE/g s.s) espressa come media \pm deviazione standard.; le barre di errore rappresentano la deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative determinate con il test HSD di Tukey.

Da questa analisi si può osservare che tra le diverse varietà ci sono differenze significative e, in particolare, la varietà che presenta il maggiore potere antiossidante è sempre *Deglet Nour* (campione commerciale), con un valore pari a 1,44 mg TE/g s.s.; *Anbar*, invece, è quella che presenta la minore attività riducente (0,72 mg TE/g s.s.).

Con quest'ultimo saggio si conferma ancora che il dattero commerciale tunisino *Deglet Nour* è quello che presenta l'attività antiossidante più elevata, mentre le varietà *Anbar* e *Sukari* sono quelle con un minor potere antiossidante.

Per comprendere meglio la relazione che intercorre tra la componente polifenolica e l'attività antiossidante, è stata svolta l'analisi di correlazione di Pearson sui dati appena discussi (Figura 34).

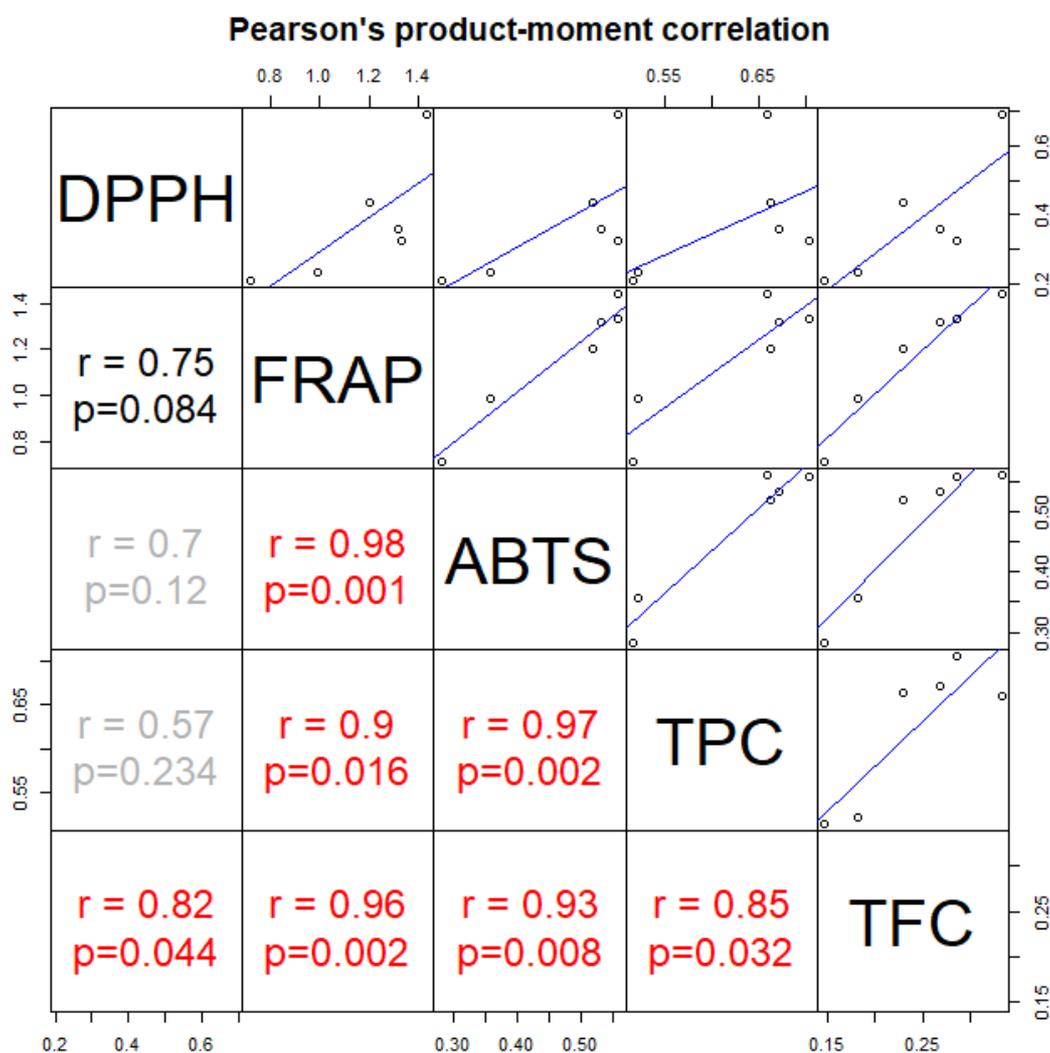


Figura 34. Risultato della correlazione di Pearson tra il contenuto polifenolico (polifenoli totali, TPC; flavonoidi totali, TFC) e l'attività antiossidante determinata con i diversi saggi impiegati.

Secondo l'analisi di correlazione di Pearson si nota come l'attività antiossidante determinata con il radicale DPPH non è correlata in modo significativo con il contenuto di polifenoli totali, ma risulta essere influenzata dal contenuto di flavonoidi totali; quindi, l'attività scavenger verso il radicale DPPH sembra essere dovuta principalmente ai flavonoidi.

FRAP e ABTS^{•+}, invece, sono entrambi direttamente correlati al contenuto polifenolico totale ed al contenuto di flavonoidi totali; quindi, aumentando la concentrazione di tali molecole a struttura polifenolica aumenta anche l'attività antiossidante.

È inoltre possibile osservare come manchi una correlazione tra il saggio del DPPH[•] e gli altri due saggi, ovvero FRAP e ABTS^{•+}, che invece correlano significativamente tra di loro ($r=0,98$; $p=0,001$). La mancanza di correlazione tra il saggio del DPPH[•] e i saggi FRAP e ABTS^{•+} potrebbe essere dipendente da diversi fattori, tra i quali per esempio si può ipotizzare il differente ambiente di reazione; in particolare, il solvente di dissoluzione e diluizione impiegato nei diversi saggi è metanolo per il DPPH[•] ed etanolo per FRAP e ABTS^{•+}.

4.5 ANALISI STATISTICA MULTIVARIATA

Tutti i dati ottenuti e discussi precedentemente sono stati rielaborati attraverso analisi statistica multivariata al fine di interpretare in maniera più dettagliata le differenze tra i campioni.

In particolar modo, è stata condotta l'Analisi delle Componenti Principali (PCA), che ha consentito di individuare le Componenti Principali (PC) più rappresentative per descrivere i campioni a partire dalle variabili chimiche di composizione originarie. In questo modo è stato possibile ridurre il numero di variabili, evitando la perdita di informazioni.

Nell'elaborazione dei dati mediante PCA sono stati considerati tutti i parametri descritti nei paragrafi precedenti, ad eccezione delle caratteristiche morfologiche. La varianza descritta dalle singole componenti principali è stata valutata sia come varianza percentuale (indicata come "V%") sia come varianza cumulativa (indicata come "Cum V%"). Più precisamente sono state ottenute 5 componenti principali, ma sono risultate sufficienti le prime quattro, come mostrato in **Tabella 13**, a raggiungere più del 90% dell'informazione contenuta nei dati originali.

Tabella 13. Varianza spiegata dalle prime quattro componenti principali sulla totalità dei dati analizzati, espressa come varianza percentuale e come varianza cumulativa percentuale.

| Componenti | V% | Cum V% |
|------------|-------|--------|
| PC 1 | 41,50 | 41,50 |
| PC 2 | 27,73 | 69,23 |
| PC 3 | 13,75 | 82,98 |
| PC 4 | 11,02 | 93,99 |

In **Figura 35** è riportata la rappresentazione grafica delle variabili chimiche sulle prime due componenti principali (PC1 e PC2). Questo grafico rappresenta i valori di correlazione delle variabili originarie con PC1 (*asse x*) e PC2 (*asse y*).

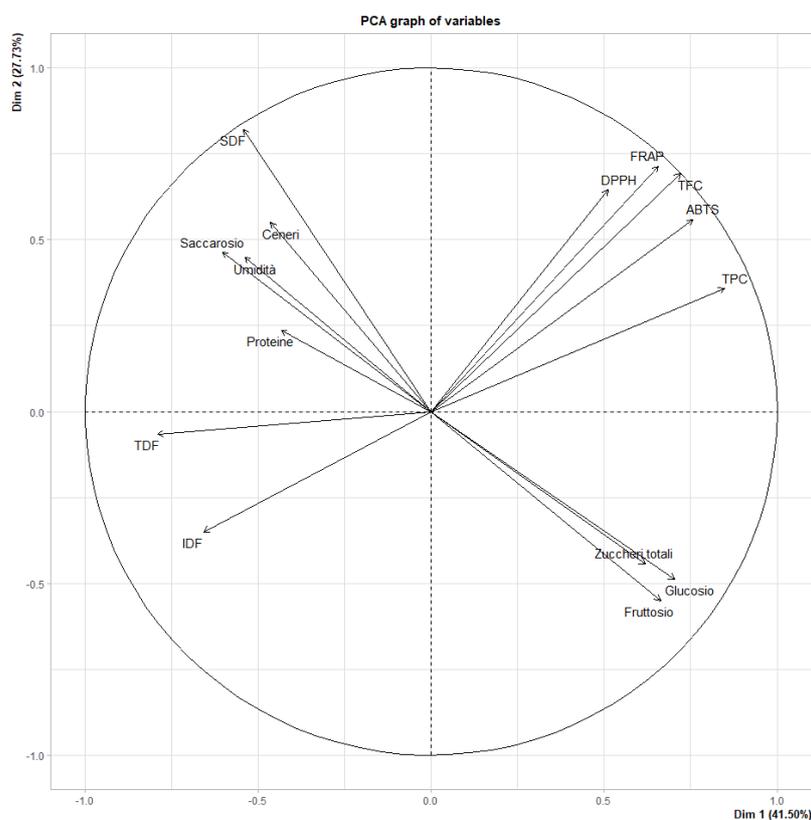


Figura 35. Rappresentazione grafica dei risultati della PCA sulle prime due dimensioni (PC1 e PC2): grafico della correlazione delle variabili.

Per la prima componente principale, tra i parametri correlati positivamente troviamo le variabili che rappresentano il contenuto polifenolico e l'attività antiossidante, e i parametri di caratterizzazione degli zuccheri; tuttavia, l'unica variabile che ha influito in maniera significativa sulla PC1 è il contenuto polifenolico totale (indicato come TPC) con un coefficiente di correlazione pari a 0,8482 e un valore di significatività $<0,05$ ($p = 0,0328$). Invece, per la seconda componente (PC2) l'analisi statistica ha determinato come variabile significativa solo il parametro di fibra solubile (SDF) con un coefficiente di correlazione pari a 0,8213 ($p = 0,0451$); valori elevati di correlazione, sebbene non risultati significativi, si sono osservati anche per i parametri di attività antiossidante (FRAP e DPPH) in senso positivo, e per glucosio e fruttosio, in senso negativo.

In **Figura 36** è possibile discriminare i campioni in base ai parametri descritti nella precedente rappresentazione grafica.

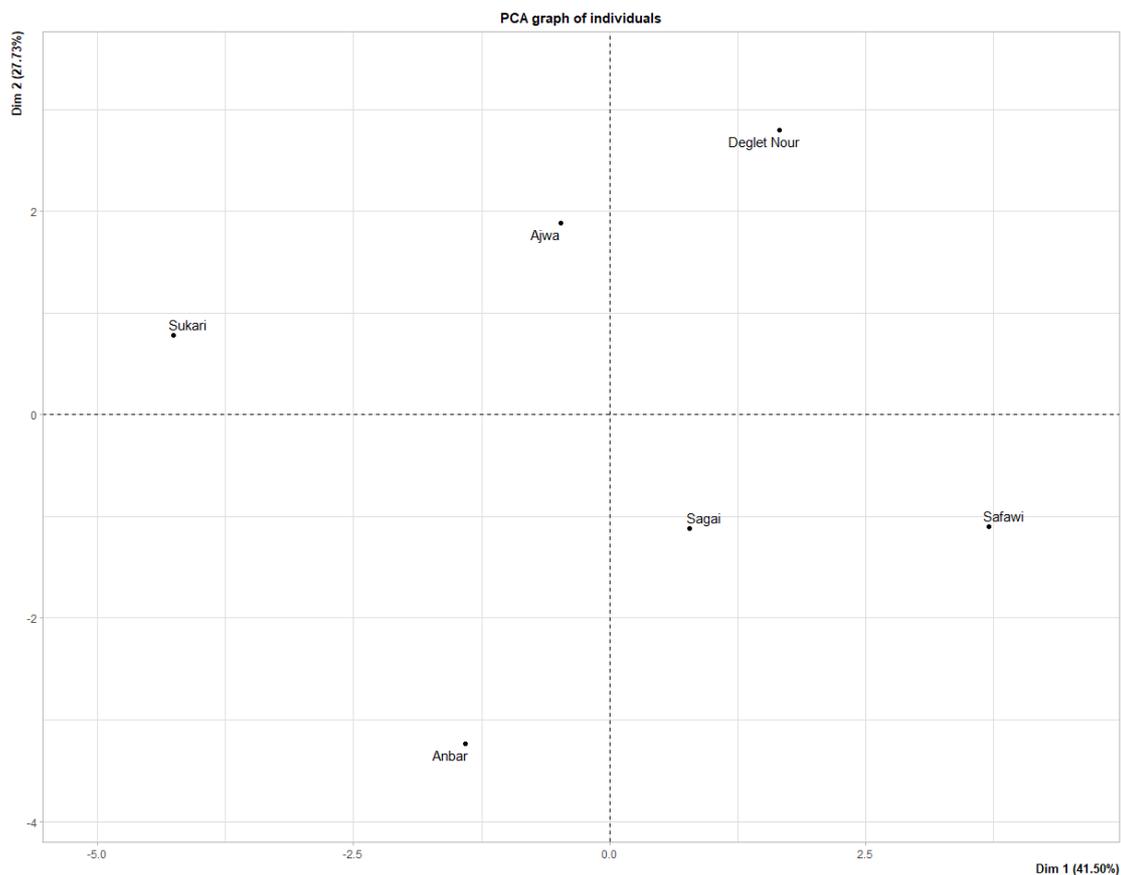


Figura 36. Rappresentazione grafica dei risultati della PCA sulle prime due dimensioni (PC1 e PC2): posizionamento dei campioni relativi alle diverse varietà di dattero.

La valutazione complessiva dei campioni conferma quanto osservato a commento dei singoli parametri. È possibile identificare come sulla prima dimensione (PC1) il campione che presenta valori più alti sia *Safawi*, che si differenzia non solo per il suo contenuto polifenolico, ma soprattutto per l'elevata concentrazione di glucosio e fruttosio. Sulla posizione di tale campione impatta anche il contenuto di ceneri, che è negativamente correlato con la prima componente principale; infatti, come osservato nelle sezioni precedenti, la concentrazione di ceneri nella varietà *Safawi* è relativamente bassa. Viceversa, alti valori di ceneri, così come di saccarosio e fibra dietetica totale, sono stati riscontrati nella varietà *Sukari*; tali valori hanno impattato sul posizionamento di questa varietà verso l'estremo negativo della PC1. Considerando invece la combinazione di valori positivi sia sulla prima che sulla seconda componente, è possibile osservare come la varietà *Deglet Nour* (campione commerciale) si caratterizzi per la sua attività antiossidante ed il contenuto di flavonoidi.

Infine, complessivamente è possibile individuare una certa separazione delle varietà sulla seconda dimensione (PC2): valori più bassi di PC2 raggruppano le varietà *Anbar*, *Sagai* e *Safawi*, che rappresentano le cultivar più ricche in zuccheri semplici, mentre valori più alti comprendono le varietà *Sukari*, *Ajwa* e *Deglet Nour*, accomunate da alti valori di ceneri e, ad eccezione di *Ajwa*, anche dalla presenza di saccarosio.

5 CONCLUSIONI

Il presente lavoro di Tesi ha avuto come scopo la caratterizzazione dei frutti della palma da dattero (*Phoenix dactylifera* L.), con la finalità di confrontare tra loro cinque varietà provenienti dall'Arabia Saudita (*Ajwa*, *Anbar*, *Safawi*, *Sukari* e *Sagai*) e compararle con un campione commerciale acquistato in Italia presso la grande distribuzione (campione dichiarato di origine tunisina, varietà *Deglet Nour*).

Sono state condotte sia analisi per la determinazione della composizione centesimale sia analisi per la caratterizzazione della componente bioattiva, in particolare composti polifenolici e attività antiossidante.

Ciò che è emerso è che tra le varietà analizzate non c'è variabilità nel contenuto di proteine totali, così come per il contenuto totale di zuccheri semplici. È stata però possibile la discriminazione di zuccheri, in particolare di saccarosio, presente solo in specifiche cultivar, come in *Deglet Nour* e *Sukari*. In quest'ultima, oltre all'elevato contenuto di saccarosio, si ha in ugual misura anche un elevato contenuto di glucosio e fruttosio.

Il dattero come frutto è anche caratterizzato da un'elevata percentuale di fibra, in particolare di frazione insolubile rispetto a quella solubile. Tra le diverse varietà prese in esame non è stata riscontrata nessuna differenza significativa per queste due frazioni. Invece, considerando la loro somma, ovvero il contenuto di fibra dietetica totale, sono state evidenziate differenze significative. *Sagai* e *Sukari* sono le varietà che presentano il maggior contenuto di fibra totale, con valori rispettivamente pari a 8,85% e 8,94% sulla sostanza secca.

Di seguito alla caratterizzazione centesimale è stata effettuata la quantificazione del contenuto polifenolico e dell'attività antiossidante. È stato valutato sia il contenuto di polifenoli totali che quello della frazione dei flavonoidi. Ciò che è emerso è che le varietà che risultano più povere in polifenoli risultano essere anche più povere in flavonoidi. In particolare, tale osservazione è valida per le varietà *Anbar* e *Sukari*, che presentano il più basso contenuto di flavonoidi, con valori rispettivamente pari a 0,15 mg CE/g e 0,18 mg CE/g (s.s.). Al contrario, la varietà tunisina *Deglet Nour* spicca maggiormente per il suo elevato contenuto di polifenoli e flavonoidi totali.

Esaminando l'attività antiossidante, si è osservato che la varietà commerciale tunisina possiede la più elevata attività antiossidante. Prendendo in considerazione i saggi del radical catione

ABTS e FRAP è stato osservato un'elevata correlazione con polifenoli totali e flavonoidi totali, mentre il saggio del radicale DPPH ha evidenziato una correlazione solo con i flavonoidi totali.

Per concludere, dalla comparazione delle varietà di datteri analizzate è emerso che il campione commerciale di origine tunisina si differenzia per la sua elevata attività antiossidante e per il suo contenuto polifenolico; le varietà saudite *Sagai e Sukari* sono invece caratterizzate da un più elevato contenuto di fibra totale. Tali aspetti sono di interesse in termini di potenziali effetti benefici per la salute, sia per quanto riguarda la componente polifenolica antiossidante che per quanto riguarda il contenuto di fibra totale. Quest'ultima, raggiungendo nelle varietà a più alto contenuto valori prossimi al 9%, sarebbe in grado di apportare benefici in particolare a livello intestinale, esplicando proprietà sazianti e favorendo il benessere della flora intestinale.

Inoltre, i datteri si confermano essere frutti particolarmente ricchi in zuccheri semplici, ricoprendo una percentuale totale di circa il 70%, caratterizzati principalmente dalla presenza di glucosio e fruttosio. La presenza di questi due zuccheri risulta essere di interesse in particolare per l'alimentazione in ambito sportivo, in quanto sono velocemente utilizzabili durante l'attività fisica di resistenza.

In aggiunta a quanto determinato in questo lavoro di Tesi, in ottica futura, sarebbe interessante valutare anche la componente oligosaccaridica e la sua eventuale attività prebiotica. Gli oligosaccaridi, infatti, risultano essere sostanze di particolare interesse per il benessere dell'organismo in quanto favoriscono la crescita della flora batterica intestinale.

Un altro aspetto interessante da valutare potrebbe essere, infine, la determinazione del profilo aromatico dei datteri, individuando le principali molecole volatili responsabili delle proprietà organolettiche delle diverse varietà.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Chao CT, Krueger RR. The Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of Biology, Uses, and Cultivation. HortScience 2007; 42:1077–82. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1077>.
- [2] <http://www.compagniadellapalma.eu/botanica/index.htm> (Consultato 08.01.2024).
- [3] Alotaibi KD, Alharbi HA, Yaish MW, Ahmed I, Alharbi SA, Alotaibi F, et al. Date palm cultivation: A review of soil and environmental conditions and future challenges. Land Degrad Dev 2023;34:2431–44. <https://doi.org/10.1002/ldr.4619>.
- [4] <https://www.comune.cecina.li.it/categorie/ambiente/punteruolo-rosso> (Consultato 13.01.2024).
- [5] <https://www.studiotecnicodelverde.it/wp/punteruolo-rosso/> (Consultato 13.01.2024).
- [6] Roversi P. Il punteruolo rosso delle palme: nuove acquisizioni e possibilità di controllo demografico. Atti Accademia Nazionale Italiana Di Entomologia 2014; LXI:187–8.
- [7] https://issuu.com/iaofirenze/docs/sistemi_commerciali_del_dattero_in_europa (Consultato 08.01.2024).
- [8] <https://www.agenzianova.com/a/658e518e6d4e52.36106908/4704545/2023-12-10/business-news-italia-secondo-paese-importatore-di-datteri-tunisini-nel-2022-2023> (Consultato 13.01.2024).
- [9] <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Consultato 2.03.2024).
- [10] https://books.google.es/books?hl=it&lr=&id=ZuPGEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA454&dq=major+production+fruit+dates+fao+egypt&ots=jPfdausY2R&sig=g_igs1rTzE5C1ZFXAt_YIr7iFUo&redir_esc=y#v=onepage&q=major%20production%20fruit%20dates%20fao%20egypt&f=false (Consultato 15.01.2024).
- [11] <https://www.freshplaza.it/article/9415283/siamo-gia-i-maggiori-produttori-di-datteri-di-tutta-europa-ma-vogliamo-continuare-ad-ampliare-la-nostra-produzione/> (Consultato 13.01.2024).
- [12] <https://www.smallfarmers.trade/sites/default/files/2019-07/REPORT%20Datteri%20luglio.pdf> (Consultato 08.01.2024).
- [13] <https://www.fructidor.it/newsdetail.aspx?idn=58760&title=Esportazioni-datteri-Arabia-Saudita:-aumento-in-volume-e-valore&ts=20240112065805> (Consultato 12.01.2024).
- [14] <https://whc.unesco.org/fr/list/1563/> (Consultato 16.01.2024).

- [15] Centre UWH. Al-Ahsa Oasis, an Evolving Cultural Landscape. UNESCO World Heritage Centre n.d. <https://whc.unesco.org/en/list/1563/> (Consultato 13.01.2024).
- [16] Sarraf M, Jemni M, Kahramanoğlu I, Artés F, Shahkoomahally S, Namsi A, et al. Commercial techniques for preserving date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit quality and safety: A review. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2021;28:4408–20. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.04.035>.
- [17] <https://corsiarabotraduzioni.wordpress.com/2018/07/30/il-dattero-in-arabo-e-nella-cultura-islamica-loro-nel-deserto/> (Consultato 08.01.2024).
- [18] <https://www.cittanuova.it/multimedia/2019/10/7/palestina-inizia-la-stagione-dei-datteri/> (Consultato 22.03.2024).
- [19] <https://www.madivventura.it/pages/bonta-e-benessere/benessere/raccolta-e-conservazione-datteri/> (Consultato 12.01.2024).
- [20] <https://www.manuzzisrl.it/per-saperne-di-piu/datteri-tempo-raccolta> (consultato 13.01.2024).
- [21] <https://www.alimentinutrizione.it/tabelle-nutrizionali/007630> (Consultato 08.01.2024).
- [22] Hussain MI, Farooq M, Syed QA. Nutritional and biological characteristics of the date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) – A review. *Food Bioscience* 2020;34:100509. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100509>.
- [23] Al-Farsi* MA, Lee CY. Nutritional and Functional Properties of Dates: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2008;48:877–87. <https://doi.org/10.1080/10408390701724264>.
- [24] Rowlands DS, Houltham S, Musa-Veloso K, Brown F, Paulionis L, Bailey D. Fructose–Glucose Composite Carbohydrates and Endurance Performance: Critical Review and Future Perspectives. *Sports Med* 2015;45:1561–76. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0381-0>.
- [25] Capasso F, Castaldo S. *La fibra*. Springer Science & Business Media; 2004.
- [26] Yang J, Wang H-P, Zhou L, Xu C-F. Effect of dietary fiber on constipation: A meta analysis. *World J Gastroenterol* 2012;18:7378–83. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i48.7378>.
- [27] <http://www.nutrientisupplementi.it/focus/item/1298-datteri-un-concentrato-di-nutrienti-benefici> (Consultato 08.01.2024).

- [28] AL Juhaimi F, Ghafoor K, Özcan MM. Physicochemical properties and mineral contents of seven different date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties growing from Saudi Arabia. *Environ Monit Assess* 2014;186:2165–70. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3526-3>.
- [29] Baliga MS, Baliga BRV, Kandathil SM, Bhat HP, Vayalil PK. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International* 2011;44:1812–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.004>.
- [30] Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T. *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. CRC Press; 2008.
- [31] Marangoni F, Poli A. Phytosterols and cardiovascular health. *Pharmacological Research* 2010;61:193–9. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.01.001>.
- [32] Lima DM, Fernandes P, Nascimento DS. *Fructose Syrup: A Biotechnology Asset* 2011.
- [33] Alanazi FK. Utilization of date syrup as a tablet binder, comparative study. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2010;18:81–9. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2010.02.003>.
- [34] Bordoloi SS, Chakraborty T, Das A, Islam J, Rynjah D, Baishya B. THE APPLICABILITY OF PALM TREES IN PHARMACEUTICALS AS EXCIPIENTS WITH A SPECIALEMPHASIS ON PALM SUGAR: A REVIEW. *World Journal of Pharmaceutical Research* n.d.
- [35] Cantadori E, Brugnoli M, Centola M, Uffredi E, Colonello A, Gullo M. Date Fruits as Raw Material for Vinegar and Non-Alcoholic Fermented Beverages. *Foods* 2022;11:1972. <https://doi.org/10.3390/foods11131972>.
- [36] Ali Z, Ma H, Wali A, Ayim I, Sharif MN. Daily date vinegar consumption improves hyperlipidemia, β -carotenoid and inflammatory biomarkers in mildly hypercholesterolemic adults. *Journal of Herbal Medicine* 2019;17–18:100265. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100265>.
- [37] Foods | Free Full-Text | Date Fruits as Raw Material for Vinegar and Non-Alcoholic Fermented Beverages n.d. <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/13/1972> (Consultato 16.01.2024).
- [38] <https://eds.p.ebscohost.com/abstract?site=eds&scope=site&jrnl=19854668&AN=154917965&h=AJVJIEaV5X9uSEHQvy4cnIB44zMf%2bYuEwUy5ARpe70RceHxeW80VFRM320Y0jHvfaVipgn%2fjBPH5ewSs4TnWCg%3d%3d&crl=c&resultLocal=ErrCrINoResults&resultNs=Ehost&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile%3dehost>

%26scope%3dsite%26authtype%3dcrawler%26jrnl%3d19854668%26AN%3d15491796
5 (Consultato 21.03.2024).

- [39] Bahiani M, Babahani S, Nani A, Boukhetache I. Dates (*Phoenix dactylifera* L.) from the Adrar region of Algeria are rich in polyphenols, and ternary solvent extracts' antioxidant activity correlates with condensed tannins content. *Vegetos* 2023. <https://doi.org/10.1007/s42535-023-00622-4>.
- [40] Peinado J, López de Lerma N, Peinado RA. Synergistic antioxidant interaction between sugars and phenolics from a sweet wine. *Eur Food Res Technol* 2010;231:363–70. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1279-6>.
- [41] <https://rj.ptuk.edu.ps/index.php/pturj/article/view/442/240> (Consultato 08.03.2024).
- [42] Assirey EAR. Nutritional composition of fruit of 10 date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars grown in Saudi Arabia. *Journal of Taibah University for Science* 2015;9:75–9. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.07.002>.
- [43] Attia AI, Reda FM, Patra AK, Elnesr SS, Attia YA, Alagawany M. Date (*Phoenix dactylifera* L.) by-Products: Chemical Composition, Nutritive Value and Applications in Poultry Nutrition, an Updating Review. *Animals* 2021;11:1133. <https://doi.org/10.3390/ani11041133>.
- [44] Ayad AA, Williams LL, Gad El-Rab DA, Ayivi R, Colleran HL, Aljaloud S, et al. A review of the chemical composition, nutritional and health benefits of dates for their potential use in energy nutrition bars for athletes. *Cogent Food & Agriculture* 2020;6:1809309. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1809309>.
- [45] Stojanovska L, Ali HI, Kamal-Eldin A, Souka U, Al Dhaheri AS, Cheikh Ismail L, et al. Soluble and Insoluble Dietary Fibre in Date Fruit Varieties: An Evaluation of Methods and Their Implications for Human Health. *Foods* 2023;12:1231. <https://doi.org/10.3390/foods12061231>.
- [46] Bouhlali E dine T, Ramchoun M, Alem C, Ghafoor K, Ennassir J, Zegzouti YF. Functional composition and antioxidant activities of eight Moroccan date fruit varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 2017;16:257–64. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.08.005>.