

# EVALUACIÓN DE FITOQUÍMICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SUBPRODUCTOS DE DÁTIL (*Phoenix dactylifera* L.) PRODUCIDOS EN EL ESTADO DE SONORA

EVALUATION OF PHYTOCHEMICALS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM MEXICAN DATE BYPRODUCTS (*Phoenix dactylifera* L.) PRODUCED IN THE SONORA STATE

María de los Ángeles de la Rosa-Alcaraz<sup>2</sup>, Gastón Ramón Torrescano Urrutia<sup>1</sup>, José Ángel Pérez Álvarez<sup>2</sup>, Juana Fernández López<sup>2</sup>, Armida Sánchez Escalante\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Carretera a Ejido La Victoria Km. 0.6. Hermosillo, Sonora, 83304, México.

<sup>2</sup> Universidad Miguel Hernández, Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Ctra. A Beniel Km 3,2 (03312) Orihuela, Alicante, España.

## RESUMEN

Los frutos y sus subproductos, son fuente importante de fitoquímicos, que impactan en la calidad de los alimentos y la salud de los consumidores. Particularmente los subproductos de dátil son fuente potencial de estas moléculas, debido a que durante su producción comercial el nivel de subproductos obtenido es importante. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de utilización de diferentes métodos (maceración y extracción asistida por ultrasonido: EAU) y solventes (agua, etanol:agua, acetona:agua) de extracción, sobre el contenido de fitoquímicos y la capacidad antioxidante de extractos de subproductos de dátil producidos en el estado de Sonora. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos (fenoles, CFT; y flavonoides CFlvT totales), además de la capacidad antioxidante (radical-DPPH<sup>+</sup> y poder reductor, PR). Los resultados mostraron que los subproductos de dátil presentan contenido de humedad (28.44%), grasa (0.52%), proteína (2.56%) y cenizas (2.75%), similares al fruto comercial. Además, se encontró que la utilización de diferentes solventes afectó ( $p < 0.05$ ) el CFT (7.30-10.78 mg de EAG/100 g), CFlvT (30-32 mg ER/100g) y la inhibición del radical-DPPH<sup>+</sup> (~60%). Mientras que el PR fue afectado ( $p < 0.05$ ) tanto por el solvente como el método de extracción. Estos resultados muestran que los subproductos del dátil pueden ser una fuente de ingredientes funcionales antioxidantes.

**Palabras clave:** dátil mexicano, compuestos antioxidantes, fitoquímicos, extractos funcionales.

## ABSTRACT

Fruits and their byproducts are an important source of phytochemicals; these bioactive molecules have an impact in food quality and health of the consumers. Particularly, date fruit byproducts are a potential source of these molecules. The objective of this study was to evaluate different extraction methods (maceration and ultrasound assisted extraction: UAE) and solvents (water, ethanol:water, acetone:water), on phytochemical content and antioxidant activity from date fruit byproducts produced in Sonora. Phenolic content was determined in terms of total phenols (TFC) and flavonoids

(TFlvC), as well as their antioxidant activity, using DPPH<sup>+</sup> radical and reducing power determination (RP). Results of chemical composition analyses of byproducts were: moisture (28.44%), fat (0.52%), protein (2.56%), and ash (2.75), similar to commercial fruit. Furthermore, different solvents used for extraction affect ( $P < 0.05$ ) TFC (7.30-10.78 mg de GAE/100 g), TFlvC (30-32 mg RE/100g) and DPPH<sup>+</sup> inhibition (~60%). RP was affected ( $P < 0.05$ ) by both, solvent and method used. These results indicated that date byproducts represent a potential source of phytochemical-rich functional antioxidant ingredients.

## INTRODUCCIÓN

El fruto de la palma datilera (*Phoenix dactylifera* L) es cultivado ampliamente en regiones áridas y semiáridas del mundo (Besbes et al., 2009), siendo apreciado por sus propiedades nutricionales y farmacológicas por los nativos del medio Este y Norte de África; sin embargo, es poco reconocido en los países del oeste debido a la falta de información científica (Vayalil, 2012). En Latinoamérica, particularmente en México, el cultivo de dátil es una fuente de ingresos para la población local y representa una opción económicamente potencial. Los principales productores son Baja California, Coahuila y Sonora, siendo este último el principal productor nacional con una participación del 80% de la producción. Las condiciones ideales de clima y suelo han permitido un apropiado crecimiento y cultivo del fruto, resultando en un producto altamente rentable (FAO, 2007).

No obstante, la producción se acompaña de pérdidas sustanciales durante las diferentes etapas del proceso como son: recolección, empaque, almacenamiento y comercialización. Los dátiles que no presentan calidad comercial aceptable, comúnmente denominados "subproductos", no son consumidos por los humanos debido a una inadecuada textura (demasiado duros o demasiado blandos), contaminación por hongos (*Fusarium oxysporium*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*) e infestación por insectos, principalmente el picudo rojo (*Rhynchophorus ferrugineus*) que afecta la palma y el escarabajo de la corteza (*Coccotrypes dactiliperda*) que daña al fruto y semilla, o simplemente debido a su pobre

\*Autor para correspondencia: Armida Sánchez Escalante  
Correo electrónico: armida-sanchez@ciad.mx

Recibido: 07 de octubre de 2016

Aceptado: 04 de julio de 2017

calidad comercial, como es el caso de México, donde no se han presentado otros problemas (Shenasi *et al.*, 2002; Chao y Krueger, 2007; Besbes *et al.*, 2009). Lo anterior puede desencadenar problemas medioambientales, junto con una gran pérdida de materia prima (Ashraf y Hamidi-Esfahani, 2011).

En Sonora, la exportación del fruto de dátil es una de las principales actividades comerciales; sin embargo, entre el 20 y 30% de la producción se desaprovecha (Rodríguez-Carmona, 2012). Por décadas, los subproductos eran descartados o utilizados para la alimentación animal; no obstante esta tendencia ha venido disminuyendo debido a la evidencia científica reciente, la cual indica que los subproductos agrícolas son una excelente fuente de materia prima para la obtención de ingredientes potencialmente funcionales, así como una fuente promisoría para el desarrollo de nuevos ingredientes con alto valor nutricional (Galanakis, 2012).

A nivel mundial en los subproductos de dátil han sido identificados un número importante de compuestos con diferentes propiedades tecnológicas y farmacológicas como por ejemplo, fibra dietética, proteínas, ácidos orgánicos y compuestos fitoquímicos como fenoles, esteroides, carotenoides, antocianinas, procianidinas y flavonoides (Al-Farsi y Lee, 2008; Sánchez-Zapata *et al.*, 2011; Dayani *et al.*, 2012; Chandrasekaran y Bahkali, 2013; Habib *et al.*, 2013; Martín-Sánchez *et al.*, 2014a; Martín-Sánchez *et al.*, 2014b; Trigueros y Sendra, 2014; Mrabet *et al.*, 2015). Dichos compuestos, dependerán de factores como el origen geográfico de los dátiles, la variedad, el estado de maduración, las condiciones de almacenamiento y los procesos postcosecha utilizados (Amorós *et al.*, 2009; Al-Turki *et al.*, 2010).

Actualmente, el interés por los compuestos bioactivos en los alimentos ha aumentado considerablemente. El papel de las frutas en la prevención de las enfermedades ha sido atribuido, en gran medida, a las propiedades antioxidantes de sus componentes fitoquímicos incluyendo los flavonoides, fenilpropanoides y ácidos fenólicos; estos pueden captar radicales libres, los cuales están involucrados en la patogénesis de enfermedades incluyendo cáncer, diabetes tipo 2, hipertensión arterial, y enfermedades neurodegenerativas. Así, el desarrollo comercial de antioxidantes de origen vegetal, que puedan ser utilizados para mejorar las propiedades de los alimentos, tanto con el propósito nutricional como de preservación, son actualmente el interés central (Rice-Evans *et al.*, 1997).

La caracterización de los subproductos de dátil mexicano proveerá una base sólida para el conocimiento de los principales compuestos presentes en la matriz, para así establecer la factibilidad de su uso potencial como aditivo alimentario, ya que esta información es el primer reporte de las características químicas de los subproductos del dátil mexicano.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la utilización de diferentes métodos y solventes de extracción sobre el contenido fitoquímico y la capacidad antioxidante de extractos de subproductos de dátil producidos en el estado de Sonora.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de la fruta

El estudio fue realizado con dátiles no comerciales de la variedad Medjool, cosechados en octubre de 2015 en la región de Caborca, Sonora, en el noroeste de México. Caborca es una ciudad localizada en latitud 30°42' N; longitud 112°09' este; y a una elevación de 289 m sobre el nivel del mar. Para la investigación se colectaron 54 Kg de dátiles maduros (de calidad no comercial), los cuales posteriormente fueron limpiados y envasados en bolsas con 500 g; una vez que se deshuesaron se almacenaron a -20 °C durante 15 días hasta su posterior análisis.

### Composición química proximal de los subproductos de dátil

La composición química proximal se determinó por triplicado de acuerdo con la metodología de la AOAC (2000). El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso (método 934.06), proteína de acuerdo con el contenido de nitrógeno Kjeldahl (método 920.152), cenizas (método 940.26) y grasa mediante extracción continua por disolvente, Goldfish. El porcentaje de proteína cruda se estimó multiplicando el contenido de nitrógeno total por el factor 6.25. Los carbohidratos totales fueron calculados sustrayendo del porcentaje total del resto de las determinaciones. Los resultados del análisis de composición química proximal fueron expresados como gramos por 100 g de peso fresco.

### Obtención de extractos

Los extractos fueron obtenidos de acuerdo a las metodologías propuestas por Al-Farsi *et al.* (2005) y Martín-Sánchez *et al.* (2014a) con ligeras modificaciones. Las muestras de dátil (1 g) fueron homogenizadas en 10 mL de cada sistema de solvente, a decir: agua (100 %), etanol: agua (50:50, v/v), y acetona: agua (70:30, v/v). Los homogenizados fueron sometidos a dos diferentes procesos, 1) extracción asistida por ultrasonido durante 60 min, y 2) macerados durante 24 h en una placa con agitación; y centrifugados a 15,000 rpm durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante fue filtrado a través de papel filtro Whatman No. 1 y concentrado en un evaporador rotatorio (RE301, YAMATO) a 60 °C. Después, el extracto seco fue liofilizado y almacenado en ausencia de luz a -20 °C. Los extractos fueron identificados de acuerdo con el sistema solvente y método de extracción como se muestra en la Tabla 1.

### Contenido de fenoles y flavonoides totales

La concentración de fenoles totales (FT) fue determinada de acuerdo al método descrito por (Singleton y Rossi, 1965) utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Los extractos de dátil (10 µL) fueron mezclados con 40 µL del reactivo y 160 µL de agua destilada; posteriormente se adicionaron 60 µL de bicarbonato de sodio (5%) a la mezcla. Transcurrido 60 min de reposo a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un espectrofotómetro UV/VIS Multiskan™ GO (Thermo Scientific.), elaborándose una curva estándar de ácido gálico considerando seis diferentes concentraciones

**Tabla 1.** Identificación de extractos obtenidos a partir de subproductos de dátil de acuerdo al sistema de solvente y método de extracción.**Table 1.** Identification of extracts obtained from date fruit byproducts according to solvent system and extraction method.

Extracto	Método	*Solvente	Identificación**
Pulpa de dátil	EAU***	acetona:agua	DUA
		etanol:agua	DUE
		agua	DUW
	Maceración	acetona:agua	DMA
		etanol:agua	DME
		agua	DMW

\*Solventes: acetona:agua (70:30, v/v); etanol:agua (50:50, v/v); agua (100 v).

\*\*DUA: Dátil por ultrasonido con acetona:agua; DUE: Dátil por ultrasonido con etanol:agua; DUW: dátil por ultrasonido con agua; DMA: dátil por maceración con acetona:agua; DME: dátil por maceración con etanol:agua; DMW: dátil por maceración con agua.

\*\*\*EAU: extracción asistida por ultrasonido.

(0-1 mg/mL). Los resultados fueron expresados como equivalentes de ácido gálico mg/100 g de muestra.

El contenido de FlvT fue determinado con base en el método de Zhishen *et al.* (1999), con ligeras modificaciones. El extracto (100  $\mu$ L) fue mezclado con 430  $\mu$ L de nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) al 5 %, y mantenido en reposo durante 5 min. Luego del reposo fueron agregados 30  $\mu$ L de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) al 10 %, permaneciendo en reposo durante un min para que se llevara a cabo la reacción, posteriormente se adicionaron 440  $\mu$ L de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) 1M. De la mezcla de reacción previa, se tomaron por triplicado 150  $\mu$ L y la absorbancia fue medida a 496 nm con el uso de un espectrofotómetro UV/VIS Multiskan™ GO (Thermo Scientific), y obteniéndose una curva estándar con rutina, en la que se consideraron seis diferentes concentraciones (0-1 mg/mL). Los FlvT fueron expresados como equivalentes de rutina mg/100 g de muestra.

### Capacidad antioxidante

#### Inhibición del radical DPPH<sup>•</sup>

La actividad antiradical de las muestras, se basó en la actividad captadora del radical estable 1,1'-difenil-2-picrylhidrazil (DPPH). La prueba se realizó utilizando 100  $\mu$ L del extracto mezclado con 100  $\mu$ L del radical DPPH 300  $\mu$ M en etanol (después de que la absorbancia se ajustó de 0.9-1.0). La absorbancia fue medida a 517 nm después de 30 min a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad. El porcentaje de inhibición fue calculado con la fórmula  $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ , donde  $A_0$  corresponde a la absorbancia del control, y  $A_1$  a la absorbancia del extracto (Brand-Williams *et al.*, 1995).

### Poder reductor

El PR fue determinado en un volumen de 200  $\mu$ L de extracto (5 mg/mL), al cual se adicionaron 500  $\mu$ L de buffer de fosfato 50 mM (pH 6.6) y 500  $\mu$ L de ferricianuro de potasio (1 %). La mezcla fue incubada a 50 °C por 20 min; posteriormente se adicionaron 500  $\mu$ L de ácido tricloroacético (10 %). La mezcla anterior fue centrifugada a 5000 rpm por 10 min; del sobrenadante se tomaron 500  $\mu$ L y se mezclaron con 500  $\mu$ L de agua milliQ y 100  $\mu$ L de  $\text{FeCl}_3$  (1 %). Finalmente, se tomaron 100  $\mu$ L de la mezcla y la absorbancia se midió a 700 nm en un espectrofotómetro UV/VIS Multiskan™ GO (Thermo Scientific). La presencia de agentes reductores provoca la reducción del complejo  $\text{Fe}^{3+}$ /ferricianuro a la forma ferrosa, el cual es medido por el promedio de la formación de perlas de color azul de Prusia (Perl's Prussian). El incremento de la absorbancia en la mezcla de reacción indica un incremento del PR de la muestra (Kumaran y Karunakaran, 2007).

### Análisis estadístico

El análisis de los datos consistió en un modelo lineal GLM-ANOVA de dos vías a un nivel de probabilidad  $p < 0.05$ , utilizando el paquete estadístico NCSS (versión, 2011). Las variables independientes fueron el método y solvente de extracción y las variables dependientes fueron el contenido de fitoquímicos y actividad antioxidante. Cuando se encontraron diferencias significativas entre medias de las variables, se aplicó una prueba de Tukey-Kramer.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Composición química proximal

La composición química proximal de los subproductos de dátil se presenta en la Tabla 2. Los valores de humedad, grasa, proteína y cenizas fueron de  $28.44 \pm 0.18$ ,  $0.52 \pm 0.04$ ,  $2.56 \pm 0.05$ , y  $2.75 \pm 0.004$ , respectivamente. Estos valores coinciden con lo reportado por Besbes *et al.* (2009) para dátiles de segunda calidad cultivados en Túnez. Al comparar los resultados obtenidos en este estudio, con los parámetros químicos reportados para dátiles comerciales los valores son similares en algunos de los parámetros, como cenizas, proteína y carbohidratos totales (Al-Farsi y Lee, 2008; Martín-Sánchez *et al.*, 2014). Este mismo comportamiento se observó en el estudio realizado por Bebes *et al.* (2009).

**Tabla 2.** Composición química proximal de subproductos del fruto de dátil (g/100 g).**Table 2.** Proximate chemical composition of date fruit byproduct (g/100 g).

Componente	Composición del dátil (g/100 g, PF)*
Humedad	$28.44 \pm 0.18$
Grasa	$0.52 \pm 0.04$
Proteína	$2.56 \pm 0.05$
Cenizas	$2.75 \pm 0.004$
Carbohidratos totales	$65.17 \pm 1.03$

\*Promedios obtenidos de tres repeticiones.

\*Average of three replicates

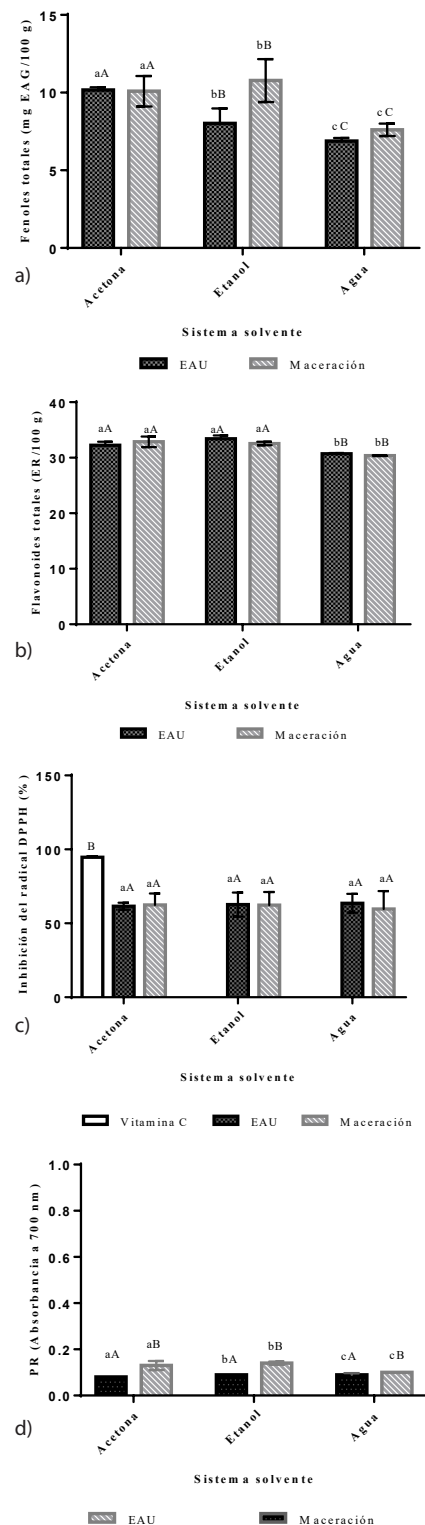
Lo anterior, puede atribuirse a que, durante el proceso de maduración de los frutos, ocurren cambios fisiológicos y bioquímicos que incluyen la biosíntesis y acumulación de componentes químicos. Específicamente en el fruto de dátil, se ha encontrado que, en la última etapa de maduración, Tamar (etapa que corresponde a los subproductos de nuestro estudio), el contenido de proteína incrementa debido a la actividad de enzimas, como es la celulasa y poligalacturonasa que incrementa rápidamente y juega un papel fundamental en la firmeza del fruto. El contenido de ceniza también es afectado a través de los estados de maduración, sin embargo, este se relaciona estrechamente con el origen geográfico del fruto. Si bien, el contenido de carbohidratos en el dátil comercial y subproducto no cambia, se ha encontrado que existen diferencias vitales en el contenido de la fracción glucídica, ya que durante la maduración del fruto se presenta un fuerte aumento en la actividad de la enzima invertasa que provoca la inversión de sacarosa en glucosa y fructosa. Sin embargo, factores extrínsecos tales como la región geográfica, las condiciones medioambientales y de suelo tienen un efecto sobre la composición química del fruto (Amira *et al.*, 2012).

### Fenoles totales

El contenido de FT en extractos de pulpa de dátil se presenta en la Figura 1 (a). Los valores encontrados oscilan en el rango de 7.30-10.78 mg de EAG/100 g de peso fresco (P.F), observándose un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) en la concentración por efecto del solvente. Los extractos acuosos presentaron los valores más bajos en esta determinación independientemente del método de extracción (7.30 mg de EAG/100 g P.F), sin embargo, entre los extractos etanólicos y cetónicos los cuales presentaron los valores más altos (10.78 mg EAG/100 g P.F) no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre solvente y método de extracción.

De acuerdo con Naczki y Shahidi (2004) y Wu *et al.* (2004) el método de extracción y solvente son factores que pueden influenciar dramáticamente el resultado final del contenido fitoquímico. Debido a su naturaleza química, los fenoles pueden presentarse como simples o altamente polimerizados como es el caso de los ácidos fenólicos, fenilpropanoides, antocianinas y taninos entre otros. Por lo tanto, su solubilidad está gobernada por el tipo de solvente (polaridad) utilizado, el grado de polimerización de los fenoles, así como la interacción de estos con otros constituyentes, formando complejos insolubles. Los solventes orgánicos; metanol, etanol, acetona y agua son comúnmente utilizados ya que tienen la capacidad de extraer compuestos tanto polares como no polares.

En nuestro estudio los valores encontrados para FT, son similares a lo reportado por Mansouri *et al.* (2005) quienes evaluaron siete variedades de dátiles maduros de Argelia, encontrando un contenido de 2.49-8.36 mg de eq de ácido ferúlico/100 g. Sin embargo, en dátiles secos de Omán se han reportado cantidades mayores, en el rango de 280 a 134 mg de eq de ácido ferúlico/100 g (Al-Farsi *et al.*, 2005) y aún mayores, de 1461 mg de EAG /100 g para la variedad Zaghlool (Mohamed y Al-Okbi, 2005). En la literatura se ha



**Figura 1.** Contenido de fenoles y flavonoides totales (a y b, respectivamente), actividad antioxidante utilizando el radical estable DPPH (c) y poder reductor (d) de extractos de pulpa de dátil. Letra mayúscula corresponde a las diferencias ( $p < 0.05$ ) entre métodos de extracción, letras minúsculas diferencias ( $p < 0.05$ ) entre solventes.

**Figure 1.** Total phenols and flavonoids (a and b, respectively), antioxidant activity DPPH (c), and reducing power (d) of date pulp extracts. Uppercase letters indicate differences ( $p < 0.05$ ) between extraction methods, lowercase letters indicate differences ( $p < 0.05$ ) between solvents.



establecido que existe un decremento en el contenido de fenoles, atribuido al estado de maduración del fruto; ya que a medida que esta avanza, biomoléculas de fenoles (como son taninos) disminuyen dramáticamente debido a la oxidación de fenoles por acción de la enzima polifenol oxidasa, que caracteriza el estado de maduración Tamar. Particularmente en la variedad Medjool, misma que se utilizó en este trabajo de investigación se han encontrado los cambios más drásticos (Awad *et al.*, 2011). La genética, estación del año cuando se realiza el cultivo, condiciones geográficas y medioambientales, así como las condiciones de crecimiento (i.e., clima, localización, temperatura, fertilización, exposición a plagas y enfermedades, etc.) impactan significativamente en el contenido de metabolitos secundarios; aunado al procedimiento analítico y los estándares químicos (Amorós *et al.*, 2009).

### Flavonoides totales

La concentración FlVT presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por efecto del sistema de solventes, pero no se presentaron ( $p > 0.05$ ) por efecto del método de extracción. Los valores oscilaron entre 30.39-33.4 mg de EqR/100 g de peso fresco. De acuerdo con Naczky y Shahidi (2004), los solventes orgánicos; metanol, etanol y agua o sus combinaciones son adecuados para su extracción. La extracción asistida por ultrasonido (EAU) fue un método eficiente para la extracción de FlVT en extractos de dátil. Del mismo modo que, se ha observado por otros investigadores que han obtenido estos compuestos de subproductos mediante esta metodología (Day *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2011; Pan *et al.*, 2012).

La EAU se ha propuesto como un método sencillo de operar, eficiente y de bajo costo, ya que provee una alta recuperación de compuestos de interés, con un bajo consumo de solvente y tiempos cortos, lo que posibilitan un rápido análisis de los compuestos bioactivos (Joana Gil-Chávez *et al.*, 2013). En el presente trabajo, se pudo constatar ya que el tiempo de la EAU (1 h) fue suficiente para extraer la misma concentración de FlVT comparado con 24 h para la extracción por maceración.

En la obtención de extractos de dátil, hasta nuestro conocimiento, no se ha empleado la EAU; sin embargo, si se ha reportado el contenido de FlVT utilizando el método de maceración, encontrándose que el estado de madurez del fruto impacta el contenido de estos compuestos. Martín-Sánchez *et al.* (2014a) reportaron valores de 874 mg EqR/100 g en la primera etapa de maduración (Kimri); mientras que el valor más bajo se ha encontrado en la última etapa de maduración (Tamar) 41.77 a 111.39 mg EC/100 g (Amira *et al.*, 2012), 54.46 EQ/100 g (Chaira *et al.*, 2009) 11.30, 14.70 y 17.10 mg EQ/100 g (Al-Humaid *et al.*, 2010), lo cual concuerda con nuestros resultados, ya que los extractos se obtuvieron a partir de dátiles en etapa de maduración Tamar.

Por otra parte, las condiciones ambientales (mayormente luz y temperatura) y el tipo de cultivar impactan en el contenido de FlVT, debido a que los flavonoides son particularmente conocidos por su efecto protector frente al estrés oxidativo generado por radiación UV (El Hadrami *et al.*, 2011). Específicamente en dátil, ya se han identificado diferentes tipos de flavonoides que incluyen flavonas, flavanonas

y flavanol glicósidos (Mansouri *et al.*, 2005). Hong *et al.* (2006) identificó 13 flavonoides glicosídicos de luteolina, quercetina y apigenina y 19 formas isoméricas. Lo anterior, podría estar relacionado al poder antioxidante, inmunoestimulante, antitumoral y tránsito gastrointestinal atribuido al dátil (Puri *et al.*, 2000; Ishurd y Kennedy, 2005; Biglari *et al.*, 2009). Por ello, subproductos con alto contenido de flavonoides podrían ser de gran interés para la industria de alimentos.

### DPPH

La actividad antioxidante (AA) evaluada mediante la inhibición del radical DPPH<sup>+</sup> en el presente estudio no muestra efecto ( $P > 0.05$ ) con respecto al método de extracción, pero si ( $P < 0.05$ ) respecto al tipo de solvente utilizado. La habilidad de los extractos de dátil para captar el radical DPPH<sup>+</sup> puede ser atribuida a la presencia de dos tipos de compuestos antioxidantes; (i) ácidos fenólicos que incluye al ácido *p*-cumárico, ferúlico, gálico, cafeico y sinápico, flavonoides y procianidinas y (ii) otros compuestos solubles en agua como oligoelementos (Al-Farsi *et al.*, 2007; Al-Farsi *et al.*, 2005). La estructura de estos compuestos, número y posición de sus grupos funcionales definirán el potencial antioxidante (Rice-Evans *et al.*, 1996; Lien *et al.*, 1999; Heim *et al.*, 2002).

Por otro lado, está descrito en la literatura que otros factores extrínsecos podrían impactar en la producción de metabolitos secundarios que confieren la AA como son las condiciones climáticas de la localidad, incluyendo las diferencias en la temperatura, estrés osmótico, disponibilidad de minerales, tipo de suelo, parámetros de fertilización y entrega de nutriente a la planta del fruto cultivado (El Hadrami *et al.*, 2011).

Para la variedad Medjool en etapa Tamar, que fue la utilizada en el presente trabajo, Awad *et al.* (2011) reportaron un decremento en los porcentajes de inhibición del radical DPPH<sup>+</sup>, de 85 % a 45 % durante las diferentes etapas de maduración del fruto, reportando el valor más bajo en la última etapa, Tamar. Los valores porcentuales de inhibición encontrados en el presente trabajo (59.7 % a 63.6 %) superan a lo reportado por este mismo autor (considerando que trabajamos con dátiles en etapa Tamar). En otras investigaciones se ha relacionado el estado de maduración del fruto, la región geográfica y el cultivar con la AA (Allaith, 2008; Saafi *et al.*, 2009; Awad *et al.*, 2011; Amira *et al.*, 2012), encontrándose la mayor expresión de AA en la etapa Kimri, debido al alto contenido de galotaninos y egalotaninos que a través del proceso de maduración son hidrolizados a ácido gálico y elálgico, y ácidos hidroxicinámicos que están presentes en toda las etapas de maduración, como es el caso del ácido cafeico y ferúlico.

Al comparar con el porcentaje de inhibición de los extractos bajo estudio con la Vitamina C, esta superó el porcentaje de inhibición de los extractos (94.65%), lo cual puede ser debido a que la inhibición del radical DPPH<sup>+</sup> es estequiométrica, y el ácido ascórbico tiene la habilidad de reducir dos moléculas del radical, diferente a algunos ácidos fenólicos (por ejemplo, cumárico y vanílico) presentes en los extractos de dátil que no alcanzan más del 75 % de inhibición del radical DPPH<sup>+</sup> (Brand-Williams *et al.*, 1995).

### Poder reductor

El daño oxidativo de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, que contribuye a la aparición de varias enfermedades cardiovasculares, cáncer, etc., es causado por las especies reactivas de oxígeno como es el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) (Kumaran y Karunakaran, 2007). Las propiedades reductoras son generalmente asociadas con la presencia de reductonas, las cuales tienen la capacidad de donar un electrón a un radical libre, convirtiéndolas en moléculas más estables (Kchaou *et al.*, 2013).

El PR de los extractos puede servir como un indicador del potencial antioxidante. En el presente trabajo, el PR de los extractos fue dependiente ( $p < 0.05$ ) tanto del solvente como del método de extracción utilizados, lo cual, concuerda con lo reportado por Kchaou *et al.* (2013) quienes encontraron que el PR es dependiente de la variedad del fruto y solvente utilizado, presentando el mayor PR la variedad Bejo,  $Abs_{700\text{nm}} = 1.24$  para acetona/agua (70:30, v/v) y  $Abs_{700\text{nm}} = 0.68$  para metanol/agua (50:50, v/v). Estos mismos autores, reportaron para la variedad Baydh El Hamam valores de PR de  $Abs_{700\text{nm}} = 0.32$  para acetona/agua (70:30, v/v) y  $Abs_{700\text{nm}} = 0.29$  para metanol/agua (50:50, v/v), valores que se relacionan con los encontrados en nuestro trabajo, ya que tanto el extracto etanol:agua (50:50, v/v) como acetona:agua (70:30, v/v) presentaron valores bajos,  $Abs_{700\text{nm}} = 0.19$  y  $Abs_{700\text{nm}} = 0.14$ , respectivamente.

Amira *et al.* (2012) encontraron que el PR presenta diferencias a través de los estados de maduración del fruto; así en la etapa Tamar encontraron una variedad importante de compuestos fenólicos que pudieran estar jugando un papel destacado en el PR, tal es el caso de los ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico y *p*-cumárico). Estos, exhiben alta AA, misma que puede ser debido al grupo  $CH=CH-COOH$  el cual presenta gran habilidad de donación de H- y estabilización de radicales libres, más que el grupo  $-COOH$  de los ácidos hidroxibenzoicos (Rice-Evans *et al.*, 1996; Balasundram *et al.*, 2006).

Lo anteriormente mencionado, refleja que las diferencias en los resultados entre estudios pueden ser explicadas debido a la diversidad de moléculas presentes en los extractos y el PR que ejerce cada uno de sus componentes fitoquímicos individualmente o en sinergia como se ha observado en otros estudios (Balasundram *et al.*, 2006; Palafox-Carlos *et al.*, 2012).

### CONCLUSIONES

La evaluación de dos métodos de extracción en la obtención de extractos de subproductos de dátil, así como el uso de diferentes sistemas de solventes, permitió conocer la eficiencia de los métodos para la obtención de compuestos con capacidad antioxidante. La extracción asistida por ultrasonido fue el método más adecuado, considerando el menor tiempo que es necesario para la extracción y los resultados de su evaluación. De los compuestos cuantificados, los FlvT fueron las moléculas más abundantes en los extractos de subproductos de dátil. Por lo que su aprovechamiento parece ser una alternativa viable para incluirlos en el diseño y elaboración de productos alimenticios con valor agregado.

Asimismo, su utilización podría ser una opción económicamente sostenible y sustentable para la cadena de producción de este fruto, particularmente en el estado de Sonora.

### REFERENCIAS

- Al-Farsi, M., C. Alasalvar, A. Morris, M. Baron, and F. Shahidi. 2005. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 7592-7599.
- Al-Farsi, M. A., and C. Y. Lee. 2008. Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 48: 877-887.
- Al-Humaid, A., H. Mousa, R. El-Mergawi, and A. Abdel-Salam. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of dates and dates-camel-milk mixtures as a protective meal against lipid peroxidation in rats. *American Journal of Food Technology* 5: 22-30.
- Al-Turki, S., M. A. Shahba, and C. Stushnoff. 2010. Diversity of antioxidant properties and phenolic content of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits as affected by cultivar and location. *J. Food Agric. Environ* 8: 253-260.
- Allaith, A. A. A. 2008. Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science & Technology* 43: 1033-1040.
- Amira, E. A. *et al.* 2012. Effects of the ripening stage on phenolic profile, phytochemical composition and antioxidant activity of date palm fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 10896-10902.
- Amorós, A. *et al.* 2009. Antioxidant and nutritional properties of date fruit from Elche grove as affected by maturation and phenotypic variability of date palm. *Food Science and Technology International* 15: 65-72.
- Ashraf, Z., and Z. Hamidi-Esfahani. 2011. Date and date processing: a review. *Food reviews international* 27: 101-133.
- Awad, M. A., A. D. Al-Qurashi, and S. A. Mohamed. 2011. Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae* 129: 688-693.
- Balasundram, N., K. Sundram, and S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry* 99: 191-203.
- Besbes, S., L. Drira, C. Blecker, C. Deroanne, and H. Attia. 2009. Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): Compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *Food Chemistry* 112: 406-411.
- Biglari, F., A. F. Alkarkhi, and A. M. Easa. 2009. Cluster analysis of antioxidant compounds in dates (*Phoenix dactylifera*): Effect of long-term cold storage. *Food chemistry* 112: 998-1001.
- Brand-Williams, W., M. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25-30.
- Chaira, N. *et al.* 2009. Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water-methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *International journal of food sciences and nutrition* 60: 316-329.
- Chandrasekaran, M., and A. H. Bahkali. 2013. Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit processing by-products and wastes using bioprocess technology—Review. *Saudi journal*

- of biological sciences 20: 105-120.
- Chao, C. T., and R. R. Krueger. 2007. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): overview of biology, uses, and cultivation. *HortScience* 42: 1077-1082.
- Chen, Y., H. Luo, A. Gao, and M. Zhu. 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seed by response surface methodology and their structural characteristics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 12: 305-309.
- Day, L., R. B. Seymour, K. F. Pitts, I. Konczak, and L. Lundin. 2009. Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science & Technology* 20: 388-395.
- Dayani, O., A. Khezri, and A. G. Moradi. 2012. Determination of nutritive value of date palm by-products using in vitro and in situ measurements. *Small Ruminant Research* 105: 122-125.
- El Hadrami, A., F. Daayf, and I. El Hadrami. 2011. Secondary metabolites of date palm *Date palm biotechnology*. p 653-674. Springer.
- Galanakis, C. M. 2012. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology* 26: 68-87.
- Habib, H. M., H. Kamal, W. H. Ibrahim, and A. S. Al Dhaheiri. 2013. Carotenoids, fat soluble vitamins and fatty acid profiles of 18 varieties of date seed oil. *Industrial Crops and Products* 42: 567-572.
- Heim, K. E., A. R. Tagliaferro, and D. J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry* 13: 572-584.
- Hong, Y. J., F. Tomas-Barberan, A. A. Kader, and A. E. Mitchell. 2006. The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet Noor dates (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 2405-2411.
- Ishurd, O., and J. F. Kennedy. 2005. The anti-cancer activity of polysaccharide prepared from Libyan dates (*Phoenix dactylifera* L.). *Carbohydrate Polymers* 59: 531-535.
- Joana Gil-Chávez, G. et al. 2013. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12: 5-23.
- Kchaou, W., F. Abbès, C. Blecker, H. Attia, and S. Besbes. 2013. Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products* 45: 262-269.
- Kumaran, A., and R. J. Karunakaran. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology* 40: 344-352.
- Lien, E. J., S. Ren, H.-H. Bui, and R. Wang. 1999. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 285-294.
- Mansouri, A., G. Embarek, E. Kokkalou, and P. Kefalas. 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89: 411-420.
- Martín-Sánchez, A. M. et al. 2014a. Phytochemicals in date co-products and their antioxidant activity. *Food Chemistry* 158: 513-520.
- Martín-Sánchez, A. M. et al. 2014b. Characterization of novel intermediate food products from Spanish date palm (*Phoenix dactylifera* L., cv. Confitera) co-products for industrial use. *Food Chemistry* 154: 269-275.
- Mohamed, D. A., and S. Y. Al-Okbi. 2005. In vitro evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Phoenix dactylifera* L. fruits as functional foods. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 101: 305-308.
- Mrabet, A. et al. 2015. Valorization of Tunisian secondary date varieties (*Phoenix dactylifera* L.) by hydrothermal treatments: new fiber concentrates with antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology* 60: 518-524.
- Naczki, M., and F. Shahidi. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 1054: 95-111.
- Palafox-Carlos, H. et al. 2012. Antioxidant interactions between major phenolic compounds found in 'Ataulfo' mango pulp: chlorogenic, gallic, protocatechuic and vanillic acids. *Molecules* 17: 12657-12664.
- Pan, G., G. Yu, C. Zhu, and J. Qiao. 2012. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS). *Ultrasonics Sonochemistry* 19: 486-490.
- Puri, A. et al. 2000. Immunostimulant activity of dry fruits and plant materials used in Indian traditional medical system for mothers after child birth and invalids. *Journal of ethnopharmacology* 71: 89-92.
- Rice-Evans, C., N. Miller, and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science* 2: 152-159.
- Rice-Evans, C. A., N. J. Miller, and G. Paganga. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine* 20: 933-956.
- Rodriguez-Carmona, P. I. 2012. Caracterización de dátil (*Phoenix dactylifera* L.) variedad medjool y su uso potencial como película comestible. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químico Biológicas.: 105.
- Saafi, E. B., A. El Arem, M. Issaoui, M. Hammami, and L. Achour. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit varieties grown in Tunisia. *International journal of food science & technology* 44: 2314-2319.
- Sánchez-Zapata, E. et al. 2011. Technological properties of date paste obtained from date by-products and its effect on the quality of a cooked meat product. *Food Research International* 44: 2401-2407.
- Shenasi, M., K. Aidoo, and A. Candlish. 2002. Microflora of date fruits and production of aflatoxins at various stages of maturation. *International Journal of Food Microbiology* 79: 113-119.
- Singleton, V., and J. A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Trigueros, L., and E. Sendra. 2014. Nutritional and antioxidant properties of date pastes and blanching water obtained from by-Products of Medjoul and Confitera cultivars. *Food Science and Technology* 2: 34-40.
- Vayalil, P. K. 2012. Date fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): an emerging medicinal food. *Critical reviews in food science and nutrition* 52: 249-271.
- Zhishen, J., T. Mengcheng, and W. Jianming. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.