

## Caracterización bromatológica y microbiológica de la cáscara de granada (*Punica granatum L.*) como fuente de ingredientes funcionales.

Maillard Berdeja K.V.<sup>a,\*</sup>, Pérez Chabela M.L.<sup>b</sup>, Ponce Alquicira E.<sup>b</sup>, Schettino Bermúdez B.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C. P. 04960, Ciudad de México.

<sup>b</sup> Unidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Departamento de Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Delegación, Iztapalapa, C.P. 09340, Ciudad de México. \* nut.maillard@gmail.com

### RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue conocer la composición bromatológica de la cáscara de la fruta de granada, en forma de harina, obtenida de la Central de Abastos de la Ciudad de México, así como su calidad microbiológica. Los resultados obtenidos muestran que la harina de cáscara de granada es un co-producto agroindustrial muy prometedor para ser usado como fuente de fibra dietética debido a su alto contenido (41.94%), además de poseer una nula carga microbiana debido, probablemente, a su alto contenido de polifenoles. Por lo que se espera pueda ser aprovechada como fuente de fibra e incluso como un agente antimicrobiano natural en la elaboración de diversos productos alimenticios..

### ABSTRACT:

The aim of this study was assess the bromatological composition of pomegranate peel powder, obtained from the Central de Abastos in Mexico City and its microbiological quality. The results showed that the pomegranate peel powder is a very promising agroindustrial co-product that can be employed as a source of dietary fiber due to its high content (41.94%), besides having a null microbial load, probably due to its high polyphenol content. Therefore, it can be used as a source of fiber and even as a natural antimicrobial agent in the production of diverse food products..

**Palabras clave:** composición bromatológica, calidad microbiológica, cáscara de granada, fibra dietética.

**Key words:** bromatological composition, microbiological quality, pomegranate peel powder, dietary fiber.

**Área:** Alimentos funcionales

### INTRODUCCIÓN

Hoy en día la elección de alimentos por parte de la población se lleva a cabo de una forma más racional, debido al conocimiento en torno a la alimentación y estilos de vida más saludables. Se ha pasado de conceptos tales como “nutrición adecuada” a conceptos como el de “nutrición óptima” (Olmedilla-Alonso & Jiménez-Colmenero, 2014) la cual tiene como objetivo maximizar las funciones de cada individuo, con el fin de garantizar su máximo bienestar, al tiempo que se reducen los riesgos de enfermedades a lo largo de la vida, principalmente aquellas relacionadas con la dieta.

La granada roja (*Punica granatum L.*) es el fruto del árbol llamado granado, de la familia de las Punináceas (Jurenka, 2008). Se ha utilizado durante siglos en muchas culturas para la prevención y el tratamiento de una gran cantidad de trastornos de la salud como inflamación, diabetes, diarrea, disentería, placa dental y para combatir infecciones intestinales y parásitos de la malaria (Ismail *et al.*, 2012), además de las semillas, suelen usarse las flores, la corteza, las raíces y las hojas (Medjakovic & Jungbauer, 2013). Actualmente existe un creciente y renovado interés por el fruto de la granada, debido a los probados efectos beneficiosos sobre la salud relacionados con su bioquímica, rica en taninos antioxidantes y flavonoides, beneficiosos para enfermedades crónicas como cáncer (Adhami *et al.*, 2009), síndrome metabólico (Medjakovic & Jungbauer, 2013), diabetes (Banihani *et al.*, 2013), obesidad (Al-Muammar & Khan, 2012), enfermedad cardíaca isquémica (Sumner *et al.*, 2005) y aterosclerosis (Fuhrman *et al.*, 2005), también se ha reportado su papel antiséptico (Shiban *et al.*, 2012) y antiinflamatorio (Ismail *et al.*, 2012). Su cáscara representa alrededor del 50% del peso de la fruta y se ha reportado que es la parte de la fruta con más concentración de compuestos fenólicos, beneficiosos para la salud (Akhtar *et al.*, 2015).

El objetivo de este trabajo es conocer la composición bromatológica de la harina de cáscara de granada, así como su calidad microbiológica con la finalidad de que pueda ser utilizada para la elaboración de alimentos más saludables o potencialmente funcionales para la población.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Elaboración de la harina de cáscara de granada**

El fruto de la granada se obtuvo de la Central de Abastos de la CDMX. La obtención de las cáscaras se realizó manualmente, para lo cual los frutos fueron lavados con agua y detergente comercial, se cortaron en cuatro partes y se procedió a quitar las cáscaras. Posteriormente se cortaron en trozos pequeños y secados en un secador a 65°C por espacio de 10-12 h. Las cáscaras fueron molidas en un procesador de alimentos (Osterizer) hasta que quedaron totalmente pulverizadas. Se almacenaron en recipientes herméticamente cerrados hasta su uso.

## **ANÁLISIS BROMATOLÓGICO**

### **Determinación de pH**

Se empleó el método oficial de prueba de la AOAC (945.10). Para ello, la muestra se homogenizó con agua destilada (1:9 p/v) para obtener el pH con un potenciómetro (50 pH meter, Beckman). La determinación se llevó a cabo por triplicado.

### **Determinación de cenizas totales y materia orgánica**

El porcentaje de cenizas se determinó de acuerdo con el método oficial de prueba 940.26 de la AOAC (1996). Se utilizaron crisoles a peso constante, dejándose enfriar en un desecador por 20 minutos, para posteriormente ser pesados en una balanza analítica. Se agregó 1 gramo de muestra seca en cada crisol y se colocaron en una mufla para incinerar entre 550-600°C, durante 2 horas y media. Después de transcurrido el tiempo se revisó que las cenizas tuvieran un color gris y se sacaron para ser colocadas en una estufa a 100°C por 15 minutos, posteriormente se dejaron enfriar los crisoles en un desecador por 15 minutos, se registró el peso y determinó el porcentaje de cenizas por diferencia de peso. La determinación se llevó a cabo por triplicado.

### **Determinación de extracto etéreo o grasa cruda**

Se pesaron 2 g de muestra seca en papel filtro el cual se metió en un cartucho de celulosa a peso constante, este se puso dentro del portacartucho y se colocó en la abrazadera del digestor de grasa Goldfisch. Al vaso Goldfisch, se le adicionó éter de petróleo aproximadamente a medio cuarto de su capacidad y se colocó en el digestor. Se tomó el tiempo de extracción durante 4 horas (iniciando en el momento de la ebullición) cuidando que el vaso mantuviera un nivel adecuado de éter. Transcurrido el tiempo, se retiró el portacartucho colocándose el dedal recuperador de éter, se colocó de nuevo el vaso en el digestor, con la finalidad de que se evaporará el éter y finalmente se colocó el vaso en el desecador para llevarlo al horno a 100°C durante 5 minutos y después al desecador durante 20 minutos. El vaso se pesó en balanza analítica y se registró el peso (AACC, 1995). La determinación se llevó a cabo por triplicado.

### **Determinación de Nitrógeno Total**

Se determinó por el método oficial de la AOAC, 920.53. Se pesó 1 g de muestra en papel copia y se depositó dentro del matraz Kjeldahl. Se adicionó aproximadamente 10 g de mezcla catalizadora (93 g de sulfato de sodio anhidro y 7 g de sulfato cúprico) y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se colocó el matraz en la parrilla del digestor hasta que la solución adquiriera un color verde transparente brillante y se dejó enfriar el matraz dentro de una campana de extracción para adicionarle 300 ml de agua destilada, tres gránulos de zinc e inmediatamente 100 ml de hidróxido de sodio al 33% y se colocó en el digestor. Por otro lado se colocaron 30 ml de ácido bórico al 4% en un matraz Erlenmeyer y 3 gotas del indicador de proteínas (0.2 g de verde de bromocresol y 0.1 g de rojo de metilo en alcohol hasta alcanzar un volumen de 100 ml), el cual se colocó en el tubo colector. Se destilaron 250 ml de la solución los cuales se destilaron con HCL al 0.1 N, hasta obtener color rosa claro. El porcentaje de proteína total se calculó usando como factor de conversión a proteínas 6.25. La determinación se llevó a cabo por triplicado.

### **Determinación de Fibra Dietética Total (FDT)**

Para la realización del procedimiento se usó el Kit de ensayo de Sigma- Aldrich USA. Para lo cual se pesó un gramo de muestra la cual se incubó a 95° C a pH 6.0 con  $\alpha$  amilasa estable al calor, por 15 minutos; posteriormente se incubó a 60 °C a pH de 7.5 con proteasa por 30 minutos y finalmente se realizó una incubación a pH de 4.5 con amiloglucosidasa por 30 minutos. Posterior a esto se adicionaron cuatro volúmenes de etanol. El residuo se filtró y se lavó con 3 volúmenes al 78% de etanol, dos volúmenes al 95% de etanol y finalmente con 2 volúmenes de acetona. Los residuos se secaron a 60°C y se determinó su peso (AOAC, 991.43). La determinación se llevó a cabo por duplicado.

### **ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

Se llevaron a cabo diluciones decimales ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ) con agua destilada. Cada determinación se llevó a cabo por duplicado.

#### **Cuenta estándar en placa**

La cuenta total en placa, se realizó usando como medio de cultivo Agar para métodos estándar, incubando a 35°C  $\pm$  2°C por 48  $\pm$  2 horas.

#### **Cuenta de microorganismos coliformes totales**

Se llevó a cabo usando como medio selectivo Agar rojo violeta bilis e incubando a 35°C aproximadamente por 24 h, esto de acuerdo a la NOM -113-SSA1-1994.

#### **Cuenta de mohos y levaduras**

Para su determinación se usó el medio de cultivo Agar papa-dextrosa incubándose a 25  $\pm$  1°C por cinco días, de acuerdo a la NOM-111-SSA1-1994.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis bromatológico**

Los resultados de pH y el análisis bromatológico de la harina de cáscara de granada son presentados en la Tabla 1. Se puede observar un valor de pH más bajo al reportado en cáscaras de otros frutos tales como tuna (5.22) o jícama (6.04), aunque mayor a frutas como piña (4.16) o manzana (4.40) (Chávez-Zepeda *et al.*, 2009). Para la cáscara de granada, Viuda-Martos *et al.* (2012) reporta un pH menor ( $4.31 \pm 0.01$ ) al encontrado en este trabajo.

Respecto al contenido de cenizas ( $3.50 \pm 0.01\%$ ) se obtuvieron valores menores a cáscaras como las de plátano ( $12.45 \pm 0.38$ ), papaya ( $10.22 \pm 0.05$ ), melón ( $5.03 \pm 0.80$ ) y naranja ( $5.17 \pm 0.98$ ), aunque mayores a los de mango ( $3.24 \pm 0.18$ ) y manzana ( $1.39 \pm 0.14$ ) (Feumba *et al.* 2016). Nuestros resultados coinciden con los valores reportados por Rowayshed *et al.* (2013) en cáscara de granada, los cuales muestran valores de 3.30%, no así con los de Feumba *et al.* (2016) quienes reportan valores más elevados ( $6.07 \pm 0.07\%$ ).

En cuanto al contenido de lípidos ( $0.97 \pm 0.04\%$ ) este es menor al reportado en cáscaras de frutos tales como melón ( $12.61 \pm 0.63$ ), papaya ( $5.47 \pm 0.67$ ), mango ( $4.72 \pm 0.55$ ) o manzana ( $9.96 \pm 1.52$ ) (Feumba *et al.* 2016). Nuestros resultados se asemejan con los reportados por Rowayshed *et al.* (2013) (1.73%), no así con los de Feumba *et al.* (2016) los cuales son reportados en valores más elevados ( $3.36 \pm 0.37\%$ ).

Por otra parte el contenido de proteínas ( $3.34 \pm 0.13$ ) encontrado en la cáscara de granada, se asemeja con lo reportado por Rowayshed *et al.* (2013) y Feumba *et al.* (2016) en sus respectivos trabajos ( $3.10$  y  $3.46 \pm 0.02$ ).

En relación al contenido de fibra dietética, se puede observar un alto contenido ( $41.94 \pm 0.01$ ), incluso mayor que las cáscaras de otras frutas como la de zanahoria (33.62%) pero menor a cáscaras como la de mango (44.02%), manzana (48.54%), plátano (49.90 %), jícama (56.06%), piña (62.54%) o tuna (64.15 %) (Chávez-Zepeda *et al.*, 2009). Así mismo, Viuda-Martos *et al.* (2012) reporta un valor de FD mayor para la cáscara de granada. ( $72.68 \pm 0.26$  g/100 g) que la encontrada en este estudio, lo que nos sugiere que la cáscara de granada puede llegar a contener altas cantidades de FD.

Las diferencias observadas en el análisis bromatológico y de pH pueden deberse a la variedad de la granada usada y la etapa de maduración al momento de los análisis. Happi Emaga *et al.* (2007) estudiaron las cáscaras de 6 variedades de plátano en 3 distintos estados de maduración, encontrando incrementos en grasa cruda y proteína según aumentaba el grado de madurez, caso similar en el contenido de cenizas las cuales podían permanecer estables o presentar un aumento. En el caso de la fibra dietética no observaron variaciones consistentes según el grado de maduración. Estos autores señalan que la variedad, estado de maduración, así como los factores geográficos pueden afectar la composición química de las cáscaras de plátano, por lo que creemos que estos factores también afectan la composición química de la cáscara de granada, sin embargo no se cuentan con estudios en esta cáscara que lo confirmen.

Tabla 1. Análisis bromatológico y pH de la harina de cáscara de granada (media  $\pm$  DE)

Cáscara de granada	media $\pm$ DE
pH	4.87 $\pm$ 0.13
Cenizas (%)	3.50 $\pm$ 0.01
Proteína (%)	3.34 $\pm$ 0.13
Lípidos (%)	0.97 $\pm$ 0.04
Fibra Dietética (%)	41.94 $\pm$ 0.01

### Análisis microbiológico

Los resultados del análisis para la determinación de la calidad microbiológica de la cáscara de granada se muestran en la Tabla 2. Como se observa, no hubo crecimiento de mesófilos y coliformes probablemente debido al pH ácido de la muestra el cual puede impedir el crecimiento de las bacterias al alterar su membrana plasmática o inhibir la actividad de enzimas y proteínas transportadoras de membrana (Willey *et al.*, 2008). Así mismo no se encontró crecimiento de mohos y levaduras, debido, posiblemente, a la presencia de compuestos fenólicos.

No se han llevado a cabo estudios evaluando la calidad microbiológica de la cáscara de granada sin embargo, Al-Zoreky (2009) evaluó la actividad antimicrobiana de extractos de cáscara de granada contra algunos patógenos transmitidos por los alimentos utilizando métodos tanto *in vitro* (difusión en agar) como *in situ* (alimento). Encontrando que el extracto metanólico al 80% fue un potente inhibidor de *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*. Así mismo la concentración mínima inhibitoria (CMI) de este extracto contra *Salmonella enteritidis* fue de 4 mg / ml, además de que disminuyó la concentración de *L. monocytogenes* en pescado almacenado a 4 ° C. Sus análisis fitoquímicos revelaron la presencia de inhibidores activos en las cáscaras, incluyendo compuestos fenólicos y flavonoides. Por otra parte Tehranifar *et al.*, (2011) evaluaron subproductos de granada (incluida la cáscara) como antifúngicos en tres hongos causantes de deterioro poscosechas (*Penicillium italicum*, *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*) *in vitro*. Los resultados demostraron que subproductos como la cáscara tienen un efecto inhibitorio sobre los hongos, debido al contenido de compuestos fenólicos presentes. Es así que los resultados de calidad microbiológica de la harina de cáscara de granada presentados aquí pueden ser explicados por el alto contenido de polifenoles que presenta y el pH ácido, los cuales inhiben el crecimiento de bacterias, mohos y levaduras.

Tabla 2. Determinación de mesófilos, coliformes totales y mohos y levaduras en cáscara de granada.

	UFC/g
Cuenta en placa (mesófilos)	< 100 valor estimado
Coliformes	< 100 valor estimado
Mohos y levaduras	< 10

### CONCLUSIÓN

En este estudio se ha encontrado que la cáscara de granada es una fuente importante de fibra dietética con muy buena calidad microbiológica (debido, posiblemente, al alto contenido de compuestos fenólicos que presenta) por lo que su utilización como fuente de ingredientes bioactivos en la elaboración de diversos productos alimenticios es una opción que debe ser considerada por estas industrias.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adhami, V. M., Khan, N., & Mukhtar, H. (2009). Cancer Chemoprevention by Pomegranate: Laboratory and Clinical Evidence. *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 61(6): 811-815.
- Akhtar, S., Ismail, T., Fraternali, D., & Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chemistry*, 174(Supplement C): 417-425.
- Al-Muammar, M. N., & Khan, F. (2012). Obesity: The preventive role of the pomegranate (*Punica granatum*). *Nutrition*, 28(6): 595-604.
- Al-Zoreky, N. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134: 244-248
- American Association of Cereal Chemists (AACC) (1995). Approved Methods of the AACC, 9th ed. AACC, St Paul, MN.
- AOAC (1996). Official methods of analysis. Association of Official Agricultural Chemists, 16ta ed. Washington D.C: AOAC Internacional
- Banihani, S., Swedan, S., & Alguraan, Z. (2013). Pomegranate and type 2 diabetes. *Nutrition Research*, 33(5): 341-348.
- Chavez-Zepeda, L.P., Cruz-Mendez, G., Gracia de Caza, L., Díaz Vela, J., Pérez Chabela, M.L. (2009). Utilización de subproductos agroindustriales como fuente de fibra para productos cárnicos. *NACAMEH* 3(2): 71-82
- Feumba Dibanda, R., Ashwini, R., & Ragu Sai, M. (2016). Chemical composition of some selected fruit peels. *European Journal of Food Science and Technology*, 4(4): 12-21.
- Fuhrman, B., Volkova, N., & Aviram, M. (2005). Pomegranate juice inhibits oxidized LDL uptake and cholesterol biosynthesis in macrophages. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(9): 570-576.
- Happi Emaga, T., Herinaivalona Andrianaivo, R., Wathélet, B., Tchango Tchango, J., Paquot, M. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry*, 103: 590-600.
- Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2): 397-405.
- Jurenka, J. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A review. *Alternative Medicine Review*, 13(2): 128-144.
- Medjakovic, S., & Jungbauer, A. (2013). Pomegranate: a fruit that ameliorates metabolic syndrome. *Food & Function*, 4(1): 19-39.
- NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Norma Oficial Mexicana. México.
- NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Norma Oficial Mexicana. México.
- Olmedilla-Alonso, B., & Jiménez-Colmenero, F. (2014). Alimentos cárnicos funcionales; desarrollo y evaluación de sus propiedades saludables. *Nutrición Hospitalaria*, 29(6): 1197-1209.
- Rowayshed, G., Salama, A., Abul-fadl, M., Akila-Hamza, S., & Emad, A. M. (2013). Nutritional and Chemical Evaluation for Pomegranate (*Punica granatum L.*) Fruit Peel and Seeds Powders By Products. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 3(4): 169-179.
- Shiban, M., Al-Otaibi, M., & S Al-Zoreky, N. (2012). Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Fruit Peels. *Food and Nutrition Sciences*, 3: 991-996

- Sumner, M. D., Elliott-eller, M., Weidner, G., Daubenmier, J. J., Chew, M. H., Marlin, Raisin C.J., Ornish, D. (2005). Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *American Journal of Cardiology*, 96(6): 810-814.
- Tehranifar A., Selahvarzi Y., Kharrazi m., Jahan Bakhsh V. (2011). High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum L.*) as the powerful antifungal and antioxidant substances. *Industrial Crops and Products*, 34 (3): 1523-1527
- Viuda- Martos, M., Sánchez Zapata, E., Martín Sánchez, A., Ruiz Navajas, Y., Fernández López, J., Sendra, E., Sayas Barbera, E., Navarro, C., Pérez Álvarez, J. (2012). Technological Properties of Pomegranate peel extract obtained as coproduct of juice processing. Capítulo 37. In. Dietary fiber and health. S. Cho & N. Almeida (Eds.). Estados Unidos: CRS Press, pp.443-452
- Willey J., Sherwood S., & Woolverton C., (2008). El crecimiento microbiano. En Microbiología de Prescott, Harley y Klein. Editado por Willey J., Sherwood S., & Woolverton C. España: Mc Graw Hill, pp. 134