

Evaluación fisicoquímica y fitoquímica de granada (*Punica granatum L.*)

Johanna Raga Carreño^{1*}, Zulay Mármol Pérez¹, Evelyn Pérez Pérez², Gisela Paéz¹ y
Karelen Araujo¹

¹Laboratorios de Tecnología de Alimentos y Fermentaciones Industriales.
Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela de Ingeniería Química,
Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia, Apartado 526.
Maracaibo 4001-A, estado Zulia, Venezuela.

johannaraga@gmail.com. * Autor de correspondencia.

²Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola-Corpozulia. Km 27 de la vía
hacia San Rafael de El Moján, Mara, estado Zulia, Venezuela 4044.

evelyncpp@gmail.com

Recibido: 16-12-2014 Aceptado: 14-04-2015

Resumen

La granada (*Punica granatum L.*) es un rubro mundialmente reconocido por sus excelentes propiedades antioxidantes debido a la variada gama de compuestos bioactivos que posee. Sin embargo, en Venezuela existe poca información sobre este frutal, sobre todo en lo referente a su potencial como fuente antioxidante, lo que indica que se está subvalorando un cultivo atractivo que podría permitir la apertura de otros mercados comerciales. Con el fin de conocer las características de nuestros materiales y determinar si son competitivos con los materiales de las regiones productoras y exportadoras se consideró necesario evaluar las propiedades físico y fitoquímicas de granada. Esas propiedades incluyeron acidez iónica (3,54), acidez titulable (0,55 g ácido cítrico·100⁻¹ mL), sólidos solubles totales (13,3°Bx), vitamina C (10,45 mg ácido ascórbico·100⁻¹ mL), azúcares reductores (13,32g·100 mL⁻¹), contenido de polifenoles (147,14 mg·ácido gálico·100 mL⁻¹), flavonoides totales (22,28 mg catequina·100 mL⁻¹) y capacidad antioxidante (54,61 mg·ácido gálico·100 mL⁻¹). Los resultados demuestran que este rubro presenta propiedades físico y fitoquímicas dentro del rango encontrados para aquellos propios de zonas productoras por excelencia.

Palabras clave: *Punica granatum L.*, polifenoles, flavonoides, fitoquímicos, compuestos bioactivos

Evaluation of physical and phytochemical properties of the granada (*Punica granatum L.*)

Abstract

The Granada (*Punica granatum L.*) is an item recognized worldwide for its excellent antioxidant properties due to the wide range of bioactive compounds possessing. However, in Venezuela there is little information on this fruit, especially with regard to its potential as an antioxidant source, which indicates that you are underestimating an attractive crop that could allow opening in other commercial markets. In order to know the characteristics of our materials and determine whether they are competitive with materials producing and exporting regions was considered necessary to evaluate the physical and phytochemical properties of Granada. These properties included ion acidity (3.54), titratable acidity (0.55g citric acid·100⁻¹ mL), total soluble solids (13.3 °Bx), vitamin C (ascorbic

acid 10.45 mg·100⁻¹ mL), reducing sugars (13.32g·100 mL⁻¹), polyphenol content (147.14 mg gallic acid·100 mL⁻¹), total flavonoids (22.28 mg catechin·100 mL⁻¹) and antioxidant capacity (54.61 mg gallic acid·100 mL⁻¹). The results demonstrate that this item presents physical and phytochemical properties inside the range found for those own of producing excellent zones.

Key words: *Punica granatum* L, polyphenols, flavonoids, phytochemicals, bioactive compounds

Introducción

La granada (*Punica granatum* L.) es un rubro milenario al cual se le atribuyen excelentes propiedades sensoriales y antioxidantes, además de destacada actividad biológica con efecto antibacteriano, antiviral, anticancerígeno, antimutagénico, entre otros, por lo que es ampliamente usada en la medicina popular para el tratamiento de enfermedades de diferente índole [1-3].

La granada se consume fresca, es dulce, con ligera acidez y agradable. La parte comestible corresponde a un 50% del peso total del fruto, 40% corresponde a los arilos y 10% semillas. Los arilos contienen 85% de agua, 10% de azúcares totales (fructosa y glucosa) y 1,5% de pectina, ácidos orgánicos (ácido ascórbico, cítrico, málico), vitaminas, minerales y compuestos bioactivos o fitoquímicos. Estos últimos son los responsables de la excelente actividad biológica que presenta este rubro [1, 4, 5].

El granado es un frutal con agradables propiedades sensoriales y es una excelente fuente de vitamina C y E. Estas bondadosas características ha permitido la apertura de un nuevo mercado en la producción de diversos productos a partir del frutal como: jugos, néctares, tés, suplementos alimenticios, vinos, licores, píldoras, cremas faciales y aceites corporales [6]. Sin embargo, en Venezuela no se ha tecnificado este cultivo debido a la escasa información existente sobre este rubro. Considerando las bondades anteriormente expuestas se observa con preocupación que se está subvalorando un cultivo promisorio el cual podría permitir la apertura de otros mercados comerciales.

Esta investigación presenta la evaluación fisicoquímica y fitoquímica de la parte comestible (arilos) de la granada. Esta información permitirá darle valor agregado al fruto para determinar si es una buena fuente de compuestos bioactivos. Esto permitirá promover la importancia de activar la producción de granada para conectarlo a la agroindustria, y generar empleos, producir productos alimenticios, cosméticos, entre otros.

Parte Experimental

Material vegetal.

Para el desarrollo de esta investigación se emplearon frutos de granada (*Punica granatum* L.) suministrados por el Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESIS-Apícola) ubicado en el municipio Mara del Edo. Zulia, kilómetro 27 de la carretera a San Rafael del Moján, sector El Caimito. Los frutos fueron cosechados al alcanzar la madurez fisiológica, lo cual correspondió al índice sensorial: color de la cáscara, en el período Diciembre 2013-Enero 2014.

Procesamiento de las muestras de granada

Los frutos de granada al ser cosechados, se almacenaron en el laboratorio de postcosecha por unas horas para eliminar el calor campo. Las granadas con defectos mecánicos (quemaduras, roturas, magulladuras y cortes en la cáscara) y fitosanitarios fueron descartadas. Posteriormente fueron lavados con agua de chorro y desinfectados con una solución clorada y finalmente, enjuagados con agua destilada.

Posteriormente, los frutos se partieron y separó de forma manual la cáscara de los arilos. Los arilos fueron colocados en un procesador para obtener el jugo, el cual fue filtrado a través de gasa para eliminar las partículas suspendidas. Al jugo filtrado de granada se le determinó acidez iónica (pH), aci-

dez titulable, vitamina C, sólidos solubles totales (°Brix), azúcares reductores, polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante.

Parámetros fisicoquímicos.

El peso de las frutas frescas fue determinado en una balanza digital (Ohaus) con una precisión de 0,01g.

La acidez iónica fue medida en la muestra homogeneizada y filtrada empleando pHmetro (Termo, Orion 3 star), COVENIN 1315-79 [7].

Los sólidos solubles totales se determinaron con un refractómetro (Baush & Lomb) a 20°C, usando agua destilada para calibrar. COVENIN 924-83 [8]. Los resultados fueron expresados en °Brix.

La determinación de la Vitamina C se realizó aplicando la norma COVENIN 1295-82 [9] y se expresó en mg ácido ascórbico por 100 mL de muestra.

Para la acidez titulable se siguió el procedimiento descrito por Akbarpour *et al.* [1]. Para ello, 1mL de zumo de granada se transfirió a un balón volumétrico de 25 mL y se aforó con agua destilada previamente hervida. Seguidamente, se valoró potenciométricamente con solución de hidróxido de sodio 0,1 N estandarizada. Los resultados fueron expresados en g ácido cítrico por 100 mL jugo

La determinación de azúcares reductores se basó en el método propuesto por Miller [10]. Este método colorimétrico se basa en el uso del reactivo DNS, la cuantificación se hace espectrofotométricamente a una longitud de onda de 550 nm y cuya curva de calibrado se construye a partir de una solución patrón de glucosa. Para la cuantificación fue necesario hacer una dilución en agua 1:101 v/v. Los resultados fueron expresados en gramos por 100 mL jugo.

Parámetros fitoquímicos.

La determinación de polifenoles se basó en el método reportado por Floegel *et al.* [11], basado en el método descrito por Singleton y Rossi [12] con algunas modificaciones. Para ello, una alícuota del jugo diluido en una relación 1:11 (v/v) en agua, se añadió a un balón volumétrico, el cual contenía un volumen medido de agua, seguidamente se añadió 1mL del reactivo de Folin- Ciocalteu. Después de 5 min, se agregó 10 mL de carbonato de sodio (7g/100 mL) y se aforó hasta 25 mL. La muestra se almacenó en oscuridad a temperatura ambiente por 1,5 h. La absorbancia de la muestra se midió a una longitud de onda de 750 nm. La concentración de polifenoles se calculó a través de la curva estándar de ácido gálico. El contenido de polifenoles del material vegetal se expresó en mg equivalente de ácido gálico (GAE)·100 mL⁻¹ de jugo.

El contenido de Flavonoides se determinó de acuerdo al método colorimétrico reportado por Floegel *et al.* [11], modificado. Una alícuota del jugo diluida en una relación 1:11 (v/v) en agua, se transfirió a un balón volumétrico, el cual contenía un volumen medido de H₂O destilada. A tiempo cero, se agregó 0,3 mL de una solución de NaNO₂ (5% m/v). Después de 5 min., se añadió 0,3 mL de AlCl₃ (10% m/v). A los 6 min., se agregó 2 mL de NaOH 1 M y se aforó hasta 10 mL. Inmediatamente, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm. La concentración de flavonoides totales en la muestra se calculó a través de la curva estándar de catequina. El contenido de flavonoides totales del material vegetal se expresó en mg equivalente de catequina (CE)·100 mL⁻¹ de jugo.

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método del catión-radical ABTS^{•+} [ácido 2,2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)] reportado por Miller *et al.* [13]. El catión ABTS^{•+} se generó químicamente por la reacción de una solución de ABTS 7mM con una solución de persulfato de potasio 2,45 mM, ambas soluciones en una proporción 1:1 (v/v), por un periodo de incubación de 16h, en oscuridad y a temperatura ambiente (± 25°C). Posterior a la formación del radical ABTS^{•+}, esta se

diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia de $0,6-0,70 \pm 0,02$ a 750 nm (longitud de onda de máxima absorción). Esta absorbancia del ABTS corresponde a (Abs radical) t_{0min} , seguidamente, se añadió 20 μ L del jugo diluido en una relación 1:26 (v/v) en agua y se dejó reaccionar por 5 min. en oscuridad para proceder a la lectura espectrofotométrica (Abs radical + antioxidante) t_{5min} . [14]. La capacidad antioxidante se calculó a través de la curva estándar de ácido gálico. La capacidad antioxidante del material vegetal se expresó en mg equivalente de ácido gálico (GAE) $\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ de jugo.

La precisión analítica de todas las determinaciones se evaluó a través de las desviaciones estándares relativas (DER) para un total de tres repeticiones por muestra.

Resultados y Discusión de Resultados

Parámetros físicos

La Tabla 1 presenta los parámetros físicos de los frutos de granada, donde se observa un contenido de arilos de aproximadamente 50%, valor que se encuentra dentro del rango reportado por Akbarpour et al. [1]. Estos investigadores evaluaron 12 cultivares de granada obtenidos de diferentes regiones de Irán, encontrando un rango de 46,30-72,06% en el contenido de arilos. Por otra parte, este valor concuerda con el reportado por Viuda-Martos et al. [4], donde la parte comestible corresponde al 50% del masa total de la fruta y consiste de 40% arilos y 10% semillas.

Tabla 1. Parámetros físicos de los frutos de granada.

Porcentaje Humedad de cáscara (%)	66,53
Cáscara fresca (%)	39,52
Porcentaje de arilos (%)	49,66
Porcentaje de semilla (%)	11,12

Por otra parte, se encontró un contenido de semilla de aproximadamente 10%, valor que se encuentra dentro del rango reportado por Akbarpour et al. [1], el cual oscila entre 7,67-21,57%.

En cuanto al contenido de cáscara fresca se obtuvo un valor de aproximadamente 40%, valor similar al reportado por Akbarpour et al. [1] y Ventura et al. [15]. Por su parte, en las cáscaras de los frutos se obtuvo un promedio de 66,53% de humedad. El contenido de cáscara fresca indica que casi la mitad del peso del fruto corresponde a la cáscara, por lo tanto, se deben buscar alternativas para obtener un aprovechamiento de este recurso vegetal que pudiera constituirse en un subproducto agroindustrial que se puede caracterizar fitoquímicamente y de esta manera darle valor agregado, ya que su no adecuada disposición podría representar un problema ambiental.

Parámetros fisicoquímicos

En nuestro país lamentablemente no tenemos tecnificado el cultivo de granada, lo cual indica, considerando las bondades anteriormente expuestas que se esta subvalorando un cultivo promisorio. A continuación se presenta la Tabla 2, donde se muestran los parámetros químicos del fruto de granada.

Acidez iónica (pH)

El valor promedio de pH fue 3,54, el cual se encuentra dentro del rango 2,75-4,14 reportado por Akbarpour et al. [1]. Este valor de pH corresponde al gusto ácido de la fruta. En cuanto a este parámetro, Ozgen et al. [16] obtuvieron un rango de pH entre 2,98 y 3,68 al evaluar seis diferentes cultivares en la región Mediterránea de Turkia.

Tabla 2. Parámetros químicos y fitoquímicos de la parte comestible del fruto de granada.

pH	3,54±1,12
SST	13,3±0,75
Acidez titulable (g AC100 ⁻¹ mL)	0,55±2,0
Relación SST/acidez titulable	24,18
Vitamina C (mg AA·100 ⁻¹ mL)	10,45±7,73
Azúcares reductores (g·100mL ⁻¹)	13,32±2,04
Polifenoles totales (mg·AG100mL ⁻¹)	147,14±1,94
Flavonoides totales (mg CAT·100mL ⁻¹)	22,28±3,96
Capacidad antioxidante (mg·AG100mL ⁻¹)	54,61±6,2
%Inhibición ABTS	34,86

SST sólidos solubles totales, AC ácido cítrico, AA ácido ascórbico, AG ácido gálico, CAT catequina

Sólidos solubles totales SST

En la caracterización del jugo de granada se obtuvo un valor de sólidos solubles totales ligeramente superior a 13°Bx, valor cercano al reportado por Mercado *et al.* [17] para granada criolla de Apaseo, donde encontraron un rango de SST de 14-16°Bx. Por su parte, Ozgen *et al.* [16] evaluaron seis cultivares de granada, los rangos oscilaron entre 14,7 y 19,9°Bx

Vitamina C

El valor promedio de vitamina C encontrado en el material evaluado fue 10,45 mg AA·100 mL⁻¹, valor ligeramente superior al reportado por Akbarpour *et al.* [1] para el cultivar “Shishe-Kap” (9,68mg AA·100⁻¹ mL) e inferior que el obtenido para el cultivar “Tabrizi” (17,45 mg AA·100⁻¹ mL). Sin embargo, el contenido de ácido ascórbico encontrado en esta investigación (0,010g AA·100 mL⁻¹) es semejante al reportado por Ozgen *et al.* [16] para el cultivar “Tatli”, el cual presentó un contenido de ácido ascórbico de 0,016 g AA·100 mL⁻¹.

Acidez titulable

La acidez titulable encontrada en el jugo de granada fue de aproximadamente 0,55%. Las variedades de granada según la acidez del jugo (expresado como ácido cítrico) y de acuerdo a los Descriptores de Mars reportado por Melgarejo *et al.* [19] se clasifican en las categorías dulce, agridulce y ácida. Las variedades dulces con una acidez menor a 0,9% se destinan principalmente para consumo en fresco. En la categoría agridulce, las variedades que presentan una acidez entre 1 y 2%, son utilizadas para la producción de bebidas refrescantes y las variedades que pertenecen a la categoría de frutos ácidos, presentan una acidez mayor al 2% suelen ser empleados en la agroindustria para la extracción de ácido cítrico. En función de esto, el material vegetal analizado en esta investigación se encuentra de la categoría dulce.

Por su parte, Ozgen *et al.* [16] reportaron en seis cultivares de granada valores de acidez titulable entre 0,5-3,8% de ácido cítrico, por lo tanto, estos cultivares ofrecen arilos agrios, agridulce y dulces. Estos investigadores reportaron un contenido de ácido cítrico correspondiente al 92,2% de los ácidos totales, seguido del ácido málico con un 6,2% y 1,7% corresponde al ácido ascórbico. Como se observa el ácido cítrico es el ácido que se encuentra naturalmente en mayor proporción en la granada. Por otro lado, este rubro no se puede considerar una rica fuente de vitamina C ya que su contenido de ácido ascórbico es bajo.

Relación sólidos solubles/acidez

La relación sólidos solubles/acidez titulable es usada para identificar la calidad de las frutas y jugos, ya que define el sabor “taste” de la fruta. Melgarejo et al. [19] estableció una clasificación de tres categorías según el valor de la relación sólidos solubles/acidez: variedades dulces, agridulces y agrias. Las variedades dulces, son aquellas que se encuentran en el rango de sólidos solubles/acidez de 31-98; las variedades agridulces, entre 17-14 y de 5-7 para las variedades agrias o ácidas.

En este sentido, Shwartz et al. [20] evaluaron los cambios fisicoquímicos durante el proceso de maduración de dos variedades de granada locales en Israel denominadas Rosh-Hapered y Wonderful. Ellos observaron que durante el proceso de maduración los sólidos solubles totales tienden a aumentar y la acidez titulable (expresada en % de ácido cítrico) tiende a disminuir, reportando valores de 8,8 a 25 en la primera semana del proceso de maduración y valores de 32 al final de la maduración. Por otra parte, Akbarpour et al. [1] reportan un rango entre 5,57 y 50,24 para los diferentes materiales evaluados.

Ozgen et al. [16] clasifican al material “Tatli” como dulce ya que posee una relación SST/acidez titulable de 29,4. El material vegetal evaluado en esta investigación presentó una relación de 24,18. Esto demuestra que nuestro material se encuentra dentro de los estándares de sabor dulce reportado en las regiones potencialmente productoras y exportadoras de granada.

Azúcares reductores

La granada presentó una concentración de azúcares reductores de 13,02 g glucosa·100 mL⁻¹. Akbarpour et al. [1] reportaron un contenido de azúcares reductores entre 13,89 g·100 mL⁻¹ para el cultivar “Abdandan” y 29,83g·100 mL⁻¹ para el “Naderi”. Comparando el contenido de azúcares reductores obtenido en esta investigación con el reportado por Akbarpour et al. [1], se observa que el material vegetal evaluado se encuentra cercano al rango. Así mismo, Ozgen et al. [16] reportaron un valor de 13,2 g azúcares reductores·100 mL⁻¹, valor muy cercano al encontrado en esta investigación.

Parámetros fitoquímicos

Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales obtenido en el jugo de arilos de granada fue 147,14 mg·AG·100mL⁻¹ o 1471,4 mg AG·L⁻¹. Sin embargo, Tezcan et al. [21] evaluaron siete jugos de granada comerciales, encontrando contenidos de polifenoles de 2602-10086 mg AG·L⁻¹. Como se observa, el contenido polifenoles en este trabajo está por debajo del rango reportado por Tezcan et al. [21], esto puede deberse a que a nivel industrial el jugo de granada se extrae de la fruta entera, es decir, cáscara y arilos, por lo tanto, el contenido de polifenoles aumenta ya que la cáscara de granada posee una concentración de polifenoles diez veces más alta a la reportada para pulpa de granada, según lo reporta Li et al. [22] Tzulker et al. [23] y Çam et al. [24].

Por otro lado, Ozgen et al. [16] reportaron una rango de concentraciones de polifenoles de 1245-2076 mg AG·L⁻¹ para jugo fresco de arilos de granada pertenecientes a seis cultivares de la región Mediterránea de Turquía; observándose que el material vegetal evaluado en esta investigación se encuentra dentro del rango de concentraciones reportado por Ozgen et al. [16].

Flavonoides totales

Las frutas y las hortalizas son fuentes ricas en vitaminas, minerales, fibra y fitoquímicos (compuestos bioactivos no nutrientes). Aunque en general todos estos componentes trabajan en forma conjunta para producir algún beneficio, los fitoquímicos, tales como los flavonoides han atraído gran interés

para los productores de alimentos procesados y las industrias cosméticas y farmacéuticas debido a sus características antioxidantes [25].

Los flavonoides se encuentran en todas las plantas, pero están localizados principalmente en las vacuolas de las células de la piel de frutas y hortalizas, aportando parte del sabor y del color; la mayoría son solubles en agua y no son sintetizados por el cuerpo humano ni producidos sintéticamente [25].

El jugo de granada arrojó una concentración de flavonoides totales de 22,28 mg CAT·100 mL de jugo, lo cual representa aproximadamente un 15% del contenido de polifenoles totales. El restante porcentaje de polifenoles se debe a la diversa gama de compuestos de naturaleza fenólica presente en la granada, entre los que se puede mencionar los isómeros de punicalagina, taninos, derivados del ácido eláxico, proantocianidinas y antocianinas [4].

Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante obtenida en el jugo de arilos de granada fue 54,61 mg AG·100mL⁻¹, arrojando un porcentaje de inhibición 34,86%. Por su parte, Tabaraki *et al.* [18] encontraron un porcentaje de inhibición del radical DPPH entre 60,12 y 83,52% para extractos etanólicos-acuosos de cáscaras de granada secas. En esta investigación, el porcentaje de inhibición no resulta bajo al ser comparado con los resultados obtenidos por Tabaraki *et al.* [18] debido a que esta diferencia se debe principalmente a la composición fitoquímica del material vegetal estudiado. En este sentido, Tzulker *et al.* [23] compararon la capacidad antioxidante del jugo de arilos frescos con el jugo de arilos extraídos de la fruta completa, encontrando que la capacidad antioxidante de este último fue más elevada (de 2 a 20 veces más alta) debido a que la cáscara de granada posee punicalagina, la cual exhibe alta actividad antioxidante.

Por otro lado, Tezcan *et al.* [21], encontraron porcentajes de inhibición del DPPH entre 25,19 y 67,46% en diferentes jugos comerciales de granada. Como se puede observar el porcentaje de inhibición obtenido en el jugo de granada evaluado en esta investigación se encuentra dentro del rango reportado por estos investigadores. Es necesario destacar que los valores de inhibición que arrojan los diferentes métodos de determinación de capacidad antioxidante pueden sobre o subvalorar ligeramente la medición debido a las diferencias propias de cada método, por lo cual, es conveniente comparar valores basados en el mismo método de determinación.

La actividad antioxidante de la granada puede estar relacionada a los diversos compuestos fenólicos presentes entre estos destacan, isómeros de punicalagina, derivados de ácido eláxico y antocianinas (delfina, cianidina y pelargonidina). Estos compuestos son conocidos por sus propiedades para neutralizar radicales libres y para inhibir la oxidación lipídica *in vitro* [4].

Conclusiones

Las variables fisicoquímicas determinadas pH (3,54), acidez titulable (0,55 g ácido cítrico ·100⁻¹ mL), sólidos solubles totales (13,3°Bx), azúcares reductores (13,32g·100 mL⁻¹) y vitamina C (10,45 mg ácido ascorbico·100⁻¹ mL) demuestran que los materiales cultivados en esta zona geográfica exhiben excelentes atributos organolépticos al ser comparado con los materiales de los países productores y exportadores del rubro, lo cual, permite asegurar que es un cultivo promisorio para ser explotado y activar la manufactura de productos alimenticios, cosméticos y farmacológicos a partir del mismo. La caracterización fitoquímica; contenido de polifenoles (147,14 mg·ácido gálico·100 mL⁻¹), flavonoides totales (22,28 mg catequina·100mL⁻¹) y capacidad antioxidante (54,61 mg·ácido gálico·100 mL⁻¹) permite enfatizar que la granada es una rica fuente de nutrientes y compuestos bioactivos beneficiosos para la salud. Razón por la cual, se debe promocionar las bondades que ofrece esta fruta.

Agradecimientos

Se agradece al Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola y Apícola (CESIS-Apícola) de CORPOZULIA por el apoyo prestado a esta investigación.

Referencias bibliográficas

1. Akbarpour V., Hemmati K. y Sharifani M. Physical and chemical properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit in maturation stage. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, Vol. 6, N° 4, (2009), 411-416.
2. Corao-Méndez G., García M., Rondón M., Borges L. y Cova J. Cambios histológicos en la piel de ratones expuestos al pericarpio de la granada. *Rev. Fac. Farm.* Vol. 51, N° 1, (2009), 15-19.
3. Rodríguez Chanfrau J., González M. y López Armas M. Desarrollo de un proceso tecnológico a escala de laboratorio para la extracción de polifenoles totales del fruto de la *Punica granatum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* Vol. 47, N° 2, (2013), 252-263.
4. Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Sendra E., Sayas-Barberá E. y Pérez-Álvarez J. Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. *Food Research International*, Vol. 44, (2011), 1217-1223.
5. Martínez-Ramírez A., Contreras-Esquivel J. y Belares-Cerda R. Extracción de polifenoles asistida por microondas a partir de *Punica granatum* L. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila.* Vol. 2, N° 4, (2010).
6. De la Cruz Quiroz R., Rodríguez R., Contreras J., Aguilar C., Aguilera-Carbó A. y Prado L. La granada: fuente de potentes agentes bioactivos. *CIENCIACIERTA.* Vol. 7, N° 25 (2011).
7. COVENIN Norma Venezolana, Alimentos, Determinación del pH (acidez iónica). (1979) 1315-79.
8. COVENIN Norma Venezolana, Primera revisión. Frutas y productos derivados. Determinación de sólidos solubles por refractometría. (1984) 924-83.
9. COVENIN Norma Venezolana. Primera revisión. Alimentos. Determinación de ácido ascórbico (vitamina C). (1982) 1295-82.
10. Miller G. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, Vol. 31, N° 3, (1959), 426-428.
11. Floegel A., Kim D., Chung S., Koo S. y Chun O. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J. Food Compos. Anal.* Vol. 24, (2011), 1043-1048.
12. Singleton V. y Rossi J. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* Vol. 16, (1965), 144-158.
13. Miller, N., Rice-Evans, C., Dvis M., Gopinathan V. y Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* Vol. 84, (1993), 407-412.
14. Kim D., Seung W. y Chang L. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.* Vol. 81, (2003), 321-326.
15. Ventura J., Alarcón-Aguilar F., Roman-Ramos R., Campos-Sepulveda E., Reyes-Vega M., Boone-Villa V. D., Jasso-Villagómez E. y Aguilar C. Quality and antioxidant properties of a reduced-sugar pomegranate juice jelly with an aqueous extract of pomegranate peels. *Food Chemistry*, Vol. 136, (2013), 109-115.

16. Ozgen M., Durgaç C., Serçe S. y Kaya C. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chemistry*, Vol. 111, (2008), 703-706.
17. Mercado Silva E., Mondragón Jacobo C., Rocha Peralta L. y Álvarez Mayorga B. Efectos de condición del fruto y temperatura de almacenamiento en la calidad de granada roja. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 2, N° 3, (2011), 449-459.
18. Tabaraki R., Heidarizadi E. y Benvidi A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel antioxidants by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, Vol. 98, (2012), 16-23
19. Melgarejo, P., Salazar D. y Artes F. Organic acids and sugar composition of harvested pomegranate fruits. *European Food Research and Technology*, Vol. 211, N° 3, (2000), 185-190.
20. Shwartz E., Glazer I., Bar-Ya'akov I., Matityahu I. y Bar-Ilan I. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. *Food Chemistry*, Vol. 115, (2009), 965-973.
21. Tezcan F., Gültekin-Özgüven M., Diken T., Özçelik B. y Bedia Erim F. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*, Vol. 115. N ° 3, (2009), 873-877.
22. Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J. y Cheng S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*. Vol. 96, (2006), 254-260.
23. Tzulker R., Glazer I., Bar-Ilan I., Holland D., Aviram M. y Amir R. Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 55, (2007), 9559-9570.
24. Çam M. y Hisil Y. Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. *Food Chemistry*, Vol. 123, (2010), 878-885.
25. Ochoa C. y Ayala A. Los Flavonoides: Apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos. *Ingeniería y competitividad*. Vol. 6, N° 2, (2004), 93-104.

