

# Adición de extracto de cáscara de granada en un alimento tradicional mexicano y evaluación de la estabilidad al procesado

## Addition of pomegranate peel extract to a traditional Mexican food and evaluation of processing stability

Emilio Ochoa-Reyes<sup>1</sup>, Alexandro Guevara-Aguilar<sup>1</sup>, Juan Manuel Tirado-Gallegos<sup>2</sup>, Ramiro Baeza-Jiménez<sup>1</sup>, Leonardo Sepúlveda-Torre<sup>3</sup>, Juan A. Ascacio-Valdés<sup>3</sup>, José J. Buenrostro-Figueroa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Av. Cuarta Sur 3820, Fracc. Vencedores del Desierto, CP 33089, Ciudad Delicias, Chihuahua, México.

<sup>2</sup>Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Francisco R. Almada Km 1. CP 31453, Chihuahua, Chihuahua, México.

<sup>3</sup>Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. V. Carranza s/n esq. Ing. José Cárdenas Valdés, col. República Ote. CP 25280, Saltillo, Coahuila, México.

\*Autor por correspondencia: jose.buenrostro@ciad.mx

### Resumen

La cáscara de granada es un residuo agroindustrial considerada fuente importante de compuestos bioactivos que al adicionarse en la formulación de alimentos, puede otorgarle un carácter funcional. Ante esta perspectiva, en el presente trabajo se evaluó la extracción de estos compuestos a partir de cáscara de granada, así como su estabilidad bajo tratamiento térmico y ultracongelación después de incorporarlos en un alimento tradicional mexicano. El extracto de cáscara de granada se adicionó a cinco diferentes concentraciones en la formulación de tamales: 0, 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4 g/kg de masa, y se determinó el efecto del procesamiento (cocción y ultracongelación) sobre el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante del producto. El extracto obtenido mostró un contenido de fenoles totales de 77.04 mgEAG/gms, con una capacidad antioxidante frente al radical DPPH y ABTS de 301.01 y 305.71 mgET/gms, respectivamente. La dosis de 0.4 g/kg incrementó la capacidad antioxidante hasta 68 veces respecto al control sin extracto, logrando inhibir del 95 al 99% la lipoperoxidación. El producto desarrollado fue capaz de mantener su capacidad antioxidante hasta 60 días, a -40 °C, otorgando un potencial funcional a este alimento.

**Palabras clave:** ABTS, DPPH, *Punica granatum* L., tamales.

### Abstract

Pomegranate peel is an agro-industrial residue, considered an important source of bioactive compounds, which when added to food formulation can provide a functional character. Therefore, extraction of bioactive compounds from pomegranate peel and its stability under heat treatment and deep freezing, after incorporating it into a traditional Mexican food, was evaluated. Pomegranate peel extract was added at five different levels in the tamal formulation (0, 0.05, 0.1, 0.2 and 0.4 g/kg of mass), and the effect of processing (cooking and deep-freezing) on the content of bioactive compounds and the antioxidant capacity of the product was evaluated. The extract obtained showed a total phenol content of 77.04 mgGAE/gdm, with an antioxidant capacity against DPPH and ABTS radicals of 301.01 and 305.71 mgTE/gdm, respectively. The 0.4 g/kg dose increased the antioxidant capacity up to 68 times, compared to the control without extract, achieving up to 98% inhibition of lipoperoxidation. The developed product was able to maintain its antioxidant capacity for up to 60 days at -40 °C, providing a functional potential to this food.

**Keywords:** ABTS, DPPH, *Punica granatum* L., tamales.

## INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son un conjunto heterogéneo de sustancias formadas por vitaminas, minerales, enzimas, pigmentos naturales y otros compuestos vegetales tales como los compuestos fenólicos (Shang et al. 2022). Los compuestos fenólicos presentan propiedades biológicas: antiaterogénica, antiinflamatoria, antimicrobiana, antioxidante, cardioprotectora y con efecto vasodilatador (Zhou et al. 2016). Dichas actividades se derivan de la habilidad de los compuestos para

estabilizar los radicales libres, donando átomos de hidrógeno, electrones o cationes metálicos que actúan como agentes quelantes (Acero et al. 2019). Los estudios se enfocan a reemplazar el uso de aditivos antioxidantes, generalmente sintéticos, por antioxidantes obtenidos a partir de fuentes naturales, al emplearlos en el desarrollo de alimentos funcionales.

Existe una amplia variedad de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante que pueden obtenerse a partir de plantas y frutas, así como de residuos agroindustriales, lo que ofrece alternativas para valorizar estos subproductos considerados un desecho. La cáscara de granada (*Punica granatum* L.) representa 78% del total de subproductos del procesamiento de granada, y es un residuo rico en compuestos fenólicos del grupo de los elagitaninos, tales como: punicalagina, punicalina y ácido elágico, moléculas de gran interés industrial debido a sus propiedades biológicas (Ascacio-Valdés et al. 2011; Calani et al. 2013). En la cáscara de granada también se pueden encontrar flavonoides, antocianinas, taninos y terpenoides (Rivas et al. 2021). Estos compuestos se pueden emplear en la formulación de alimentos, lo que les otorga una característica funcional.

En la cocina mexicana predominan componentes como el maíz nixtamalizado, ingrediente principal para elaborar tortillas y tamales (Cruz-Vázquez et al. 2019). Los tamales son una porción de masa obtenida a partir del maíz nixtamalizado, preparados con distintos ingredientes como especias y sal, que les brindan diversos aromas; se rellenan con algún guiso, y para su cocción se envuelven en hojas de maíz o plátano, y se cocinan al vapor. Este alimento destaca por su alto aporte energético (247 kcal/100 g), que lo vuelve un alimento básico para la población latina (Weber et al. 1993; Cruz-Vázquez et al. 2021).

Los tamales son un alimento procesado consumido en diversas partes del mundo, principalmente en México y Estados Unidos. Para satisfacer las demandas del mercado, se utiliza la congelación como método de conservación, que ayuda a mantener el sabor, apariencia y valor nutrimental, al retardar las reacciones químicas (Ojha et al. 2016). Sin embargo, es necesario desarrollar alimentos con potencial funcional que aporten un beneficio al consumidor. El objetivo del presente trabajo fue extraer compuestos bioactivos de alto valor biológico a partir de cáscara de granada, e incorporarlos en un alimento procesado y conservado mediante ultracongelación, para evaluar su potencial antioxidante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

### Material vegetal

Se utilizó cáscara de granada (CG) como fuente de compuestos bioactivos a incorporar en la formulación del producto. La CG la proporcionó la empresa Mashei,



ubicada en Tasquillo, Hidalgo, y se trasladó al laboratorio donde fue deshidratada (60 °C, 24 h), molida, tamizada (0.60 mm) y almacenada en frascos ámbar (Asca-cio-Valdés et al. 2013).

### **Extracción de compuestos bioactivos**

Para la extracción, se siguió la metodología reportada por Salinas-Flores et al. (2019). La cáscara de granada (20 g) se mezcló con 1000 mL de agua destilada (1:50 m/v) y se mantuvo en agitación (100 rpm) durante 30 min, a 60 °C. El extracto se recuperó mediante centrifugación (3 500 rpm, 15 min) y, posteriormente, lio-filizado y almacenado en viales ámbar, para determinar el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante.

### **Efecto del procesado y tiempo de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante de tamales**

Se adquirió masa cruda para tamales en un mercado local de Delicias, Chih. Se mezclaron 200 g de masa con el extracto liofilizado de CG, previamente resus-pendido en 10 mL de agua, para lo cual se emplearon diferentes relaciones ex-tracto/masa: 0, 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4 g/kg de masa). Los tratamientos se cocieron a vapor durante 90 min y, posteriormente, se almacenaron en ultracongelador a -40 °C (Isotemp Basic, C90), durante 90 días. Se tomaron muestras de la masa cruda, masa cocida y masa almacenada (30, 60 y 90 días) y se realizó una extracción si-guiendo la técnica de Kahkonen et al. (1999), con algunas modificaciones, para lo cual se pesó 1 g de muestra y se mezcló con 10 mL de metanol al 80%. La mezcla se sonicó (10 min), centrifugó (8 000 rpm/10 min), y el sobrenadante se empleó para llevar a cabo el análisis de fenoles totales y la capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS, así como la inhibición de la lipoperoxidación, empleando un lector de microplacas UV-Vis (Multiskan Go, Thermo Scientific).

### **Fenoles totales hidrolizables**

Para el ensayo de fenoles totales se mezclaron 20 µL de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich®) con 20 µL de muestra, y se dejó reposar durante 5 min, después de lo cual se agregaron 20 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.01 M, y de nuevo se agitó y se dejó en reposo por 5 min. Para terminar se agregaron 125 µL de agua destilada y se mez-cló para determinar la absorbancia a 730 nm (Wong-Paz et al. 2015). Se empleó una curva estándar de ácido gálico (0-200 µg/L), y el resultado se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca (mgEAG/gms).

## Capacidad antioxidante

### *DPPH*

Para determinar la capacidad antioxidante se empleó el radical 2,2-difenil-1-picril-hidracil (DPPH), siguiendo la metodología descrita por Meléndez et al. (2014); con este propósito se mezclaron 193  $\mu\text{L}$  del radical DPPH (60  $\mu\text{M}$ ) con 7  $\mu\text{L}$  de muestra, el cual se dejó reposar 30 min, y se registró la absorbancia a 517 nm. Se empleó una curva estándar de Trólox (0-200  $\mu\text{g/L}$ ), y el resultado se expresó como mg equivalentes de Trólox por gramo de materia seca (mgET/gms).

### *ABTS*

La capacidad antioxidante frente al radical ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS) se determinó siguiendo la metodología reportada por Re et al. (1999), adaptado a microplaca. El radical ABTS se formó al mezclar 12.5 mL de persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) al 2.45 mM con 25 mL de ABTS 7 mM. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 12-16 h. Se determinó la absorbancia a 734 nm, y se ajustó con etanol hasta obtener un valor de  $0.7 \pm 0.01$  nm. Para el ensayo se mezclaron 10  $\mu\text{L}$  de muestra con 190  $\mu\text{L}$  de solución ABTS+, y pasado un min de reacción, se registró la absorbancia, empleando un blanco y un control (etanol 100 % y ABTS-Etanol, respectivamente). Se empleó una curva estándar de Trólox (0-200  $\mu\text{g/L}$ ), y el resultado se expresó como miligramos equivalentes de Trólox por gramo de materia seca (mgET/gms).

## Lipoperoxidación

La determinación de la capacidad antioxidante mediante la inhibición de la oxidación de los lípidos o lipoperoxidación se llevó a cabo empleando ácido linoleico como fuente de lípidos, de acuerdo con el método reportado por Martínez-Ávila et al. (2012), el cual se adaptó a microplaca. La solución de ácido linoleico se preparó diluyendo 0.56 g de ácido linoleico y 1.5 g de Tween-20 en 8 mL de etanol al 96%. Se mezclaron 5  $\mu\text{L}$  de muestra con 10  $\mu\text{L}$  de solución de ácido linoleico y 150  $\mu\text{L}$  de buffer de acetatos 0.02 M, pH 4.0. El control fue agua destilada (5  $\mu\text{L}$ ). Todas las muestras fueron homogeneizadas en un vórtex (Labnet International, Edison, NJ) y sonicadas (VWR Scientific Aquasonic 150-D) durante 3 min. Las emulsiones obtenidas se incubaron a 37 °C; después de 1 min se añadieron 75  $\mu\text{L}$  de solución de cloruro ferroso ( $\text{FeCl}$ ) 50 mM (0.0994 g de  $\text{FeCl}$  y 0.168 g de EDTA diluidos en 1 L de agua destilada para inducir la oxidación del ácido linoleico. Después de incubar 1 y 24 h, se tomaron 14  $\mu\text{L}$  de la muestra y se colocaron en un pozo de la microplaca antes de mezclar con 53  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  0.1 M (0.1 g  $\text{NaOH}$ /100 mL etanol al 10%), para así detener la reacción de oxidación. Finalmente, se agregaron 133  $\mu\text{L}$  de etanol al 100%, se homogeneizó y se registró la absorbancia a 232



nm empleando como blanco etanol al 10%. Los resultados se expresaron como el porcentaje de actividad antioxidante 0% de inhibición de la lipoperoxidación, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición LO} = 100 - (B * 100 - A)$$

Donde A es la diferencia entre la absorbancia de la muestra control (agua destilada) después de 24 h y 1 h de incubación, y B es la diferencia entre la absorbancia de la muestra después de 24 y 1 h de incubación. Cada muestra se analizó por triplicado.

### Diseño experimental y análisis estadístico

Para evaluar el efecto del procesado (crudo, cocido) del alimento incorporado con las diferentes concentraciones de extracto: 0, 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4 g de extracto de cáscara de granada por kg de masa, se planteó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 2x5. Posteriormente, se planteó un DCA con arreglo factorial 5x4, para evaluar el efecto de la concentración de extracto (5 niveles) y el tiempo de almacén bajo ultracongelación (4 niveles: 0, 30, 60 y 90 días). Cada tratamiento se evaluó por cuadruplicado. Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), se llevó a cabo una prueba de comparación de medias, mediante el procedimiento del rango múltiple de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con el programa SAS 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

## RESULTADOS

---

### Extracto de cáscara de granada

El extracto obtenido a partir de cáscaras de granada presentó un contenido de fenoles totales de  $77.04 \pm 0.72$  mgEAG/gms, con una capacidad antioxidante de  $301.01 \pm 6.50$  y  $305.71 \pm 4.22$  frente al radical DPPH y ABTS, respectivamente. El contenido de fenoles totales en cáscara de granada varía según el genotipo y la región donde se cultiva el fruto, y puede verse afectado de forma negativa durante el almacenamiento prolongado, debido a la oxidación enzimática (Singh et al. 2018). Los valores obtenidos son muy similares a los reportados por Salinas-Flores et al. (2019) para la misma variedad de granada. En granada de Túnez, Elfalleh et al. (2012) reportaron 53.6 y 85.6 mgEAG/gms, que se obtuvieron mediante maceración empleando como solvente de extracción agua y metanol, respectivamente.

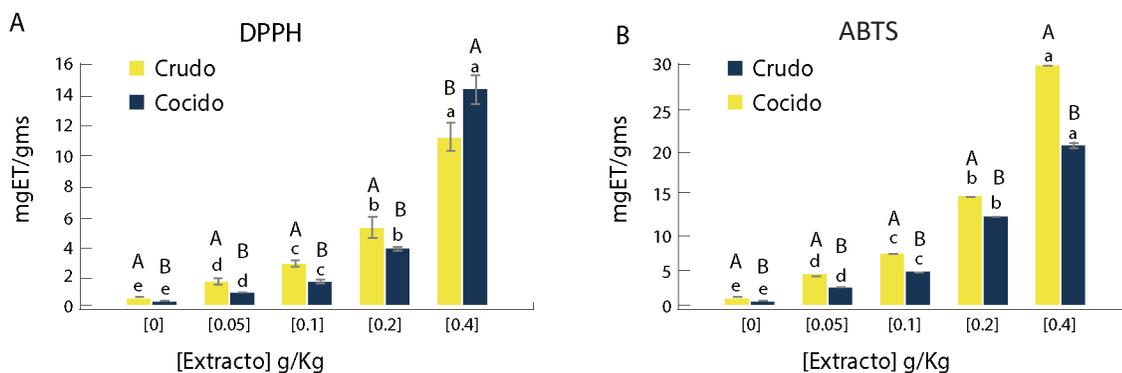
En cambio, los valores de fenoles totales conseguidos en el presente trabajo son menores a los reportados por Živković et al. (2018), lo cual se puede deber al cultivar que se empleó. Nuamsetti et al. (2012) reportaron que el contenido

de fenoles totales extraídos a partir de cáscaras de granada fue mayor al usar agua caliente, seguido de extractos de etanol y acetona. Por otra parte, extractos de cáscara de granada fueron más eficientes para eliminar los radicales DPPH y ABTS al usar agua como agente extractor, comparado con etanol y acetato de etilo (Orgil et al. 2014). Los extractos obtenidos poseen compuestos fenólicos con capacidad antioxidante, y podrían incorporarse en la formulación de un alimento tradicional mexicano para evaluar su efecto sobre la capacidad antioxidante.

### Efecto del procesado y tiempo de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante de tamales

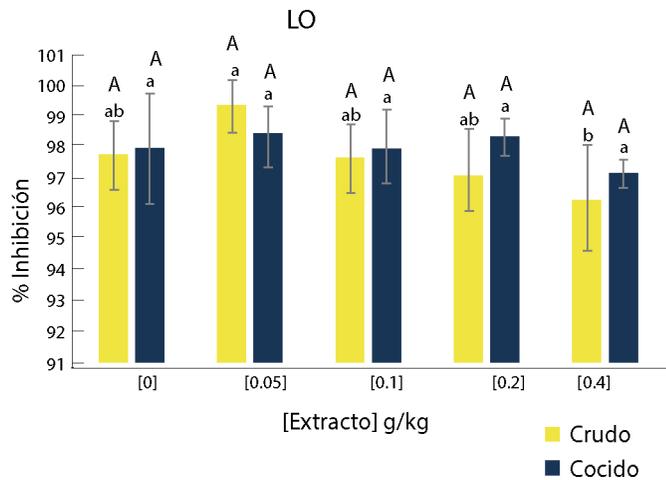
Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y entre las concentraciones de extracto incorporadas al producto respecto a la capacidad antioxidante (Figura 1). A medida que se aumenta la concentración de extracto empleado, se incrementa la capacidad antioxidante que alcanza valores de hasta 16.47 mgET/gms y 26.54 mgET/gms para DPPH y ABTS, respectivamente, a una dosis de 0.4 g/kg. Si bien se aprecia una ligera disminución en la capacidad antioxidante por efecto del procesamiento térmico, es importante mencionar que no fue significativa ( $p \leq 0.05$ ), por lo tanto, el procesado de la masa no afectó su capacidad antioxidante. Comparado con el control sin extracto, la formulación con extracto de granada a una dosis de 0.4 g/kg permitió obtener incrementos de hasta 68 y 44 veces la capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS, respectivamente. Lo anterior evidencia el potencial funcional del producto desarrollado.

Si bien las técnicas DPPH y ABTS son comúnmente usadas para cuantificar *in vitro* la eliminación de radicales libres al emplear extractos de diversas fuentes vegetales, proporcionan información limitada en sistemas biológicos reales (Ro-

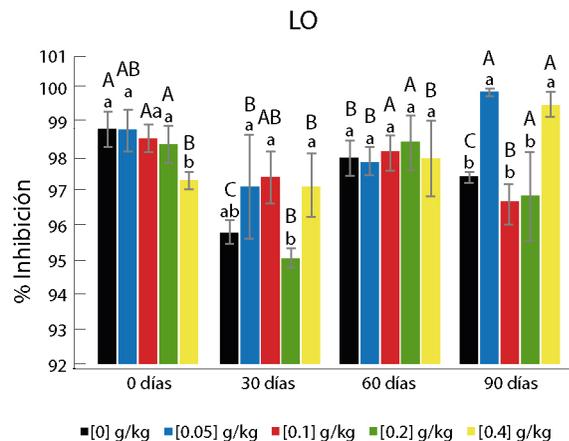


**Figura 1.** Efecto del procesado de masa para tamales adicionada con diferentes concentraciones de extracto de cáscara de granada sobre la capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH (A) y ABTS (B). Letras mayúsculas y minúsculas indican diferencia significativa entre tratamiento [Extracto] y procesado (crudo y cocido), respectivamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).



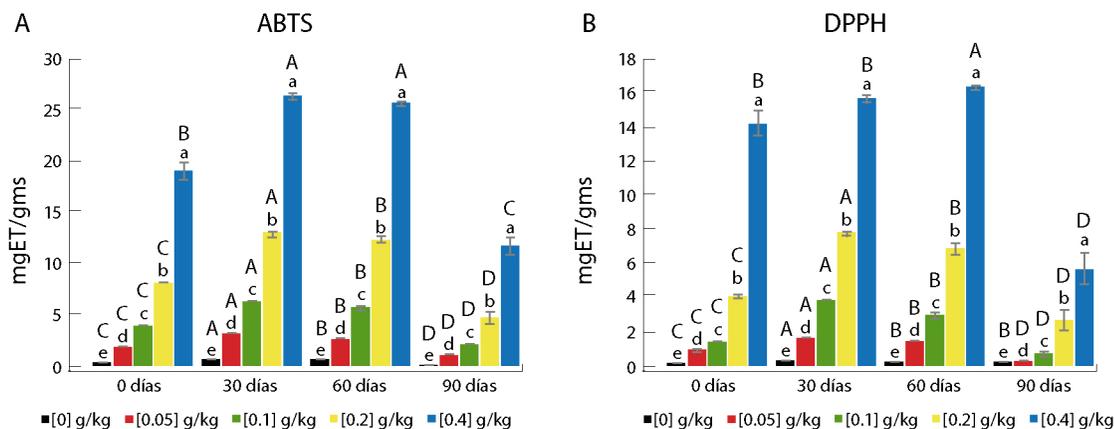


**Figura 2.** Efecto del procesado de masa para tamales adicionada con diferentes concentraciones de extracto de cáscara de granada sobre la capacidad para inhibir la lipoperoxidación. Letras mayúsculas y minúsculas indican diferencia significativa entre tratamiento [Extracto] y procesado (crudo y cocido), respectivamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).



**Figura 3.** Efecto del tiempo de almacenamiento a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  sobre la capacidad para inhibir la lipoperoxidación (LO) en tamales adicionados con diferentes concentraciones de ECG. Letras mayúsculas y minúsculas indican diferencia significativa entre tratamiento (tiempo) y [Extracto], respectivamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

jo-Gutiérrez et al. 2021), por lo cual se realizó un ensayo adicional para simular las condiciones de oxidación en sistemas alimentarios, como es la inhibición de la lipoperoxidación. En cuanto a la capacidad para inhibir la lipoperoxidación, todas las muestras presentaron altos valores de inhibición, independientemente del procesado y tiempo de almacenamiento, a las diferentes concentraciones de ECG empleado, con valores en un rango del 95 al 99% (Figuras 2 y 3). Debido a que el producto es rico en grasa, es importante evitar su oxidación, lo cual se logra al incorporar el extracto, lo que le otorga una característica funcional al producto



**Figura 4.** Efecto del tiempo de almacenamiento a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  sobre la capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH (A) y ABTS (B) en tamales adicionados con diferentes concentraciones de extracto de cáscara de granada. Letras mayúsculas y minúsculas indican diferencia significativa entre tratamiento (tiempo) y [Extracto], respectivamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

elaborado. Kumar et al. (2022) reportaron que la aplicación de ECG en productos alimenticios puede retardar la oxidación lipídica. Los compuestos fenólicos de cáscara de granada redujeron la peroxidación lipídica en un 53%, en un modelo de huevo homogeneizado (Sihag et al. 2022).

Respecto al tiempo de almacén, las muestras conservaron su capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS hasta por 60 días (Figuras 4), y después de ello se reduce hasta 65% para DPPH y 50% para ABTS en el tratamiento con 0.4 g/kg. De acuerdo con Machado-Velasco y Vélez-Ruiz (2008), la congelación permite conservar durante 60 días los alimentos procesados, como los tamales, sin influir de manera perceptible en las características del producto, lo cual coincide con lo obtenido en el presente estudio. Debido a la baja temperatura y, en consecuencia, ralentización de toda reacción química, la congelación puede evitar la degradación de compuestos fenólicos.

En reportes de alimentos preparados enriquecidos con extractos de cáscara de granada, específicamente en carne para hamburguesas a base de pollo, Naveena et al. (2008) reportaron; incremento en fenoles totales, disminución en oxidación de lípidos, en comparación con el control. En otros estudios realizados con productos de pollo, se adicionaron extractos de cáscara de granada logrando un incremento en la vida de anaquel de hasta tres semanas (Kanatt et al. 2010). No obstante, se ha reportado que los compuestos fenólicos pueden ser susceptibles a la temperatura de almacenamiento y su fuente de origen (Bonat et al. 2016). Para fenoles de frambuesas, se reportó un ligero incremento durante la congelación (Rickman et al. 2007). En cerezas dulces, el contenido de fenoles disminuyó al almacenar a  $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$  después de seis meses; sin embargo, al almacenar a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$



no se presenta pérdida de fenoles, lo cual se puede deber a la acción enzimática (Chaovanalikit y Wrolstad, 2004).

En la cáscara de granada se encuentran antocianinas, moléculas bastante inestables a factores como la temperatura de almacenamiento (Rickman et al. 2007), y su degradación puede generar una pérdida de la capacidad antioxidante durante la congelación. En virtud de lo anterior, es importante considerar que la forma de descongelación puede afectar la calidad del producto, generar una influencia en la actividad enzimática y repercutir en la composición química (Bonat et al. 2016).

Con base en los resultados obtenidos, es posible almacenar el producto hasta 60 días sin que pierda la actividad antioxidante, de tal manera que este siga ofreciendo un beneficio con potencial funcional al consumidor. En el tamal, al tratarse de un producto rico en grasa, es importante evitar su oxidación, lo cual se logra al incorporar en su formulación el extracto de CG, que mostró una buena capacidad antioxidante. Sin embargo, se recomienda realizar una prueba sensorial para determinar el grado de aceptabilidad del producto desarrollado.

## CONCLUSIÓN

---

En el presente trabajo a partir de CG fue posible obtener extractos ricos en compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante. La incorporación del extracto de CG en masa para tamales permite incrementar hasta 68 veces la capacidad antioxidante del producto, la cual se puede mantener hasta 60 días de almacenamiento a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , con hasta 98% de inhibición de la lipoperoxidación.

## AGRADECIMIENTOS

---

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el apoyo recibido mediante el proyecto CONACYT-PEI-252365, lo mismo que al CIAD, por las facilidades otorgadas para el desarrollo del estudio.

## LITERATURA CITADA

---

- Acero N., Gradillas A., Beltran M., García A. and D. Muñoz Mingarro. 2019. Comparison of phenolic compounds profile and antioxidant properties of different sweet cherry (*Prunus avium* L.) varieties. *Food Chemistry*. 279: 260-271. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.008>
- Ascacio-Valdés J.A., Buenrostro-Figueroa J.J., Aguilera-Carbó A., Prado-Barragán A., Rodríguez-Herrera R. and C.N. Aguilar. 2011. Ellagitannins: Biosynthe-

- sis, biodegradation and biological properties. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(19): 4696-4703. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000560>
- Ascacio-Valdés J.A., Buenrostro J.J., De la Cruz R., Sepúlveda L., Aguilera A.F., Prado A., Contreras J.C., Rodríguez R. and C.N. Aguilar. 2013. Fungal biodegradation of pomegranate ellagitannins. *Journal of Basic Microbiology*, 54(1): 28-34. <https://doi.org/10.1002/jobm.201200278>
- Bonat C.G., Ghanem. A. and M. B. Su-Ling. 2016. Influence of freezing process and frozen storage on the quality of fruits and fruit products. *Food Reviews International*. 32(3): 280-304. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1075212>.
- Calani L., Beghè D., Mena P., Del Rio D., Bruni R., Fabbri A., Dall'Asta C. and G. Galaverna. 2013. Ultra-HPLC-MS<sup>n</sup> (Poly)phenolic Profiling and Chemometric Analysis of Juices from Ancient *Punica granatum* L. Cultivars: A Non-targeted Approach. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 61: 5600-5609. <https://doi.org/10.1021/jf400387c>
- Chaovanalikit, A. and R.E. Wrolstad. 2004. Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *Journal of Food Science*. 69: FCT73-FCT83. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb17859.x>
- Cruz-Vázquez C., Villanueva-Carvajal A., Estrada-Campuzano G. and A. Dominguez-Lopez. 2019. Tamales texture properties as a function of corn endosperm type. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 16: 100153. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100153>
- Cruz-Vázquez C., Villanueva-Carvajal A., Estrada-Campuzano G. and A. Dominguez-Lopez. 2021. Effect of baking powder as a substitute of pork lard on the texture of Mexican tamales. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 25: 100387. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100387>
- Elfalleh W., Hannachi H., Tlili N., Yahia Y., Nasri N. and A. Ferchichi. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6 (32): 4724-4730. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.995>
- Kahkonen M.P., Hopia A.L., Vuorela H.J., Raucha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S. and M. Heinonen. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(10):3954-3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146l>
- Kanatt S.R., Chander R. and A. Sharma. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International journal of food science & technology*. 45(2): 216-222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02124.x>
- Kumar N., Daniloski D., D'Cunha N.M. Pratibha., Neeraj., Naumovski N. and A.T. Petkoska. 2022. Pomegranate peel extract-a natural bioactive addition to



- novel active edible packaging. *Food Research International*. 111378. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111378>
- Machado-Velasco K.M. and J.F. Vélez-Ruiz. 2008. Estudio de propiedades físicas de alimentos mexicanos durante la congelación y el almacenamiento congelado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 7(1):41-54. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382008000100006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382008000100006&lng=es&tlng=es)
- Martínez-Ávila G.C., Aguilera-Carbó A.F., Rodríguez-Herrera R. and C.N. Aguilar. 2012. Fungal enhancement of the antioxidant properties of grape waste. *Annals of Microbiology*. 62(3): 923-930. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0329-z>
- Meléndez N.P., Nevárez-Moorillón V., Rodríguez-Herrera R., Espinoza J.C. and C.N. Aguilar. 2014. A microassay for quantification of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. *African Journal of Biochemistry Research*. 8(1): 14-18. <https://doi.org/10.5897/AJBR2013.0669>
- Naveena B.M., Sen A.R., Vaithyanathan S., Babji Y. and N. Kondaiah. 2008. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat science*. 80(4): 1304-1308. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.005>
- Nuamsetti T., Dechayuenyong P. and S. Tantipaibulvut. 2012. Antibacterial activity of pomegranate fruit peels and arils. *Science Asia*. 38(3): 319-322. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2012.38.319>
- Ojha K.S., Kerry J.P., Tiwari B. K. and C. O'Donnell. 2016. Freezing for Food Preservation. *Reference Module in Food Science*. 1-9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03108-5>
- Orgil O., Schwartz E., Baruch L., Matityahu I., Mahajna J. and R. Amir. 2014. The antioxidative and anti-proliferative potential of non-edible organs of the pomegranate fruit and tree. *LWT-Food Science and Technology*. 58(2): 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.030>
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(9): 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rickman J.C., Barrett D.M. and C.M. Bruhn. 2007. Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87: 930-944. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2825>
- Rivas M.Á., Casquete R., de Guía Córdoba M., Benito M.J., Hernández A., Ruiz-Moyano S. and A. Martín. 2021. Functional properties of extracts and residual dietary fibre from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel obtained with different supercritical fluid conditions. *LWT*. 145: 111305. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111305>

- Rojo-Gutiérrez, E., Carrasco-Molinar, O., Tirado-Gallegos, J.M., Levario-Gómez, A., Chávez-González, M.L., Baeza-Jiménez, R., Buenrostro-Figueroa, J.J. 2021. Evaluation of green extraction processes, lipid composition and antioxidant activity of pomegranate seed oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 15(2): 2098-2107
- Salinas-Flores A.P., Guevara-Aguilar A., Natividad-Torres E.A., Baeza-Jiménez R. and J.J. Buenrostro-Figueroa. 2019. Effect of the extraction conditions on the antioxidant capacity of phenolic compounds from pomegranate shell. *Mexican Journal of Biotechnology*. 4(2): 33-46. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.2.33>
- SAS Institute. 2002. SAS/STAT User's Guide, Software version 9.0. Cary, N.C., USA.
- Shang Z., Li M., Zhang, W., Cai S., Hu X. and J. Yi. 2022. Analysis of phenolic compounds in pickled chayote and their effects on antioxidant activities and cell protection. *Food Research International*. 157: 111325. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111325>.
- Sihag S., Pal A. and V. Saharan. 2022. Antioxidant properties and free radicals scavenging activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels: An *in-vitro* study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 42: 102368. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102368>
- Singh B., Singh J.P., Kau, A. and N. Singh. 2018. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *Food chemistry*. 261: 75-86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.039>
- Weber C.W., Kohlhepp E.A., Idouraine A. and L.J. Ochoa. 1993. Nutritional composition of tamales and corn and wheat tortillas. *Journal of Food Composition and Analysis*. 6(4): 324-335. <https://doi.org/10.1006/jfca.1993.1036>
- Wong-Paz J.E., Contreras-Esquivel J.C., Rodríguez-Herrera R., Carrillo-Inungaray M.L., López L.I., Nevárez-Moorillón G.V. and C.N. Aguilar. 2015. Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 8(2): 104-111. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60299-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6)
- Zhou H., Yang W.T., Zhou X., Liu L., Gu J.F., Wang W.L., Zou J.L., Tian T., Peng P.Q. and B.H. Liao. 2016. Accumulation of heavy metals in vegetable species planted in contaminated soils and the health risk assessment. *International journal of environmental research and public health*. 13(3): 289. <https://doi.org/10.3390/ijerph13030289>
- Živković J., Šavikin K., Janković T., Čujić N. and N. Menković. 2018. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*. 194: 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.11.032>

