

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERIA

E.A.P DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

TITULO:

**“CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y ESTABILIDAD OXIDATIVA
DEL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA (*Púnica Granatum*)”**

TESISTAS:

Bach. Gutiérrez Estrada Julissa Yubicsa

Bach. Terrones Blas Lizbeth Janira

ASESOR:

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar

2016

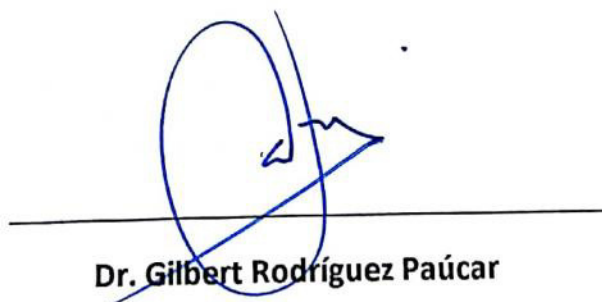
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

HOJA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR

El presente trabajo de tesis titulado “**CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DEL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA (Púnica Granatum)**” ha contado con el asesoramiento de quien deja constancia de su aprobación por tal motivo, firmo el presente trabajo en calidad de asesor, designado por **RESOLUCIÓN DECANATURAL N°249-2015-UNS-FI**



Dr. Gilbert Rodríguez Paúcar

Asesor

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA

FACULTAD DE INGENIERIA

ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

“CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y ESTABILIDAD OXIDATIVA
DEL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA (Púnica Granatum)”

TESISTAS

Bach. GUTIÉRREZ ESTRADA JULISSA YUBICSA

Bach. TERRONES BLAS LIZBETH JANIRA

Revisado y Aprobado el día 17 de diciembre del 2015, por el siguiente Jurado
Evaluador, designado mediante Resolución Decanatural N° 457-2015 UNS-FI



Dra. Luz Paúcar Menacho
Presidente



Dr. Gilbert Rodríguez Paúcar
Secretario



Ms. Daniel Sánchez Vaca
Integrante

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I.INTRODUCCIÓN	13
II.REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	15
2.1. Cultivo del granado en el peru	15
2.1.1. Descripcion del granado	15
2.1.2. Variedades de granadas cultivadas en el peru	16
2.1.3 Clima para el cultivo del granado	17
2.1.4 Suelo para el cultivo del granado	217
2.2 Produccion del granado en el peru	19
2.3 Exportacion del granado en el peru	19
2.4 Comparacion proximal de la granada	21
2.4.1 Composicion de la granada	21
2.5 Componentes funcionales de la granada	23
2.5.1 Antocianinos	24
2.5.2 Acidos grasos del aceite de semilla de granada	24
2.5.2.1 Acidos grasos saturados	28
2.5.2.2 Acidos grasos monoinsaturados	29
2.5.2.2 Acidos grasos poliinsaturados	30
2.5.3 Fibra bruta	30
2.5.4 Taninos	31
2.5.6 Isoprenoides	31
2.5.7 Compuestos fenolicos	36
2.5.8 Compuestos volatiles	37
2.6 Caracteristicas fisicoquimicas del aceite	38
2.6.1 Indice de acidez	38
2.6.2 Indice de yodo	39
2.6.3 Indice de peroxido	40
2.6.4 Valor de la anisidina	41
2.7 Estabilidad oxidativa	41

2.7.1 Relacion empirica entre el indice de estabilidad oxidativa (OSI) y la temperatura	42
2.7.2 Relacion del indice de estabilidad oxidativa (OSI) energia de activacion	43
2.7.3 Oxidacion de aceites vegetales virgenes	45
2.7.4 Metodos para determinar la estabilidad oxidativa de un aceite	48
2.7.4.1 Metodo de oxigeno activo	48
2.7.4.2 Metodo rancimat	49
III MATERIALES Y METODOS	50
3.1 Lugar de ejecuci3n	50
3.2 Materia prima	50
3.3 Reactivos	51
3.4 Materiales de vidrio	52
3.5 Otros materiales	52
3.6 Equipos	52
3.7 Metodo de analisis	57
3.7.1 Indice de refracci3n m3todo oficial	57
3.7.2 Indice de acidez m3todo oficial	57
3.7.3 Indice de peroxido m3todo oficial	58
3.7.4 Color	59
3.7.5 Composicion de 3cidos grasos	60
3.7.6 Indice de estabilidad oxidativa – m3todo rancimat	61
3.8 Metodologia experimental	63
3.8.1 Dise1o estadistico	64
3.9 Desarrollo de la investigacion	66
3.9.1 Limpieza	66
3.9.2 Desinfecci3n	67
3.9.3 Extracci3n de arilos de granada	67
3.9.4 Extracci3n de la semilla	68
3.9.5 Secado de las semillas	69
3.9.6 Extracci3n de aceite por prensado	70
3.9.7 Limpieza del aceite	72

IV RESULTADOS	
4.1 Caracterización de la granada (variedad wonderful)	73
4.2 Análisis Fisicoquímicos del aceite de púnica granatum	74
4.3 Análisis de color del aceite de granada	78
4.4 Determinación de proteína de la semilla de granada por el método dumas	79
4.5 Determinación de fibra dietaria de la torta de de la semilla de granada	79
4.6 Composición de ácidos grasos por cromatografía de gases del aceite de semilla de granada	80
4.7 Estabilidad oxidativa del aceite de semilla de granada por el Método rancimat	82
4.8 Determinación de la energía de activación	93
V CONCLUSIONES	94
VI RECOMENDACIONES	96
VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	97

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 01 Contenido nutricional de 100 g de la porción comestible de la granada	21
Tabla 02 Valor nutricional de la granada	22
Tabla 03 Propiedades fisicoquímicas de las semillas y cáscara de la granada	25
Tabla 04 Composición de ácidos grasos (mg/100g de semilla) del aceite de granada	26
Tabla 05 Experimento DCA con arreglo factorial	63
Tabla 06 Análisis de varianza	64
Tabla 07 Estructura de la granada	74
Tabla 08 Propiedades del aceite de semilla de granada	75
Tabla 09 Análisis de color del aceite de granada	78
Tabla 10 Determinación de proteína	79
Tabla 11 Análisis de fibra de la torta de semilla de granada	79
Tabla 12 Composición de ácidos grasos del aceite de granada	81
Tabla 13 Tiempos de inducción del aceite de granada a temperaturas de 80, 90, 100, 120 y 130 °c y flujo de aire de 15, 20 y 25 L/H.	86
Tabla 14 Análisis de varianza para OSI del aceite de granada	92
Tabla 15 Energía de activación para flujos de 15,20,25 l/h	93

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Granadas variedad Mollar	14
Figura 2: Granadas variedad Valenciana	14
Figura 3: Granada variedad Wonderful	15
Figura 4: Zonas potenciales del cultivo de granada en el peru	16
Figura 5: Paises productores de granada en miles de toneladas	17
Figura 6: Partes de la granada	19
Figura 7: Estructura molecular de un acido graso	27
Figura 8: Acido linoleico y linolenico	28
Figura 9: Estructura molecular de los tocoferoles	31
Figura 10: Estructura molecular de los tocotrienoles	22
Figura 11: Estructura quimica de algunos fitoesteroles y fitoesteroles	33
Figura 12: Estructura del isopreno	34
Figura 13: Mecanismo por transferencia de un hidrogeno	45
Figura 14: Principio del metodo rancimat	47
Figura 15: Frutos de granada del fundo alimentos naturales	48
Figura 16: Frutos de granada	49
Figura 17: Equipo rancimat	51
Figura 18: Expeller	52
Figura 19: Centrifuga refrigerada	53
Figura 20: Balanza	53
Figura 21: Balanza analitica	53
Figura 22: Espectofotometro UV	54
Figura 23: Cromatografo de gases	54
Figura 24: Montaje de la muestra en el equipo rancimat	60
Figura 25: Diagrama de flujo del estudio de la estabilidad oxidativa del aceite de granada	61
Figura 26: Extraccion de los arilos de granada	65
Figura 27: Arilos de granada	65
Figura 28: Primer dia de fermentacion	66
Figura 29: Fin de fermentación	66
Figura 30: Lavado de las semillas	66
Figura 31: Lavado y friccion de las semillas	66
Figura 32: Semillas limpias	67
Figura 33: Secado de las semillas	68
Figura 34: Secado de semillas al sol	68
Figura 35: Semilla seca	68
Figura 36: Almacenamiento de las semillas	68

Figura 37: LLenado de la tolva con semilla de granada	69
Figura 38: Torta de semilla de granada	69
Figura 39: Aceite de semilla de granada	69
Figura 40: Centrifugacion de aceite de semilla de granada	70
Figura 41: Almacenamiento del aceite de granada	70
Figura 42: Ubicación de los parámetros a* y b* en la cartilla de colores del aceite de semilla De granada	78
Figura 43: Comportamiento del aceite de semilla de Punica Granatum a Temperatura de 80°C y Flujo de aire de 20 L/H	83
Figura 44: Comportamiento del aceite de sesamun indicuml a Temperatura de 130°C y Flujo de aire de 15, 20 y 25 L/H	84
Figura 45: Formacion de polimeros	85
Figura 46: Grafico influencia del flujo y temperatura en OSI del aceite de granada	88
Figura 47 Grafico de extrapolación rancimat para flujo de 15 l/h a temperatura de 20°C	89
Figura 48 Grafico de extrapolación rancimat para flujo de 20 l/h a temperatura de 20°C	90
Figura 49 Grafico de extrapolación rancimat para flujo de 25 l/h a temperatura de 20°C	91

DEDICATORIA

A DIOS.

Por haberme dado la vida, guiar mis pasos y estar siempre a mi lado en todo momento de mi vida.

Por permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres: JOSE Y LUISA.

Por su esfuerzo, dedicación y abnegación que han hecho de mí una persona de buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante buscando siempre el mejor camino.

Por todo su amor, comprensión y consejos impartidos.

A mis hermanas: YNGRID Y HELEN.

Por estar siempre presentes en cada momento para demostrarme su cariño y que el amor que nos tenemos siempre nos unirá.

A mi esposo: LUIS

Por brindarme su amor, cariño, comprensión y apoyo incondicional en todo momento.

Por su motivación y ayuda prestada para lograr cumplir las metas establecidas en el transcurso de nuestra vida juntos. Te Amo.

A mi pequeño hijo: LUIS ANCEL JOSE.

Por ser el motor de mi vida, quien me da fuerzas de superación y las más grandes alegrías.

Por ser la razón para seguir adelante y ser mejor cada día.

Te quiero mucho.

DEDICATORIA

A Dios, por la vida, las motivaciones y la fortaleza para seguir adelante en la lucha por un mejor porvenir.

A mi querida madre, que con su amor y sus sabios consejo sabe guiarme día a día por el camino del bien y por tu entrega y sacrificio que me brinda en todo momento para apoyarme a alcanzar mis metas.

A mis hermanos, Evelyn y Piero porque son el motor que me impulsa a ser mejor persona cada día, y por el amor infinito que me brindan.

AGRADECIMIENTO

Por medio del presente trabajo, queremos agradecer de forma muy especial a nuestro asesor de tesis el Dr. Gilbert Rodríguez P. Por toda la orientación y el apoyo brindado en la realización de nuestra tesis y cada una de las personas que colaboraron con nosotras a nuestros amigos por su desinteresado pero gran apoyo en todo nuestro paso por la universidad, a los buenos catedráticos de la E.A.P. de Ingeniería Agroindustrial que nos ayudaron a despertar el lado investigativo que todo buen UNIVERSITARIO debe desarrollar como parte de su vida profesional.

SUMMARY

The aim of this investigation was to determine the physicochemical characteristics and oxidative stability at temperatures (80 ° C, 90 ° C, 100 ° C, 120 ° C and 130 ° C) and air flow (15, 20 and 25 L / h) oil seed Granada (*Punicagranatum*), oil, previously extracted by cold pressing, clarified by centrifugation was stored under nitrogen and refrigeration. The Granada seed oil has the following characteristics: 0.42% acidity expressed as oleic acid, 91mg of iodine absorbed / 100 g sample iodine, anisidine value 3.2 meq O₂ / kg, density 0.9415 g / cm³, viscosity T ° 20 ° C, cP 278.6 also introduces Granada seed 10.41% protein and 48.52% carbon. In applying the Rancimat test, it was found by ANOVA (p <0.05) than the influence of temperature on the OSI was highly significant, whereas the air flow was not significant.

In assessing the oxidative stability of oil, it has established that it has an atypical behavior, since the conductivity initially increased from 2-6 uS / cm then stabilized, this because the oil has volatile compounds are not products of their degradation; also it has been observed that at higher temperatures and time in the rancimat, the oil is polymerized and solidified, thus preventing that continue testing. However, with the data obtained and using the extrapolation method, OSI values at 25 ° C were calculated air flow 15 L / h obtaining 38 days of stability; while at higher airflow polymerization rate it was higher; the activation energy of the oxidation reaction is oil 85.73, 86.36, 84.63 kJ / mol for flow 15 l / h, 20 l / h, 25 l / h, respectively.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar las características fisicoquímicas y la estabilidad oxidativa a temperaturas (80°C, 90°C, 100°C, 120°C y 130°C) y flujo de aire (15, 20 y 25 L/h) del aceite de la semilla de granada (*Punica Granatum*). El aceite, previamente extraído por prensado en frío, clarificado por centrifugación se almacenó bajo atmósfera de nitrógeno y en refrigeración. El aceite de semilla de granada presenta las siguientes características: 0.42% de acidez expresado como ácido oleico, índice de yodo 91 mg de yodo absorbidos /100 g de muestra, índice de anisidina 3.2 meq O₂/kg, densidad 0.9415 g/cm³, viscosidad a T° de 20 °C, 278.6 cP, además la semilla de granada presenta 10.41% de proteína y 48.52% de carbono. Al aplicar el test de Rancimat, se pudo comprobar mediante el ANOVA ($p < 0.05$) que la influencia de la temperatura en el OSI fue altamente significativa, mientras que el flujo de aire no fue significativo.

Al evaluar la estabilidad oxidativa del aceite, se ha establecido que tiene un comportamiento atípico, pues inicialmente la conductividad se incrementó de 2 a 6 uS/cm para luego estabilizarse, esto porque el aceite tiene compuestos volátiles que no son producto de su degradación; además se ha observado que a mayor temperatura y tiempo en el rancimat, el aceite se polimeriza y se solidifica, impidiendo de esta manera que se continúen con las pruebas. No obstante, con los datos obtenidos y mediante el método de extrapolación, se calcularon los valores de OSI a 25°C con flujo de aire de 15 L/h obteniéndose 38 días de estabilidad; mientras que a mayor flujo de aire la velocidad de polimerización fue mayor; la energía de activación de la reacción de oxidación del aceite es de 85.73, 86.36, 84.63 kJ/mol para el flujo 15 l/h, 20 l/h, 25 l/h, respectivamente.

I. INTRODUCCIÓN

La granada tiene valiosos compuestos en diferentes partes de la fruta. La composición química de los frutos varía en función de la variedad, zona de cultivo, el clima, la madurez, el cultivo la práctica, y las condiciones de almacenamiento. Existen estudios donde se muestran variaciones significativas en el contenido de los ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, azúcares solubles, vitaminas y minerales de granadas dependiendo de las condiciones de cultivo (Mirdehghan y Rahemi, 2007; Tezcan et al.,2009).

La granada se puede dividir en cuatro partes: la cáscara, las membranas carpelares, las semillas y los arilos. Generalmente contiene 8 carpelos en los que se encuentran los arilos (porción comestible), representado éstas un porcentaje comprendido entre el 40 y el 75 %, dependiendo de las variedades; las membranas carpelares y la corteza representan el 25-60 % del peso del fruto, siendo esta una importante fuente de compuestos bioactivos tales como los compuestos fenólicos, flavonoides, elagitaninos y proantocianidinas (Li et al., 2006), además de minerales como sodio, potasio, nitrógeno, calcio, fósforo y magnesio.

La porción leñosa de los arilos (semillas) varía entre el 5 y el 15 %. El fruto completo posee aproximadamente un 80 % de agua. Los granos de granada son una fuente importante de lípidos, ya que las semillas contienen una cantidad de ácidos grasos que oscilan entre el 12 y el 20 % de su peso total (peso seco).

La parte leñosa de estas semillas contiene grasa en cantidades que varían entre 37 y 143 g/kg de fruto (Melgarejo et al. 1995). Este contenido en grasa y su composición en ácidos grasos es un parámetro de calidad para el consumidor, especialmente la ratio ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados. Resulta de gran importancia la composición en ácidos grasos esenciales (linoléico, linolénico y araquidónico) y especialmente por su contenido en ácidos grasos poliinsaturados. Éstos juegan un papel muy importante como preventivos en enfermedades cardiovasculares y en algunos

otros problemas de corazón, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados reducen considerablemente los niveles de HDL-colesterol (Grande 1988; De Hoya y Mata 1989). La composición en grasa y ácidos grasos de la semilla, no sólo nos ayuda a establecer relaciones quimiotaxonómicas entre las variedades estudiadas sino que también tienen un gran interés alimenticio y para la prevención de algunas enfermedades. (Mirmiran et al., 2010).

El objetivo de este trabajo de investigación es caracterizar sus propiedades fisicoquímicas y evaluar su estabilidad oxidativa del aceite de la semilla de granada (***Púnica Granatum***), teniendo como objetivos específicos lo siguiente:

- Obtener el aceite de la semilla de granada por prensado en frío y evaluar su rendimiento
- Determinar las características fisicoquímicas del aceite de semilla de granada.
- Determinar la estabilidad oxidativa del aceite de la semilla de granada a través del método de Rancimat
- Determinar el perfil de ácidos grasos del aceite de la semilla de granada por cromatografía de gases
- Estimar la vida útil del aceite de la semilla de granada.

II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Cultivo del granado en el Perú

2.1.1 Descripción del granado

La granada (*granatum L. de Punica*) pertenece a la familia Punicáceas que incluye solamente un género y dos especies.

Es un árbol de (6 o 10 m) de alto, la granada mucho se ramifica, las ramas del árbol son algo espinosas, y extremadamente duradera. Las flores son muy llamativas, la fruta tiene 6.25-12.5 centímetros de diámetro, tiene una piel resistente, coriácea o la corteza, amarillea básicamente más o menos ovalada con rojo ligero o de color rosa oscuro. El interior es separado por las paredes membranosas y el tejido fino esponjoso blanco (trapo) en los compartimientos embalados con los sacos transparentes llenados de la pulpa agria, sabrosa, carnuda, jugosa, roja, rosada o blanquecina. En cada saco, hay una, semilla angular, suave o dura blanca o roja. Las semillas representan el cerca de 52% del peso de la fruta entera (Ampex,2006).

2.1.2 Variedades de granadas cultivadas en el Perú

Las variedades que más se cultivan en Perú son la Mollar, la Valenciana y wonderful.(Ampex,2006).

a) Mollar de Elche: Sus frutos son rosados, de tamaño medio (262 g), presentando un rendimiento promedio de semillas de un 72.7 % y un contenido en fibra bruta de la semilla de 3 a 8 %. El contenido en sólidos solubles de su parte comestible se sitúa entre 13-18 ° Brix y su acidez en torno a 0,2 - 0,4 g ácido cítrico/L. (Vergara,2014)



Figura 1: Granadas variedad Mollar

Fuente: Vergara, 2014

- b) Valenciana:** fruta de menor calidad y de cosecha más temprana, Tiene un contenido en sólidos solubles de entre 13 -14 ° Brix y una acidez de 0,15-0,3 g ácido cítrico/L. (Vergara,2014)



Figura 2: Granada variedad Valenciana

Fuente: Vergara, 2014

- c) Wonderful:** Es la variedad más cultivada mundialmente. Es de fruto grande, de un color externo rojo profundo. Las semillas son pequeñas y medianamente duras, relativamente ácidas.

Además, presenta un contenido en sólidos solubles de entre 13-18 ° Brix y una acidez de 2-3 g ácido cítrico/L. (Vergara, 2014)



Figura 3: Granada variedad Wonderful

Fuente: Vergara, 2014

2.1.3 clima para el cultivo del granado

El clima que más conviene al granado es el clima subtropical e incluso el tropical. Los mejores frutos se obtienen en las regiones subtropicales donde el periodo de temperaturas elevadas coincide con la época de maduración de las granadas. El granado exige mucha agua y frescura para sus raíces y solamente en estas condiciones es cuando da muchos frutos de buena calidad. Al mismo tiempo soporta muy bien la sequía. El granado es muy sensible a las heladas tardías a partir de la entrada en vegetación. Prefiere más bien un clima templado e incluso caluroso que los relativamente fríos. Debido a su retraso vegetativo y de floración, corre peligro de que las flores se vean afectadas por las heladas tardías de primavera. En pleno invierno resiste temperaturas inferiores a los -7°C . 2.2 Producción del granado en el Perú (Ampex, 2006).

2.1.4 suelo para el cultivo del granado

Requiere de suelos ligeros, permeables, profundos, de preferencia con alta concentración de materia orgánica, indiferentes a la alcalinidad o acidez del suelo; se adapta perfectamente a las condiciones de suelos arenosos o suelos francos de Costa central, con pH cuyo rango va desde 6.5 hasta 7.5; inclusive con

concentraciones medianamente elevadas de sales, que desde luego no son las condiciones ideales. El granado no es muy exigente en cuanto a la fertilización; un indicador para este efecto es a la caída de la hoja, momento óptimo para aportar abonos fosfatados y potásicos, y en el momento de entrar en vegetación, los nitrogenados en fórmulas equilibradas. (Agricultura y agroindustria, 2004).

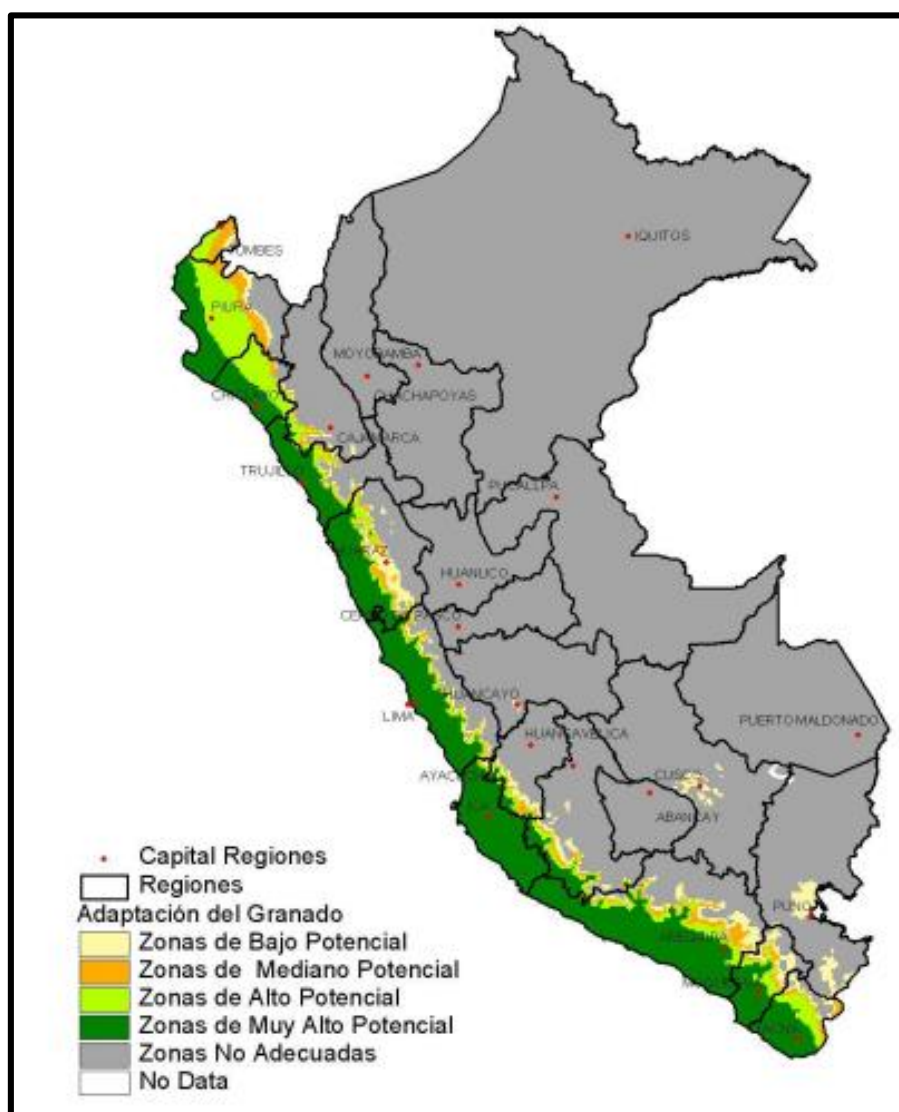


Figura 4: Zonas potenciales del cultivo de granada en el Perú

Fuente: Agricultura y agroindustria 2004.

2.2 Producción del granado en el Perú

Las condiciones agroclimáticas que presenta Perú permiten el cultivo y producción de las variedades más comerciales tales como Wonderfull y Acco, solicitadas por los mercados internacionales más exigentes. Según información del Ministerio de Agricultura (Minag). Las hectáreas cultivadas en Perú en el 2009 con granada fueron 176 y se obtuvo una producción de 1,086 t. Las principales zonas productoras de este fruto son Ica, Lima y La Libertad, con 53, 22 y 8 % respectivamente, destacando actualmente el incremento de las hectáreas de cultivo en Tacna, Lambayeque y Ancash. (Infoagro, 2010 acceso en 07/12/15)

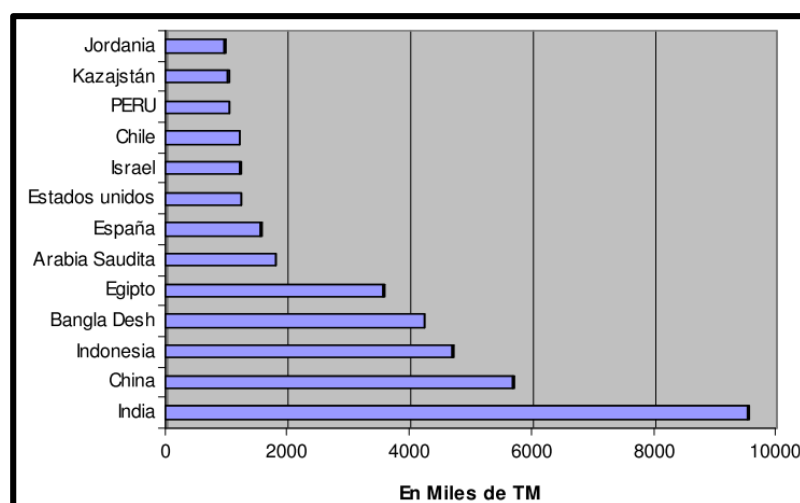


Figura 5: Países productores de granada en miles de toneladas

Fuente: Ampex 2004.

2.3 Exportación de granado en el Perú

Las exportaciones peruanas de granada superaron los cuatro millones de dólares en el 2009, lo que significó un aumento de 90 % en relación al año anterior 2008; aumentando a 12 los destinos en el exterior. (Promperú, 2014)

En el 2009 se exportó por primera vez hacia Guatemala y se volvieron a realizar envíos a Italia. La campaña se inicia en abril y finaliza en agosto, lo que representa una ventaja comparativa con respecto a otros países productores. Dada su ubicación geográfica, Perú está en capacidad de satisfacer la demanda de los países del hemisferio norte en los meses de contra estación (MINAG, 2009).

El Perú exportó en la reciente campaña más de US\$ 16 millones de dólares y las proyecciones de crecimiento para los próximos años son enormes, tanto por la creación de su propio gremio como por los avances tecnológicos y nuevas variedades tempranas que se explotarán. En el 2007 se exportó US\$ 1,1 millón, US\$ 11,6 millones en el 2011, lo que representó un crecimiento promedio de 80% anual en ese período. Se prevé que al cierre del 2016 las exportaciones de Granada lleguen a US\$ 45 millones anuales. (Agronegociosperu.org,2015).

Actualmente el Perú está exportando a los países de la Unión Europea, entre ellos los que más destacan son Francia, Holanda, Suecia, España y Bélgica. Otros países de destino en Europa también lo son Suiza y Rusia, además otro destino importante de las exportaciones peruanas de granada fresca es Canadá. De todos estos mercados el principal destino de las exportaciones peruanas es Holanda seguido de Canadá. Rusia es un mercado potencial al cual se viene exportando desde el año 2004 de forma continua. Las principales zonas de producción para la exportación se encuentran ubicadas en Ica y Lima, principalmente en las zonas de Huaral y Chilca siendo las principales variedades que se cultivan la variedad Mollar, la Valenciana y Wonderful. (Prompex, 2008 citado por Rebiol 2012).

Las exportaciones están creciendo de manera sostenida logrando tasas de crecimiento superiores al 20%, el máximo monto exportado se logró en el año 2005 con un valor FOB superior a los US\$ 600,000. Puesto que, cuenta con la característica de ser resistente a los viajes de larga distancia y ser muy requerido en el mercado internacional (FAO, 2011).

2.4 comparación proximal de la granada

2.4.1 Composición de la granada

La granada tiene valiosos compuestos en diferentes partes de la fruta. La composición química de los frutos varía en función de la variedad, zona de cultivo, el clima, la madurez, el cultivo la práctica, y las condiciones de almacenamiento. Existen estudios donde se muestran variaciones significativas en el contenido de los ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, azúcares solubles, vitaminas y minerales de granadas dependiendo de las condiciones de cultivo (Mirdehghan y Rahemi, 2007; Tezcan et al., 2009).

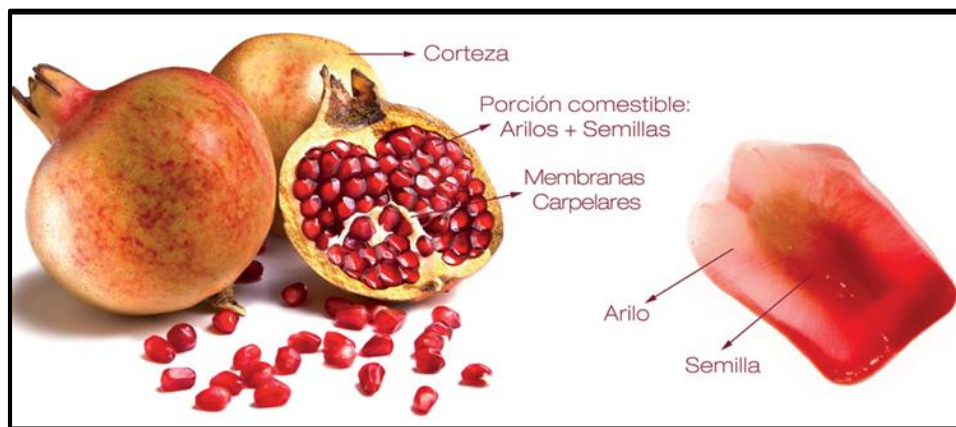


Figura 6: estructura de la granada

Fuente: Granate plus, 2014

La granada se puede dividir en cuatro partes: la cáscara, las membranas carpelares, las semillas y los arilos. Generalmente contiene 8 carpelos en los que se encuentran los arilos (porción comestible), representado éstas un porcentaje comprendido entre el 40 y el 75 %, dependiendo de las variedades; las membranas carpelares y la corteza representan el 25-60 % del peso del fruto, siendo esta una importante fuente de compuestos bioactivos tales como los compuestos fenólicos, flavonoides, elagitaninos y proantocianidinas (Li et al., 2006), además de minerales como sodio, potasio, nitrógeno, calcio, fósforo y magnesio.

La porción leñosa de los arilos (semillas) varía entre el 5 y el 15 %. El fruto completo posee aproximadamente un 80 % de agua. Los granos de granada son una fuente importante de lípidos, ya que las semillas contienen una cantidad de ácidos grasos que oscilan entre el 12 y el 20 % de su peso total (peso seco).

Los arilos se utilizan generalmente para el consumo en fresco, jugo, mermeladas y jaleas de producción, y también para el desarrollo de extractos para ser usados como ingredientes en los preparados de hierbas medicinales y suplementos dietéticos (Goula y Adamopoulos, 2012 citado por Melgarejo, 2015).

Tabla 01 contenido nutricional de 100 g de la porción comestible de la granada.

Componente	Contenido
Agua	76,2-82.3%
Calorías	63-78
Humedad	72-86g
Proteínas	0,05-1,6g
Carbohidratos	15-20g
Fibra	3,4-5,0
Calcio	3-12mg
Fósforo	8-37mg
Hierro	0,3.1,2mg
Sodio	3mg
Potasio	259mg
Vitamina C	4mg

Fuente: Quiroz, 2009

La granada contiene celulosa, vitaminas A, B1, B2, B3, C, D, calcio, fósforo, hierro, potasio, sodio, azufre, silicio, cloro, ácido fórmico, cítrico, mático y tánico. (Prodar, 2006)

Tabla 02 valor nutricional de la granada (g/100g de porción comestible).

Valor nutritivo por 100 g de Poción comestible	
Calorías	63-78
Humedad	72.6-86.4 g
Proteína	0.05-1.6 g
Carbohidratos	15.4-19.6 g
Fibra	3.4-5.0 g
Ceniza	0.36-0.73 g
Calcio	3-12 mg
Fósforo	8-37 mg
Hierro	0.3-1.2 mg
Sodio	3 mg
Potasio	259 mg
Tiamina	0.003 mg
Riboflavina	0.012-0.03 mg
Niacina	0.180-0.3 mg
Ácido ascórbico	4-4.2 mg
Ácido cítrico	0.46-3.6 mg
Ácido bórico	0.005 mg

Fuente:Infoagro, 2010

2.5 componentes funcionales de la granada

Los frutos del granado son muy atractivos por su forma y color de la cáscara y arilos. La demanda y consumo de granadas a nivel mundial está viviendo un explosivo aumento debido al alto contenido de polifenoles, 17% más antioxidantes que el vino tinto. Todo esto explica el gran interés por parte de los consumidores, principalmente en los países más desarrollados. Existen numerosos artículos científicos que demuestran los beneficios a la salud asociados a su consumo, tales como: disminución de los niveles de LDL (colesterol malo), prevención de ciertos tipos de cáncer como el de mama, piel, próstata y a los pulmones,

poder regenerativo de glóbulos rojos, propiedades diuréticas y antihipertensivas. (Quiroz,2009).

A continuación se citarán algunos compuestos de gran interés, que están presentes en la granada.

2.5.1 Antocianinos

Los antocianinos son considerados responsables del color rojo de las granadas y de sus semillas, siendo este un atributo de calidad importante. El color rojo depende de la concentración en antocianinos que éstas contengan y del tipo de antociano. En el granado se han identificado 6 antocianinos como los responsables del color del zumo de la granada: delphinidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido; cianidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido y pelargonidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido (Du et al.,1975). La presencia de estos compuestos fenólicos radica en su acción antioxidante (protegen frente a los radicales libres retrasando el proceso de envejecimiento de las células), aspecto muy estudiado durante los últimos años en gran cantidad de frutos, entre los que se incluye la granada.

La actividad captadora de radicales libres de estos flavonoides ha sido demostrada (Espín et al., 2000), lo que hace que un 10% de la capacidad antioxidante del zumo de granada se deba a la presencia de estos polifenoles (Gil et al., 2000). La capacidad antioxidante del zumo de granada es tres veces superior a la del vino tinto y a la del té verde (Gil et al., 2000).

Estos compuestos también pueden utilizarse como colorantes naturales, adicionándolos a otros alimentos.

2.5.2 Ácidos Grasos del aceite de la semilla de granada

La granada es un fruto rico en semillas, que contienen entre un 5% y un 15% de porción leñosa, siendo ésta rica en fibra y grasa.

La parte leñosa de estas semillas contiene grasa en cantidades que varían entre 37 y 143 g/kg de fruto (Melgarejo et al. 1995). Este contenido en grasa y su composición en ácidos grasos es un

parámetro de calidad para el consumidor, especialmente la ratio ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados. Resulta de gran importancia la composición en ácidos grasos esenciales (linoléico, linolénico y araquidónico) y especialmente por su contenido en ácidos grasos poliinsaturados. Éstos juegan un papel muy importante como preventivos en enfermedades cardiovasculares y en algunos otros problemas de corazón, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados reducen considerablemente los niveles de HDL-colesterol (Grande 1988; De Hoya y Mata 1989). La composición en grasa y ácidos grasos de la semilla, no sólo nos ayuda a establecer relaciones quimiotaxonómicas entre las variedades estudiadas sino que también tienen un gran interés alimenticio y para la prevención de algunas enfermedades. (Mirmiran et al., 2010).

Las semillas dependiendo de la variedad, la ubicación geográfica, las condiciones de crecimiento, madurez etapa, tienen diferentes propiedades antioxidantes y se componen principalmente de fibra y lípidos Hernández et al, (2011). Con un aceite contenido que varía de 12% a 20% (Lansky y Newman, 2007).

Varios estudios han demostrado que los aceites de semillas de granada son buenas fuentes de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente linoleico y ácido punícico (Eikani et al, 2012;.Jing et al, 2012;. Liu et al, 2012), y tocoferoles (Jing et al., 2012). Debido a estas características, la extracción de aceites de semillas de granada debe fomentarse, con potencial como fuente de nutrientes y antioxidantes con beneficios para la salud humana, lo que reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Kohno et al., 2004), para aliviar los síntomas de la menopausia (Lansky y Newman, 2007), la mejora de la función inmune (Yamasaki et al (2006) y prevención de trastornos genéticos Guo et al, entre otros., 2007).

Tabla 03 Propiedades fisicoquímicas de las semillas y cáscara de la granada (púnica granatum)

Análisis en base seca	Cantidad por 100 g de muestra	
	Semilla (g)	Cáscara (g)
Materia seca	74.33 ± 0.09	94.45 ± 1.25
Humedad	25.66 ± 0.09	5.5 ± 1.25
Cenizas	3.62 ± 0.13	3.59 ± 0.08
Grasa cruda	10.33 ± 0.17	3.57 ± 0.38
Proteína total	10.42 ± 2.62	1.26 ± 0.17
Fibra cruda	12.12 ± 2.10	17.75 ± 1.61
Azúcares totales	10.13 ± 0.33	16.08 ± 0.61
Azúcares reductores	4.67 ± 0.02	4.34 ± 0.01
Fenoles hidrolizables totales	0.002 ± 0.00015	6.11 ± 1.83
Ácido elágico	0.0048 ± 0.00002	0.26 ± 0.08
Índice de absorción de agua (WAI)	1.26 ± 0.020	4.84 ± 0.006
Punto crítico de humedad (CHP)	64.55 ± 2.170	22.08 ± 0.630
pH	5.37 ± 0.354	5.70 ± 0.420
Actividad de agua (aw)	0.156 ± 0.015	0.189 ± 0.018

Fuente: Peris, Stübing y Figuerola 1996

Tabla 4 Composición de ácidos grasos (mg/100 g de semilla) del aceite extraído de la semilla de seis variedades de granada

Variedad	Mollar de elche	CIS 127	Katirbasi	Parfianka	Wonderful 1	Wonderful 2
Total Oilcontent (%)	5.33 ± 2.08	5.94 ± 0.95	13.7 ± 1.42	5.97 ± 0.88	8.6 ± 3.15	6.85±2.48
SFA						
HexadecanoicAcid (C16:0)	213±34	206±10	408±1	200±8	283±9	230±9
Heptadecanoicacid(C17:0)	4.6±1	3.6±0.2	7.3±0.5	3.1±0.2	5.2±0.5	4±0.1
Octadecanoicacid (C18:0)	89±1	107±2	215±2	84±3	149±4	116±1
Icosanoicacid (C20:0)	17±2	17±1	40±1	17±3	28±2	21±1
Docosanoicacid (C22:0)	6.8±1.4	5.2±0.2	23±8.3	12.2±7.4	17.4±13.2	104±6.1
Tetracosanoicacid (C24:0)	60±13	60±23	144±15	63±8	66±38	65±27
MUFA						
Cis_9_octadecenoic acid (C18:1(9))	190±33	262±15	611±21d	241±11	414±63	380±37
Cis-9-icosenoic acid (C20:1(9))	25±2	26±1	69±6d (0.5)	26± 1	47±3	42± 1
PUFA						
Cis,cis-9-12-octadecanoic acid (C18:2(9,12))	214±11	254±11	515±5	253±11	397±36	330±25
Cis,cis,cis-9,11,13-octadecatrienoic acid (C18:3(9,11,13))	4201±89	4862±21	10586±59	4545± 58	7028± 197	5342±41
OtherCLnA Fattyacid	325±26	182± 42	375±44	412± 99	27± 9	124±98
Total SFA	390	399	837	379	549	447
Total MUFA	215	288	679	268	462	422
Total PUFA	4740	5298	11475	5209	7452	5795
∑ Unsat	4955	5562	12.155	5477	9714	6217
SFA/ (PUFA + MUFA)	0.079	0.071	0.069	0.069	0.069	0.071

Fuente: Hernandez 2015

Los ácidos grasos son los componentes más importantes de los aceites y las grasas, son moléculas lineales, químicamente formadas por una larga cadena de átomos de carbono y de hidrógeno y en un extremo un grupo carboxilo (figura 8). Generalmente, suelen tener un número par de átomos de carbono pero existen ácidos grasos con número impar, el ácido margárico de 17 átomos de carbonos es uno de ellos. Graciani, (2006)

Cada átomo de carbono se une al siguiente y al precedente por medio de un enlace covalente sencillo o doble. Su fórmula química es $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, (n indica la cantidad de átomos de carbono que forman la cadena hidrocarbonada). Los ácidos grasos difieren entre sí por su longitud y por el número y posiciones de enlaces doble entre carbonos consecutivos ($\text{C}=\text{C}$). Esto permite clasificarlos en saturado, monoinsaturados y poliinsaturados. (Navas P.2010)

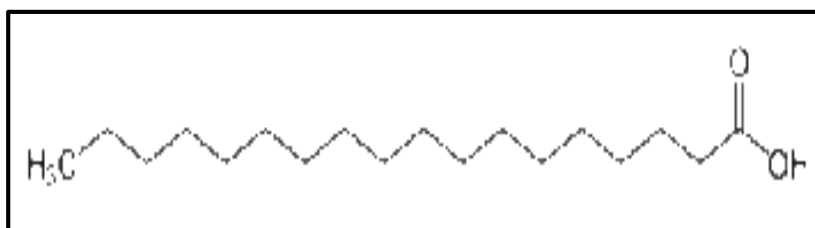


Figura 7: Estructura molecular de un ácido graso

Fuente: Navas, 2010

2.5.2.1 Ácidos Grasos Saturados

Los ácidos grasos saturados poseen un enlace simple entre cada par de átomos de carbonos ($\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}$), y todos los átomos de carbono (menos el terminal) están unidos a dos átomos de hidrógeno, es decir, que están “saturados” de hidrógeno. Son ejemplos el esteárico, butírico, palmítico, entre otros. Están presentes en las grasas animales, y en aceites vegetales de cacao, palma, coco y otros. (Navas, 2010)

Dentro de éstos ácidos grasos se pueden agrupar en:

a) Ácidos grasos de cadena corta (volátiles)

- Ácido butírico (ácido butanoico)
- Ácido isobutírico (ácido 2-metilpropiónico)
- Ácido valérico (ácido pentanoico)
- Ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico)

b) Ácidos grasos de cadena larga:

- Ácido mirístico, 14:0 (ácido tetradecanoico)
- Ácido palmítico, 16:0 (ácido hexadecanoico)
- Ácido esteárico, 18:0 (ácido octadecanoico)

2.5.2.2 Ácidos Grasos Monoinsaturados

Los ácidos grasos monoinsaturados son aquellos ácidos grasos de cadena carbonada par que poseen una sola insaturación en su estructura, es decir, poseen un solo doble enlace carbono-carbono ($-\text{CH}=\text{CH}-$). Un ejemplo de este tipo de ácidos es el ácido oleico (figura 4) presente en casi todas las grasas naturales, llamado comúnmente omega 9. (Navas, 2010)

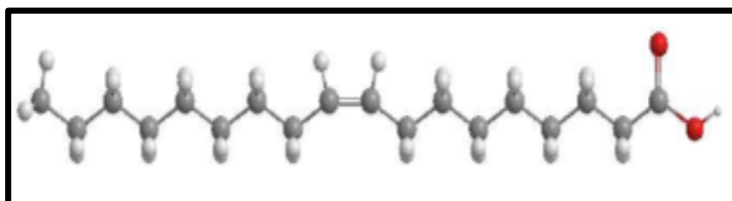


Figura 7: Estructura molecular del ácido oleico

Fuente: Navas, 2010

2.5.2.3 Ácidos Grasos Poliinsaturados

Los ácidos grasos poliinsaturados (polyunsaturated fatty acids, PUFA), poseen un grupo polar carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada de 16 a 20 carbonos con doble enlaces en dos o más pares de carbonos (C=C). Al ser “insaturados” son capaces de fijar más hidrógeno. Los ácidos grasos octadecanoides (18 carbonos) como el ácido linoleico y el α -linolénico son los miembros básicos de los PUFA de la serie n-3 y n-6, respectivamente (figura 8). (Navas, 2010)

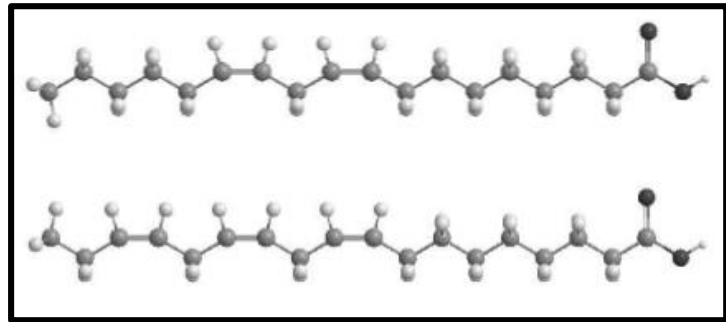


Figura 8: Acido linoleico y linolenico

Fuente: Navas, 2010

2.5.3 Fibra bruta (FB)

Las granadas españolas presentan un contenido en FB que varía entre un 5 y un 22%, siendo de pinón blando aquellas cuyo contenido en fibra bruta es inferior al 9%. La porción comestible de esta fruta puede considerarse también como una fuente de fibra natural.

La fibra se encuentra en la porción leñosa de las semillas, por lo que las bebidas o extractos que no contengan esta parte no dispondrán de esta fracción de fibra.

2.5.4 Taninos

Son sustancias de origen vegetal y estructura polifenólica, de sabor astringente, solubles en agua, en alcohol y en acetona; por su capacidad de precipitar proteínas se usan para curtir la piel. Farmacológicamente, presentan acciones derivadas de su capacidad de formar complejos y precipitar metales, alcaloides y proteínas (Arango, 2010).

- Son astringentes y antidiarreicos, se unen y precipitan las proteínas presentes en las secreciones.
- Antimicrobianos y antifúngicos.
- Antídotos para el envenenamiento con alcaloides y metales pesados. Su toxicidad en general es baja y deriva de la posible intolerancia gástrica y estreñimiento que pueden causar. (Arango, 2010).

La corteza de la granada contiene taninos hidrolizables llamados elagitaninos, que al ser hidrolizados en el cuerpo producen ácido elágico. Es una sustancia que promueve la apoptosis (muerte celular natural) de las células cancerosas sin dañar a las células normales.

Se trata de un potente antioxidante y anticarcinógeno que protege a las células frente a los daños provocados por los radicales libres e inhibe las mutaciones del ADN. Otras funciones son: mejora la actividad capilar y fortalece sus membranas, suaviza y mejora la elasticidad de la piel, reduce la retinopatía diabética y mejora la visión, reduce las venas varicosas, ayuda a mejorar la función cerebral y combate la inflamación en la artritis (Sánchez, 2009).

2.5.6 Isoprenoides

Diversas clases de lípidos que pertenecen a este grupo se caracterizan por estar formados por unidades respectivas de isopreno. (Stuchlí et al., 2002 citado por Navas, 2010)

Clasifica a los isoprenoides en: isoprenoides mixtos, esteroides y terpenos.

a) Isoprenoides Mixtos

Los isoprenoides mixtos contienen una cadena lateral formada de unidades de isopreno unida a un anillo cromanol no terpenoide denominada fitil. A este grupo pertenecen los submiembros de la vitamina E, como los tocoferoles y tocotrienoles. (Navas, 2010)

Los tocoferoles derivados de la vitamina E, son antioxidantes naturales solubles en lípidos que solo son producidos por las plantas. El término general "Vitamina E" se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles y tocotrienoles (α , β , γ y δ). Junto con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, caracterizadas por ser derivados del núcleo isoprenoide, solubles en lípidos y disolventes orgánicos. Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlas, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades. Para una eficiente absorción por el organismo requieren de la presencia de ácidos grasos, de la bilis y de enzimas lipolíticas del páncreas y mucosa intestinal (Sayago et al., 2007).

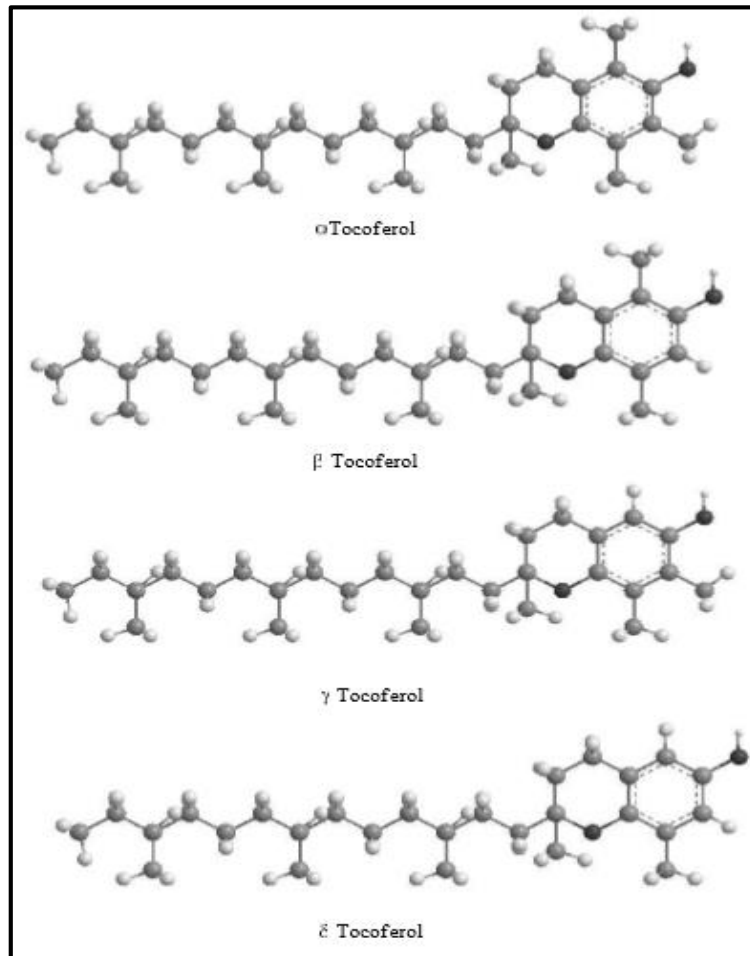


Figura 9: Estructura molecular de los tocoferoles

Fuente: Navas, 2010

La estructura química de la vitamina E consta de dos partes primaria: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral.

Estos ocho cromóforos se dividen en dos grupos fundamentales: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles (figura 9) que se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con tres dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. Dentro de cada grupo, los cromóforos difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromano, designándose como α , β , γ y δ . (Navas, 2010)

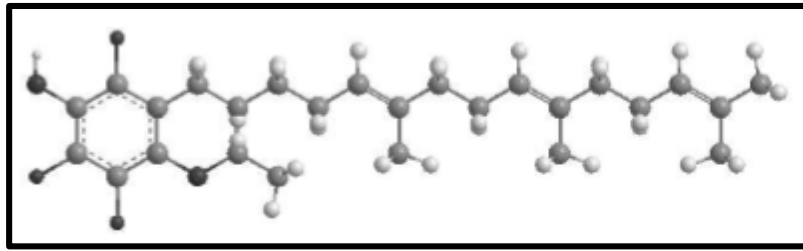


Figura 10: Estructura molecular de los tocotrienoles

Fuente: Navas, 2010

El α -tocoferol que es la principal forma de la vitamina E actúa rompiendo las reacciones en cadena durante la peroxidación de los lípidos, también actúa en la neutralización de especies de oxígeno reactivo como por ejemplo el oxígeno singlete. Se considera que sirve como la primera línea de defensa de la peroxidación de los lípidos. Por otro lado, este compuesto también exhibe una acción antiinflamatoria por inhibición de la producción de radicales libre o superóxidos en los neutrófilos activados. (Liebler, 1993)

b) Esteroles

Los fitoesteroles y fitoestanoles son los miembros más importantes de este grupo cuya estructura es semejante al colesterol de origen animal, pero este último presenta una cadena lateral de 8 átomos de carbono, mientras que en la mayoría de los fitoesteroles la cadena es de 9 o más átomos de carbono. Estas moléculas no son sintetizadas por el ser humano, derivan exclusivamente de productos de origen vegetal. Los fitoesteroles son particularmente abundantes en el reino vegetal: están presentes en los frutos, semillas, hojas y tallos de prácticamente todos los vegetales conocidos, así como también en aceite de germen de maíz y trigo, girasol, soja, nueces y otros. (Navas, 2010)

Los fitoesteros son triterpenos insaturados con uno o dos dobles enlaces entre carbono y carbono; más de 100 tipos diferentes de fitoesteros han sido encontrados en las plantas, siendo los más abundantes el β -sitosterol, estigmasterol y campesterol (figura 11), mientras que en menor proporción está el brasicasterol, campestanol y el Δ^5 Avenasterol. (Fernández et al., 2007)

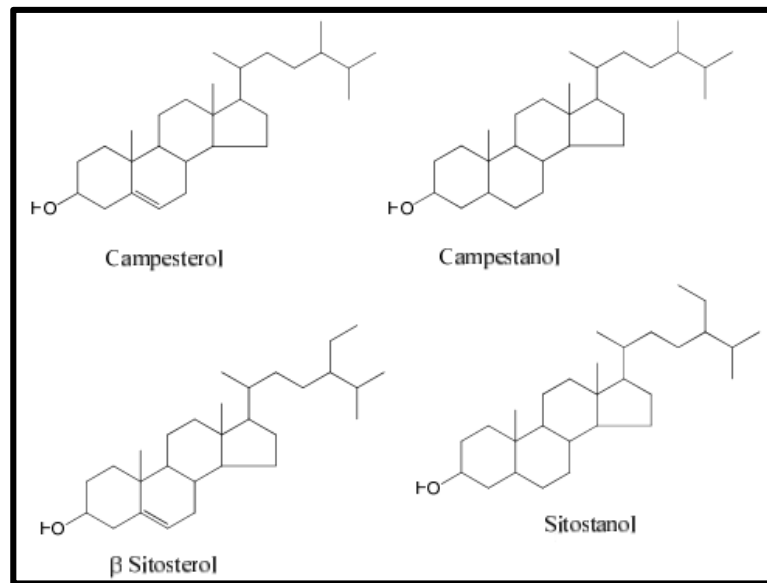


Figura 11: Estructura química de algunos fitoesteros y fitoestanoles

Fuente: Navas,2010

Los fitoesteros pueden formar ésteres con ácidos grasos, ácidos fenólicos o hexosas (glucosas). A diferencia de los fitoesteros, los fitoestanoles son triterpenos saturados ya que no contienen dobles enlaces C-C y son menos abundantes en la naturaleza. (Moreau et al., 2002)

c) Terpenos

Son moléculas lineales formadas de unidades poliméricas de isopreno con propiedades antioxidantes que protegen a lípidos y compuestos celulares del ataque de agentes oxidantes como

radicales libres de oxígeno, superóxido y grupos hidroxilo reactivos (Drago M. et al., 2006).

Se consideran, lípidos insaponificables e insolubles en agua, formados por dos o más unidades de isopreno o 2-metil-1,3-butadieno (figura 9), pudiendo ser moléculas lineales o cíclicas, y en algunos casos contienen estructuras de ambos tipos. Las sucesivas unidades de isopreno se hallan enlazadas por lo común mediante enlaces cabeza-cola, aunque también existen enlaces tipo cola-cola. Los terpenos que contienen dos unidades de isopreno, son denominados monoterpenos; aquellos que contienen tres unidades se conocen como sesquiterpenos y los que contienen cuatro, seis u ocho unidades reciben el nombre de diterpenos, triperpenos y tetraterpenos. (Ávalos A. et al., 2009)

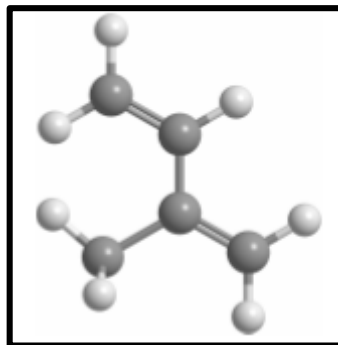


Figura 12: Estructura del isopreno

Fuente: Navas, 2010

2.5.7 Compuestos Fenólicos

Los biofenoles son un grupo de sustancias químicas que se encuentran en las plantas y se caracterizan por la presencia de más de un grupo fenólico por molécula. Las investigaciones sugieren que los polifenoles son antioxidantes naturales que incluyen a los fenoles ácidos y flavonoides. En términos generales, los fenoles ácidos se caracterizan por tener un anillo aromático central como en el caso del ácido cinámico y otros derivados. (Mattila et al., 2002)

Existen muchas familias de polifenoles presentes en los aceites vírgenes, dentro de los más citados se encuentran los ácidos fenólicos como el ácido cafeico, el ácido clorogénico, el ácido ferulico, el ácido cumarico y ácido galico. (Slavin M. et al., 2009)

El daño por el estrés oxidativo es el desequilibrio entre los compuestos oxidantes y antioxidantes en el organismo. Los compuestos oxidantes, llamados “radicales libres” se compensan con los antioxidantes, y por eso tienen un papel fundamental aquellos que nos proporciona la dieta. Los polifenoles son sustancias de origen vegetal que están presentes en el aceite virgen de oliva y otras fuentes de semillas. Su estructura química les confiere extraordinarias características antioxidantes, atrapando a los radicales libres. Estos radicales libres son sustancias que tienen un electrón no apareado que busca el equilibrio atrapando el electrón que le falta de otras sustancias y así oxidándolas. Si hay más compuestos oxidantes que antioxidantes (estrés oxidativo), estos contribuyen al desarrollo de enfermedades como el cáncer, la arteriosclerosis, envejecimiento y proceso neurodegenerativos como la enfermedad del alzheimer. (Valente T. et al., 2009)

2.5.8 Componentes Volátiles

El flavor y aroma de los aceites vegetales son generados por una serie de compuestos volátiles que presentan las características de poseer una masa molecular relativamente baja, moléculas de carácter polar, liposolubles y estar presente en concentraciones extremadamente baja.

El desarrollo de componentes volátiles está favorecido por la actividad enzimática y la calidad de la materia prima, por lo que es necesario proceder con cuidado durante y después de la cosecha de frutos y semillas oleaginosas. La humedad de las semillas durante el almacenamiento influyen en gran medida en la calidad del aceite extraído; semillas con contenidos elevados de humedad favorecen el desarrollo y crecimiento de microorganismos, lo que produce elevados

niveles de ácidos grasos libres y características organolépticas pobres o desagradables. (Navas, 2010)

En los aceites vírgenes de semillas se han detectado compuestos orgánicos saturados, insaturados, aromáticos e hidrocarburos terpénicos, así como también alcoholes, aldehídos, ésteres y éteres. (Cert A. et al., 2000)

2.6 características fisicoquímicas del aceite

2.6.1 Índice de acidez

Es uno de los valores más importantes, pues permite definir la calidad del aceite. Los aceites demuestran su acidez según el grado de hidrólisis de sus ácidos grasos.

Este proceso de acidificación, que es muy reducido en los aceites finos, se ve incrementado en forma notable en los productos que han tenido origen en materia prima de mala calidad, frutos recogidos del suelo, estrujados o elaborados con equipos o máquinas inadecuadas, por aplicación de temperaturas elevadas, mala conservación, etc.

El porcentaje de acidez es sumamente variable, pudiendo expresarse que trabajando en condiciones adecuadas los aceites no deben presentar valores superiores a 0.4 - 0.5 % en ácido oleico. En general se toma como límite la acidez de 1% en ácido oleico para calificar comercialmente aceites finos o calidad extra. Sin embargo, el producto puede considerarse comestible aún con valores mayores y según la reglamentación de cada país.

La determinación del índice de acidez, consiste en determinar los ácidos grasos libres presentes en los aceites y grasas, que se forman por hidrólisis de los triglicéridos, de acuerdo a la siguiente ecuación.



Los ácidos grasos se pueden expresar como índice de acidez o porcentaje de acidez.

Índice de Acidez, : Es el número de miligramos de KOH necesarios que se requieren para neutralizar los ácidos grasos libres de un gramo de grasa.

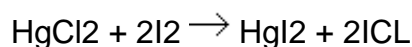
Porcentaje de acidez, Es el número de gramos de ácidos grasos libres contenidos en 100 gramos de grasa. Generalmente se expresa en función al ácido libre predominante, que generalmente es el ácido oleico.

2.6.2 Índice de yodo

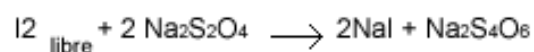
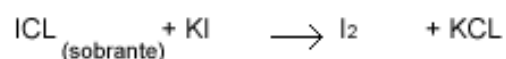
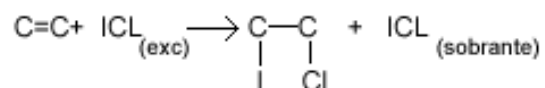
El índice de yodo mide la instauración de los ácidos grasos y ésteres, ya que es función del grado de instauración. Se determina añadiendo a la muestra un exceso de reactivo halogenado que reacciona con los dobles enlaces (Adición electrofílica); en el método wijs la grasa disuelta se hace reaccionar con monoclóruo de yodo en exceso. La cantidad de monoclóruo de yodo que no se adiciona a los dobles enlaces oxida una disolución de yoduro a yodo, y éste se determina por valoración con una disolución de tiosulfato sódico. La reacción de adición se lleva a cabo en oscuridad para evitar que se produzcan reacciones laterales de radicales inducidos por la luz (y con ello un gasto aparente de halógeno mayor). Dado que el reactivo halogenante va preparado en acético glacial y es de concentración aproximada y variable deberá hacerse siempre un ensayo en blanco para calcular su equivalencia en yodo. Posteriormente, se valora por retroceso el exceso de halógeno que no ha reaccionado (valoración redox) El resultado se expresa como peso de yodo absorbido por 100 partes de peso de materia grasa. (Hamm W. y Hamilton H., 2001)

Reacciones

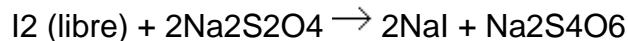
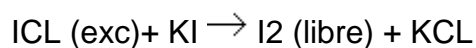
Reactivo de wijs



Muestra



Blanco



2.6.3 índice de peróxido

Éste es el método clásico (PV, AOCS Cd 8b-90) para medir la oxidación de un aceite, tiene el inconveniente que solo permite apreciar compuestos peroxidados que se forman en las fases iniciales de la oxidación, motivo por el cual los valores tienden a disminuir bruscamente si la rancidez se encuentra en un estado muy avanzado por lo que también tiene poco valor para el aceite de fritura ya que esta prueba es altamente sensible a las temperaturas y el PV obtenido sería más una indicación del proceso de enfriamiento y almacenamiento después del calentamiento que de los productos formados por efecto de la temperatura. (Gordon, 2001)

2.6.4 Valor de la Anisidina (AOCS CD 18-90)

Los aldehídos son productos de la descomposición de los ácidos grasos peroxidados. Este valor mide los niveles de aldehídos utilizándolos como un indicador que determina la cantidad de material peroxidado que ha sido desdoblado dando lugar a diferentes tipos de compuestos carbonílicos. Conjuntamente con los niveles de peróxido presentes, el perfil de la degradación pasada y futura, un aceite puede ser mapeado o graficado especialmente en aceites procesados por segunda vez para reducir el nivel de los ácidos grasos libres. (Navas, 2010)

2.7 Estabilidad Oxidativa

La determinación de la estabilidad oxidativa de estos aceites vírgenes es de mucha importancia, debido a que la autooxidación es la principal causa de deterioro por rancidez, con la consecuente aparición de olores y sabores desagradables. La evaluación de la estabilidad bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente permite obtener de manera exacta la estabilidad de un aceite; sin embargo, es un procedimiento que requiere de mucho tiempo ya que las reacciones de oxidación pueden tener periodos de inducción muy largos. Por esta razón, se han desarrollado pruebas de oxidación acelerada, siendo el método del Rancimat uno de los más utilizados. (Navas, 2010)

La rancidez oxidativa es sin duda la principal causa del deterioro de aceites y grasas y define la vida de almacenamiento de este tipo de productos. Por lo tanto, la estabilidad (resistencia a la oxidación) viene a ser uno de los factores que más preocupan a los productores, así como también es uno de los principales criterios de calidad en aceites y grasas. Innumerables factores determinan la estabilidad de aceites y grasas, destacando la composición química y las condiciones de procesamiento. (Barrera D., 1998)

El estado oxidativo del producto, indica su situación oxidativa actual y que depende de las condiciones de manejo, almacenamiento y procesamiento de las materias primas y productos intermediarios y finales, en suma de la historia del producto, más no proporciona ninguna información acerca de su posible estabilidad. Cuando se trata de estabilidad, en realidad estamos queriendo estimar su comportamiento futuro, donde no solamente la historia del producto está implicada, sino también su composición química, es decir la presencia o ausencia de antioxidantes o pro-oxidantes, la cantidad de ácidos grasos insaturados y su tipo, etc., factores de vital importancia en la estabilidad de un aceite o grasa. (Barrera D., 1998)

La estabilidad oxidativa se define como la resistencia de una matriz lipídica a la oxidación por efecto de la temperatura, luz, oxígeno, presencia de metales etc., lo que genera el deterioro de un aceite o grasa en un periodo de tiempo razonablemente corto. (Frankel, 1998)

2.7.1 Relación empírica entre el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y la temperatura

Se estableció una relación matemática entre los valores de OSI y la temperatura utilizada en el equipo Rancimat, tal como lo han señalado para aceites vegetales, Nakatani et al., (2001) y Méndez et al., (2006).

En la ecuación empírica (17), el término A representa el coeficiente de temperatura, que indica que tan susceptible es el aceite virgen al aumento de la temperatura durante el ensayo de oxidación acelerada, dicho valor es calculado a partir de la pendiente de las rectas que se obtienen al representar el logaritmo decimal de OSI en función a la temperatura. El término B corresponde a un valor empírico sin significación física.

$$\text{Log(OSI)} = AT + B \quad (17)$$

La ecuación empírica (17) puede utilizarse para calcular los valores de OSI a temperaturas distintas a aquellas utilizadas en la oxidación acelerada, para lo cual se aplican procedimientos matemáticos de interpolación o extrapolación; en este último caso se extrapolaría a las temperaturas usuales de almacenamiento de los aceites.

No obstante, con el propósito de evaluar la capacidad predictiva de la ecuación empírica, se calcularon los valores de OSI para una temperatura de 25°C.

También se aplicó el cálculo del error asociado al valor extrapolado aplicando el método de propagación de errores. En primer lugar se hizo la transformación de la ecuación empírica (17) para obtener la ecuación (18):

$$\text{OSI} = 10^{AT+B} \quad (18)$$

Para obtener el error de la extrapolación se usó la ecuación diferencial (19) en la cual el diferencial total viene dado por la suma de las derivadas parciales de cada uno de los términos:

$$\delta \text{OSI} = \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial T} \right)_{A,B} \delta T + \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial A} \right)_{T,B} \delta A + \left(\frac{\partial \text{OSI}}{\partial B} \right)_{T,A} \delta B \quad (19)$$

2.7.2 Relación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) y Energía de Activación de oxidación

Se determinó a partir de la pendiente de la recta que resulta de representar el logaritmo natural de los valores de OSI contra el inverso de la temperatura absoluta. En este caso, R representa la constante universal de los gases y Z es el factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius.

La dependencia de los valores de OSI con respecto a la temperatura termodinámica fue utilizada para la determinación de la energía de

activación de las reacciones de oxidación en los aceites vegetales vírgenes estudiados. Según las consideraciones de Blaine y Savage (1992) y Garcia-Ochoa et al. (1989), la adición de los radicales de oxígeno a los ácidos grasos se produce preferentemente en los dobles enlaces entre los átomos de carbono, siguiendo cinéticas de primer orden. Según estos autores se puede hacer uso de la ecuación:

$$\alpha = \frac{x}{a_0 - x} \quad (20)$$

Donde α , representa el grado de transformación de las moléculas, a_0 presencia de insaturaciones iniciales y x la formación de los productos secundarios de la oxidación.

Integrando la ecuación (20)

$$\int_{\alpha=\alpha_0}^{\alpha=\alpha^*} \frac{d\alpha}{1-\alpha} = \int_{t=t_0}^{t=t^*} dt \quad (21)$$

Donde α^* representa el grado de transformación para un tiempo t^* o periodo de inducción, Resolviendo la integral (21) se obtiene la ecuación (22):

$$-\ln(1 - \alpha^*) = Kt \quad (22)$$

Definiendo t^* como OSI y despejando se obtiene la ecuación (23):

$$OSI = \frac{-\ln(1-\alpha^*)}{K} \quad (23)$$

Se establece la relación entre la constante de velocidad y la temperatura termodinámica (T) Haciendo uso de la ecuación de Arrhenius (24)

$$K = Z e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (24)$$

Sustituyendo (23) en (24) y aplicando logaritmo se obtiene la ecuación (25)

$$\ln(OSI) = \ln\left(\frac{-\ln(1-\alpha^*)}{Z}\right) + \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (25)$$

2.7.3 Oxidación de Aceites Vegetales Vírgenes

La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total de las sustancias sensibles. Con la oxidación, aparecen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y desciende el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poliinsaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud. (Navas, 2010)

Los ácidos grasos poliinsaturado, presentes en los alimentos, pueden oxidarse a hidroperóxidos mediante reacciones de oxigenación catalizadas por una lipoxigenasa, por fotooxidación o por autooxidación química. La lipoxidasa, cataliza la oxidación de los lípidos principalmente insaturados. Las peroxidasas transfieren de los peróxidos a un sustrato oxidable. Los peróxidos formados por las lipoxidasas son muy buenos suministradores de oxígeno en reacciones catalizadas por peroxidasas y pueden servir incluso para oxidar nuevas moléculas de ácidos grasos insaturados, siendo, por lo tanto, una nueva fuente de oxidación. (Navas, 2010)

La oxidación de los lípidos, en alimentos, se debe a la reacción del oxígeno con los lípidos insaturados por dos vías: la autooxidación y la oxidación fotosensibilizada.

La autooxidación es una reacción en cadena de radicales libres que consta de 3 etapas: (a) la reacción de iniciación da lugar a la formación de radicales libres a partir de los ácidos grasos poliinsaturados o peróxidos lipídicos, (b) las reacciones de propagación que se caracterizan por acumulación de peróxidos lipídicos, por la acción de oxígeno gaseoso y la presencia de los radicales libres, y (c) las reacciones de paralización y terminación en la que los radicales libres se asocian en productos y componentes no radicales, dando origen a la

descomposición de peróxidos en aldehídos, cetonas, alcohol, éter, hidrocarburos, ácidos grasos más cortos, epóxidos etc., estos compuestos son llamados productos secundarios de oxidación y son los responsables del desarrollo de sabores y aromas desagradables, conocido como enranciamiento oxidativo. (Navas, 2010)

Algunos aceites y alimentos grasos resisten esta modificación en un amplio grado mientras que otras son más susceptibles dependiendo del grado de insaturación, de la presencia de agentes antioxidantes y otros factores como la presencia de luz por ejemplo que acelera la oxidación. (Navas, 2010)

Los peróxidos son en general compuestos tóxicos. Los hidroperóxidos del ácido linoleico son de los peróxidos más tóxicos que se producen en las alteraciones de las grasas, en general, alteran las vitaminas y la hemoglobina, inhiben algunas enzimas, oxidan los grupos –SH y pueden ejercer una acción mutagénica, también pueden producir lesiones patológicas en el aparato digestivo y se creen que sensibilizan la acción de ciertos agentes cancerígenos. (Sayago A. et al., 2007)

Para prevenir o detener las reacciones de oxidación en aceites y grasas vegetales se hace uso de antioxidantes, los cuales pueden actuar por medio de diferentes mecanismos:

- 1) Deteniendo la reacción en cadena de oxidación de las grasas.
- 2) Eliminando el oxígeno atrapado o disuelto en el producto, o el presente en el espacio que queda sin llenar en los envases, el denominado espacio de cabeza.
- 3) Eliminando las trazas de ciertos metales, como el cobre o el hierro, que facilitan la oxidación.

Los que actúan por los dos primeros mecanismos son los antioxidantes propiamente dichos, mientras que los que actúan de la tercera forma se

agrupan en la denominación legal de "sinérgicos de antioxidantes", o más propiamente de agentes quelante. Los antioxidantes frenan la reacción de oxidación, pero a costa de destruirse ellos mismos. El resultado es que la utilización de antioxidantes retrasa la alteración oxidativa del alimento, pero no la evita de una forma definitiva. (Navas, 2010)

Se han descritos dos mecanismos por medio de los cuales los antioxidantes pueden desactivar a los radicales libres (Prior L. et al., 2005).

a) Mecanismo por transferencia de un hidrógeno (MTP)

Este mecanismo (Figura 20) puede ser representado por medio de la siguiente reacción:

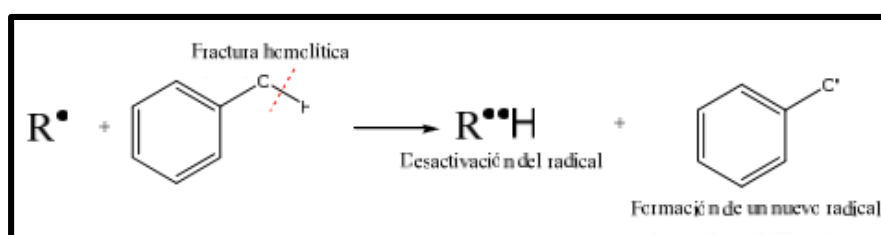


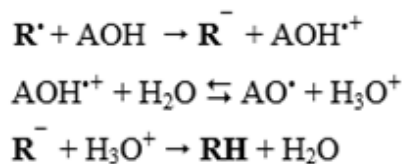
Figura 13: Mecanismo por transferencia de un hidrógeno

La presencia de un radical libre altamente reactivo induce la ruptura homolítica de un enlace en la molécula del antioxidante. Por lo general esta fractura se produce en una unión oxígeno – hidrógeno, como resultado ocurre la transferencia de un H• hacia el radical y la formación de un nuevo radical libre menos reactivo. Este mecanismo se ve en presencia de moléculas aromáticas y de otras moléculas que posean un elevado grado de conjugación, ya que los dobles enlaces alternos permiten la deslocalización del electrón no compartido y, como resultado el radical formado es más

estable. En este caso, las medidas de capacidad antioxidante se basan en cinéticas competitivas, en las cuales se mide la rapidez con la cual diversas moléculas reaccionan con el radical libre.

b) Mecanismo por transferencia simple de un electrón (MTE)

El mecanismo se fundamenta en la capacidad del antioxidante para ceder un electrón y con ello reducir sustancias tales como radicales libres, carbonilos, iones metálicos, etc. Una secuencia de reacciones característica de este tipo de mecanismo es la siguiente:



En este caso, el antioxidante cede un electrón al radical libre, por lo que el potencial de ionización de la molécula es muy importante para establecer la factibilidad de que el proceso ocurra. Como resultado se neutraliza al radical y se forma una especie altamente inestable ($\text{AOH}^{*\bullet}$) que cede un protón a la molécula de agua para producir un radical libre, que se estabilizará por los efectos inductivos o resonantes asociados a su estructura molecular. La medición de la capacidad antioxidante se basa por lo tanto, en el poder reductor que exhiba el compuesto.

2.7.4 métodos para determinar la estabilidad oxidativa de un aceite

2.7.4.1 Método de Oxígeno Activo (AOM)

Método del oxígeno activo (AOM, AOCS Cd 12-57). Mide la estabilidad de oxidación. Consiste en hacer burbujear aire a través del aceite que se encuentra a una temperatura de 97.8°F. Se extraen muestras de aceite a intervalos regulares y se determina el valor de peróxido (VP). El AOM es expresado en horas y es el período de tiempo que necesita el VP para alcanzar cierto nivel. El AOM es

utilizado como una característica específica de los aceites. Las horas del AOM tienden a aumentar juntamente con el grado de saturación o endurecimiento de la muestra. Aunque es un método popular, está siendo reemplazado por el “Índice de Estabilidad del Aceite”. (Navas P., 2010)

2.7.4.2 Método Rancimat

El método rancimat incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92). Es la prueba automatizada del AOM (Método de oxígeno activo), mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. Los productos de la oxidación, tales como el ácido fórmico, son conducidos hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad vs. Tiempo. (Navas, 2010)

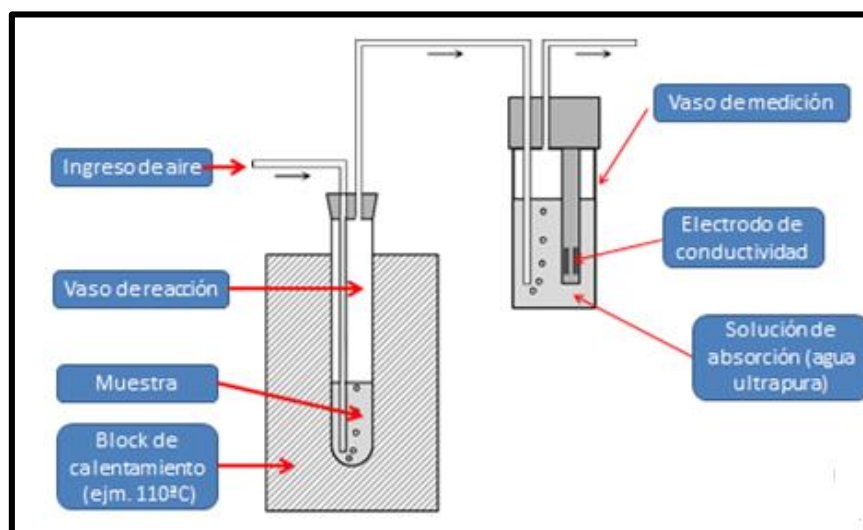


Figura 13: Mecanismo por transferencia de un hidrógeno

Fuente: Loyall, 2010

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Ejecución

Esta investigación fue desarrollada en el Instituto de Investigación Tecnológico Agroindustrial de la escuela de ingeniería agroindustrial de la universidad nacional del santa, Ubicada en: Departamento de Ancash, provincia del Santa, Distrito de Nuevo Chimbote.

3.2. Materia prima

Para el desarrollo de esta investigación se trabajó con frutos de granada proporcionadas por el fundo ALIMENTOS NATURALES ubicado en la ciudad de Casma. Las frutas proporcionadas fueron del descarte del procesamiento frescode exportación.

Características del fruto:

- Frutos rajados (producidos por falta de nutrientes en el suelo)
- Frutos con presencia de hongo (aspergillus)
- Frutos picados por pájaros
- Frutos con daños en la piel

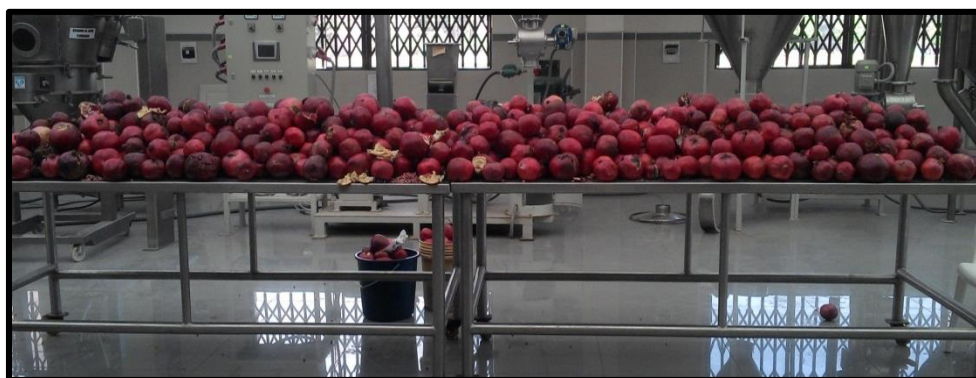


Figura 15: Frutos de granada del fundo Alimentos Naturales



Figura 16: Frutos de granada

3.3 Reactivos

- Nitrógeno (gas), marca messer, con 99.998 % de pureza.
- Alcohol medicinal (95%), marca Inkafarma.
- NaOH, al 99.5 % de pureza marca Merck, país de procedencia Alemania, presentación en lentejas.
- Fenolftaleína. Marca CDH, país de procedencia India, presentación polvo blanquecino.
- Cloroformo. al 99.8 % de pureza marca Merck, país de procedencia Alemania
- Agua destilada proporcionada por el equipo destilación de agua del instituto de investigación de la universidad nacional del santa.
- Yoduro de potasio, marca Merck , país de procedencia Alemania
- FB3, solución al 14% en metanol, marca Merck , país de procedencia Alemania
- Cloruro de sodio al 99.5 % de pureza marca Merck , país de procedencia Alemania
- Almidon soluble, marca Movilab, , país de procedencia Alemania
- Isocctano, al 99.8 % de pureza marca Merck, país de procedencia Alemania al 99% de pureza marca Merck , país de procedencia Alemania, presentación en cristales.

- Reactivo wijs, marca Merck , país de procedencia Alemania
- Ácido acético, marca Merck , país de procedencia Alemania
- Agua ultrapura, con 18 MΩ.cm de Resistividad mínima a 25°C, proporcionada por el equipo purificador de agua del instituto de investigación de la universidad nacional del santa.
- Tiosulfato de sodio, al 97 % de pureza marca Merck, país de procedencia Alemania

3.4 Materiales de vidrio

- Probetas (50 y 60ml) Marienfeld, país de procedencia Alemania
- Vasos precipitados (500 y 1000ml), marca schott, país de procedencia Alemania
- Tubos de ensayo con tapa rosca, marca pyrex, país de procedencia Alemania
- Matraz, marca Isolab , país de procedencia Alemania
- Pipeta de (1, 2, 5, 10)ml marca VWR, país de procedencia México.

3.5 Otros materiales

- Mesa de acero inoxidable.
- Pinzas de metal.
- Gradilla de tubos de ensayo para
- Cocina eléctrica

3.6 Equipos

- Equipo: Rancimat, marca, Metrohm, modelo, 743 es un instrumento moderno, fácil de usar, controlado por ordenador para el análisis de estabilidad a la oxidación de las grasas, aceites y otros productos cuenta con 8 posiciones de muestras, 2 bloques aislados de la calefacción con un rango de temperatura de 50° C hasta 200 °. Lugar de procedencia Herisau Switzerland. Este equipo está localizado en el Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa-Ancash, Perú.

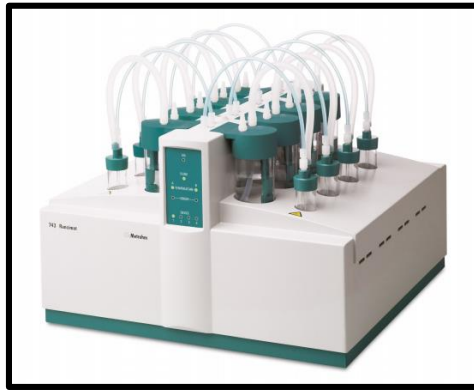


Figura 17: Equipo Rancimat mod. 743

Fuente: catálogo Metrohm, 2010

- Equipo: Prensa SEW-EURODRIVE (EXPELLER), modelo FA57/G, país de procedencia Alemania. tiene las siguientes dimensiones, largo 70 cm, ancho 40 cm y alto 40 cm. Consta de tres componentes principales. un motor eléctrico de 2,2 kW de potencia, que utiliza energía eléctrica de 380 v con un variador de velocidad que mueve a su vez, el tornillo sin fin localizado en la cámara de prensado.

En segundo lugar, la cámara de prensado representada en la figura 4.2, consta de una tolva de aluminio de forma cónica con una capacidad de 2.500 cm³, que alimenta al sistema con las semillas. Inmediatamente seguido se encuentra un tornillo sin fin fabricado en acero inoxidable, que tiene una longitud de 13,5 cm y un diámetro de 3,2 cm, provisto de ranuras en espiral para el transporte de las semillas hacia la cabeza de la cámara, donde está ubicada una boquilla con un diámetro interno que es seleccionado en función al tamaño de las semillas a procesar.

En la zona de contacto entre el tornillo sin fin y la boquilla se produce la presión necesaria para provocar la ruptura de las células contentivas de aceite y este último pueda fluir hacia el exterior a través de agujeros practicados en la parte intermedia de la cámara de prensado.

A través de la abertura de la boquilla sale expulsada la mayor parte del material sólido, bajo la forma de pellets cilíndricos, que pasan a constituir

la torta residual. El aceite crudo se recoge en un vaso de precipitado y usualmente sale acompañado de parte del material sólido (aceite bruto), por lo que una etapa de limpieza posterior es necesaria. Sin embargo, a través del control de la velocidad de giro puede minimizarse este contenido de material indeseable, así como también el contenido de aceite remanente en la torta residual. En este sentido, la velocidad de rotación del tornillo sin fin puede controlarse por medio de la manivela localizada en el lado derecho del motor de la prensa.

Esta prensa está localizada en el Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa-Ancash, Perú.



Figura 18: Expeller

Equipo: Centrífuga refrigerada, marca: SIGMA, modelo: 2 – 16, Velocidad de rotación de 3600 rpm, procedencia Alemania. Cuenta con un motor eléctrico de 1 HP. Esta centrífuga está localizada en el laboratorio composición de productos agroindustriales de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa-Ancash, Perú.



Figura 19: Centrifuga refrigerada

- Equipo: Balanza marca: Precisa modelo: 4200 C, serie: 321LX rango de pesado máximo 4200 gr. Y como mínimo 0,5 gr con un e = 0,1 gr.



Figura20: Balanza

- Equipo: Balanza Analítica, marca Precisa, modelo: 220 A, serie: 321LX rango de pesado máximo 220 gr. Mínimo 0,01 gr. con e = 0,001 gr.



Figura 21: Balanza analítica

Equipo: espectrofotómetro uv, marca Jasco, modelo V-614, lugar de procedencia España. Este equipo está localizado en el Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa-Ancash, Perú.



Figura 22: Espectrofotómetro uv

Cromatógrafo de gases, marca Shimadzu, modelo AV 2010, detector FID, columna capilar RtTM – 2560 (Biscyanopropylpolysiloxane) de 100 metros, 025 mm ID, 0.2 umdf lugar de procedencia Japon. Este equipo está localizado en el Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa-Ancash, Perú.



Figura 23: Cromatógrafo de gases

3.7 Metodología de análisis

3.7.1 Índice de Refracción

Según el **Método Oficial de la AOACC 7- 25**, existen diferentes procedimientos normalizados para esta determinación física (IUPAC 2102, AFNOR 60212, AOAC 28 009, UNE 55.015, ISO 6320, AOCS Cc7-25). Sus valores aumentan al ir aumentando la alteración en el aceite de fritura, aumento que puede alcanzar hasta un 3-5%. No obstante, la nula selectividad y escasa sensibilidad de esta medida hace que su utilización no sea excesivamente interesante a estos efectos, ya que las variaciones debidas a la estructura de los triacilgliceroles y a su insaturación son mayores que las variaciones causadas por la alteración.

Se utilizó el método de la AOCS Cc 7-25, trabajando a 25 °C y utilizando para la determinación un refractómetro Abbé, el cual se calibro con agua destilada a 20 °C.

3.7.2 Índice de Acidez

Según Método Oficial de la AOACCd 3d-63, este método mide la cantidad de ácidos grasos libres en la materia grasa, de acuerdo a esto se estima la cantidad de muestra a analizar. Existen diferentes procedimientos normalizados (AOCS Cd 3d-63, ISO 660:1996, UNE 55.001 y 55.063, AFNOR 60.221, IUPAC 2.201), que difieren únicamente en algunos detalles. La valoración debe realizarse siempre con una solución etanólica de hidróxido potásico (KOH), mientras que la materia grasa a valorar debe disolverse en un disolvente adecuado.

Procedimiento:

1. Pesar la muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml.
2. Añadir 50 ml de alcohol neutralizado y caliente, más 2 gotas de solución de fenolftaleína alcohólica.
3. Titular con NaOH 0.1N, agitando hasta la aparición de un color rosado ligero.
4. Anotar el gasto al álcali y calcular el índice de acidez.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{G \times V \times 56.1}{\text{Peso de la muestra}}$$

3.7.3 Índice de Peróxidos

Según Método Oficial de la AOAC 965.33, el índice de peróxido, es una de las técnicas para determinar el estado de conservación del alimento a través de la determinación de peróxidos como producto resultante primario de la oxidación del aceite, los cuales destruyen vitaminas liposolubles A, D, E, caroteno y parte de los ácidos grasos esenciales y paraliza la biosíntesis de la vitamina K. para determinar el índice de peróxidos existe dos métodos, el método tradicional a través de titulación en base a tiosulfato sódico y el método fotométrico. (Braverman, 1976)

El índice de peróxidos es la cantidad de peróxidos en la muestra que ocasionan la oxidación del yoduro potásico en las condiciones de trabajo descritas.

Durante la oxidación se da lugar a la formación de radicales libres a partir de ácidos grasos no saturados. (Cheftel, y Cheftel, H., 1976). La muestra problema, disuelta en ácido acético y cloroformo, se trata con solución de yoduro potásico. El yodo liberado se valora con solución valorada de tiosulfato sódico

Procedimiento:

1. Pesar 5g de muestra grasa (o aceite) homogenizada en un Erlenmeyer de 250 ml con tapa de vidrio.
2. Añadir 30 ml de solución de ácido acético (HOAC-CHCL): cloroformo y agitar hasta que se disuelva.
3. Añadir 0.5 ml de solución saturada de KI, agitar vigorosamente.
4. Dejar reposar en la obscuridad durante 2 minutos.
5. Añadir 30 ml de agua destilada.
6. Titular con tiosulfato de sodio 0.1 N, agitando vigorosamente hasta que el color amarillo casi desaparezca.
7. Adicionar 0.5 ml de solución de almidón al 1 %. Continuar titulando hasta desaparición del color azul. Si se gasta una cantidad menor a 0.5 ml de tiosulfato repetir la determinación con tiosulfato 0.01N.
8. Hacer un blanco con los reactivos utilizados.

$$\text{Índice de peróxido} = \frac{N \times V \times 56.1}{\text{Peso de la muestra}}$$

3.7.4 Color

Para la determinación del color se calibra el colorímetro con el blanco, luego se determinará la luminosidad descrita por L^* . El color negro presenta una luminosidad 0 mientras que el blanco presenta una luminosidad de 100. Los parámetros a^* y b^* se utilizan para evaluar la saturación y el tono. La saturación los da la pureza de un color y el tono es el color propiamente dicho. Para el cálculo se utilizará la siguiente expresión:

$$\text{Saturación} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$\text{Tono en variedades rojas} = \arctg b^*/a^*$$

$$\text{Tono en variedades verdes y amarillas} = a^* + b^*$$

Tomar la muestra de fruta y colocarlo en el colorímetro y realizar la lectura, realizar de 3 a 4 lecturas en diferentes lugares de la muestra, se anotarán los valores de los parámetros L^* , a^* , b^* y se promedian las lecturas.

3.7.5 Composición de ácidos grasos

Según método AOAC 991.39-1991, la determinación se realizó usando un equipo marca SHIMADZU, Inyector: AOC -20i; con un Volumen de inyección: 1ul y Temperatura del SPL: 225, Split Ratio: 100. La Columna con la cual se trabajo fue: RT-2560, Diámetro interno: 0.25 mm ID, Longitud: 100m y el Detector con el cual se trabajo fue: FID, temperatura: 250 °C, makeup gas: He 30 ml/min; He 40 ml/min; aire 400 ml/min.

Procedimiento:

1. Realizar el análisis por duplicado.
2. Pesar aproximadamente 0.025g (± 0.0001 g) de muestra en un tubo de ensayo con la ayuda de un pipeta pauster (evitar que la muestra tope las paredes de tubo de ensayo).
3. Añadir 1.5ml de solución de NaOH 0.5N del tubo de ensayo y cubrir con una capa de N₂ llevar a un baño maría (el agua debe estar a una temperatura 80 -90 °C) aproximadamente por 5 minutos.
4. Retirar los tubos de ensayo con la muestra del baño maría y enfriar
5. Añadir 2ml de BF₃, el tubo de ensayo, cubrir con una capa de N₂, tapar y agitar lentamente en forma vertical, luego llevar al baño maría por 30 minutos (el agua debe estar a una temperatura 100 °C).
6. Una vez extraído la muestra del baño maría enfriar por unos segundos a una temperatura aproximadamente 30 – 40 °C
7. Luego añadir 1 ml de Isooctano, al tubo de ensayo mezclando lentamente (movimientos verticales a los extremos), cubrir con una capa de N₂ y agitar por 30 segundos mientras este caliente.
8. Inmediatamente añadir 5ml de solución de NaCL saturada, al tubo de ensayo cubrir con una capa de N₂ y agitar vigorosamente, enfriar a temperatura ambiente.

9. Dejar reposar hasta que se observe una separación sin burbujas, se deja un tiempo de reposo hasta que se formen 2 fases: la fase acuosa está en la parte inferior y la fase orgánica (Isooctano).
10. Con la ayuda de una pipeta pauster extraer la fase orgánica (Isooctano), a un vial y cubrir con una capa de N₂.
11. Repetir la extracción por segunda vez.
12. Una vez preparada la muestra a analizar en el cromatografía de gases, se deberá acondicionar el equipo o abrir el método creado con las siguientes condiciones de trabajo.

3.7.6 Índice de Estabilidad Oxidativa

Según Método Rancimat AOCS Cd 12b-92, el método Rancimat incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92). Es la prueba automatizada del AOM (Método de oxígeno activo), mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. Los productos de la oxidación, tales como el ácido fórmico, son conducidos hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad vs. Tiempo. (Navas, 2010)

Procedimiento:

1. Cargar los recipientes 60 mL de agua ultra pura

2. Pesar 3-5 gr de muestra en el tubo de reacción (parte 1), previamente tarado en el soporte de metal.
3. Colocar antiespumante a las $\frac{3}{4}$ partes del tubo de vidrio (ingreso de aire).
4. Colocar el tubo de vidrio (ingreso de aire) en la tapa del recipiente con los jebes, posteriormente fijar con enroscamiento.
5. Girar la tapa de tal forma que el tubo de aire de vidrio quede más cercano a la pared de recipiente.
6. Fijar la manguera del empalme hacia el recipiente de medición
7. Conectar el accesorio para el suministro de aire
8. Montar los recipientes de reacción y de medición
9. Esperar que ambos bloques, lleguen a su temperatura indicada e iniciar la determinación.
10. Colocar la identificación de la muestra en los recuadros que indican ID1 e ID2, tipiando el nombre y características de la muestra.
11. Alcanzada la temperatura de ambos bloques, colocar el tubo del bloque y canal A1 simultáneamente hacer clic en STAR, así sucesivamente con A2, A3 hasta B4.

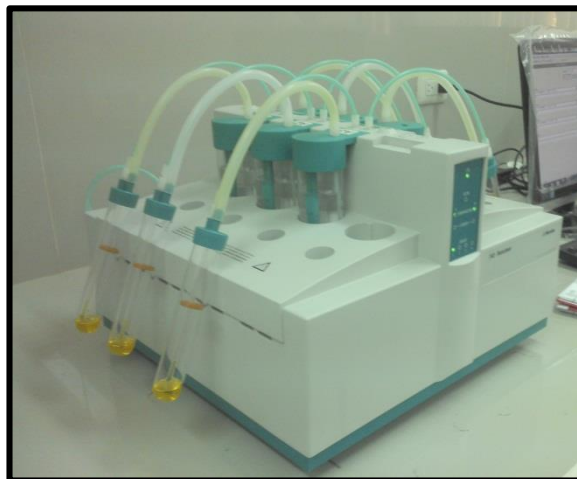


Figura 24: montaje de la muestra en equipo rancimat

3.8 Metodología experimental

Diseño Experimental de la estabilidad oxidativa del aceite de semilla de granada.

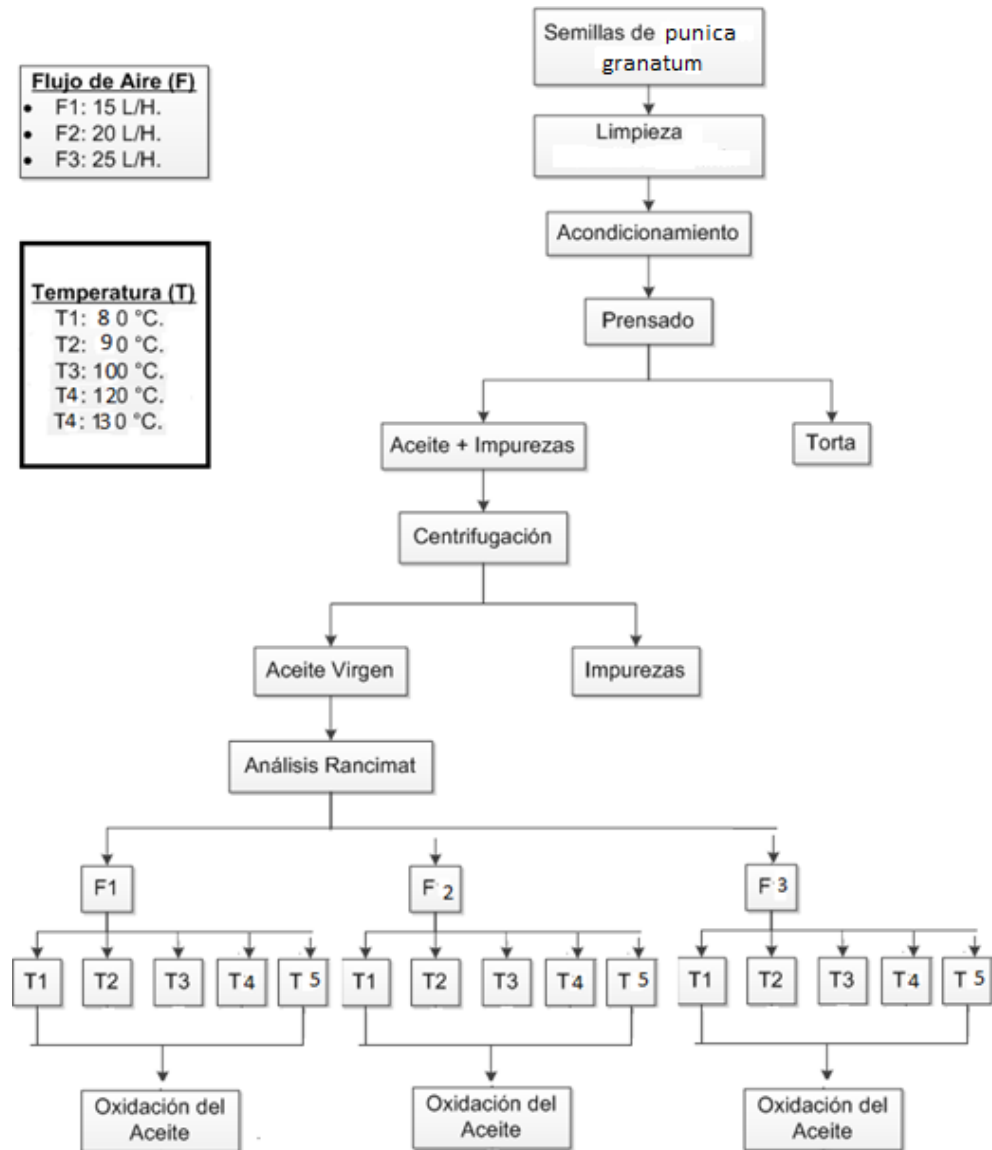


Figura 25: Diagrama de Flujo del estudio de la estabilidad oxidativa del aceite de granada

3.8.1 Diseño Estadístico

Dos factores experimentales fueron considerados para este estudio: flujo de aire (F) y temperatura (T). Los que variaron de acuerdo con un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de dos factores. Para lo cual, el factor de entrada flujo de aire se fijo en tres niveles (15, 20 y 25 L/h) y el factor de entrada temperatura se fijo en cinco niveles (80, 90, 100, 120, 130°C).

Tabla 05 Experimento DCA con arreglo factorial

FLUJO (L/h)	TEMPERATURA (°C)				
	80 OSI±SD	90 OSI±SD	100 OSI±SD	120 OSI±SD	130 OSI±SD
15					
20					
25					

SD: Desviación estandar

OSI: (Horas)

Se utilizó el software Statgraphics Centurion para el análisis estadístico y los modelos de regresión. En primer lugar, el OSI se relaciona con las variables de entrada (flujo de aire y la temperatura) de acuerdo con la ecuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : Es el tiempo de estabilidad de aceite de punica granatum, obtenido con el i-ésimo flujo de aire y el j-ésima temperatura.

μ : Es el efecto medio general.

τ_i : Es el efecto del i-ésimo nivel del factor flujo de aire.

β_j : Es el efecto del j-ésimo nivel del factor temperatura.

$(\tau\beta)_{ij}$: Es el efecto de la interacción entre τ_i y β_j , y ϵ_{ijk} es el componente del error aleatorio.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA), con un valor de significancia de $\alpha = 5 \%$.

Tabla 06 análisis de varianza

Fuente de Variacion	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razon F	Valor P
FLUJO DE AIRE					
TEMPERATURA					
RESIDUOS					
Error					
TOTAL (CORREGIDO)					

3.9 Desarrollo de la investigación

Para el desarrollo de la investigación se siguió el siguiente diagrama de flujo.

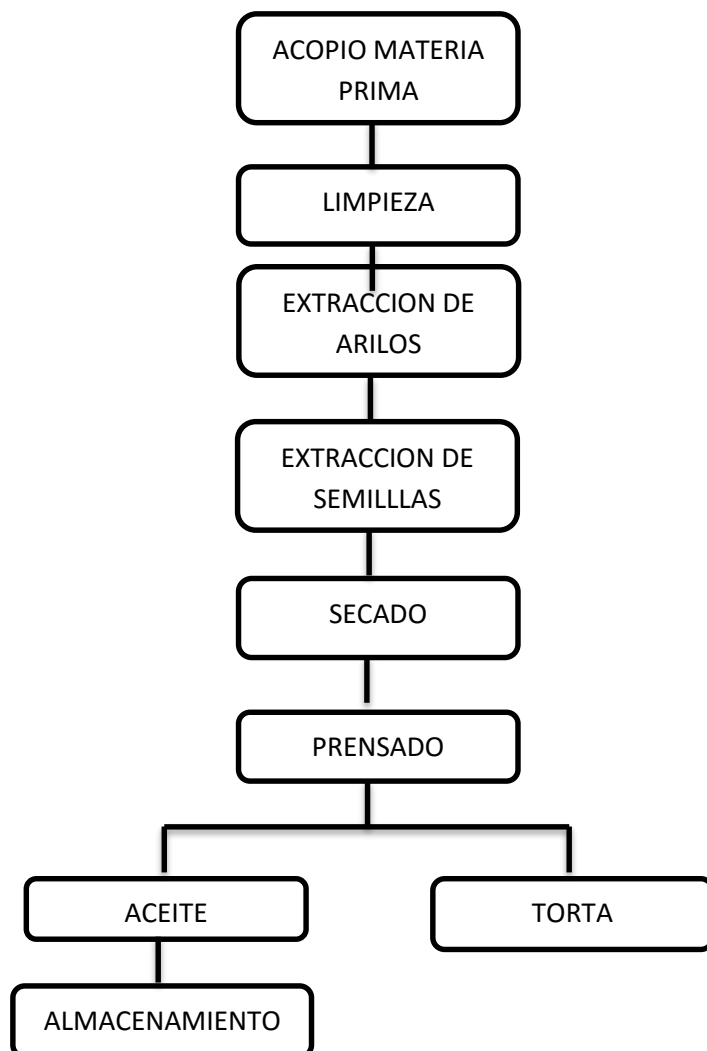


Diagrama 01: Diagrama de flujo proceso de extracción de aceite de granada

3.9.1 Limpieza

La limpieza se realizó con agua, en tanques de 50 lt de capacidad; con el propósito de retirar restos de hojas y tierra provenientes de la cosecha.

3.9.2 Desinfección

La desinfección se realizó con hipoclorito de sodio a 100 ppm por un periodo de 10 min.

3.9.3 Extracción de arilos de granada

Esta etapa consiste en extraer los arilos de grada, para ello se hace uso de cucharas; se procede cortando la fruta por la línea ecuatorial de tal manera que obtengas 2 mitades; luego con ayuda de cucharas se procede a golpear la cascara para que caigan los arilos. Este procedimiento es como se extrae los arilos en la industria de arilos congelados.



Figura 26: Extracción de arilos de granada



Figura 24: Arilos de granada

3.9.4 Extracción de la semilla

Esta etapa consiste en separar la semilla de la parte comestible. La extracción de la semilla se realizó de la siguiente manera:

Se retiró la semilla de la parte comestible (membrana de los arilos) por fricción. Luego se dejó fermentar por 2 días para retirar restos del mucilago adheridos a la semilla (para facilitar la extracción del aceite y así evitar que el aceite sea absorbido por estos residuos y pase directamente a la torta generando bajos rendimientos de aceite). Una vez fermentado se procede a frotar y lavar las semillas hasta retirar por completo esta película que recubría la semilla. Una vez que las semillas estén limpias se procedía a secar.



Figura 28: Primer día de fermentación

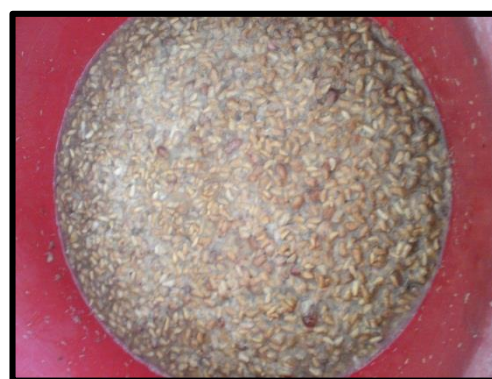


Figura 29: Fin de la fermentación



Figura 30: Lavado de la semilla



Figura 31: Lavado y fricción de la semilla



Figura 32: Semilla limpia

3.9.5 Secado de las semillas

El secado de las semillas se realizó por exposición solar en el techo del instituto de investigación tecnológico agroindustrial (IITA), para esto se hizo uso de mantas de plásticos que se fijaron al piso. Posteriormente se procedió a esparcir la semilla dejando un ancho de 1cm (aproximadamente). Este secado se realizó por dos días, alcanzando temperaturas de 30 – 35 °C



Figura 33: Secado de las semillas en el techo del IITA



Figura 34: Secado de semillas



Figura 35: Semillas secas



Figura 36: Almacenamiento de las semillas

3.9.6 Extracción de los Aceites Vírgenes por Prensado

Para extracción del aceite de semilla de granada, se hizo uso de la prensa EXPELLER. La semilla de granada estaba entre 8-10 por ciento de humedad; este parámetro de humedad fue el más óptimo, ya que se hizo pruebas preliminares y el mejor rendimiento se obtuvo con este parámetro de humedad. La velocidad de giro del tornillo fue de 60 Hz. La boquilla del expeller debía estar ligeramente abierta.



Figura 37: Llenado de la tolva con semilla de granada



Figura 38: Torta de la semilla de granada



Figura 39: Aceite de semilla de granada

3.9.7 Limpieza del Aceite Virgen de semilla de granada extraído mediante una prensa expeller.

El aceite obtenido con el expeller inmediatamente se llevó a centrifugar a 3900 rpm por 20 min y temperatura de 15 °C. Con este procedimiento se separó restos de semilla que pasaron por la boquilla; pero con este procedimiento se pierde aceite ya se queda pegado en las paredes de los tubos. Finalmente se depositó el aceite en recipientes de color ámbar, se agregó nitrógeno y se almaceno a 5°C.



Figura 40: Centrifugación de aceite de semilla de granada



Figura 41: Aceite de semilla de granada almacenada con nitrógeno

IV. RESULTADOS

4.1 Caracterización de la granada variedad wonderful

Los frutos se caracterizaron inicialmente por la ponderación de sus partes constitutivas, la cáscara externa, películas y arilos, y estos últimos para el peso de semillas y el contenido total de sólidos solubles (TSS) del jugo; tal como lo recomienda Goula y Adamopoulos, (2012) que refiere que fruta de la granada se puede dividir en varios compartimientos anatómicos: (1) fuera de la cáscara, (2) dentro de la cáscara (unas películas), y (3) arilos (pulpa y las semillas). Los Arilos se utilizan generalmente para el consumo en fresco, jugo, mermeladas y jaleas de producción, y también para el desarrollo de extractos para ser usados como ingredientes en los preparados de hierbas medicinales y suplementos dietéticos

El promedio de peso de fruta fue 302.7 ± 57.2 gr., el promedio de las películas corresponden a porcentajes mucho más bajos, que van desde 1,3 hasta 1.7 % con respecto al peso total de la fruta. Por último, los arilos representaron 48,6 % del total del peso de la fruta.

El contenido de sólidos solubles es de 16.7 ± 1.1 el mismo que se asemeja a lo descrito por S. Vergara (2014) que señala que la variedad wonderful tiene un contenido en sólidos solubles de entre 13-18 ° Brix; mientras que Cambayas Coop (2010) en su investigación que realizó determinó que la variedad Mollar de Elche tiene su contenido en sólidos solubles totales que oscila de 13.44-17.68 °Brix; mientras que para la variedad valenciana tiene un contenido en sólidos solubles totales de 13,90-15,50 °Brix.

En cuanto a las semillas de granada, su porcentaje con respecto al peso del fruto es 7 % Sin embargo, cuando se evalúa el porcentaje de semillas en la parte comestible (Arilos), se determinó valores de 14.5%; estos valores determinados se asemejan mucho a los descritos por Martínez et al. (2006), que indica que el cultivar Wonderful 2 tiene un porcentaje de semilla con respecto de la parte comestible de (14 -16%), por lo tanto tienen el mayor potencial para la industria farmacéutica, cosmética y industrias alimentarias que deseen extraer aceites de semillas de granada.

Tehranifar et al., (2010) Las semillas pueden representar hasta aproximadamente 20% del peso total de fruta, dependiendo de la variedad, la ubicación geográfica, las condiciones de crecimiento.

El rendimiento de aceite con respecto a las semillas fue de 15%, y este valor está dentro del rango estipulado por Hernández et al, (2011) que sostiene que Las semillas de Granada tienen propiedades antioxidantes y se componen principalmente de fibra y lípidos con un aceite contenido que varía de 12% a 20%.

El rendimiento de aceite con respecto al fruto es del 1.05 % es decir que de 1000 kg de fruto se obtendrían 10.5 L de aceite.

Tabla 07 estructura de la granada

Variedad	Wonderful
Brix	16.7 ±1.1
Peso de frutos(g)	302.7 ± 57.2
Peso piel exterior (g)	147.2 ± 32.2
Piel exterior %	48.3 ± 2.1
Peso películas (g)	4.1 ± 1.6
Películas %	1.3 ± 0.4
Arilos (semilla +pulpa) (g)	14.5±2.3
%Arilos con respecto al peso de la fruta	48.6 ±2.7
semillas en fruto (%)	7 ± 0.4
semillas en arilos (%)	14.5 ±0.8
Aceite con respecto a semilla (%)	15
Aceite con respecto al fruto (%)	1.05

4.2 Análisis Físicoquímicos del aceite de semilla de granada (*púnica granatum*).

Según los resultados que se muestran en la tabla 8, referente al análisis físicoquímico del aceite de *púnica granatum*, extraído por prensado en frío, nos indican que el aceite estuvo en buenas condiciones, el mismo que se puede contrastar con respecto al índice de refracción cuyo valor fue de 1.45, valor dentro del rango determinado por el Instituto Ecuatoriano de normalización, (2012), de 0.4744 (25°C) hasta 1.47.

Tabla 08 propiedades del aceite de semilla de granada

Propiedad del aceite	valor
acidez	0.42±0.03 % ácido oleico
yodo	91±4.9 mg I/g aceite
Índice de refracción	1.45
anisidina	3.208 ± 0.4 meqO ₂ /kg
viscosidad	278.6 ± 0.6 cp*
densidad	0.9409 ± 0.007 g/cm ³

*viscosidad mediada a 90 rpm, temperatura 20 °C

*Densidad medida a temperatura 20°C

Según los resultados que se muestran en el cuadro; los valores de acidez están por debajo del 1%; lo que nos indica que el aceite estuvo en buenas condiciones, el mismo que se puede constatar con respecto al índice de refracción cuyo valor es de 1.45 ya que este valor se encuentra dentro del rango determinado por el INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, (2012) para aceites vírgenes.

El índice de acidez obtenido para el aceite de semilla de granada es muy inferior al índice de acidez reportado por N. TORO (1012) para aceite de semillas de uva Isabella que es 2.1870 expresado en % de ácido oleico

El índice de yodo es una medida del grado de insaturación de los componentes de una grasa, a menor índice de yodo mayor es el grado de saturación del aceite. Badui (1984).

El índice de yodo para el aceite de semilla de granada es de 91 (mg Yodo absorbidos /100 g de muestra) la cual se encuentra dentro del rango comprendido entre 56,0 y 145 de la norma venezolana general para aceites vegetales comestibles.

Por otro lado podríamos decir que el aceite de semilla de granada es un aceite no secante ya que su índice de yodo se encuentra por debajo de 110.

En comparación con el aceite de las semilla de pepita de uva (índice de yodo 105) reportado por A. MIERES; el aceite de semilla de granada tiene menor índice de yodo. Por lo tanto posee menos dobles ligaduras y por consiguiente es menos insaturado que el aceite de semilla de pepitas de uva.

Como se muestra en la tabla el valor de anisidina 3.582 (meq O₂/kg) para aceite de semilla de granada es bajo en comparación al valor de anisidina para aceite de quinua que tiene 25 (meq O₂/kg) reportado por Y. RUBIO (2005).

El valor del índice de anisidina se debería a todos los compuestos volátiles, aceites esenciales que están presentes el aceite de granada y le dan ese olor característico y no a productos de la oxidación.

Cuando se realizó la prueba de peróxido no se obtuvo resultados ya que cuando se agregaba el almidón no había viraje a color azul y por consiguiente no se podía realizar la titulación de azul a incoloro. Esto nos indica que durante la extracción el aceite no sufrió degradación es debido a que el aceite es muy estable ya que en su composición tiene elevado contenido de antioxidantes como tocoferoles así como lo reporta L. Fernandez(2015). En el estudio de 9 variedades de granadas donde nos indica que la variedad wonderful tiene un contenido de 13.9mg/100 g of aceite de α -tocoferol, 3.829 g/kg of oil de γ - tocoferol y 9.6mg/100 g of oil de δ - tocoferol haciendo un total de 524.6mg/100 g of oil de tocoferoles totales. El bajo índice de peróxido obtenido muestra una alta resistencia de este aceite a la oxidación.

La alta estabilidad oxidativa del aceite de semilla de granada, se debe fundamentalmente al alto contenido de ácidos grasos saturados, además por los tocoferoles mencionados; esto se ratifica también si se compara con la alta estabilidad del sachá inchi reportado por FollegattiyRomer o et al .(2009)que contenía 1,14 y 1,25 g/kg de γ tocoferol y δ -tocoferol respectivamente, según Ramos Escudero (2014) 0.771 a 1.878 g/kg de γ tocoferol ; y también según Schmidt y Pokorný, 2005, la mayor actividad antioxidante de los tocoferoles es en el orden de $\gamma > \delta > \beta > \alpha$ tocoferol y precisamente el aceite de semilla de granada tiene 3.829 g/kg de aceite de γ - tocoferol.

En la actualidad se comercializan varias marcas de aceite de granada, que tiene una viscosidad de 266,7 cps (la soja tiene 42,4 cps), lo que lo hace muy adecuado para cosmética por ser un aceite espeso (Sánchez, 2009).

El aceite de semilla de granada es muy viscoso en comparación con otros aceites tales como: aceite de soya 61 cp, aceite de mani 85 cp, aceite de algodón 73 cp.

4.2.3 Análisis de color del aceite de granada

Como podemos observar en el cuadro los valores para $a^* = -8.29$ nos indican que se acerca más al verde y $b^* = 38.63$ se acerca más al amarillo. Mientras que el parámetro L nos indica la luminosidad.

Tabla 09: Análisis de color del aceite de granada

L	a*	b*
75.49±2.1	-8.29±0.62	38.63±1.5

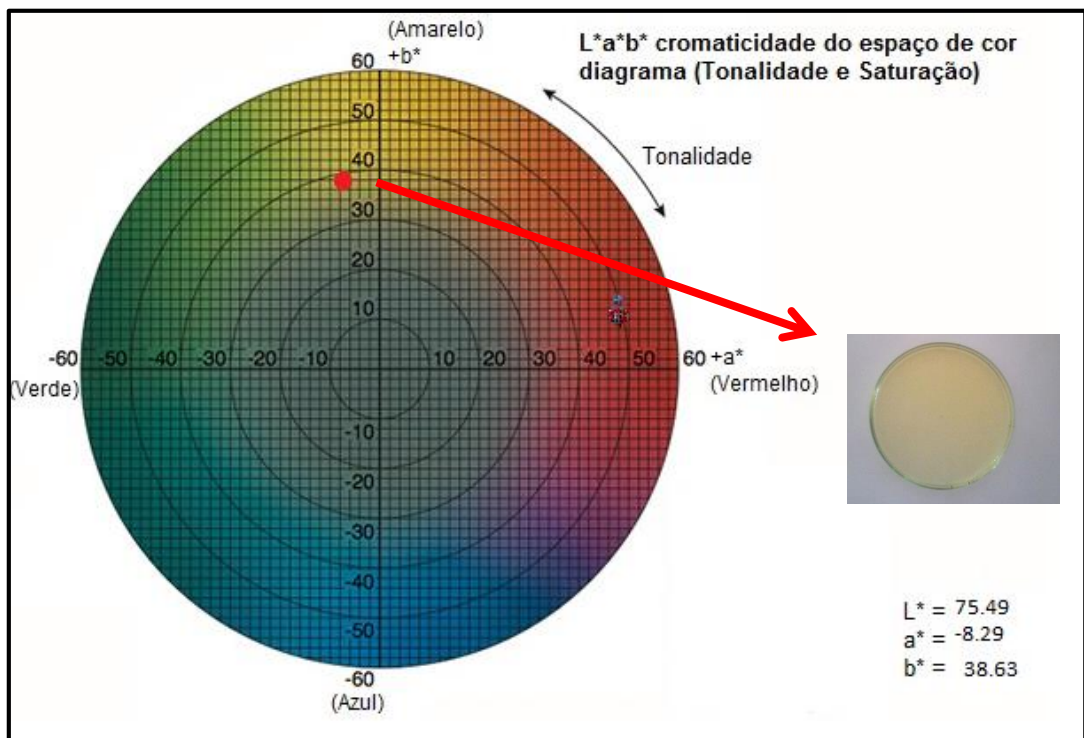


Fig. 42 Ubicación de los parámetros a^* y b^* en la cartilla de colores del aceite de semilla de granada

4.3 Determinación de proteína de la semilla de granada por el método dumas

Como se muestra en el cuadro el porcentaje de proteína es de 10 % y el porcentaje de carbono es de 47.99%

Tabla 10 Determinación de proteínas

Muestra	% NITROGENO	% PROTEINA	% CARBONO
M1	1.99±0.048	10.59±0.25	48.24±0.374

4.4 Determinación de fibra de la torta de la semilla de granada

La torta de la semilla de granada tiene 68.45 % de fibra total, 67.46 % de fibra insoluble y 0.99 % de fibra soluble.

Tabla 11: Analisis de fibra de la torta de semilla de granada

FIBRA SOLUBLE (%)	FIBRA INSOLUBLE (%)	FIBRA TOTAL (%)
0.99±0.03	67.46±3.1	68.45±2.98

4.5 Composición de ácidos grasos por cromatografía de gases del aceite de semilla de granada

Como se aprecia en el cuadro el ácido graso predominante es el ácido linoleico con 25.3 %, seguido de ácido oleico y palmítico con 24.1% y 24.2% respectivamente. También se aprecia contenido de ácido araquidónico y eicosanoico 3.1% y 3.6% respectivamente.

En la figura 16 se muestra un pico que eluye a los 49 min. Pero que no pudo ser cuantificado ni identificado debido a que no se encuentra en la data del método empleado; posiblemente sería el ácido 9,11,13-octadeca-trienoico (C18: 3 (9,11,13)) (punícicoácido) que es el ácido graso característico de la granada así como lo reporta L fernandez (2015) que sostiene La composición de ácidos grasos de los aceites de semilla extraída de nueve variedades de granada presentan principalmente ácido 9,11,13-octadeca-trienoico (C18: 3 (9,11,13)) (punícicoácido) conocido también como omega 5.

De igual manera Hernández et al. (2011) refiere que las variedades " Mollar de Elche 16 " y " variedades 'Borde de Albaterra presentan 66,7 y 79,2% de ácidopunícico.

Ácido punícico es un ácido linolénico conjugado (C18:3), Kohno et al., (2004), Lansky y Newman, (2007). Sostienen que presenta actividad anticancerígena, incluida la interferencia en el ciclo de las células tumorales y la invasión farmacológica, así como la angiogénesis. En adición, ácido punícico es un conocido inhibidor de la biosíntesis de prostaglandinas y podría en última instancia inhibir el cáncer de piel Horaet al., (2003).

Por otro lado Mirmiran et al. de la Universidad ShahidBeheshti (Iran) complementó la dieta de 51 pacientes con aceite de semillas de granada, y después de cuatro semanas, los resultados mostraron un efecto favorable en la reducción de los niveles de triglicéridos en sangre.

Tabla 12 Contenido de esteres de ácidos grasos presentes en el aceite de semilla de granada

Compuesto	Tiempo de retención	Área	Concentración (%)
Ácido palmítico (C16:0)	37.230	33252	23.23
Ácido esteárico (C18:0)	41.602	22728	15.13
Ácido oleico (C18:1 n-9)	42.928	33878	23.22
Ácido linoleláidico (<i>trans</i> -9,12-octadecadienoico)	44.455	1390	1.13
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	44.897	31128	22.25
Ácido araquidónico (C20:4 n-6)	45.607	4115	3.11
Ácido eicosanoico	46.841	4915	3.64
Acidobehémico (C22:0)	49.322	2932	2.05
Acido graso desconocido (punicico)	49.10	9830	6.24
SFA			38.36
UFA			61.64

4.6 Estabilidad oxidativa del aceite de semilla de granada por el método rancimat

En el Rancimat se realizaron pruebas de oxidación acelerada del aceite, en las muestras se evaluaron la variación de la conductividad en función del tiempo, todas las pruebas se realizaron a temperaturas de 80°, 90°, 100°, 120° y 130°C; a flujo de aire de 15, 20, 25 L/H, es decir, una muestra de aceite se sometió a la prueba de oxidación acelerada bajo las condiciones antes mencionadas. Obteniendo como resultado que el test rancimat no es el adecuado para predecir la vida útil del aceite de granada. Como se muestra en la figura; apenas el aceite tiene contacto con la temperatura y con el aire se evidencia un incremento de la conductividad pero esto no es producto de la oxidación sino son los compuestos aromáticos más volátiles presentes en el aceite de granada los que incrementan la conductividad de 1.3 us/cm hasta 6.3 us/cm y esto nos podría llevar a concluir que el aceite es muy inestable y que ya se oxido; pero luego vemos que se mantiene constante por 8 horas más y que es recién a las 10 horas que se empieza a evidenciar un incremento en la conductividad, pero en la gráfica del aceite de granada se observa que la conductividad solo llega a 40 us/cm y esto es que cuando se somete al aceite a temperaturas elevadas y a flujo de aire el aceite tiende a formar polímeros y se solidifica (fig. 22) evitando así la salida de compuestos volátiles y por consiguiente ya no se da un incremento en la conductividad y el equipo ya no puede determinar el verdadero tiempo de estabilidad oxidativa (OSI). Por otro lado si comparamos las gráficas del aceite de granada con graficas de aceite de sesamunindicuml podemos apreciar que la conductividad del aceite de granada solo llega hasta 40 us/cm mientras que el aceite de sesamunindicuml llega a 350 us/cm confirmando así que el método rancimat no es el adecuado para predecir la vida útil del aceite de granada.

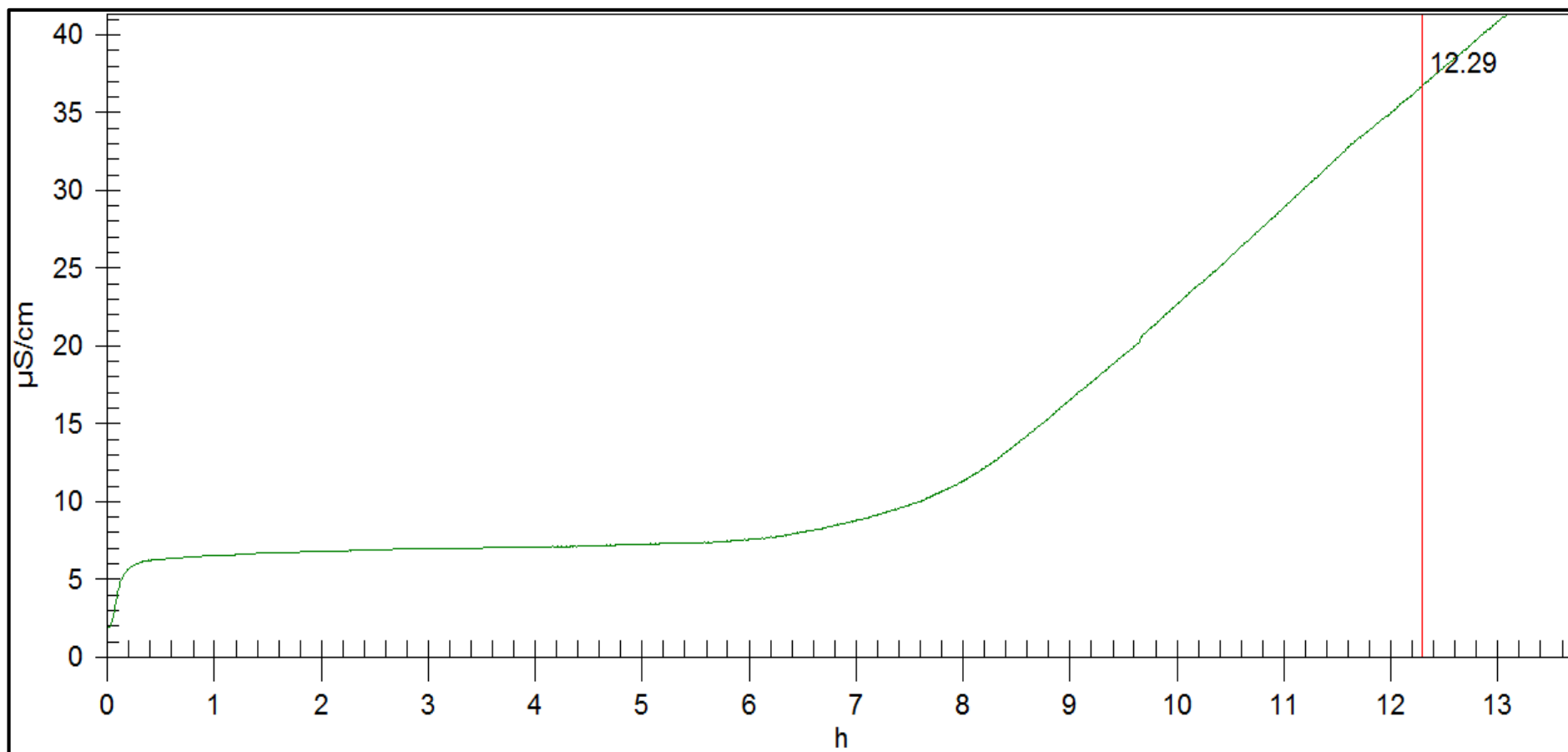


FIG. 43: Estabilidad Oxidativa del aceite de semilla de Punica Granatum a Temperatura de 80°C y Flujo de aire de 20 L/H.

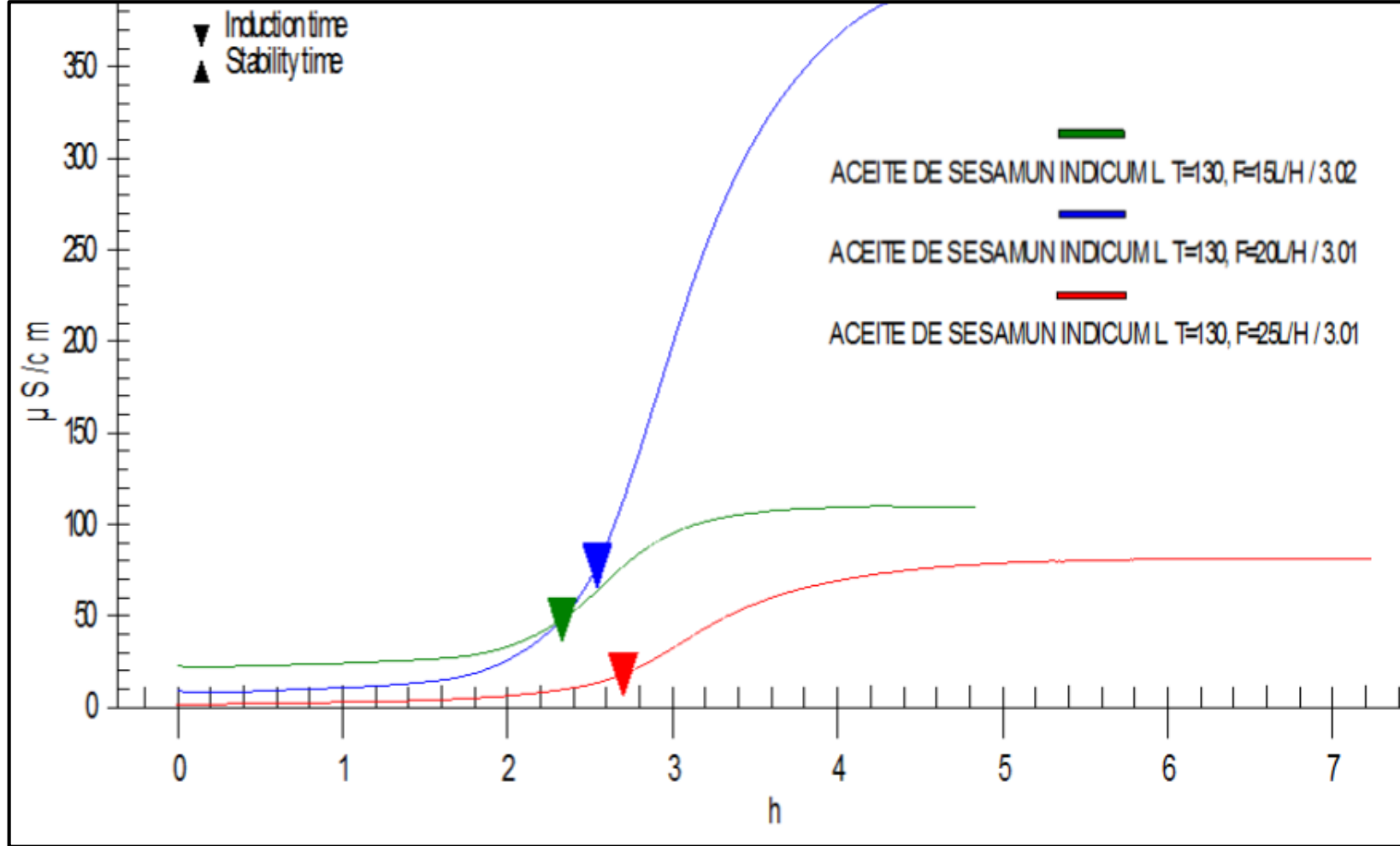


FIG. 44: Estabilidad Oxidativa del aceite de SESAMUN INDICUML a Temperatura de 130°C y Flujo de aire de 15, 20 y 25 L/H

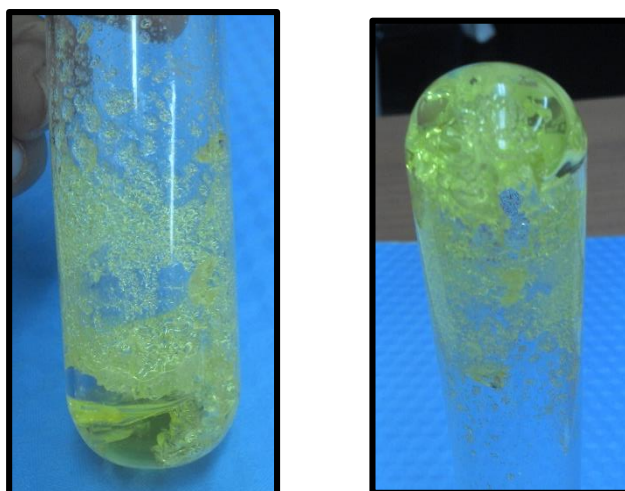


Fig. 45: Formaciones de polímeros

Como se aprecia en la tabla 13 los tiempos de inducción para el aceite de granada son bajos debido a que el aceite no completa el test rancimat ya que cuando el aceite (3 ± 1 g) entra en contacto con altas temperaturas (proporcionadas por los calefactores del equipo) y con el ingreso de aire empieza un burbujeo en la muestra contenida en los tubos de reacción. El aire efluente que contiene los ácidos orgánicos volátiles de la muestra se recogen en un recipiente de policarbonato con 60 ml de agua destilada que inicialmente tiene 0.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de conductividad pero a medida que se van recogiendo compuestos volátiles propios de la muestra y propios de la oxidación va incrementando la conductividad generando así la gráfica del tiempo de inducción. Pero el aceite de semilla de granada tiene la característica de solidificarse formando polímeros e impidiendo este burbujeo y deteniendo el incremento de la conductividad y por lo tanto ya no se puede determinar el tiempo de inducción.

Tabla 13: Estabilidad Oxidativa del aceite de granada a temperaturas de 80, 90, 100, 120 y 130 °c y flujo de aire de 15, 20 y 25 L/H.

FLUJO (L/h)	TEMPERATURA (°C)				
	80 OSI±SD	90 OSI±SD	100 OSI±SD	120 OSI±SD	130 OSI±SD
15	12.2±0.08	5.76±0.04	2.76±0.04	0.68±0	0.32±0.006
20	12.2±0.098	5.7±0.11	2.77±0.03	0.64±0	0.32±0.006
25	12.2±0.07	5.73±0.02	2.76±0.02	0.68±0.01	0.34±0.01

*SD de pruebas realizadas con 3 réplicas.

El cuadro 13, muestra que todos los tratamientos tienden a un ligero aumento de los valores de OSI como respuesta al incremento en el flujo de aire, esta tendencia ha sido señalada por (Farhoosh, 2007a) y (Jebe et al., 1993).

Farhoosh R., (2007a), explica que a elevados flujos de aire se hace más difícil alcanzar una condición de saturación del oxígeno en la masa de aceite, por lo cual muchas moléculas de oxígeno no tienen el tiempo suficiente para disolverse en la matriz oleosa, reduciéndose por lo tanto la concentración efectiva de oxígeno que puede adicionarse a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, como resultado se extiende el tiempo de inducción.

Como se aprecia en la tabla 13 la temperatura ejerció el efecto más importante sobre los valores de OSI en el aceite evaluado, lo cual era de esperarse ya que es conocido que la velocidad de las reacciones químicas tiende a duplicarse por cada 10 °C de aumento de la temperatura a la cual ellas ocurren. (Navas P., 2010) Este comportamiento podría atribuirse a la aceleración producida en la descomposición de hidroperóxidos de lípidos. (Frankel, 2005)

El tiempo requerido para producir un aumento repentino de la conductividad debido a la formación de ácidos volátiles, principalmente ácido fórmico, determina el índice de estabilidad oxidativa (OSI), que se puede definir como una medida de la resistencia a la oxidación de una grasa o aceite. Además, estudios previos han demostrado la correlación existente entre los datos de estabilidad obtenidos por el test Rancimat y las determinadas por otros métodos sensoriales y/o analíticos. (Anwar, Bhanger y Kazi, 2003; Coppiny Pike, 2001; Gordon y Mursi, 1994)

Los cambios de conductividad experimentada por agua desionizada se debe al recoger los ácidos orgánicos volátiles producidos en las etapas finales del acelerado proceso de oxidación del aceite. (Jebe et al., 1993; de Man, Tie y de Man, 1987; Méndez et al, 1996).

Con los datos generados por el equipo rancimat se determinó la posible vida útil del aceite por extrapolación a flujo de 15,20 y 25 l/h y temperaturas de 80, 90, 100 y 130°C estimando una vida útil de 38, 38 y 35 días. Como la vida útil es muy corta; estos valores fueron contractados con pruebas organolépticas que se realizaron interdiarias (porque no había viraje en la prueba de peróxido) para esto se sometió al aceite a 60 °C por 45 días y evaluando sensorialmente si hay presencia de rancidez. Al finalizar los 45 días se determinó que no había olores característicos de rancidez.

En la figura 46, muestra la tendencia de la estabilidad oxidativa en función de la temperatura y del flujo de aire, señalando claramente que los valores de OSI dependen mayor grado de la temperatura que del flujo de aire.

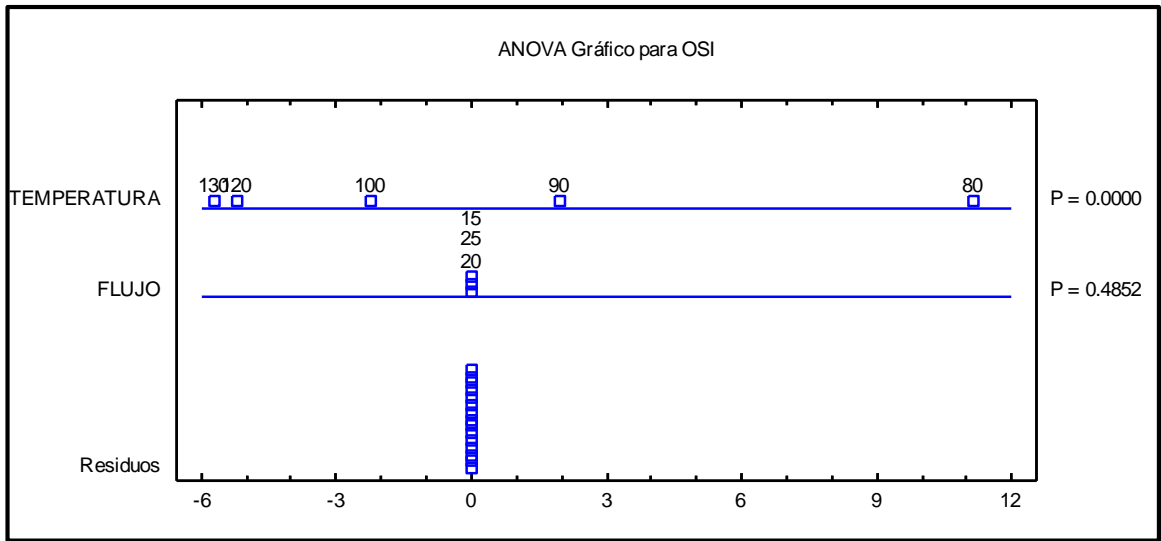
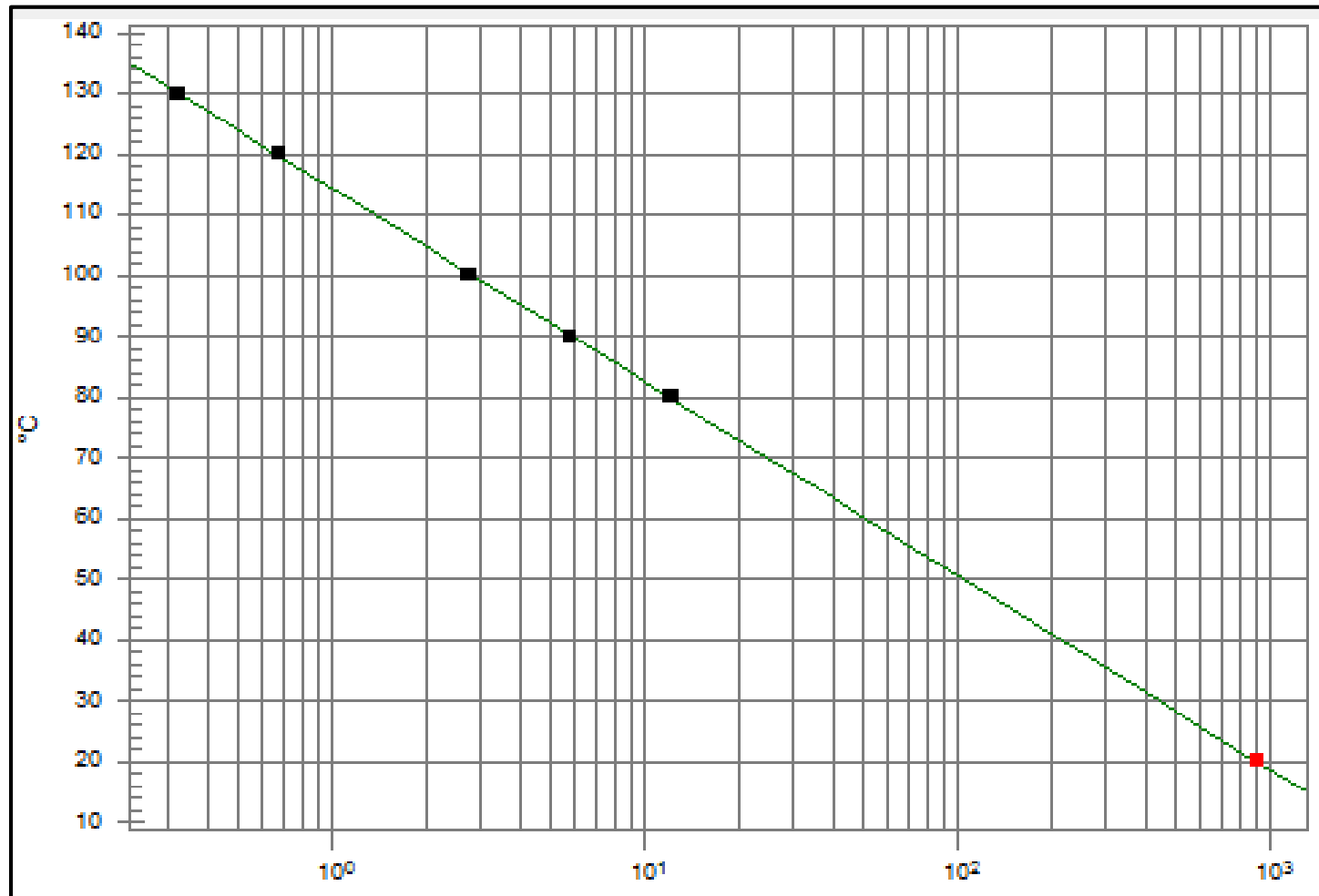


Fig. 46 grafico influencia del flujo y temperatura en OSI



Formula: $T = A * e^{(B*T)}$

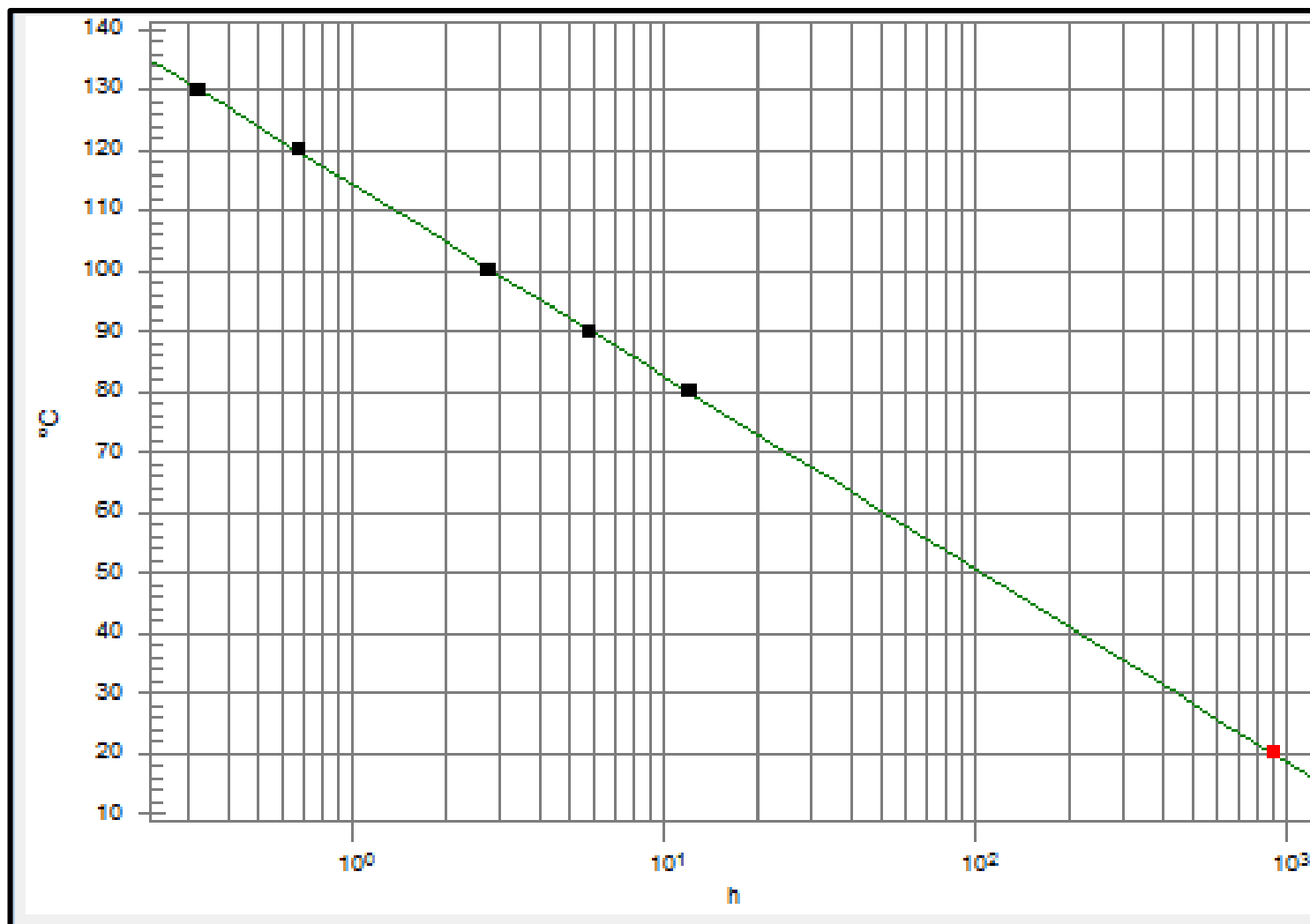
A= 3864.7407 B=-0.072

$r^2=0.999$

vida útil a 20°C = 912 h

=38 días

fig. 47: Grafico de extrapolación rancimat para flujo de 15 l/h a temperatura de 20°C



Formula: $T = A * e^{(B*T)}$
 A= 3864.7407 B=-0.072
 $r^2=0.999$
 vida útil a 20°C = 912 h
 =38 días

fig. 48: Grafico de extrapolación rancimat para flujo de 20 l/h a temperatura de 20°C

En la tabla 14, se muestra los resultados en cuanto al índice de estabilidad oxidativa, donde la temperatura tienen diferencia altamente significativa a un nivel de significancia del 5%, ya que los valores – P resultaron ser menores a 0.05 ($p < 0.05$) y también menores a 0.01 ($p < 0.01$).

Tabla 14 Análisis de Varianza para OSI - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:FLUJO	0.000573333	2	0.000286667	0.79	0.4852
B:TEMPERATURA	287.708	4	71.927	198876.43	0.0000
RESIDUOS	0.00289333	8	0.000361667		
TOTAL (CORREGIDO)	287.711	14			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

García et al., (2013), estudiaron la influencia de los parámetros del Test Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa de aceite de pescado, utilizando como parámetros el flujo de aire, temperatura y peso de la muestra, concluyendo mediante el análisis de la varianza (ANOVA) que el valor de OSI es altamente dependiente de los efectos lineales de temperatura y velocidad de flujo de aire, mas no del peso de la muestra, asociado con las probabilidades $p < 0,001$ y $p = 0,001$, respectivamente.

4.7 Determinación de la Energía de Activación

En el aceite de granada se observan diferencias de energía de activación debido al flujo empleado, sin embargo, estas diferencias pueden deberse a factores de tipo molecular, como por ejemplo la relación de ácidos grasos monoinsaturados/poliinsaturados, y no a consideraciones de tipo termodinámico.

En la tabla 15, se muestra los resultados de la energía de activación para diferentes flujos de aire, situados entre 95.73 kJ/mol y 84.62kJ/mol.

Flujo (l/h)	Ea (KJ/mol)
15	85.733968
20	86.364146
25	84.628206

Litwinienko et al., (1999), aplicaron la calorimetría diferencial al estudio de la cinética de la oxidación de los ácidos grasos laurino, mirística, palmítico y esteárico, obteniendo reacciones de primer orden y energías de activación entre 106 y 123 kJ/mol.

Por otro lado, Márquez-Ruiz et al., (2008), determinaron las constantes de velocidad de reacciones de oxidación de aceite de oliva, midiendo la velocidad de desaparición de los monómeros de los triacilglicerolos oxidados a distintas temperaturas empleando la prueba de Rancimat. Estas constantes fueron usadas para el cálculo de las energías de activación de acuerdo a la ecuación de Arrhenius y se obtuvieron resultados del orden de 104.9 kJ/mol.

Con base en esos resultados se puede afirmar que el efecto de la temperatura en los valores de OSI obtenidos por el método de Rancimat puede ser estudiado aplicando tanto la ecuación empírica como el modelo cinético. Con este último pueden obtenerse la energía de activación de la reacción a fin de poder comprender un poco mejor el proceso de oxidación de los aceites vírgenes de semillas vegetales.

V. CONCLUSIONES

- El aceite de semilla de granada (*punicagranatum*), fue obtenido por extracción mecánica usando una prensa expeller a partir semilla de granada con una humedad de 9.5 % de humedad obteniendo un rendimiento del 15 %. La caracterización fisicoquímica dio como resultado para el índice de acidez, índice de yodo, índice de anisidina, 0.42 % ácido oleico, 91 g de yodo absorbido/100 g de muestra, 3.2 meq O₂/kg respectivamente.
- La viscosidad y la densidad para el aceite de semilla de granada extraída por prensado al frío es de 278.6 cp y 0.9415 g/cm³ a T= 20°C respectivamente.
- El % de proteína y porcentaje de carbono de la semilla de granada es de 10.41 y 48.52 respectivamente.
- Como subproducto de la extracción del aceite se obtiene la torta a la cual se evaluó el contenido de fibra soluble 0.91 %, fibra insoluble 67.46 %, fibra total 68.45 %.
- Después de evaluar la influencia de los parámetros Rancimat sobre la determinación del índice de estabilidad oxidativa del aceite *punicagranatum*, se encontró que el test de rancimat no es el adecuado para predecir la vida útil de este aceite debido a que cuando se somete a altas temperaturas y en presencia de oxígeno el aceite tiende a formar polímeros.
- Se obtuvieron valores experimentales del OSI con flujos de aire de 15, 20 y 25 L/H, y temperaturas de 110, 130 y 150°C; en base a estos valores se realizó una extrapolación a 20°C, y se obtuvieron valores de OSI de 38, 38 y 35 días respectivamente.

- Al utilizar el modelo matemático propuestos por Blaine y Savage (1992) y García-Ochoa et al. (1989) se ha determinado la energía de activación dela reacción de oxidación del aceite de sésamo a distintos flujos de aire, siendo ,85.733968,86.364146y 84.628206kJ/mol para 15, 20 y 25 L/h respectivamente.

VI.RECOMENDACIONES

- Evaluar el contenido de antioxidantes en el aceite de semilla de granada.
- Adquirir el estándar del ácido púnico para así poder hacer la cuantificación de este ácido graso.
- Usar el aceite de semilla de granada para hacer recubrimientos y ceras aprovechando la viscosidad que tiene.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Angerosa F.**, (2000): En Handbook of Olive Oil: Analysis and properties. Ed. Limusa
- **Amarowicz R.**, Carle R., Dongowski G., Durazzo A., Galensa R. Kammerer D., Maiani G., Piskula M., (2009): Influence of postharvest processing and storage on the content of phenolic acids and flavonoids in foods. Mol. Nutr. Food Res. Rev. 53: S151-S183.
- **Ampex** 2006. Perfil del mercado de la granada fresca (Granatum L. de Punica). Revista institucional - Perú
- **Agricultura y agroindustria 2004.** “asistencia técnica para los planes operativos (pos)” proyecto ue-peru/penx ala/2004/016-913 estudio para la selección de 10 nuevos productos, su adaptabilidad al territorio nacional, su viabilidad en Europa e identificar potenciales clientes
- **Avalos A.**, Perez-Urria E., 2009. Mecanismo secundario de las plantas. Reduca (Biología) Serie Fisiología Vegetal. 2(3): 119-145.
- **Blaine S.**, Savage P.E., 1992: Reaction Pathways in Lubricant Degradation. 3. Reaction Model for n-Hexadecane autoxidation Ind. Engineering Chemical Research. 31: 69–75.
- **Badui D.**, 1984: Química de los Alimentos. México. Editorial Perrazo Educación.
- **Belitz**, (1997): Química de los Alimentos. 2da. Edición. Edit. Acribia.
- **Barrera D.**, 1998: Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas.
- **Bruhl L.**, Matthaus B., 2008: Sensory assessment of virgin rapeseed oils. Review. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110: 606-610.

- **Campbell-Platt G.**, 1989: Shelf life – who needs it
- **Casp**, A. y **Abril**, J. 1999: Procesos de Conservación de Alimentos. Ediciones Mundi-Prensa. Coedición. España.
- **Cert A**, 2000: Review: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils.
- **Coppin E.A.** & **Pike O.A.**, 2001: Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-exposed soybean oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 78, 13-18.
- **Cheftel**, J y **Cheftel**, H. 1976. Introducción a la Bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. I Edit. Acribia. Zaragoza. España.
- **Drago M.E.**, **López M.**, **Sainz T.**, 2006: Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Rev. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 37 (4), 58-68.
- **Du, C.T.**, **Wang, P.L.**, **Francis, F.J.** 1975. Anthocyanins of pomegranate, *Punicagranatum*. *J. Food Sciences*. 40: 417-418.
- **Eikani**, M.H., **Golmohammad**, F., **Homami**, S.S., 2012. Extraction Of pomegranate (*PunicaGranatum L.*) Seed oil using superheated hexane. *Food and Bioproducts Processing* 90, 32–36.
- **Espín, J. C.**, **García-Conesa**, M. T., **Tomás-Barberán**, F. A. 2007. Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochemistry*. 68: 2986-3008.
- **FAO**, (1997): Grasas y aceites en la nutrición humana. Consulta FAO/OMS de expertos. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición - 57)
- **Farhoosh R.**, 2007a: Shelf-life prediction of edible fats and oils using Rancimat. *Lipid Technology* 198:214-230.

- **Ferratto J.**, 2003: Importancia de la gestión de la calidad en frutas y hortalizas, situación y perspectivas.
- **Fernández P.**, Cabral J.M.S., 2007: Phytosterols: Applications and recovery methods *Bioresource Technology* 98: 2335–2350.
- **Fernández L.**, **Pereira A.**, **Alzate-Cortés I.**, **Salazar M.**, **Ramalhosa E.**, **Casal S.**, (2015) Fatty acid, vitamin E and sterols composition of seed oils from nine different pomegranate (*Punica Granatum L.*) Cultivars grown in Spain. *Journal of Food Composition and Analysis* 13-22.
- **Frankel N.**, (1998): *Lipid Oxidation*. The Oily Press. Great Britain
- **Fregapane G.**, 2013: Índices de calidad, componentes mayoritarios, minoritarios y estabilidad oxidativa de aceites vírgenes de soja y sésamo.
- **García-Ochoa F.**, 1989: Modeling of the Thermal n-Octane Oxidation in the Liquid Phase.
- **Graciani E.**, 2006: *Los Aceites y grasas: Composición y propiedades*. Ed. Mundiprensa Madrid.
- **Gil, M.I.**, Tomas-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A., 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(10), 4581-4589.
- **Gómez L.**, 2012: Products made from chia and sesame seeds: chemical composition, acceptability, satisfaction and knowledge on their nutritional properties.
- **Guo, S.**, Deng, Q., Xiao, J., Xie, B., Sun, Z., 2007. Evaluation Of antioxidant activity and preventing DNA damage effect of pomegranate extracts by chemiluminescence method. *Journal of Agricultural And Food Chemistry* 55, 3134–3140.

- **Gordon M. .**, 2001: Measuring antioxidant activity en: Antioxidant in food. Ed. Elsevier, USA
- **Heldmann, D.** y Lund, D. 1992: Handbook of Food Engineering. Primera edición. Editorial Marcel Dekker, Inc. EEUU.
- **Infoagro**, 2010. Información sobre agricultura, formas de cultivo y estadísticas mundiales de producción.
- **Hernández, F.**, Melgarejo, P., Martínez, J.J., Martínez, R., Legua, P.,2011. Fatty acid composition of seed oils from important Spanish pomegranate cultivars. Journal of Food Biosciences and Technology 2,35–40.
- **Jebe T.A.**, Matlock M. G. & Sleeter R.T., 1993: Collaborative study of the oil stability index analysis. Journal of American Oil Chemists' Society,70,1055-1061.
- **Jing, P.**, Ye,T., Shi, H., Sheng,Y., Slavin, M., Gao, B., Liu, L., Yu, L., 2012. Antioxidant Properties and phytochemical composition of China-grown Pomegranate seeds. Food Chemistry 132, 1457–1464.
- **Kishimoto S.** Maoka T., Nakayama M., Ohmiya A., 2004: Carotenoid composition in petals of chrysanthemum (*Dendranthemagrandiflorum*).
- **Kohno,H.**,Suzuki,R.,Yasui,Y.,Hosokawa,M.,Miyashita,K.,Tanaka,T.,2004.Pomegranate Seed oil rich in conjugated linoleic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats.Cancer Science95,481–486.
- **Lansky, E.P., Newman, R.A., 2007.** Punica Granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology 109, 177–206.
- **Liebler DC**, (1993): The role of metabolism in the antioxidant functions of vitamin E. Ed. Elsevier, GB.

- **Liu, G.**, Xu, X., Gong, Y., He, L., Gao, Y., 2012. Effects Of supercritical CO₂ Extraction parameters on chemical composition and free radical-scavenging activity of pomegranate (*Punica Granatum L.*) Seed oil. *Food And Bioproducts Processing* 90, 573–578.
- **Martinez-Flores S.**, Gonzalez-Gallego J., Culebras J., Tunon M., (2002): Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrition Hospitalaria. Rev.* (6): 271-278.
- **Mattila P.**, Kumpulainen J., 2002: Determination of free and total phenolic acids in plant-derived food by HPLC with Diode-array detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 50(13): 3660-3666
- **Mayne T.**, 2003: Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research.
- **Méndez E.**, Sanhueza J., Speisky H. & Valenzuela A., 1996: Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 73, 1033-1037.
- **Melendez-Martinez A.**, Vicario I., Heredia F., 2007: Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de Nutricion.* 57(2): 109-117.
- **Melgarejo, P.**, Salazar, D. M., Artes, F. (2000). Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *European Food Research and Technology.* 211: 185-190.
- **Mirdehghan, S.H.**, Rahemi, M., 2007. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punicagranatum L.*) fruit. *Scientia Horticulturae* 111(2), 120-127.

- **Mirmiran, P.**, Fazeli, M.R., Asghari, G., Shafiee, A., Azizi, F. 2010. Effect of pomegranate seed oil on hyperlipidaemic subjects: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *British Journal of Nutrition* 104 (3), pp. 402-406.
- **Minag** 2009. El cultivo de la granada. www.minag.gob.pe. Accesado 10 de octubre del 2015
- **Monje M.**, 2003: Elaboración y conservación de pasta de Ajo Blandino (*Alliumampeloprasum* L.)
- **Nakatani N.**, Tachibana Y., Kikuzaki H., 2001: Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. *Journal of the American Oil Chemists Society* 78: 19–23.
- **Navas**, (2010): Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales.
- **Pablo Melgarejo Moreno**, 2015 Conferencia general: el granado, su problemática y usos. Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Escuela Politécnica Superior de Orihuela Universidad Miguel Hernández de Elche.
- **Prior R.L.**, Wu X., Schaich K., 2005: Standarized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290 - 4302.
- **PROMPEX**, 2008. Comisión para la promoción de las exportaciones de Perú.
- **PRODAR 2006** Programa de Desarrollo de la Agroindustria Rural de América Latina y el Caribe. Ed. UVSCC - Venezuela

- **Ramos C.**, Tarazona G., (2001): Estudio de la estabilidad de hojuelas fritas de papa durante el almacenamiento al medio ambiente. *Anales Científicos UNALM de la república de Perú*: 286 – 296.
- **Ramos D.** (2014) Caracterización y trazabilidad del sachi inchi (*Plukenetia volubilis* linneo), Tesis Universidad de Sevilla - España
- **Reineccius G.**, (1993). Biases in analytical flavour profiles introduced by isolation method.
- **Rebiol** 2012. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú Vol 32, N° 1, Enero-Junio, 2012, pp. 81-103
- **Rodriguez G**, Villanueva L., Glorio P., y Baquerizo C., 2015. Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sacha inchi (*Plukenetiavolubilis* L.) *Scientia Agropecuaria* 6 (3): 155 – 163
- **Salazar M.E.**, Belén D., Marín G., Moreno H., (2007): Oxidation Kinetics of the Oil of the Coroba Palm (*Attalea maripa*). Universidad de Oriente, Venezuela. 19 N
- **Salud Vegara Gómez B** Elche (Alicante), 2014 Estrategias tecnológicas para optimizar la producción y la vida útil de zumo de granada (*Punicagranatum* cv. Mollar)
- **Sayago A.**, Marin M.A., Aparicio R., Morales M.T., 2007: Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. 58 (1): 74-86.
- **Slavin M.**, Cheng Z., Luther M., Kenworthy W., Yu L., 2009: Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Marylandgrown soybean lines with altered fatty acid profiles. *Food Chem.* 114, 20-2

- **Tan C.P.**, Che-Man Y.B., Selamat J., Yusoff M.S., 2001: Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78:1133-1138

- **Tezcan, F.**, Gültekin-Özgülven, M., Diken, T., Özçelik, B., Erim, F.B., 2009. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry* 115(3), 873-877.

- **Toledo R.**, (1991): *Fundamentals of Food Process Engineering*. Editorial AVI. Segunda edición. New York, USA.

- **Tur J.**, (2004): *Los antioxidantes en la dieta mediterránea*.

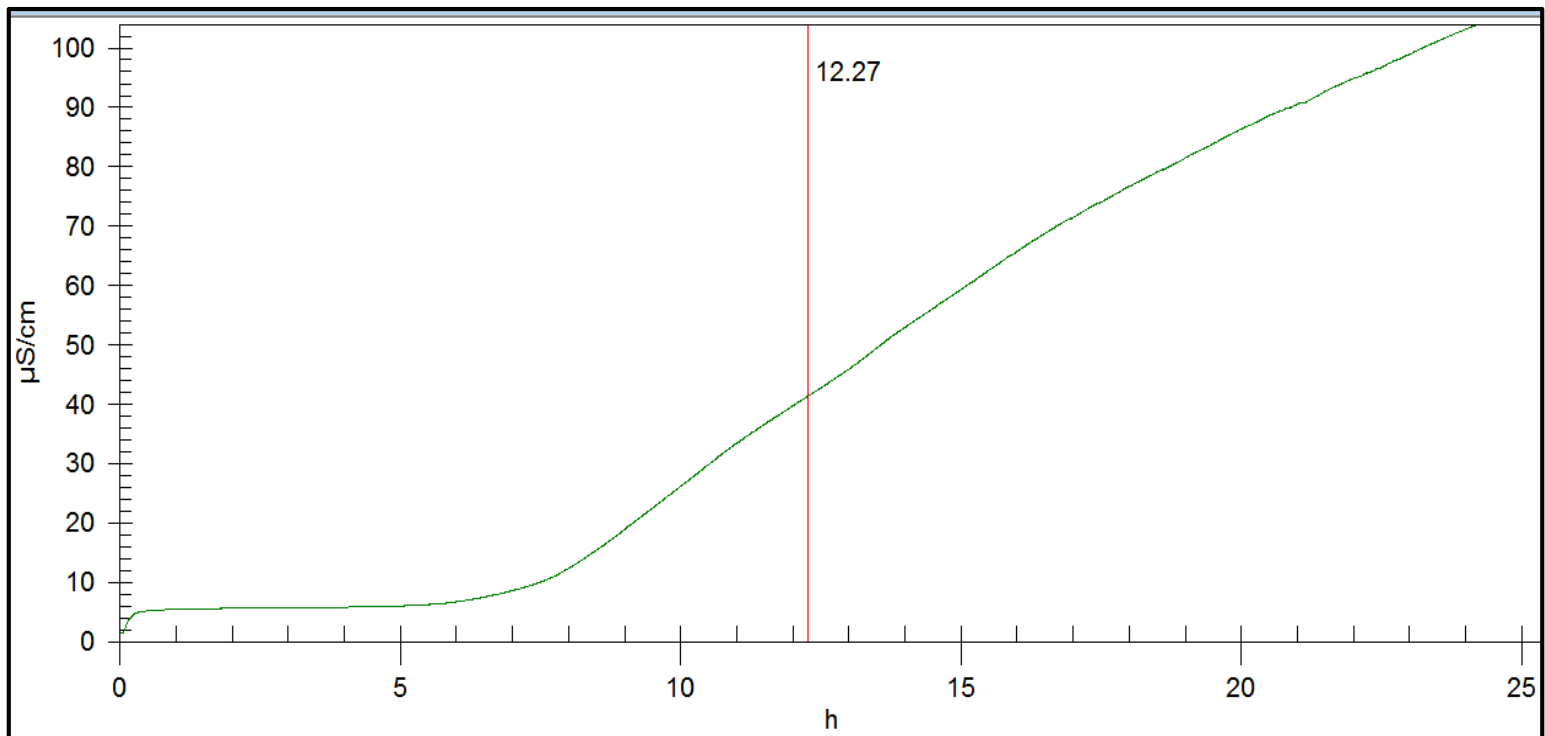
- **Valente T.**, Hidalgo J., Bolea I., Ramirez B., Angles N., Reguant J., Morello J.R., Gutierrez C., Boada M., Unzeta M., (2009): A diet enriched in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, LMN diet, induces neurogenesis in the subventricular zone and hippocampus of adult mouse brain. *Journal of Alzheimer's Disease*, 18(4).849-865.

- **Yamasaki,M.**, Kitagawa, T., Koyanagi, N., Chujo, H., Maeda, H., Kohno-Murase, J., Imamura, J.,Tachibana,H., Yamada, K., 2006. Dietary Effect of pomegranate seed oil on immune function and lipid metabolism in mice. *Nutrition* 22, 54–59.

- **Young J.M.**, Wang X., Morris M. E., 2006: Dietary flavonoids: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolismo. *Toxicology in Vitro* 20: 187–210.

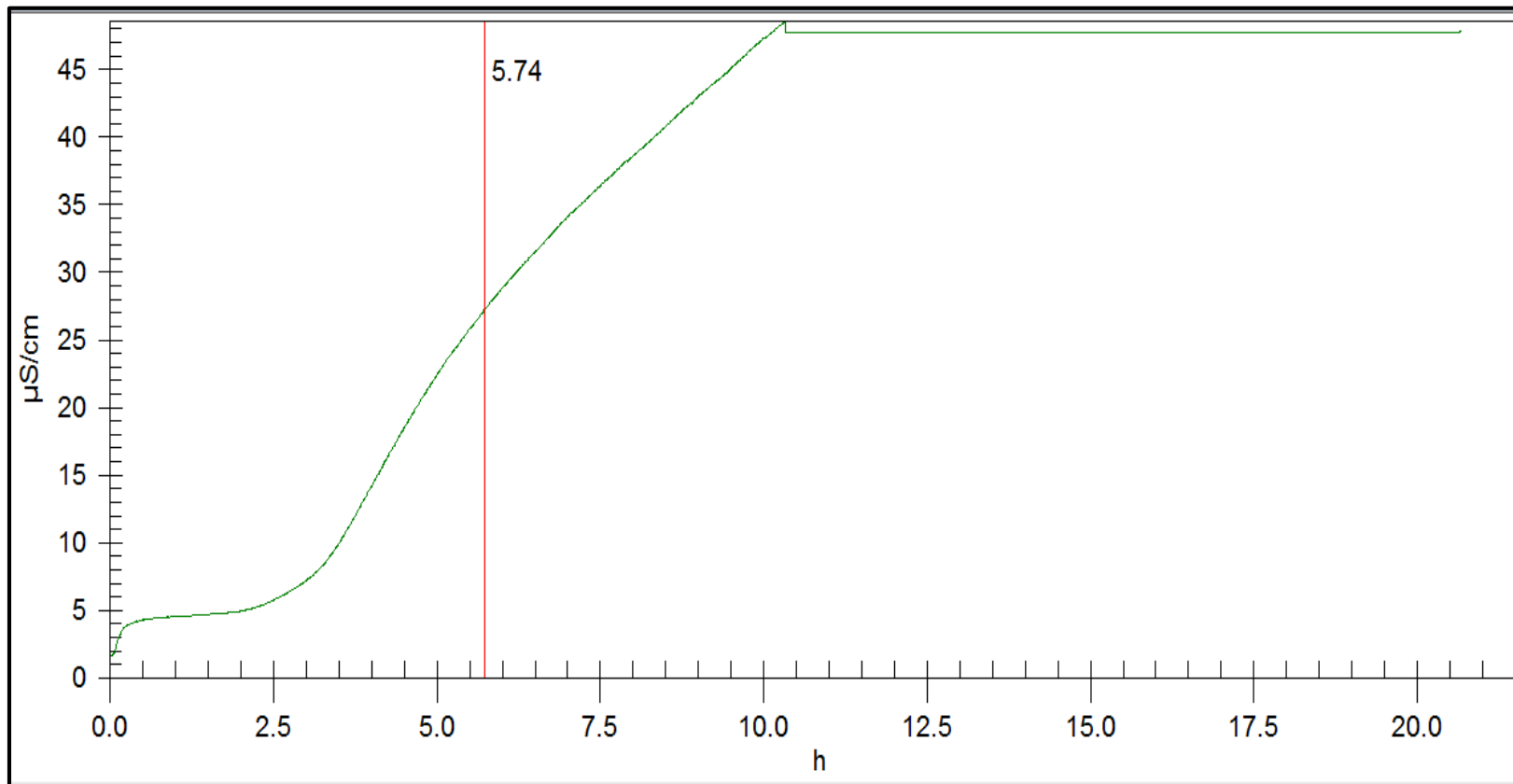
VII. ANEXOS

Comportamiento del aceite de semilla de *PunicaGranatum* a Temperatura de 80°C y Flujo de aire de 15 L/H.



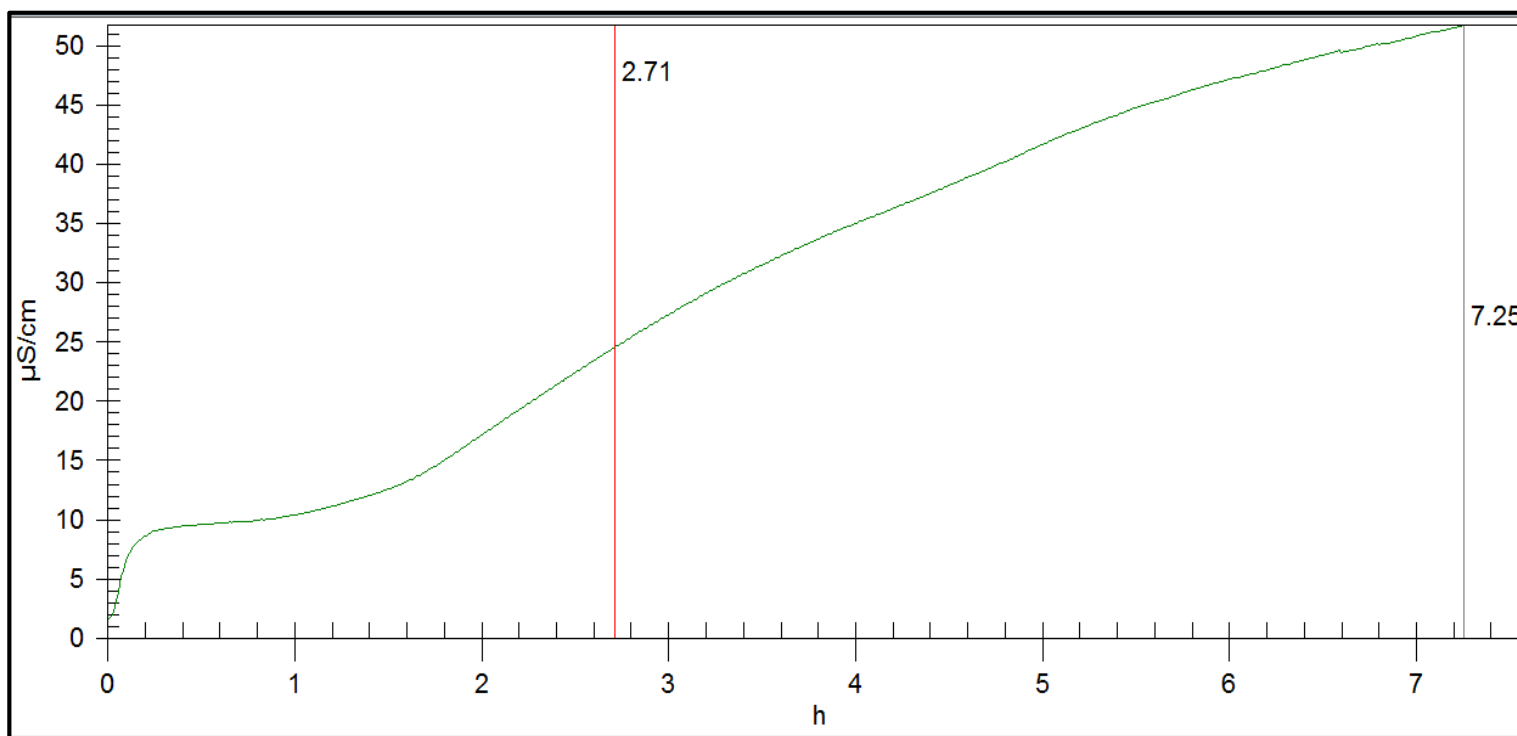
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =12.27

comportamiento del aceite de semilla de Punica Granatum a Temperatura de 90°C y Flujo de aire de 15 L/H.



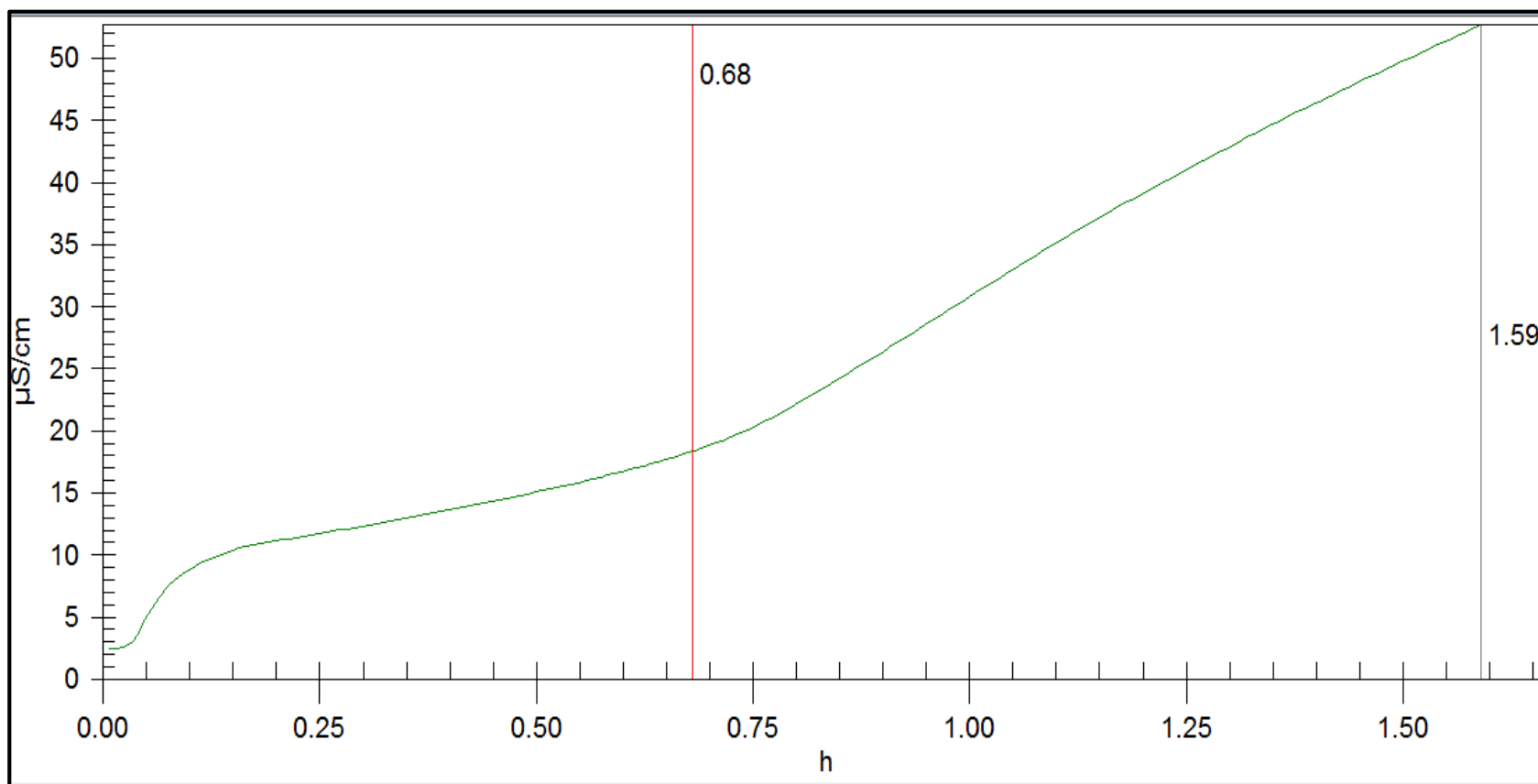
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =5.74

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 100°C y Flujo de aire de 15 L/H.



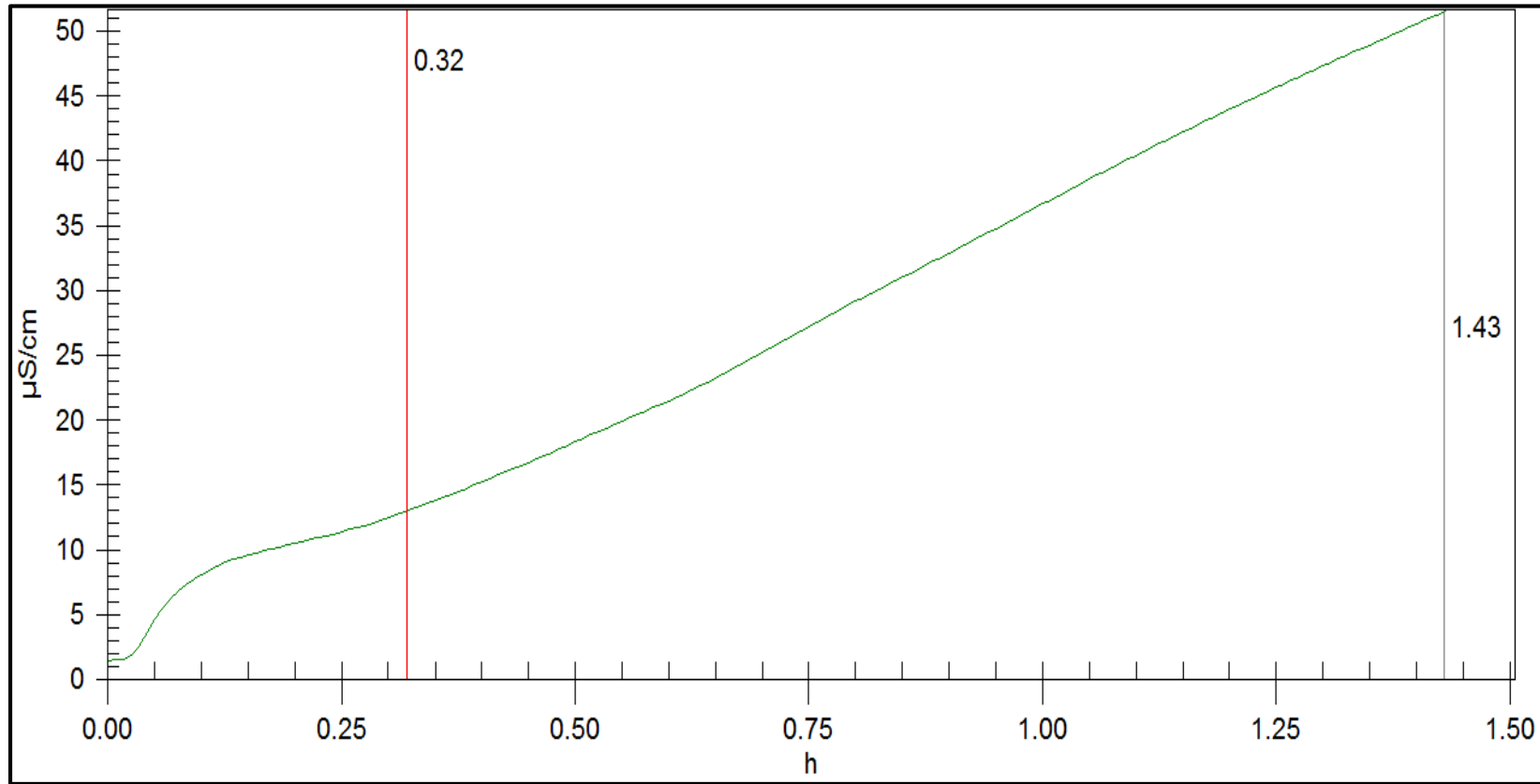
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =2.71

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 120°C y Flujo de aire de 15 L/H.



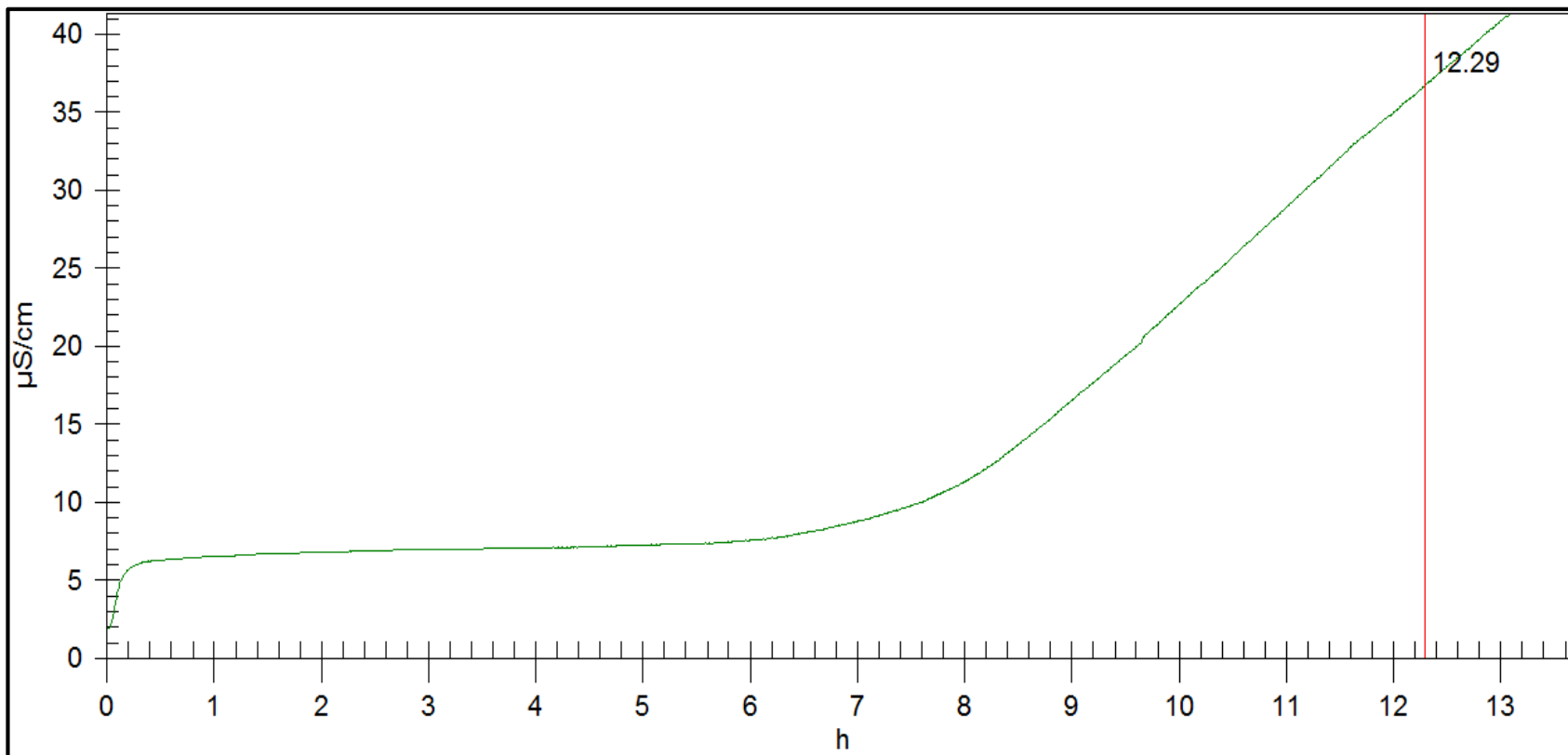
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =0.68

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 130°C y Flujo de aire de 15 L/H.



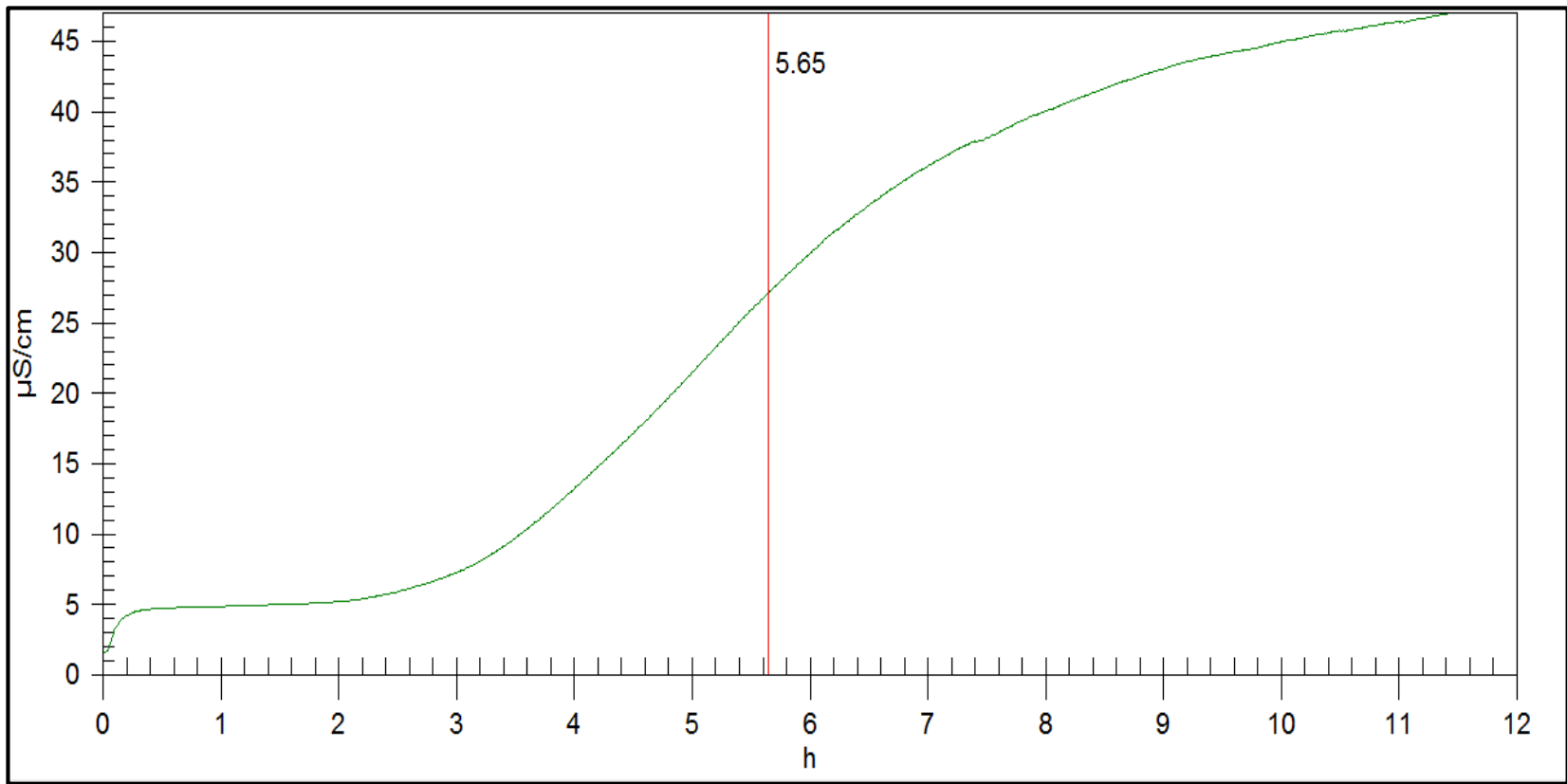
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =0.32

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 80°C y Flujo de aire de 20 L/H.



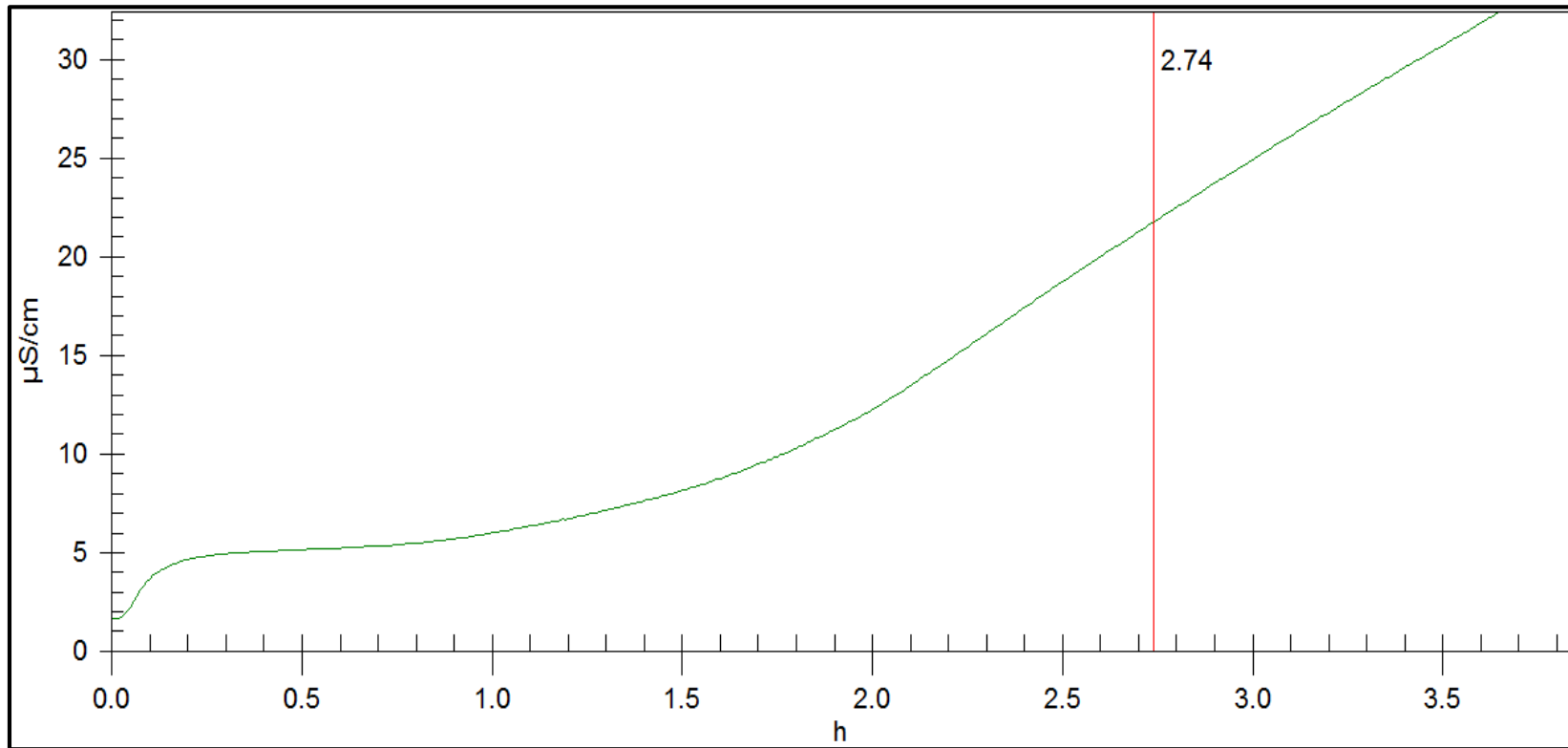
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =12.29

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 90°C y Flujo de aire de 20 L/H.



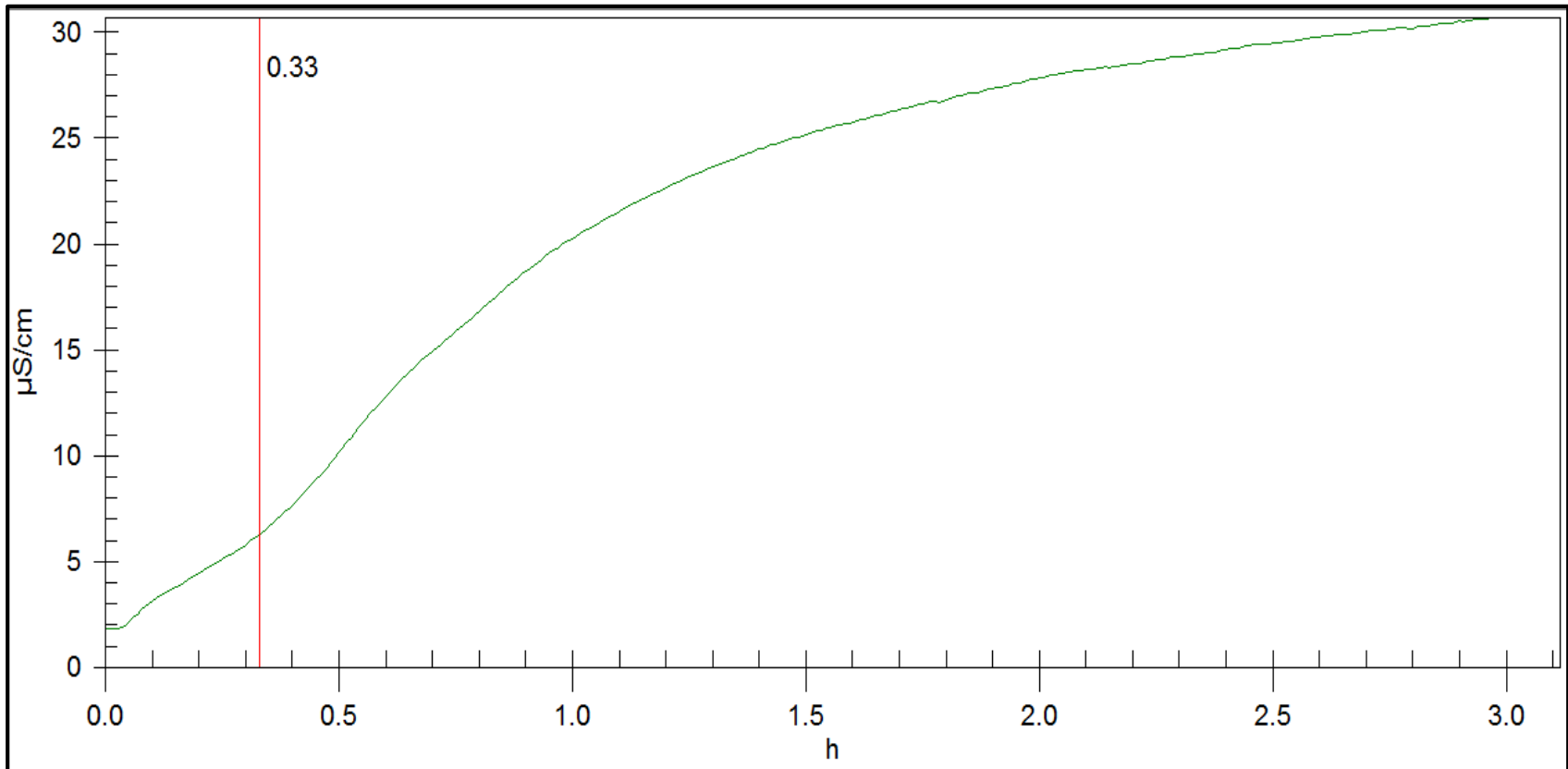
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =5.65

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 100°C y Flujo de aire de 20 L/H.



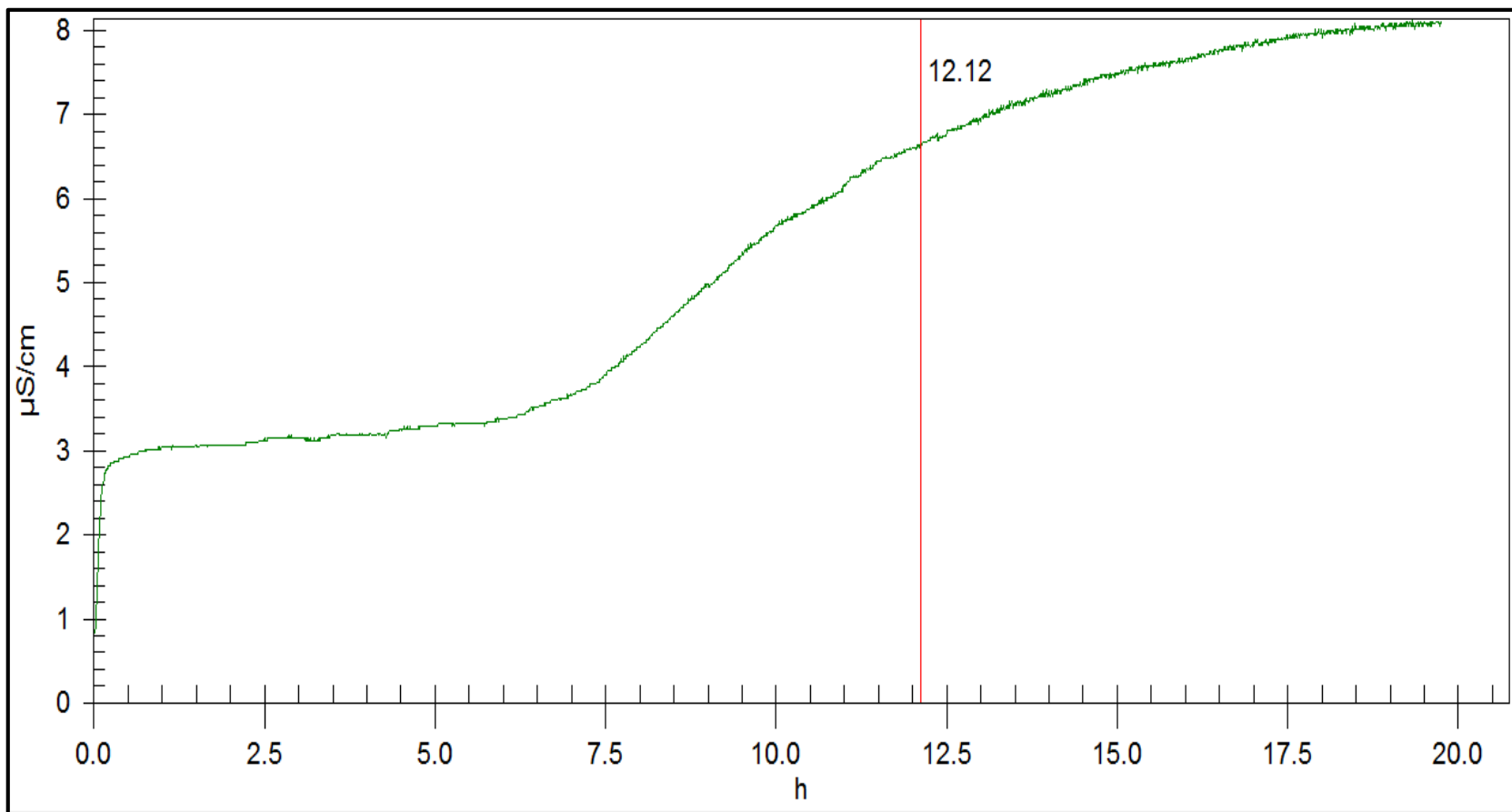
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =2.74

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 130°C y Flujo de aire de 20 L/H.



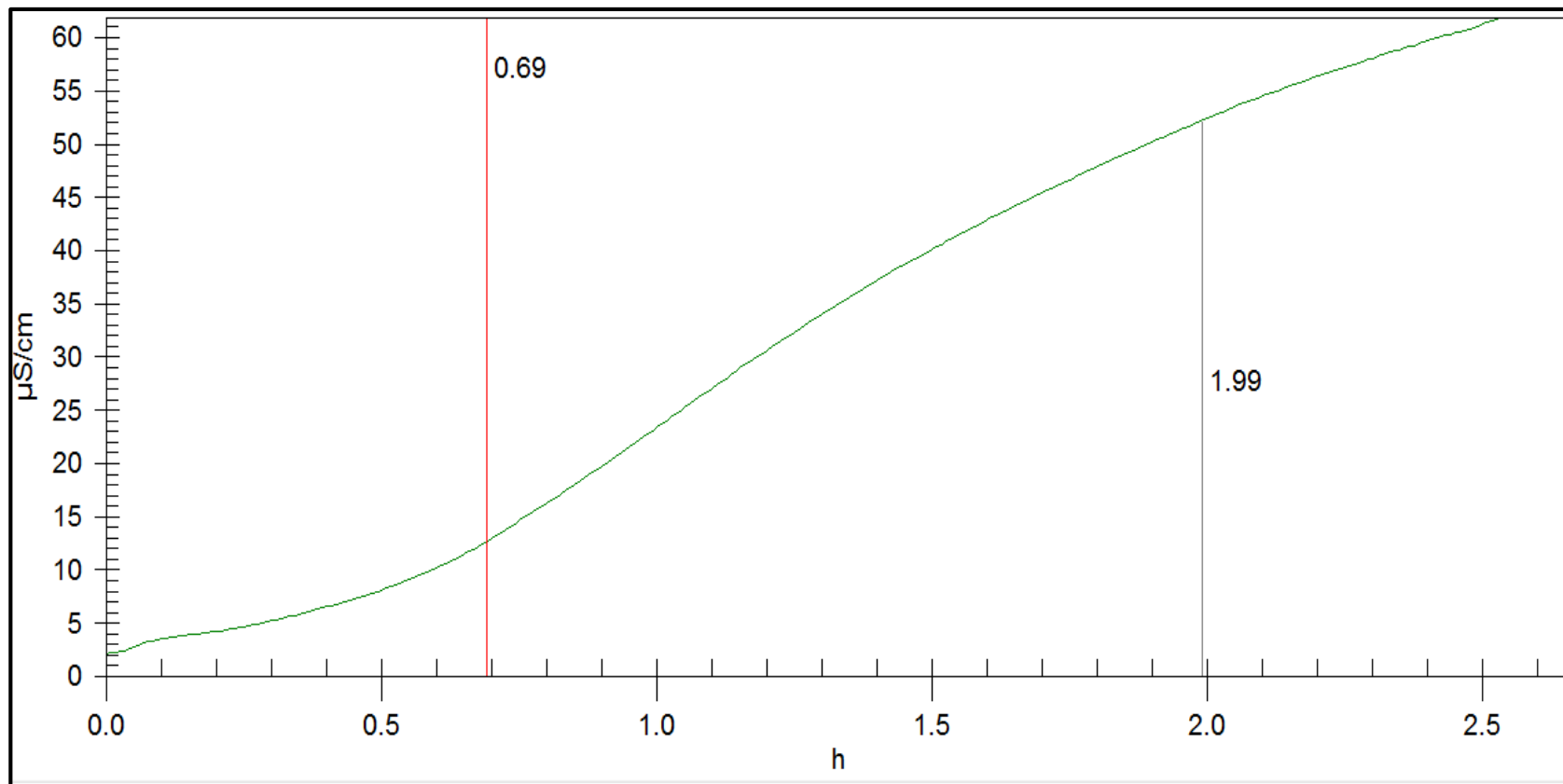
INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =0.33

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 80°C y Flujo de aire de 25 L/H.



INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =12.12

comportamiento del aceite de semilla de PunicaGranatum a Temperatura de 120°C y Flujo de aire de 25 L/H.



INDICE DE ESTABILIDAD OXIDATIVA (OSI) =0.69

METODOLOGÍA DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE POR PENSADO EN FRIO



Llenado de la tolva



encendemos tornillo



torta de la semilla



Torta de semilla de granada



aceite de semilla de granada

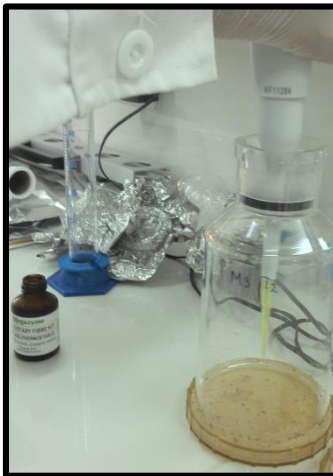
DETERMINACION DE FIBRA DIETARIA DE LA TORTA DE LA SEMILLA DE GRANADA

PROCEDIMIENTO:

- La muestra se procedió a desgrasarlo; para posteriormente ser molida.
- Se pesó aproximadamente 1gr. De la muestra previamente desgrasada. Y se añadió 50ml de buffer fosfatopH= 6 y se 50 ul de enzima α -amilasa. Como se muestra en la imagen.



- Luego se incubo por 30min a $T = 95-100\text{ }^{\circ}\text{C}$. posteriormente se dejó enfriar y se ajustó el ph a 7.5. para agregar 100 ul de la enzima proteasa y dejar actuar por 30 min a $T = 60^{\circ}\text{C}$. transcurrido ese tiempo se deja enfriar, se ajusta al ph 4 – 4.6 para inoculara 200 ul de la enzima amiloglucosidasa y dejara actuar por 30 min a $T = 60^{\circ}\text{C}$.



- Posteriormente se procede a precipitar con etanol al 95 % a $T= 60^{\circ}\text{C}$ para determinar fibra total y agregarle agua a los frascos en los cuales se va a determinar fibra insoluble. Se procede a lavar y filtrar como lo indica el procedimiento.



G

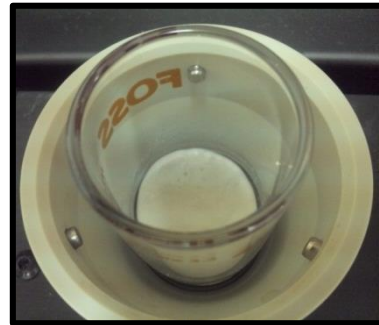
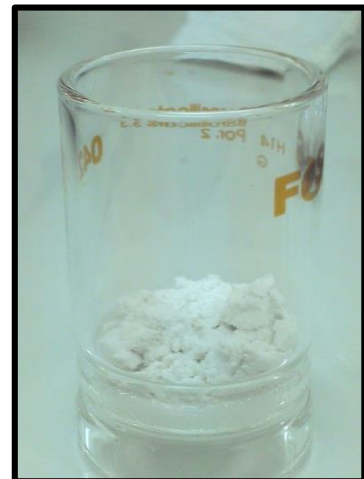


Imagen equipo de filtración FIBERTEC crisoles con CELITE



Montaje del equipo de filtración FIBERTEC estufa.

crisoles después de salir de la

DETERMINACION DE FIBRA INSOLUBLE

- Condiciones iniciales:
Peso torta = 1.0008 gr
Peso del crisol = 30.1632 gr
- Peso del crisol +peso de la muestra después de realizar humedad
Peso crisol + muestra = 30.9149
- Peso fibra insoluble
(Peso crisol + muestra) – peso del crisol inicial = 0.7517 gr
Peso de ceniza = 0.0019
Peso de proteína (determinación por Kendal) =0.0691gr

FIBRA INSOLUBLE= $0.7517 - 0.0019 - 0.0691 = 0.6807$ gr = 68%

DETERMINACION DE FIBRA SOLUBLE

- Condiciones iniciales:
Peso torta = 1.0008 gr
Peso del crisol = 30.1708 gr
- Peso del crisol +peso de la muestra después de realizar humedad
Peso crisol + muestra = 30.4142 gr
- Peso fibra insoluble
(Peso crisol + muestra) – peso del crisol inicial = 0.2434 gr
Peso de ceniza = 0.0019
Peso de proteína (determinación por Kendal) =0.0691gr

FIBRA SOLUBLE= $0.2434 - 0.0691 = 0.1724$ gr = 17%

FIBRA TOTAL = 85%

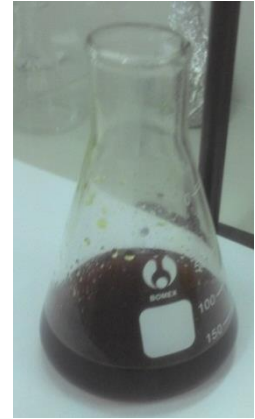
DETERMINACION DEL INDICE DE YODO EN EL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA



Se Pesó aceite



forro con papel aluminio para
Proteger de la luz



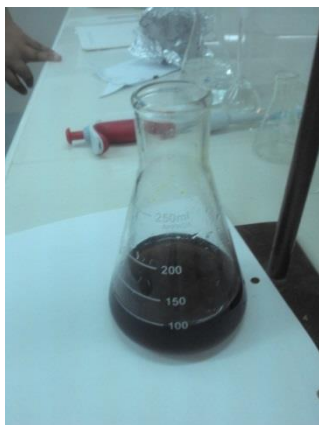
coloración antes
de la titulación



Amarillo después de la titulación



coloración azul cuando se agrega almidón

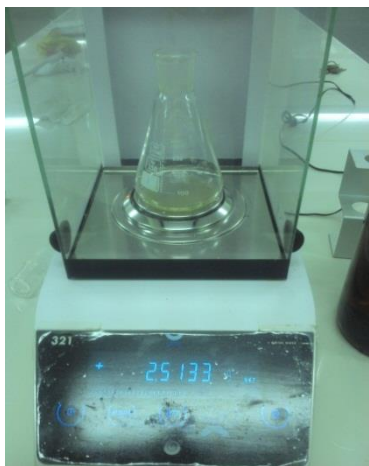


homogenizado de la muestra



incolore después de la titulación

PROCEDIMIENTO EN LA DETERMINACION DEL INDICE DE PEROXIDO EN EL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA



Peso el aceite



agrego solución
Ácido acético/cloroformo



coloración amarillo pajizo



Cuando se agrega el almidón debería tomar una coloración azul.

Y luego titular hasta que se torne incoloro.

PROCEDIMIENTO EN LA DETERMINACION DE ACIDEZ EN EL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA



Alcohol + fenoltaleina



ACEITE



muestra antes de titular

+ NaOH



Titulando con NaOH



VIRAJE A ROSA PALIDO

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE ANISIDINA EN EL ACEITE DE SEMILLA DE GRANADA



Preparación de la anisidina
en una cámara de
bioseguridad



Pesar el aceite y
aforar con
isooctano

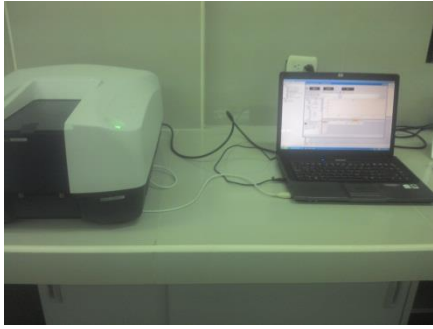


Muestra

Muestra + anisidina

Isooctano + anisidina

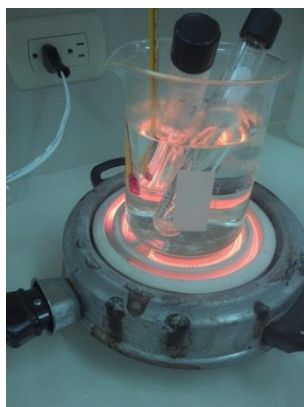
Se procede a leer en el espectrofotómetro



PROCEDIMIENTO DE ESTERIFICACION DE ACIDOS GRASOS PARA ANALISIS DE CROMATOGRAFIA DE GASES



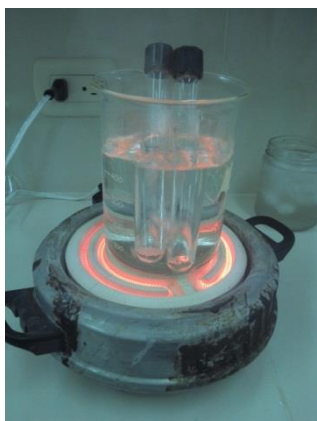
Se Pesó el aceite



calienta por 80-90 °c x 5min



agrega reactivo BF3



30 min a 100°C



obtención de las dos fases después de agregar
isooctano Y NaCl

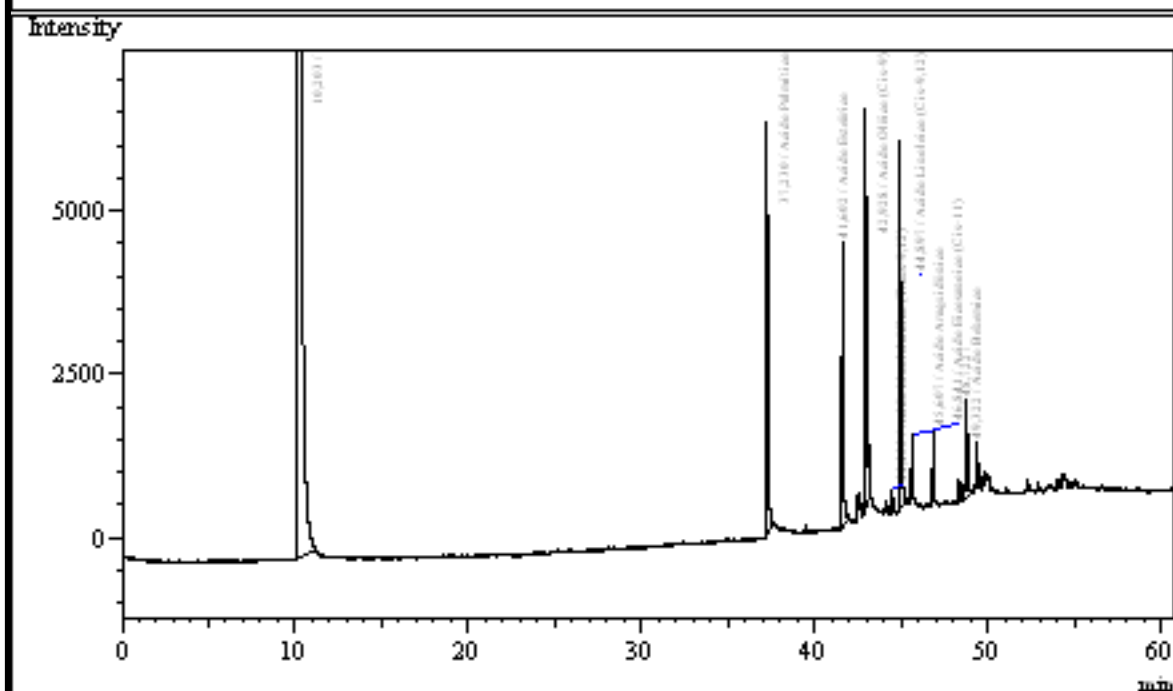


Separar la fase superior y colocarlo en un vial

Reporte de ácidos grasos del aceite de semilla de granada

Analysis Date & Time : 21/04/2015 13:44:30
 User Name : Admin
 Vial# : 2
 Sample Name : 21-04-15 aceite de granada
 Sample ID : 21-04-15 aceite de granada
 Sample Type : Unknown
 Injection Volume : 1,00
 ISTD Amount :

Data Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\21-04-15 aceite de granada.gcd
 Method Name : C:\WINDOWS\Data\Project1\FAMES\Metodo FAMES AOAC 991.39 (Rt-2560).gcm



Peak#	Ret Time	Area	Height	Conc	Unit	Mark	ID#	Compd Name
1	10.203	156491544	63166103	0.000		S		
2	37.230	33252	6293	24.234	%		11	Acido Palmítico
3	41.602	22728	4334	16.326	%	S	14	Acido Estearico
4	42.928	33878	6092	24.159	%		16	Acido Oleico (Cis-9)
5	44.455	1390	308	1.125	%		17	Acido Linoleico
6	44.897	31128	5632	25.360	%		18	Acido Linoleico (Cis-6,12)
7	45.607	4115	1003	3.114	%		19	Acido Aracudonico
8	46.841	4915	1124	3.635	%		20	Acido Eicosanoico (Cis-11)
9	48.722	10863	1511	0.000				
10	49.322	2932	710	2.047	%		22	Acido Behemico
Total		156636745	63193110					

Tiempos de inducción del aceite de granada a temperaturas de 80, 90, 100, 120 y 130 °c y flujo de aire de 15, 20 y 25 L/H.

Flujo	Temperatura	Tiempos de inducción		
15	80	12.11	12.27	12.23
	90	5.74	5.74	5.81
	100	2.71	2.78	2.78
	120	0.68	0.68	0.68
	130	0.32	0.32	0.33
20	80	12.29	12.27	12.11
	90	5.65	5.83	5.64
	100	2.74	2.79	2.78
	120	0.64	0.64	0.64
	130	0.33	0.32	0.32
25	80	12.24	12.12	12.25
	90	5.74	5.71	5.73
	100	2.79	2.75	2.75
	120	0.68	0.69	0.67
	130	0.35	0.34	0.33

Determinación de índice de acidez

Muestras	mL. gastados de Hidróxido de NaOH 0.1 N	I.A (% ácido oleico)
M1	4.6 ml	0.46
M2	4.2 ml	0.41
M3	4 ml	0.39

$X = 0.42 \pm 0.03$

Determinación de índice de yodo

	mL. gastados de Tiosulfato de Sodio 0.1 M	I.Y (g Yodo absorbidos /100 g de muestra)
M1	11 ml	95.2
M2	11.5 ml	92.2
M3	12.6 ml	85.62

$X = 91 \pm 4.9$

Determinación de anisidina

	Abs. blanco	Abs. Muestra	Abs. Isoc+ anisidina	Abs. muestra+ anisidina	IAN (meq O2/kg)
M1	0.0718	0.1788	0.1073	0.2495	3.182
M2	0.0754	0.1772	0.1090	0.2415	2.86
M3	0.0780	0.1745	0.1094	0.2496	3.582

$X = 3.208 \pm 0.4$

Determinación de viscosidad

	RPM = 100 Temperatura 20°C	RPM =90 Temperatura 20°C
M1	283cp	278 cp
M2	282 cp	279 cp
M3	283 cp	279 cp
		X=278.6 ±0.6 cp

4.2.6 Determinación de densidad

	Temperatura 20°C densidad g/cm³
M1	0.94125
M2	0.9402
M3	0.9415
	X= 0.9409±0.0007

Hallando la energía de activación para flujo = 15 l/h

OSI	T	T(K)	LN (OSI)	1/T(K)
12.2	80	353	2.50143595	0.00283286
5.76	90	363	1.75093747	0.00275482
2.76	100	373	1.01523068	0.00268097
			-	
0.68	120	393	0.38566248	0.00254453
			-	
0.32	130	403	1.13943428	0.00248139

$E_a=85.733968$ KJ/mol para el flujo 15 l/h

Hallando la energía de activación para flujo = 20 l/h

OSI	T	T(K)	LN (OSI)	1/T(K)
12.22	80	353	2.50307395	0.00283286
5.71	90	363	1.74221902	0.00275482
2.77	100	373	1.01884732	0.00268097
0.64	120	393	-0.4462871	0.00254453
			-	
0.32	130	403	1.13943428	0.00248139

$E_a=86.364146$ KJ/mol para el flujo 20 l/h

Hallando la energía de activación para flujo = 25 l/h

OSI	T	T(K)	LN (OSI)	1/T(K)
12.2	80	353	2.50143595	0.00283286
5.73	90	363	1.74571553	0.00275482
2.76	100	373	1.01523068	0.00268097
			-	
0.68	120	393	0.38566248	0.00254453
			-	
0.34	130	403	1.07880966	0.00248139

$E_a=84.628206$ KJ/mol para el flujo 25 l/h