



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**“EFECTO DEL TRATAMIENTO POST-COSECHA CON
ÁCIDO γ -AMINOBUTÍRICO SOBRE LA CALIDAD
GENERAL DE GRANADA “WONDERFUL”
(*Punica granatum L.*)”**

TRABAJO FIN DE GRADO

Enero - 2019

Autor: Héctor Tortosa Sánchez

Tutores: Antonio Fabián Guillén Arco

Jorge Medina Santamarina

RESUMEN

Los elicitores son aquellas sustancias que inducen un cambio fisiológico en la planta y a partir de la cual se activan una serie de mecanismos similares a las respuestas de defensa que, en condiciones naturales, se desencadenarían tras la infección de un patógeno o un estímulo del medio, afectando así al metabolismo de la planta y aumentando la síntesis de compuestos fitoquímicos. Elicidores tales como el ácido γ -aminobutírico a diferentes dosis se aplicaron en post-cosecha sobre granada para tratar de evaluar si se obtenían mejoras en los frutos durante su almacenamiento post-recolección. Tras aplicar los tratamientos, y una vez evaluados los frutos, se observó que los tratamientos no afectaron negativamente a parámetros tales como las pérdidas de peso y la firmeza y mantuvieron mayores niveles de color, sólidos solubles y acidez titulable. Asimismo los tratamientos fueron exitosos disminuyendo la sensibilidad a los daños por frío por lo que se incrementó la calidad general de estos frutos.

ABSTRACT

Elicitors are substances which induce physiological changes in plant. Plants respond to these stressors by activating an array of mechanisms, similar to the defense responses to pathogen infections or environmental stimuli, affecting the plant metabolism and enhancing the synthesis of phytochemicals. Elicitors as γ -aminobutyric acid at different doses were applied at post-harvest stage on pomegranate, to evaluate if these treatments were able to maintain quality during storage. After applied these treatments and once fruits were evaluated, results showed that these fruits were not negatively affected regarding parameters as weight loss or firmness and were able induced an increase of some color parameters, total soluble solids and titratable acidity. On the other hand these treatments were successful reducing chilling injury parameters leading to a higher general quality of these fruit.



Keywords: Pomegranate, γ - aminobutyric acid, Post-harvest, Elicitors, Storage.



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. La granada	6
1.2. Características botánicas	8
1.2.1. El cultivo de la granada.....	8
1.2.2. Taxonomía.....	9
1.2.3. Biología floral.....	9
1.3. Composición química y nutricional	10
1.3.1. Efectos beneficiosos de la granada.....	15
1.4. Exigencias relativas a la calidad	17
1.4.1. Factores pre-recolección que afectan a la calidad.....	18
1.4.2. Características físicas.....	18
1.4.3. Etapas de desarrollo de la fruta.....	19
1.4.4. Factores post-recolección.....	21
1.5. Variedades de granada	23
1.6. Ácido γ-Aminobutírico	26
1.7. Producción de granada e importancia económica	28
2. OBJETIVOS	34
3. MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1. Material vegetal	36
3.2. Diseño experimental	36
3.3. Determinaciones analíticas	38
3.3.1. Pérdida de peso.....	38

3.3.2. Determinación de CO ₂	38
3.3.3. Evaluación del color.....	40
3.3.4. Determinación de la firmeza.....	41
3.3.5. Evaluación de los sólidos solubles.....	41
3.3.6. Determinación del pH y de la acidez titulable.....	42
3.3.7. Determinación de la susceptibilidad a los daños por frío.....	44
4. RESULTADOS.....	45
4.1. Pérdida de peso.....	45
4.2. Respiración.....	46
4.3. Textura.....	47
4.4. Color L*.....	48
4.5. Color HUE*.....	50
4.6. Sólidos solubles totales.....	51
4.7. Acidez.....	52
4.8. Fuga de electrolitos.....	53
4.9. Picado.....	55
5. CONCLUSIÓN.....	56
6. BIBLIOGRAFÍA.....	57

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA GRANADA

La granada, es un fruto carnosos procedente del granado, un árbol de la familia de las *Punicaceae* que se desarrolla en zonas tropicales y subtropicales. El granado es un arbusto caducifolio, con porte arbustivo, que puede alcanzar de 5 a 8 metros de altura, cuyo fruto es la granada. Sus hojas son opuestas o subopuestas, brillantes, oblongas estrechas, enteras, de 3 a 7 cm de longitud y 2 cm de altura. Posee unas flores (*Fotografía 1*) de un color rojo brillante, de 3 cm de diámetro que tienen cinco pétalos. El granado es también un árbol interesante en la jardinería como ornamental, ya que además no requiere exhaustivos cuidados.



Fotografía 1. Flor del granado.

La granada (*Imagen 1*) es un fruto que tiene una estructura con forma esférica o globular, también llamado balausta, cuyo color puede ir desde rojo brillante, verde amarillento hasta un color más blanquecino, coronado por un cáliz de unos 5 – 8 cm, repleto de semillas y una corteza coriácea. El interior del fruto está dividido por paredes membranosas de color blanquecino con una

consistencia esponjosa y sabor amargo, en varios lóbulos que contienen las semillas recubiertas de una membrana llamada sarcotesta debajo de la cual se encuentra la pulpa roja y jugosa, y un tegumento interno o endopleura llamado piñón.



Imagen 1. Fruto del granado y sus semillas.

Las frutas climatéricas pueden madurar organolépticamente en la planta o fuera de ellas debido a un aumento de la tasa respiratoria antes del proceso conocido como climaterio, y la producción de etileno (hormona natural que provoca la maduración).

En el caso de los frutos no climatéricos como la granada, estos maduran gradual y constantemente sin mostrar un aumento significativo ni de la actividad respiratoria ni de la producción de etileno al iniciarse la maduración. La maduración de estos frutos se detiene en el momento en que son cortados de la planta. Por tanto, la granada alcanza su época de madurez comercial y por lo tanto de recolección de mediados de septiembre hasta mediados de noviembre dependiendo de la variedad.

1.2. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.

1.2.1. El cultivo de la granada.

El granado (*Punica granatum* L.) es un árbol frutal originario de Irán (Persia) y de sus alrededores (Asia Menor, Transcaucasia, Irán y Turkmenistán). Con el tiempo su cultivo se expandió a países tan lejanos como India, China, Pakistán y Emiratos Árabes Unidos, adaptándose muy bien a las condiciones climáticas del norte de África (Sudzuki et al., 1997). Algunas investigaciones ya relatan la presencia de restos de granada en las tumbas egipcias de 2500 años a.C.

Existen diversas tesis acerca de cómo se produjo el paso a España de este cultivo. Unas apuntan a que la ocupación morisca fue la responsable mientras que otras señalan a las guerras Púnicas, y que de ahí proviene el nombre en latín (*Punica granatum* L.).

Sea como fuere el cultivo de la granada continuo expandiéndose por toda la cuenca mediterránea para posteriormente cruzar el atlántico e implantarse en el continente americano de mano de los españoles principalmente en California para después extenderse hacia el sur.

España encabeza la producción europea de granada con una extensión de aproximadamente 2325 hectáreas concentradas mayoritariamente entre las provincias de Alicante (contiene entorno al 90% de los cultivos) y Murcia con una producción anual de entre 25000 y 30000 toneladas dependiendo del año.

Otros países como EE.UU, Israel, Irán, Turquía, India u otros países del norte de África también producen cantidades significativas.

1.2.2. Taxonomía.

La granada es un fruto procedente del orden *Myrtales* dentro del cual pertenece a la familia *Punicaceae* que a su vez está representada por un solo género (Púnica) y dos especies, *P. granatum* L. y *P. protopunica* Balf. (originaria de Socotra, Yemen) siendo solamente la primera la que se cultiva por sus frutos, que son comestibles. Según Smith (1976), *P. granatum* L. tiene $2n=2x = 16, 18$ cromosomas. Dentro de la especie *P. granatum* L. tienen lugar dos subespecies llamadas *Chlorocarpa* y *Prophyrocarpa*. La más antigua se encuentra en la región de Transcaucasus (Armenia, Georgia y Azerbaiyán), mientras que la última se encuentra en Asia central (Patil y Karale, 1990). La granada enana (*Punica granatum* L. var. *nana*) es una variedad en miniatura que tiene una finalidad ornamental o decorativa y que por tanto, es más conveniente para la producción de planta de pote. Su primera denominación científica fue *Pomunnigranatum*, que significa “manzana con semillas”. (Franck, 2009).

1.2.3. Biología floral.

La floración de la granada varía dependiendo de la variedad de granada, por lo que es muy extendida. Esta variación es más pronunciada, si tenemos en cuenta que en los climas subtropicales la floración se produce únicamente una vez mientras que en los climas tropicales se produce varias veces.

El granado es un árbol, que en zonas con bajas temperaturas en invierno tiene una hoja caduca, mientras que cuando se encuentra en zonas tropicales en las que estas temperaturas tan bajas son casi inexistentes se mantiene prácticamente imperecedero o parcialmente de hoja caduca.

La duración entre el comienzo del alargamiento del brote de la flor (crecimiento) y la antesis varía entre 14 y 28 días, dependiendo de la variedad y de las condiciones climáticas (Gur, 1986). En climas subtropicales del hemisferio norte, el florecimiento ocurre a partir de la última semana de marzo hasta la segunda semana de mayo (Singh et al., 1978).). Debido a la extensa floración es común encontrar árboles en los cuales podemos encontrar frutos maduros, frutos recién cuajados e incluso flores en un mismo momento.

Como norma general, las flores que originan los frutos de mayor calidad (tamaño, color del fruto y arilos y contenido de sólidos solubles) son aquellas que se producen en la primera floración, mientras que las flores que se producen durante la última floración en muchos casos no llegan a desarrollarse.

La morfología de las flores es de pedúnculos cortos y sensibles. Son flores hermafroditas aunque también se presentan flores imperfectas o flor macho y las que no fructifican caen a los pocos días. El cáliz de las flores hermafroditas tiene una estructura en forma de jarra con un gran ovario bien desarrollado. La flor masculina es más pequeña, con un cáliz acampanado y un ovario rudimentario. El porcentaje de hermafroditas, fuera del número total de flores en un árbol de la granada, depende del cultivo, de la estación de floración, y de otras condiciones ambientales desconocidas. En el comienzo de la estación de floración principal, este porcentaje es más alto que en el final de la estación (Gur, 1986).

1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL.

La granada es un fruto con una composición nutricional (*Tabla 1*) muy amplia que puede tener algunas variaciones de unas variedades a otras. La parte comestible de la granada, es decir, el arilo y la semilla, suponen el 50% del peso total de la granada, suponiendo un porcentaje del 80 % y 20% respectivamente.

Tabla 1. Composición nutricional de la granada por 100 g comestibles.

COMPONENTE	VALOR NUTRICIONAL	UNIDAD
Proximales		
Energía, total	261 (63)	kJ (kcal)
Grasa, total (lípidos totales)	0,3	g
Proteína, total	1	g
Agua (humedad)	80.2	g
Hidratos de Carbono		
Fibra, dietética total	3.5	g
Carbohidratos	13.7	g
Grasas		
Ácidos grasos, monoinsaturados totales	Traza	g
Ácidos grasos, poliinsaturados totales	Traza	g
Ácidos grasos, saturados totales	Traza	g
Colesterol	0	mg
Vitaminas		
Vitamina A equivalentes de retinol de actividades de retinos y carotenoides	7	µg
Vitamina E equivalentes de alfa tocoferol de actividades de vitámeros E	0.55	mg
Folato, total	29	µg
Equivalentes de niacina, totales	0.3	mg

Riboflavina	0.03	mg
Tiamina	0.05	mg
Vitamina B-6, total	0.2	mg
Vitamina C (ácido ascórbico)	20	mg
Minerales		
Calcio	13	mg
Hierro, total	1	mg
Potasio	247	mg
Magnesio	6	mg
Sodio	4	mg
Fósforo	25	mg
Selenio, total	0.6	µg
Zinc (cinc)	0.1	mg

Fuente: BEDCA.

Esta parte comestible está compuesta principalmente por una gran cantidad de agua (85%), seguida de hidratos de carbono (10%), principalmente fructosa y glucosa. En menor medida se sitúan el resto de macronutrientes como proteínas y lípidos, por lo que es un fruto con una baja densidad calórica, de entorno 63 kcal/100 g. También contiene una pequeña cantidad de fibra alimentaria (3.5-4 g/100 g) proveniente principalmente del piñón. En lo que respecta a la parte de micronutrientes, aporta una gran cantidad de vitaminas y minerales. Es rica en potasio y aporta cantidades considerables de calcio, magnesio, fósforo y hierro, siendo pobre en sodio (García-Viguera y Pérez-Vicente, 2004). Es rica en vitamina C, E y B6, conteniendo cantidades significativas de B1, B2 y niacina (Pamplona-Roger, 1999).

La composición química de la granada es un tema que en los últimos tiempos ha despertado gran interés tanto en el ámbito científico como en el ámbito de los consumidores debido a la gran cantidad de compuestos fenólicos que contiene. Estos compuestos fenólicos destacan por su capacidad antioxidante y convierten a la granada en un alimento funcional, es decir, en un alimento que mejora la salud y ayuda a reducir el riesgo de contraer enfermedades. Esta capacidad antioxidante aumenta la defensa del organismo contra el daño causado por los radicales libres además de retrasar el envejecimiento celular.

Los fenoles totales se encuentran en una elevada concentración (aprox. 83 mg/100 g de porción comestible o 250 mg/100 mL), comparable a la del vino tinto (valores medios de 203 mg/100 mL) y muy superior a la del té verde (aprox. 103 mg/100 mL) (Gil MI et al., 2000).

Los fenoles de la granada los podemos dividir en compuestos fenólicos de alto peso molecular y compuestos fenólicos de bajo peso molecular. Entre los compuestos fenólicos de alto peso molecular distinguimos taninos hidrolizables como punicalina, pedunculagina y punicalagina (*Imagen 2*).

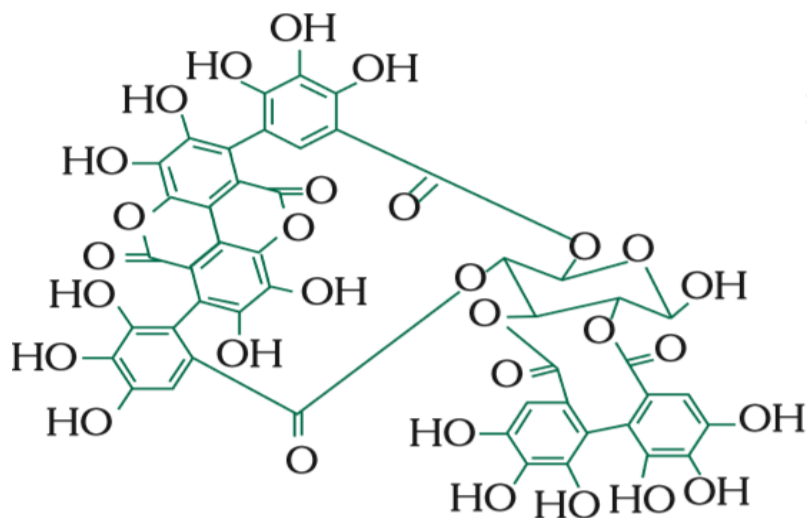


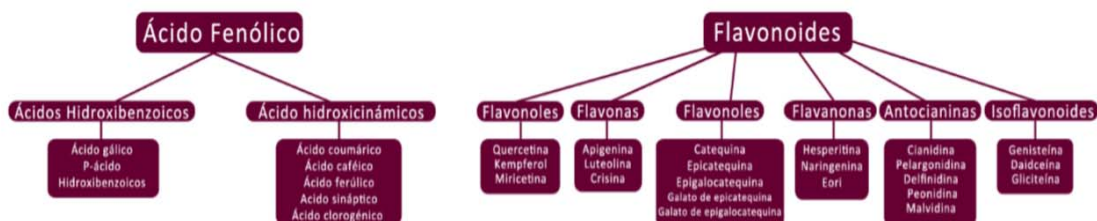
Imagen 2. Estructura molecular de la punicalagina.

La punicalagina es el compuesto de mayor peso molecular, que se le atribuyen mayor efecto antioxidante pues se hidroliza en ácido elágico y en el tracto intestinal dando urolitinas. La punicalagina también presenta una gran capacidad captadora de radicales libres pues es la responsable de aproximadamente el 50% de esta actividad en el zumo de granada, seguida de otros taninos hidrolizables (33% de la actividad total), y en menor medida se encuentra el ácido elágico (3%) (Gil et al., 2000; García-Viguera et al., 2004).

En los compuestos fenólicos de bajo peso molecular destacamos los flavonoides que constituye un grupo muy amplio de moléculas dentro de las cuales cobran especial importancia los antocianos responsables del color de la granada.

En el granado se han identificado 6 antocianos como los responsables del color del zumo de la granada: delphinidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido; cianidina 3glucósido y 3,5-diglucósido y pelargonidina 3-glucósido y 3,5diglucósido (Du et al., 1975). Como polímeros de las moléculas de mayor peso molecular es importante recalcar la presencia del ácido gálico (*Tabla 2*) y del ácido elágico.

Tabla 2: Compuestos fenólicos de bajo peso molecular.



Fuente: Calín-Sánchez y Carbonell-Barrachina, 2005.

1.3.1. Efectos beneficiosos de la granada.

La granada (*Punica granatum* L.) fruto antiguo, místico y distintivo, fue alabado en la antigüedad en diferentes escritos tales como la Biblia, el Torá judío y el Talmud de Babilonia como una fruta sagrada con poderes sobre la fertilidad, la abundancia y la buena suerte. También destaca en ciertas ceremonias, arte y mitología de los egipcios y los griegos y fue emblema personal del emperador romano Máximo (Calín-Sánchez y Carbonell-Barrachina, 2005).

Pese a haber sido un fruto venerado, sagrado y utilizado por sus propiedades en muchas civilizaciones en las últimas décadas una gran cantidad de estudios realizados sobre la granada han certificado la gran cantidad de compuestos antioxidantes que contiene, los cuales son beneficiosos para nuestro organismo, y por tanto, su consumo regular es una herramienta preventiva de una gran cantidad de patologías.

Una de las propiedades más conocidas del zumo de granada a nivel general es su capacidad como alimento diurético y depurativo debido a su alto contenido de agua y potasio, y su baja concentración de sodio. La corteza del fruto así como las láminas internas contienen alcaloides como peleterina y punicorteinas, las cuales tienen efecto vermífugo y antitumoral, respectivamente.

Así mismo, en los últimos tiempos también se han descrito propiedades antisépticas y desinfectantes contra microorganismos como el *Bacillus subtilis*, *E. coli* y *S. cerevisiae*.

Sin embargo, todos los estudios concluyen que el grueso de efectos beneficiosos de la granada es debido a una serie de compuestos antioxidantes que se encuentran en gran concentración en la granada y son los compuestos

fenólicos, dentro de los cuales hay que destacar el ácido elágico y los elagitaninos como la punicalagina.

En resumen de una serie de investigaciones hechas durante años sobre el componente antioxidante con mayor presencia en la granada, como es la punicalagina se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- Actividad antimutagénica (Zahin et al., 2014; Cano Lamadrid et al., 2016).
- Actividad antimicrobiana (Li et al., 2014; Rosas-Burgos et al., 2016).
- Actividad antiviral (Liu et al., 2016; Howell et al., 2013; Yang et al., 2013).
- Efecto antioxidante (Seeram et al., 2008).
- Actividad antiproliferativa (Aqil et al., 2012).
- Actividad anticancerígena (Kasimsetty et al., 2010).
- Protección cardiovascular (Aviram et al., 2013; El-Missiry et al., 2015).
- Efecto neuroprotectivo (Yaidikar et al., 2014,2015; Olajide et al., 2014).
- Capacidad antiteratogénica (Chunmei et al., 2014).
- Efecto ante la diabetes (El-Missiry et al., 2015).
- Propiedad antiinflamatoria (Jean-Guilles et al., 2013).

Una vez han quedado demostradas todas estas propiedades derivadas del consumo regular de granada, se demuestra con creces que la granada es un alimento funcional. La quimioprevención es por tanto una estrategia lógica y obvia para ayudar a disminuir la incidencia y los efectos de la enfermedad.

Los ácidos grasos procedentes de las semillas de la granada tales como el linoleico, linolénico y araquidónico juegan un papel importante en la

prevención de enfermedades cardiovasculares. También se ha demostrado el papel del aceite extraído de las semillas de granada 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., 2007).

1.4. EXIGENCIAS RELATIVAS A LA CALIDAD.

Desde tiempos inmemoriales y durante el transcurso y evolución de la historia, el hombre siempre ha confiado en sus sentidos y experiencias para seleccionar los alimentos que ha requerido, y catalogar dichos alimentos en buenos y malos. De hecho, ciertos alimentos “de calidad” producidos en determinadas regiones o por ciertos pueblos, se han reconocido y apreciado por sus características organolépticas: los aceites y vinos de Lesbos, las ostras de Tarento, los dátiles de Egipto, los aceites de Al-Andalus, etc. (Sancho et al., 1999).

Las características organolépticas como marcadores de la calidad de un producto siguen marcando la referencia principal que determina la calidad de un producto, como es el caso de productos como el aceite. Cuando hablamos de calidad estamos haciendo referencia a un término que abarca características sensoriales (aspecto, textura, sabor y aroma), valores nutritivos, componentes químicos, propiedades mecánicas, características funcionales y defectos (Abbott, 1999).

En el concepto de calidad hay que tener en cuenta las diferencias socio-culturales entre las diversas áreas de la geografía, grupos étnicos, sociales, religiosos y económicos caracterizados según su poder adquisitivo. Todas estas variaciones que pueden afectar al concepto de calidad son estudiadas por la industria para poder adaptarse a las particularidades de cada grupo y satisfacer sus necesidades.

En este punto podemos ver que el concepto de calidad es aún más complejo ya que también abarca un concepto relacionado con los contextos culturales, construido socialmente, mediante un proceso en el que intervienen diversos agentes. En lo que refiere a la calidad de los productos hortofrutícolas, puede haber una gran variabilidad ya que la calidad de las piezas individuales de una fruta puede diferir en un gran porcentaje del promedio. Es necesario determinar estadísticamente el número de pedazos y el número de mediciones requeridas por pieza para alcanzar un muestreo significativo y representativo (Abbott, 1999). En definitiva, para poder determinar la calidad de los productos hortofrutícolas habrá que tener en cuenta tanto los factores pre-recolección y post-recolección que afectan a la calidad.

1.4.1. Factores pre-recolección que afectan a la calidad.

El primer factor que influye en la decisión del consumidor a la hora de comprar un producto hortofrutícola es “aquello que le entra por la vista”, es decir, el color, el tamaño, la forma y la presencia o ausencia de defectos. Numerosos factores pre-recolección influyen en la calidad del producto cosechado, siendo estos: factores biológicos (patológicos, entomológicos, animales); factores fisiológicos (desórdenes fisiológicos, desequilibrio alimenticio, madurez); factores ambientales/culturales (clima, tiempo, suelos, relaciones del agua, intensidad de luz); daños mecánicos; materia extraña (crecimiento medio, residuos químicos); y variaciones y aberraciones genéticas (Kays, 1999).

1.4.2. Características físicas.

Actualmente los productos hortofrutícolas, a parte de cumplir una serie de requisitos que afectan directamente a la calidad también deben cumplir unas características físicas o requisitos, que han sido impuestos por la mercadotecnia para poder ser comercializados en las grandes superficies y centros comerciales.

Estos requisitos consisten en la medida de la dimensión (longitud, anchura, diámetro o circunferencia), peso y/o volumen; en su conjunto configuran el tamaño.

1.4.3. Etapas de desarrollo de la fruta.

Una granada en su momento óptimo de maduración puede alcanzar el tamaño de aproximadamente una naranja. La finalización del proceso de cuajado coincide con el inicio del proceso de desarrollo del fruto. Durante el desarrollo del fruto, este sufre una serie de transformaciones físico-químicas hasta que alcanza la madurez, punto en el cual el fruto ha alcanzado su máxima calidad.

Las etapas de desarrollo del fruto se catalogan en:

-Multiplicación celular o crecimiento. Este proceso comienza al acabar el proceso de cuajado de la flor. Este periodo de división celular que contribuye al crecimiento entero de la fruta varía teniendo en cuenta las diferentes especies.

-Maduración. En ella se adquieren características organolépticas como color, aroma, aspecto, tamaño, aumenta la concentración de azúcares y disminuye la acidez.

-Senescencia. Se produce una degeneración de todas las características organolépticas del fruto. También se produce el desprendimiento del fruto.

-Pudrición. Se producen procesos que causan la alteración del fruto mediados por microorganismos como levaduras y hongos que conducen a la muerte del fruto.

Durante el crecimiento de los frutos se realizan gráficas que reflejan los datos brutos de crecimiento/ tiempo o bien los porcentajes de valor máximo total de la cantidad del crecimiento /porcentajes del periodo total de

crecimiento. Así mismo, cada fruto presenta un tipo de diagrama característico de los datos medidos de crecimiento en un cierto periodo, que sigue un patrón diferente que incluye etapas identificables de desarrollo (Opara, 2000).

En el caso de las frutas, la estructura de crecimiento tiene una tendencia sigmoidea o doble-sigmoidea. Esta curva es resultado de la integración de los procesos de la división de célula y de la ampliación de la célula que se pueden separar temporal y espacialmente (Schechter et al., 1993).

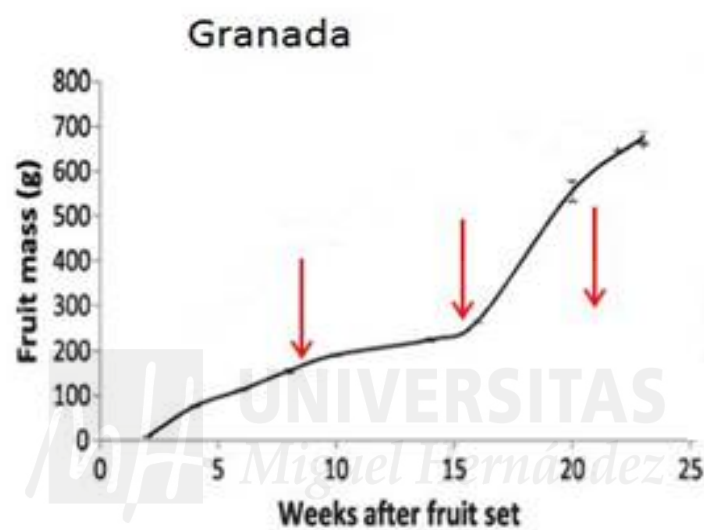


Gráfico 1. Curva de crecimiento de la granada.

Los cambios en las propiedades físicas y químicas de la granada durante la maduración del fruto fueron descritos en estudios previos. Las frutas se clasificaron en tres diversas etapas: verde, mitad - maduro y maduro, y se encontró que la fruta de cada etapa no mostró ninguna diferencia estadística en longitud, diámetro o contenido de volumen si no que las diferencias fueron obtenidas en el peso total, contenido de semillas y densidades (Al-Maiman y Ahmad, 2002).

1.4.4. Factores post-recolección.

La post-recolección es el tiempo que pasa desde que un producto vegetal es recolectado hasta su venta o su transformación. La post-recolección de un producto conlleva la recolección de los frutos en su estado óptimo de madurez, mantener la calidad total del producto mediante una serie de procesos como son el envasado, el almacenamiento y la distribución, proporcionar los productos a los consumidores dentro de los límites de tiempo en relación con la calidad del producto, y en último lugar reducir las pérdidas post-cosecha.

Las pérdidas en el sector de los productos vegetales son muy altas en relación con el resto de productos alimenticios ya que los productos vegetales son productos vivos susceptibles a sufrir alteraciones en cada uno de los procesos que se producen tras su recolección incluyendo la misma.

La mayoría de pérdidas de producto se producen principalmente porque no se alcanzan los estándares de calidad establecidos por las grandes superficies como el calibre, índice de madurez, podredumbres, fisiopatías y daños, o bien porque se han producido pérdidas de calidad asociadas a la vida útil, la producción de hormonas (etileno), pérdida de nutrientes, color, textura, daños por frío, patologías causadas por microorganismos como levaduras, mohos y bacterias, y daños mecánicos causados por magulladuras, abrasiones y cortes.

En el caso de la granada la realidad es que aunque la piel de la granada es bastante gruesa y parece resistente, la realidad es que se daña fácilmente con pequeños golpes o abrasiones, que ocasionan micro-roturas y fisuras en sus tejidos, lo que provoca aumento de la deshidratación y pardeamiento y supone un foco de entrada para los microorganismos (Kader, 2006).

En la granada los daños por frío se manifiestan como una especie de punteado (depresiones de color morado) y pardeamiento de la piel, y de los segmentos internos. Durante la conservación también se producen pérdidas asociadas a las características organolépticas como el sabor, causadas por la reducción de acidez, consecuencia de la pérdida de los ácidos mayoritarios como los ácidos málico, cítrico y succínico. Es también importante prestar atención a la pérdida de compuestos bioactivos que son parámetros apreciados cada vez más por los consumidores debido a su potencial antioxidante.

En lo relativo a patologías causadas por microorganismos, hay que destacar pudriciones tales como la pudrición blanca causada por hongos del género *Rhizopus*, pudrición gris causada por *Botrytis cinerea* y pudrición del corazón, causada por *Alternaria alternata* y pudriciones causadas por *Penicillium sp.* Se está estudiando en que época se produce la infección con dichos hongos, postulándose que las primeras infecciones se producen durante el período de floración (Franck, 2009).

Para reducir la incidencia de estos microorganismos en países como EEUU se emplea Fludioxonil, fungicida que se aplica para reducir el riesgo de pudriciones. Otra alternativa menos agresiva es la combinación de sorbato de potasio con atmósferas controladas.

Durante las últimas décadas se han establecido una serie de objetivos que es necesario conocer para hacer más eficiente la post-recolección como son conocer los factores que reducen la calidad del producto desde la recolección hasta el consumo, conocer la tecnología disponible para la conservación, conocer los principios que afectan a la evolución de los productos hortofrutícolas, conocer los flujos y operaciones aplicables, reducir las pérdidas, métodos precosecha adecuados para aumentar la calidad de los productos, mejorar las técnicas de calibrado y determinación de la madurez, controlar los microorganismos patógenos, proteger los productos con un envase adecuado y

un sistema de transporte rápido y eficaz que afecte cuanto menos posible a la calidad y vida útil del producto.

1.5. VARIEDADES DE GRANADA.

Las diferentes variedades de granada se clasifican en tres grupos, en las que se tiene en cuenta principalmente los parámetros valorables que nos permiten saber cuál es el momento óptimo para la recolección del fruto. Estos parámetros son la relación entre índice de madurez y acidez (ss/a):

- ✓ Variedades dulces: presentan un IM de entre 60-80 y una acidez entre el 0.15 y 0.48 % de ácido cítrico.
- ✓ Variedades agridulces: presentan un IM de entre 20-25 y una acidez entre el 0.54 y 0.91% de ácido cítrico.
- ✓ Variedades agrias: presentan un IM de entre 6-10 y una acidez de entre el 0.91 y el 3 % de ácido cítrico.

En función de las variedades se destinan a diferentes usos. Aquellas variedades con una acidez menor al 0.9% se destinan al consumo en fresco, las variedades con una acidez comprendida entre el 1 y el 2% se destinan a la producción de bebidas refrescantes mientras que aquellas pertenecientes al grupo de variedades agrias con una acidez superior al 2% suelen ser empleadas en la agro industria para la extracción de ácido cítrico (Raga Carreño et al., 2015).

La variedad más conocida es la granada variedad “Wonderful” (*Fotografía 2*) debido a que es la variedad mundialmente más producida. Es originaria de Florida y tiene una gran expansión por los países que lideran la producción de granada. Es una variedad tardía, presenta una coloración situada entre rojo y rosado, arilos de color rojo y semillas de suavidad media. Presenta

un contenido en sólidos solubles de entre 13-18 ° Brix y una acidez de 2-3 g ácido cítrico/L.



Fotografía 2. Variedad “Wonderful”.

En España, la variedad más importante es la granada variedad “Mollar de Elche” (*Fotografía 3*). Esta variedad se caracteriza por una forma redondeada, calibres medio-grandes, semillas dulces, y piñón blando. Estos frutos tienen un color rosado de tamaño medio. 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.



Fotografía 3. Variedad “Mollar de Elche”.

Otra variedad característica de la zona es la granada de variedad “Valenciana” (*Fotografía 4*). Esta variedad está considerada en algunos casos de menor calidad y es una variedad temprana. Tiene un color interno rosa claro y color externo rosa intenso. Piel sensible al manipulado. Su contenido en sólidos solubles totales es de 13, 90-15,50 °Brix, acidez de 0,14-0,26, con un porcentaje en zumo del orden del 29,26-53,84% y con un contenido medio en fibra bruta de 8-16% (Cambayas Coop V., 2010).



Fotografía 4. Variedad “Valenciana”.

A parte de estas variedades más conocidas también existen otras menos conocidas de carácter local como: “Blanca”, “Tendral”, “Piñonenca”, “Albar”, “San Felipe”, “Cajín”, “Pulpí”, etc. A nivel mundial también existen otras variedades como “Shany”, “Acco” y “116”.

Tabla 3. Calendario de recolección de la granada.

	En	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Granada Valenciana	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Granada Mollar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Granada Wonderful	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Fuente: Cambayas Coop. V., 2018.

1.6. ÁCIDO γ -AMINO BUTÍRICO

Cuando analizamos los componentes de un alimento, en primer lugar siempre nos fijamos en lo referente al valor nutricional, es decir, al contenido en agua, proteínas, carbohidratos, azúcares, grasas, sal, vitaminas y minerales. Sin embargo como hemos recalado ya en anterioridad, ciertos alimentos son muy importantes por su contenido en fitoquímicos. Como fitoquímicos podemos encontrar desde compuestos con capacidad antioxidante, que tienen un efecto beneficioso para nuestra salud como compuestos fenólicos, hasta los llamados elicitores.

Cuando una planta está sometida a una situación de estrés acumula una serie de metabolitos como respuesta a elicitores. Los elicitores son sustancias que pueden provenir de diversas fuentes, ya sean orgánicas o inorgánicas, y pueden inducir efectos fisiológicos y la producción de respuestas defensivas ante la acción de microorganismos patógenos o un ambiente desfavorable. Por tanto, una vez la planta ha reconocido este compuesto fitoquímico, se produce una serie de reacciones en cadena que activa mecanismos de defensa de las plantas.

Resulta de interés científico conocer cuál es la vía metabólica que permite pasar del reconocimiento del elicitador a la producción y acumulación de metabolitos, ya que estos podrían ser aprovechados para productos farmacéuticos, aditivos alimentarios y otros materiales para la industria.

Así mismo, durante los últimos tiempos también se han realizado estudios con sustancias elicitoras para intentar mejorar ciertos aspectos de los frutos como por ejemplo la vida útil del producto en situaciones que puedan afectar a la calidad del mismo.

El ácido γ -aminobutírico es una hormona presente de forma natural en la granada, que es utilizada en esta investigación como elicitador para tratar de disminuir los daños por frío causados en la misma durante la post-recolección.

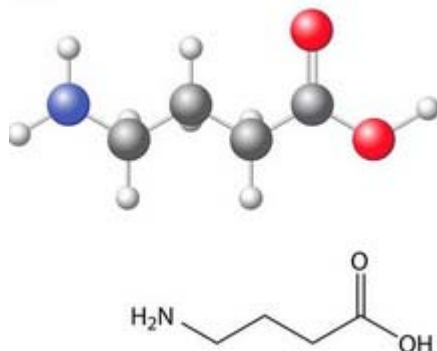


Imagen 3. Ácido γ -aminobutírico.

El ácido γ -aminobutírico (GABA), es un aminoácido no proteico, que cumple diferentes funciones en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Li et al., 2018). Su acumulación ha sido descrita como consecuencia de severas condiciones de estrés abiótico como frío y calor, salinidad, sequía, hipoxia y daños mecánicos (Kinnersley and Turano, 2000; Ramesh et al., 2015; Shelp et al., 1999). Bajo almacenamiento en frío, la acumulación de GABA corresponde con una elevada capacidad para hacer frente a condiciones adversas de post-cosecha, en varios cultivos como nísperos (Cao et al., 2012), platanos (Wang et al., 2016), y en brotes de bambú.

El GABA actúa como un inhibidor de la formación de malondialdehído durante la peroxidación lipídica (Deng et al., 2010), manteniendo la integridad de la membrana (Aghdam et al., 2015), incrementando el contenido de compuestos bioactivos (Aghdam et al., 2016; Li et al., 2016; Malekzadeh et al., 2017) y ayudando a mantener la regulación osmótica.

Se ha descrito un descenso del contenido de GABA en los frutos durante el almacenamiento refrigerado a largo plazo (Palma et al., 2019). El GABA se transforma a glutamato y este se cataboliza a succinato. El succinato producido puede entrar en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (CAT).

A largo plazo, se ha detectado una mayor inducción de GABA en variedades tolerantes al frío de estas especies, y también en frutas sensibles al frío después de tratamientos que mejoran la tolerancia al frío durante la postcosecha de fruta, tales como el preacondicionamiento a temperatura moderada tras almacenamiento en frío o una aplicación exógena de putrescina (Carvajal et al., 2015; Palma et al., 2015). La inducción se correlaciona con una mayor desaminación oxidativa de la poliamina putrescina catalizada por la diamina oxidasa, una enzima cuyo producto final es un precursor de GABA diferente del glutamato, 4-aminobutiraldehído (Shelp et al., 2012).

1.7. PRODUCCIÓN DE GRANADA E IMPORTANCIA ECONÓMICA.

El cultivo de la granada es un cultivo en auge durante los últimos tiempos, debido a que se ha convertido en un fruto muy atractivo para el consumidor. Esto ocurre, porque en la sociedad actual cada vez hay un mayor número de consumidores interesados en consumir alimentos naturales y sanos. La granada en este caso es el alimento ideal, ya que hay una gran cantidad de estudios que avalan su carácter preventivo de un gran número de enfermedades, debido a la gran cantidad de compuestos fitoquímicos con capacidad antioxidante. Además siempre ha sido un fruto rodeado de cierto misticismo y de carácter afrodisíaco desde la antigüedad.

En lo relativo a su producción, siempre ha sido un fruto característico de la zona mediterránea, sin embargo dado su fácil adaptación a diferentes zonas

agroclimáticas actualmente se cultiva en países tan distantes como Japón, EE.UU, Chile o Australia.

A nivel mundial la producción de granada oscila alrededor de los 2 millones de toneladas, teniendo a países como India, Irán, China y EE.UU, en la cabeza de producción de toneladas de granada, siendo la variedad predominante la granada “Wonderful” (Melgarejo et al., 2012).

Los principales países exportadores según Melissa Fiorella Santoya Bohorquez (2017), son los siguientes:

Tabla 4. Principales países exportadores de granada.

Nº	PAIS	% 12-11
1	ESPAÑA	106%
2	TAILANDIA	29%
3	CHINA	41%
4	PAISES BAJOS	-11%
5	HONG KONG	12%
6	AZERBAIYAN	64%
7	ESTADOS UNIDOS	-6%
8	EGIPTO	40%
9	TURQUIA	5%
10	INDIA	31%

Fuente: Santoya-Bohorquez (2017).

Los principales países importadores de granada se concentran en Europa: Holanda, Francia, Reino Unido, Suiza, Bélgica, y Rusia. La granada se encuentra durante todo el año en el mercado europeo siendo abastecidos sus supermercados en las diferentes épocas del año por los países exportadores (Gabriela Carmen y Llerena Huaracha, 2017).

En el panorama nacional el 90% de la producción se sitúa en la provincia de Alicante, concretamente en las localidades de Elche, Albuera y Crevillente (Calin-Sánchez y Carbonell-Barrachina, 2015). El resto se sitúa entre la provincia

de Valencia, la Región de Murcia y Andalucía. En concreto la Comunidad Valenciana tiene una producción 50.494 toneladas, seguida de la Región de Murcia con 9.421 toneladas y en último lugar Andalucía con 2.628 toneladas.

A nivel nacional se produce una cantidad total de 65.165 toneladas según los datos ofrecidos por MAPAMA del año 2019 (*Tabla 5*).

En superficie cultivada (*Tabla 5*), España contiene una cantidad total de 5.434 hectáreas. La Comunidad Valenciana dispone de 3.909 hectáreas de las cuales, 3.188 se encuentran en Alicante. En segunda posición se encuentra Andalucía con 667 hectáreas, y en última posición la Región de Murcia con 387 hectáreas. Pese a contener menos hectáreas, la Región de Murcia casi quintuplica la producción andaluza.

Tabla 5. Análisis provincial de superficie, rendimiento y producción.

Provincias y Comunidades Autónomas	Superficie en plantación regular (hectáreas)					Árboles diseminados (número)	Rendimiento		Producción (toneladas)			
	Total			En producción			Superficie en producción (kg/ha)		En plantación regular	Árboles diseminados	Producción Total	
	Secano	Regadío	Total	Secano	Regadío		Secano	Regadío				
Huesca	1	32	33	-	15	-	4.525	7.800	-	117	-	117
Zaragoza	-	12	12	-	2	-	4.525	7.343	-	16	-	16
ARAGÓN	1	44	45	-	17	-	-	7.746	-	133	-	133
Lleida	2	64	66	2	61	-	9.170	16.878	-	1.048	-	1.048
Tarragona	-	35	35	-	34	-	-	10.000	-	340	-	340
CATALUÑA	2	99	101	2	95	-	9.170	14.416	-	1.388	-	1.388
BALEARES	-	6	6	-	6	-	-	7.698	-	46	-	46
Ávila	-	-	-	-	-	48	-	-	-	-	-	-
Palencia	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-
CASTILLA Y LEÓN	-	-	-	-	-	53	-	-	-	-	-	-
MADRID	-	1	1	-	-	145	-	-	13	-	-	2
Toledo	2	5	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CASTILLA-LA MANCHA	2	5	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alicante	-	3.188	3.188	-	2.574	1.900	-	18.000	20	46.332	38	46.370
Castellón	-	55	55	-	27	-	-	12.600	-	340	-	340
Valencia	-	666	666	-	172	-	-	22.000	-	3.784	-	3.784
C. VALENCIANA	-	3.909	3.909	-	2.773	1.900	-	18.196	20	50.456	38	50.494
R. DE MURCIA	-	387	387	-	326	8	-	28.900	10	9.421	-	9.421
Badajoz	-	230	230	-	28	-	-	13.500	-	378	-	378
Cáceres	-	46	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EXTREMADURA	-	276	276	-	28	-	-	13.500	-	378	-	378
Almería	-	45	45	-	26	-	-	13.462	-	350	-	350
Cádiz	3	43	46	3	43	-	666	1.000	-	46	-	46
Córdoba	37	31	68	27	21	-	1.500	5.500	-	156	-	156
Granada	16	19	35	11	16	2.170	4.000	10.938	21	219	46	265
Huelva	4	248	252	4	25	-	2.000	16.500	-	421	-	421
Jaén	4	5	9	4	5	-	1.000	3.300	-	21	-	21
Málaga	41	62	103	19	58	-	1.800	6.900	-	434	-	434
Sevilla	10	99	109	6	94	-	2.050	9.935	-	935	-	935
ANDALUCÍA	115	552	667	74	288	2.170	1.959	8.495	21	2.582	46	2.628
Las Palmas	-	-	-	-	-	1.820	-	-	2	-	4	4
S.C. de Tenerife	1	34	35	1	34	745	-	19.995	2	670	1	671
CANARIAS	1	34	35	1	34	2.565	-	19.995	2	670	5	675
ESPAÑA	121	5.313	5.434	77	3.567	6.841	2.121	18.203	13	65.074	91	65.165

Fuente: MAPAMA, 2019.

La cantidad de hectáreas (*Tabla 6*) cultivadas de granado ha ido aumentando anualmente desde el año 2009, habiendo en el año 2016 una cantidad total de 5163 hectáreas. Esta evolución se puede apreciar más claramente en el Gráfico 2.

Tabla 6. Datos sobre superficie, producción y el valor del granado.

Años	Superficie en plantación regular		Árboles diseminados (miles de árboles)	Rendimiento de la superficie en producción (qm/ha)	Producción (toneladas)	Precio medio percibido por los agricultores (euros/100kg)	Valor (miles de euros)
	Total (hectáreas)	En producción (hectáreas)					
2006	2325	2270	43	120.7	27.389	69.30	18.981
2007	2321	2281	37	112.4	25.632	83.01	21.277
2008	2387	2302	27	100.6	23.169	87.95	20.377
2009	2285	2230	20	100.0	22.311	59.59	13.295
2010	2425	2198	23	120.9	26.582	80.20	21.319
2011	2610	2285	15	142.7	32.606	64.17	20.923
2012	2791	2398	12	152.2	36.495	66.27	24.185
2013	3167	2591	13	167.2	43.324	64.95	28.139
2014	3830	2950	6	153.8	45.382	50.75	23.031
2015	4753	3197	6	175.7	56.185	49.09	27.581
2016	5163	3328	6	159.8	53.187	55.96	29.763

Fuente: MAPAMA, 2019.

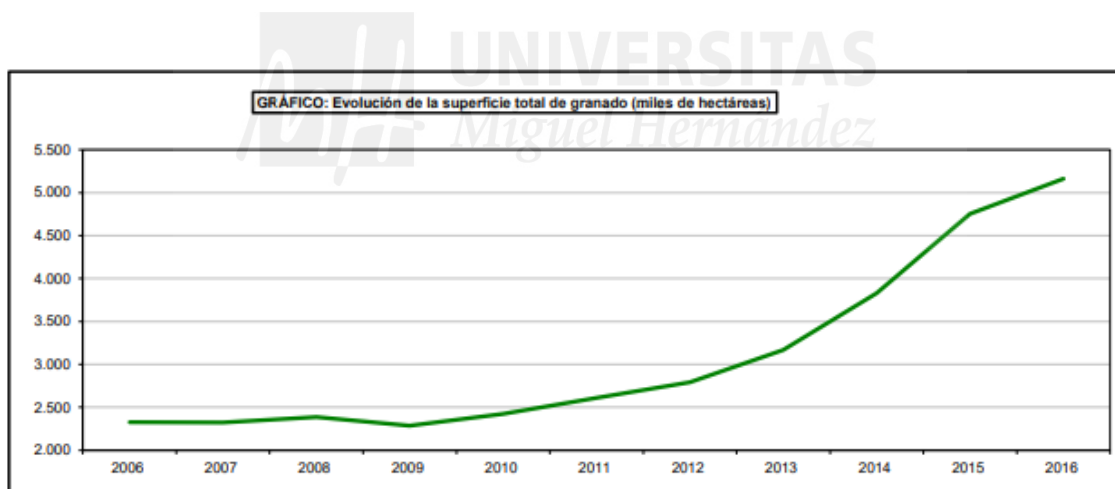


Gráfico 2. Evolución de la superficie total de granado en miles de hectáreas.

Fuente: MAPAMA, 2019.

Así mismo se observa (*Gráfico 3*) un aumento de la producción de granadas a partir del año 2009 hasta el año 2015, cuando se alcanzó una cantidad de 56.185 (*Tabla 6*) toneladas. En el año 2016 la cifra descendió hasta 53.187 toneladas.

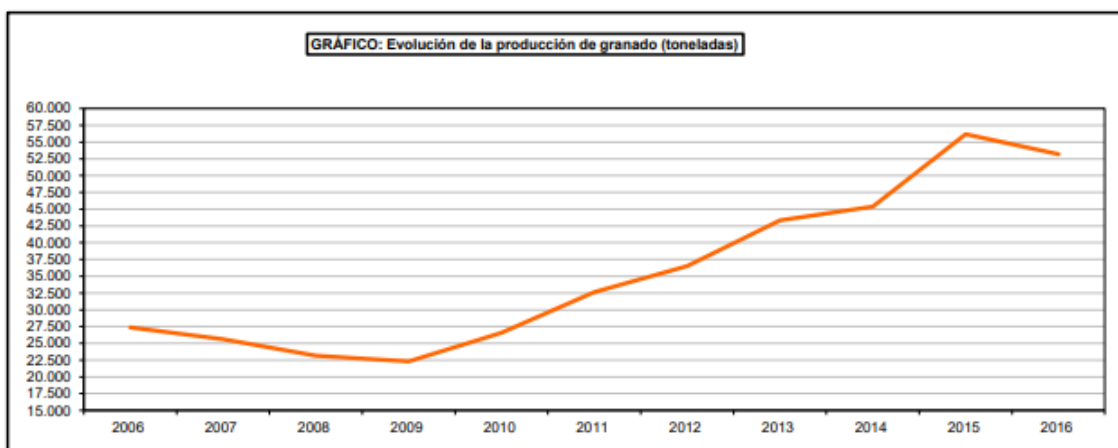


Gráfico 3. Evolución de la producción de granado en toneladas.

Fuente: MAPAMA, 2019.

Desde que se tiene registros el valor del granado ha sufrido diversos vaivenes. A partir del 2009, año en el cual el precio de la granada alcanza mínimos, este aumenta estrepitosamente hasta que en el año 2011 disminuye ligeramente hasta 20.923 miles de euros (*Tabla 6*). En los años posteriores vuelve a sufrir otra caída en el año 2014 hasta los 23.031 miles euros. Sin embargo desde el año 2009 se observa una tendencia al alza del precio alcanzando un máximo en el 2016 con 29.763 miles de euros (*Gráfico 4*).

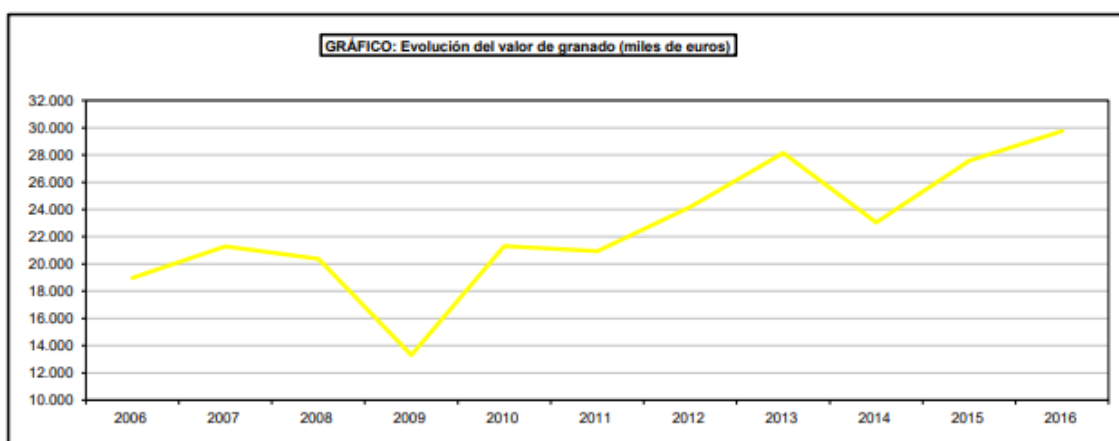


Gráfico 4. Evolución del valor de granado en miles de euros.

Fuente: MAPAMA, 2019.

La cantidad de euros que cuesta mantener una hectárea de granados se estima en 8.095 euros/hectárea, y la distribución del costo se aprecia en el Gráfico 5, siendo el gasto mayor en mano de obra, seguido del uso de fertilizantes y agua de riego.

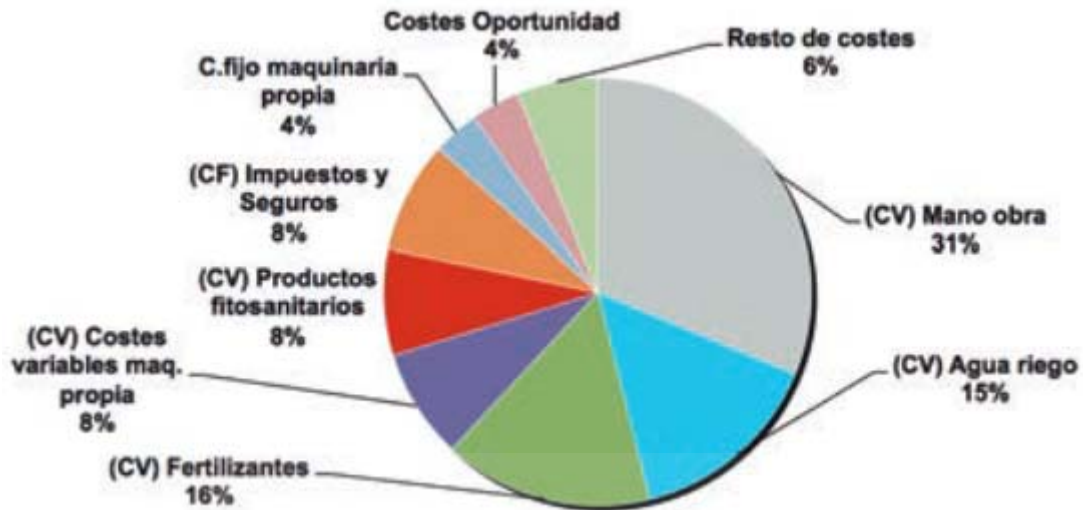


Gráfico 5. Distribución de costes de producción del granado.

Fuente: Fernández-Zamudio et al., 2014.

2. OBJETIVOS

La granada (*Punica granatum* L.) es un fruto que tiene origen en Irán y que se extendió por la cuenca del mediterráneo así como por diversos países de Asia, antes de que fuera llevado por los misioneros españoles a América donde se ha cultivado sobre todo en los territorios de Arizona y California (López-Mejía et al., 2010). Desde el punto de vista químico presenta una elevada concentración de polifenoles con gran actividad antioxidante, y nutricionalmente es un fruto atractivo por su baja densidad calórica (García-Viguera et al., 2004)

Recientemente ha recibido una atención considerable la aplicación de compuestos naturales y ecológicos como tratamientos post-cosecha. Estos compuestos han sido evaluados para estudiar su capacidad a la hora de retrasar la maduración y la senescencia así como preservar la calidad de frutas y hortalizas. Uno de estos compuestos naturales recientemente evaluados es el ácido γ - aminobutírico, que se ha demostrado que retarda el proceso de maduración post-cosecha y mantiene tanto la calidad como las propiedades funcionales de los frutos.

En este Trabajo Final de Grado pretendemos estudiar la aplicación de ácido γ - aminobutírico, a diferentes dosis para evaluar su posible papel en la mejora de la calidad y en el aumento de la vida útil de las granadas 'Wonderful'. Para ello, se van a estudiar los distintos parámetros:

- Pérdida de peso de los frutos.
- Tasa de respiración.
- Textura.
- Color.



- Determinación de los sólidos solubles.
- Determinación de la acidez total.
- Evaluación de los daños por frío.



3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL

El fruto utilizado para realizar este trabajo ha sido la granada *Punica granatum* L. de la variedad Wonderful.

Las granadas de este experimento provienen de una finca situada en el campo de Elche propiedad de la cooperativa 'Cambayas'.

Tras la recolección, los frutos fueron transportados al laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (E.P.S.O.), perteneciente a la Universidad Miguel Hernández de Elche.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental de este Trabajo Fin de Grado comenzó con el proceso de selección de las granadas, en el cual se seleccionaron 195 frutos atendiendo al tamaño y coloración desechándose aquellas que hubieran sufrido daños previos a la llegada al laboratorio. Tras la selección las granadas exentas de cualquier tipo de contaminación se dividieron en lotes de 15 frutos para cada tratamiento, es decir, para los frutos control y para los tratados a las distintas dosis más un lote de 15 frutos en el que se evaluó el día 0 para establecer las condiciones en que las granadas llegaron al laboratorio. Los tratamientos se realizaron mediante inmersión con ácido γ -aminobutírico a tres distintas dosis (1, 10 y 100mM) durante 10 minutos. Tras este tratamiento los frutos se dejaron secar y se almacenaron a 4°C durante 90 días para ser evaluados mensualmente.

Las granadas en los distintos muestreos mensuales se evaluaron tras un periodo adicional de 3 días de almacenamiento a 20°C tras la salida del frío. Las primeras determinaciones que realizamos fueron las no destructivas, como son el peso de las granadas, el color, la firmeza, la tasa de respiración y una valoración general de los daños por frío causados por el almacenamiento refrigerado. A continuación, se partían las granadas en dos obteniendo muestras homogéneas de 10 mitades por repetición y tratamiento. Una de ellas

se utilizó para obtener dos zumos que eran, a su vez, analizados por duplicado para obtener el contenido en sólidos solubles y acidez. A su vez se extrajeron tiras completas de la piel de las granadas para evaluar en ellas los daños causados por el frío mediante la medida de la fuga de electrolitos.



Diagrama 1: Diseño experimental en las granadas de la variedad Mollar.

3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.3.1. Pérdida de peso

Se pesaron todos los lotes en los días de muestreo y se anotó el valor obtenido. La determinación del peso se realizó mediante una balanza marca Mettler modelo PB1502 con 2 cifras decimales de precisión $\pm 0,01$. El peso fue expresado en gramos. Se pesaron individualmente las granadas de cada lote y los resultados representan la media \pm ES.

3.3.2. Determinación de CO₂.

Durante la respiración, todo tejido vegetal consume O₂ y libera CO₂. El metabolismo del fruto está íntimamente ligado con la actividad respiratoria. La medida de la respiración se refiere tanto a la producción de CO₂ como al consumo de O₂. Sin embargo, normalmente se mide la producción de CO₂ por ser un procedimiento más sencillo. La medida de la actividad respiratoria se puede realizar por un sistema estático o cerrado, o por un sistema dinámico, de flujo o abierto. En nuestro experimento se optó por un sistema estático.

Utilizamos el sistema propuesto por Kader (1992). Este sistema implica encerrar el producto en un recipiente herméticamente cerrado por un período de tiempo determinado. El gas producido como consecuencia de la respiración se acumula con el tiempo en el interior del recipiente. La cantidad de gas producido puede determinarse conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente y la concentración del gas después de un determinado período de tiempo.

$$\frac{mg.CO_2}{kg \times h} = \frac{(V - P) \times (26400 \times \text{área}.CO_2)}{22,4 \times P \times T}$$

Donde:

V= volumen del recipiente (ml).

P= peso de la muestra (g).

Área CO₂= área obtenida en el cromatógrafo.

T= tiempo que ha permanecido cerrado el recipiente (min).

Para la determinación de etileno y CO₂ en sistema estático se introdujeron los frutos enteros por lotes en tarros de plástico de 4 litros de capacidad, con cierre hermético y una tapadera que tenía una válvula de material elastómero que permitió realizar las inyecciones.

Los frutos permanecieron en los tarros cerrados durante 60 minutos. Transcurrido este tiempo, se procedió a extraer el aire del espacio de cabeza del interior del recipiente. Se extrajeron 5 jeringuillas con un volumen de 1 ml cada una, de cada uno de los recipientes.

Para determinar el CO₂, se inyectó el contenido de las jeringuillas en un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC 14 A) siguiendo unas determinadas condiciones de trabajo, que son las siguientes:

- Temperatura del horno: 50°C.
- Temperatura del inyector: 115°C.
- Temperatura del detector: 115°C.
- Flujo del gas portador (Helio): 16ml/mm.
- Patrón utilizado: aire atmosférico (0,036%).

El pico de CO₂ se detecta por su tiempo de retención, que en estas condiciones de trabajo se encuentra entre 1,4 y 1,6 minutos. La concentración de CO₂ en las muestras tomadas en los botes, se calcula comparando el área de integración del pico de la muestra con la de un patrón de CO₂ de concentración conocida, que en este experimento fue la presente en la atmosfera, de 0,036%.

Los resultados se expresaron en mg de CO₂ desprendido por kg de fruta y hora (mg CO₂ × kg⁻¹ × h⁻¹).

3.3.3. Evaluación del color.

El color se determinó utilizando el sistema Hunter Lab (L^* , a^* , b^*) mediante un colorímetro triestímulo Minolta modelo CR200. Se realizaron tres medidas del color para cada fruto en tres puntos equidistantes de la zona ecuatorial.

Este sistema de medida es el más ampliamente conocido puesto que permite aproximarse a la percepción humana del color. Estas coordenadas están relacionadas con tres índices básicos que se pueden distinguir en cualquier apreciación del color: luminosidad y cromaticidad.

Estos tres parámetros son:

- L^* . Indica la luminosidad del fruto y varía de 0 (negro) a 100 (blanco).
- a^* y b^* . Indican conjuntamente la cromaticidad, a^* representa el eje que va desde colores verdes ($-a^*$) hasta colores rojos ($+a^*$); y b^* representa el eje que va desde el color azul ($-b^*$) hasta color amarillo ($+b^*$).



Fotografía 5: Colorímetro utilizado para medir el color.

Cada color viene dado por los valores de estas tres coordenadas, que representan un punto en el espacio tridimensional (Minolta, 1994). Los

resultados se expresaron como L^* , a^* , b^* y el ángulo de Hue ($H^* = \arctg b^*/a^*$).

3.3.4. Determinación de la firmeza.

Para la determinación de la firmeza del fruto entero, se utilizó un texturómetro TA-XT2i® (Anname Instruments), que está conectado a un ordenador para procesar los datos.

Con esta prueba se pretende deformar el producto con respecto a su diámetro ecuatorial. Para ello, se empleó un disco plano de acero montado sobre un texturómetro TA-XT2i® como se observa en la *Fotografía 6*.

La velocidad de descenso del disco fue de 20 mm min^{-1} , hasta alcanzar una deformación del 5%. Los resultados se expresaron como la relación existente entre la fuerza necesaria para conseguir la deformación anteriormente citada y la distancia de dicha deformación en N mm^{-1} .



Fotografía 6: Texturómetro utilizado para medir la firmeza de los frutos.

3.3.5. Evaluación de los sólidos solubles.

Para la determinación del contenido total en sólidos solubles (SST) se utilizó la refractometría sobre el zumo filtrado extraído de cada lote de cinco granadas. Esta técnica se basa en la diferencia que existe entre los índices de

refracción del agua destilada y un medio de concentración determinada de sustancias disueltas. Este método no establece estrictamente el nivel de azúcares, sino la concentración de sólidos solubles, la cual se relaciona con el nivel de azúcares y con el estado de madurez de los frutos.

Antes de realizar la determinación de los sólidos solubles se llevó a cabo la preparación de las muestras. Para ello se cortaron por la mitad las cinco granadas de cada uno de los lotes a analizar, se separaron los arilos de la corteza y estos se envolvieron en una tela de algodón para exprimirlos con la ayuda de un mortero. Así se extrajo el zumo de los frutos y se realizaron dos medidas de cada cinco frutos.

Para realizar la determinación de los sólidos solubles se midieron el °Brix colocando unas gotas en un refractómetro Warszawa modelo RL2, con una sensibilidad de $\pm 0,2$ °Brix. El refractómetro se calibra con agua destilada, y las medidas se realizaron a 20°C.



Fotografía 7: Refractómetro utilizado para medir los °Brix (SST).

3.3.6. Determinación del pH y de la acidez titulable.

Para determinar la acidez de los frutos se utilizó 1 mL del zumo extraído tras exprimir los arilos de las granadas y se disolvió en 25 mL de agua destilada. Para llevar a cabo el análisis se utilizó un valorador automático

Metrohm, modelo 785DMP Tritino, complementado con un cambiador de 24 posiciones modelo 760 y con una impresora modelo DP40-24N. Así se obtiene el pH inicial y se realiza la valoración hasta un pH final de 8,1 con NaOH 0,1 N. Los resultados se expresaron en mg equivalentes del ácido orgánico mayoritario.

$$\text{Gramos de ácido málico /100 mL} = 6,7 * V_1 * f * N / P$$

Donde:

N= Normalidad del NaOH.

V1= volumen de NaOH 0,1 N utilizado en la valoración.

F= Factor del NaOH.

P= Peso de la muestra (g).

El resultado final se expresó en: media \pm ES.



Fotografía 8: Valorador automático Methrom, utilizado para determinar la acidez.

3.3.7. Determinación de la susceptibilidad a los daños por frío.

La determinación de la susceptibilidad de la granada a sufrir daños por frío se realizó mediante una evaluación sensorial del exterior de la granada y mediante la medida de la fuga de electrolitos en la piel de las granadas.

La evaluación sensorial se realizó individualmente en cada fruto mediante una escala hedónica de 5 puntos que reflejaba el porcentaje de la superficie del fruto afectada por los síntomas de los daños por frío: 0 (sin síntomas), 1 (1-25%), 2 (26-50%), 3 (51-75%) y 4 (síntomas de daño por frío en la superficie del fruto mayores del 75%) Los resultados se expresaron como media de la valoración de 15 frutos siguiendo la siguiente fórmula:

$$\text{Daños por frío} = \frac{\sum (\text{Valor obtenido en la escala hedónica}) \times (\text{n}^\circ \text{ frutos adjudicados a cada valor de la escala})}{\text{N}^\circ \text{ total de frutos evaluados en cada tratamiento}}$$

La evaluación de la fuga de electrolitos se determinó mediante el método descrito por Mirdehghan et al., (2007) con ligeras modificaciones. En primer lugar se extrajeron 16 discos de piel de las granadas, que conforman cada réplica, utilizando un perforador metálico de 10,6 mm de diámetro. Estos discos se dejaron incubar en 25 mL de agua destilada durante 3 horas en botes herméticos de cristal. Una vez pasado el periodo de incubación se procedió a medir la conductividad de las muestras en el medio acuoso mediante un conductivímetro Crison (Metrohm 664). A continuación se autoclavaron los botes herméticos a 121°C durante 15 minutos. Tras dejarse enfriar se realizó la segunda medida de conductividad (conductividad final) y la fuga de electrolitos fue expresada como porcentaje de la siguiente forma: (Conductividad inicial/conductividad final) x 100.

4. RESULTADOS

4.1. PÉRDIDA DE PESO.

Con respecto a las pérdidas de peso en las granadas “Wonderful” sujetas a estudio, pudimos comprobar como durante el almacenamiento refrigerado y posterior almacenaje a 20°C todos los frutos experimentaron un incremento de este parámetro.

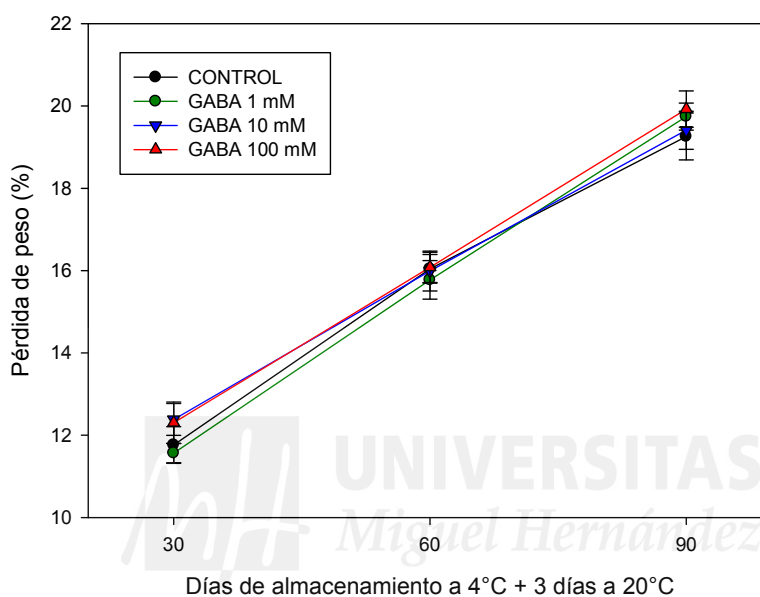


Figura 1. Evolución de las pérdidas de peso (%), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas tratadas con diferentes dosis de GABA y controles.

Las pérdidas de peso no mostraron diferencias significativas entre las granadas tratadas con las distintas dosis de GABA y tampoco entre los frutos tratados y los frutos controles durante todo el experimento. Estas pérdidas de peso oscilaron entre un 12% y un 20% tras 30 y 90 días respectivamente.

La pérdida de peso que se produce como consecuencia del proceso de transpiración, es uno de los problemas que causa más deterioro en el periodo

post-cosecha, llegando a perder entre el 4-12% del peso tras 35-40 días de almacenamiento en frío dependiendo de la variedad del fruto (Valero et al., 2003) y del momento de la recolección (Guerra y Casquero, 2008) mientras que estos cambios se disparan hasta el 15-22% cuando el fruto se almacena a 20°C (Serrano et al., 2003).

4.2. RESPIRACIÓN.

Desde el día de 0 de almacenamiento, la tasa de respiración aumentó progresivamente hasta el final del almacenamiento. El día de recepción de las muestras, las granadas mostraron valores de respiración de $9 \pm 0,22 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, a partir de este momento se da un incremento en el que observamos algunas diferencias entre los tratamientos, donde los controles tuvieron la menor tasa de respiración y la muestra GABA 10 mM la mayor.

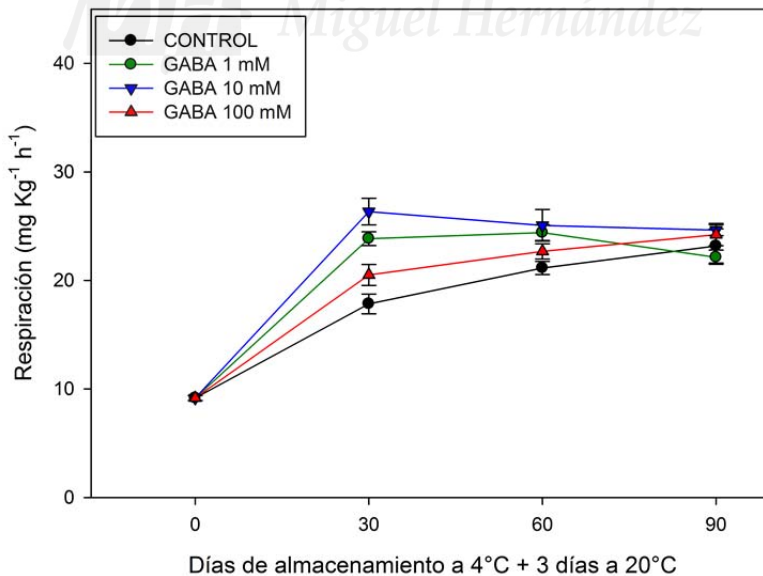


Figura 2. Evolución de la tasa de respiración ($\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

A lo largo del almacenamiento las diferencias entre los distintos tratamientos desaparecen y no se observa ningún efecto dosis-dependiente. Al final del almacenamiento los niveles de respiración fueron de alrededor de $23,5 \pm 0,93 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ sin diferencias entre los tratamientos.

La respiración consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, cuya velocidad aumenta al incrementar la temperatura. En consecuencia, una vez que el producto comienza a calentarse, se estimula aún más la respiración y de este modo, se vuelve muy difícil controlar la temperatura del mismo (Barba-Teodoro, 2015).

4.3. TEXTURA.

Durante todo el almacenamiento, se produce un descenso pronunciado y sin diferencias significativas entre las muestras GABA y la muestra control. En el día de la recolección la firmeza de los frutos fue $23,4 \pm 0,44 \text{ N mm}^{-1}$, a partir del cual se produce una reducción de los niveles de firmeza sin diferencias significativas entre el control y los tratamientos y sin efecto dosis-dependiente.

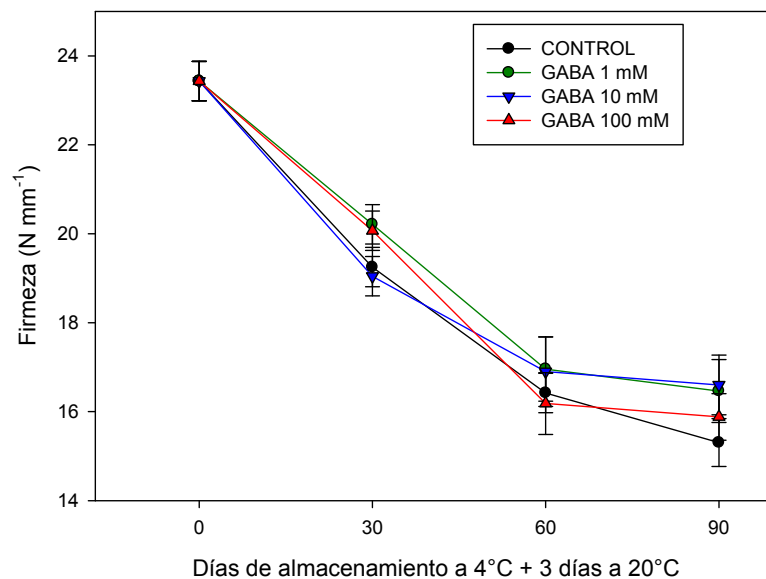


Figura 3. Evolución de la firmeza (N mm^{-1}), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

El descenso de firmeza sigue siendo acusado hasta el final del experimento, en el cual los tratamientos con GABA a dosis más bajas mostraron niveles de firmeza superiores, aunque sin diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos.

El mantenimiento de la firmeza en los frutos tratados con GABA podría deberse al incremento en poliaminas en el fruto, ya que se ha descrito que los tratamientos con GABA son capaces de incrementar el contenido en estos compuestos endógenos del fruto (Hu et al., 2015). Además Aghdam et al., (2019) constataron que los tratamientos con GABA son capaces de reducir la pérdida de firmeza mediante una menor actividad de enzimas involucradas en la degradación de la pared celular como son poligaracturonasas y pectin-metil esterases.

4.4. COLOR L*.

La tendencia general de la evolución de la luminosidad (L*) de las muestras de arilos es un descenso progresivo durante todo el periodo de almacenamiento. En el comienzo del experimento los frutos tenían un color de 51.95 ± 0.91 , este valor va descendiendo sin diferencias significativas entre los frutos tratados con GABA y los frutos sin tratamiento o control. Este descenso es más pronunciado para las muestras GABA 1 y 100 mM, mientras que sufre una pequeña estabilización entre los días 30 y 60 para las muestras control y GABA 10 mM.

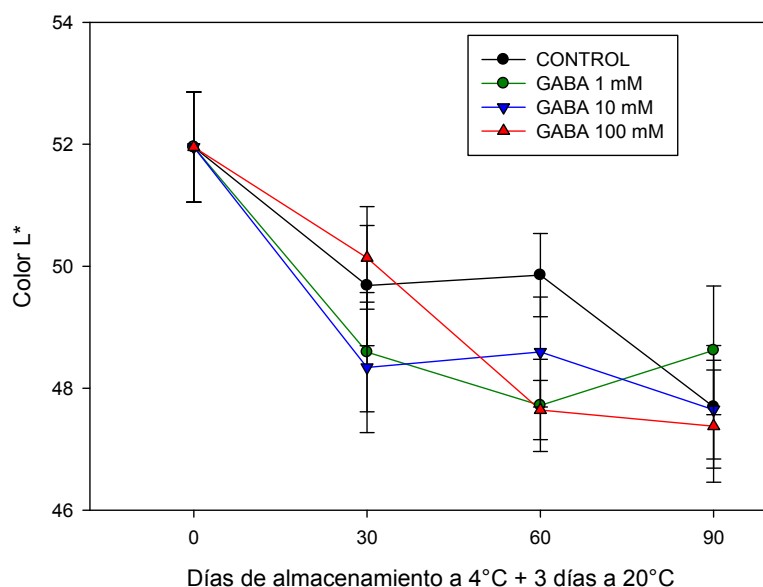


Figura 4. Evolución del color L*, durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

Al final del almacenamiento pudimos comprobar que no existían diferencias significativas al igual que a lo largo del experimento entre los diferentes tratamientos alcanzando finalmente una luminosidad o color L* de alrededor de 48, sin observarse un efecto dosis-dependiente.

Distintos autores han descrito que a medida que el color de la piel se oscurece, la vida en post-cosecha disminuye (Crisosto et al., 2007). Además diversos autores han descrito que la pérdida de color L* podrían deberse a las pérdidas de peso que se producen en los frutos durante el almacenamiento en post-cosecha (Valverde, et al., 2005; Martínez-Romero, et al., 2006)

4.5. COLOR HUE*.

Con respecto al color Hue* o tonalidad de los frutos se observó un incremento de este valor a lo largo del almacenamiento, sin embargo los mayores niveles de color Hue* se obtuvieron para las muestras de GABA 100 mM en los cuales se mantuvieron mayores niveles de tonalidad. Los frutos tratados con las mayores dosis, es decir, 10 mM y 100 mM de GABA mantuvieron los niveles de tonalidad a niveles superiores con respecto al resto de tratamientos.

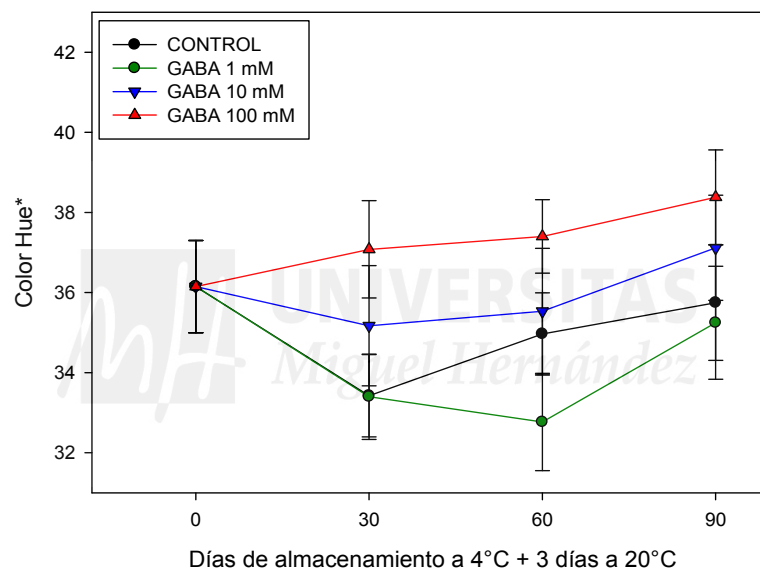


Figura 5. Evolución del color Hue*, durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

Se obtienen los mayores niveles de tonalidad al final del experimento para el GABBA 100 mM con una tonalidad de $38,38 \pm 1,18$.

En este experimento sí que se observó un efecto dosis-dependiente aunque sin diferencias significativas entre los tratamientos.

Numerosos trabajos han estudiado el color de los frutos y su relación con la aceptación de éstos por parte del consumidor. La mayoría de los

consumidores consideran que el color de los frutos está relacionado con aspectos que no sólo corresponden a la apariencia, sino que también indican el estado de madurez en el que se encuentra el fruto: firmeza, sabor, aroma etc., y que en definitiva determinan su decisión de compra (Crisosto *et al.*, 2003).

4.6. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES.

Cuando estudiamos la evolución de los sólidos solubles totales se observó una disminución progresiva general durante todo el proceso de almacenamiento, de este parámetro. Al comienzo del experimento en el día 0 pudimos observar que los niveles de °Brix fueron de $16,81 \pm 0,05$.

Conforme aumenta el tiempo de almacenamiento se observó cómo descendió el contenido de sólidos solubles a lo largo de todo el almacenamiento refrigerado más tres días a 20°C.

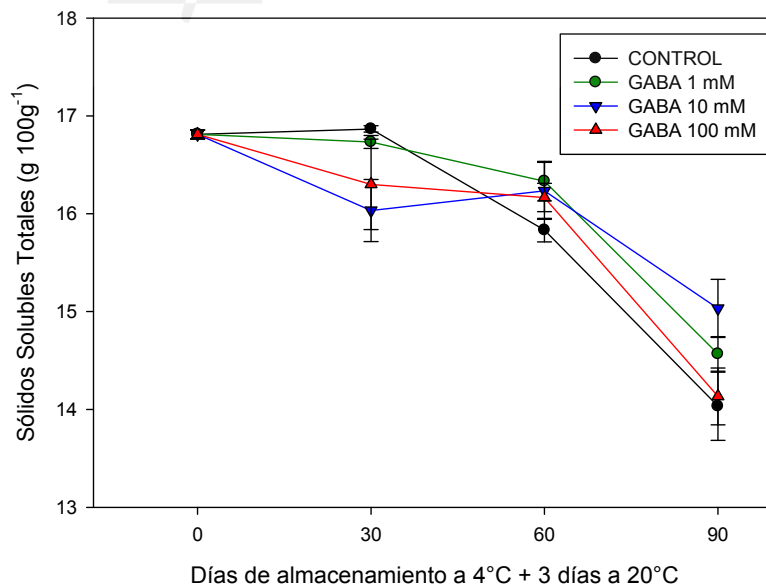


Figura 6. Evolución de los sólidos solubles totales (°Brix), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

Al final del experimento se obtuvieron mayores niveles de °Brix en los frutos tratados con las dosis de GABA más bajas, alcanzando al final del experimento un valor de GABA 10 mM de $15,03 \pm 0,29$ °Brix, el cual fue significativamente superior con respecto a los resultados obtenidos en los frutos controles al final del experimento que fueron de $14,03 \pm 0,34$ °Brix .

4.7. ACIDEZ TITULABLE.

La tendencia general de la acidez durante todo el almacenamiento es de descenso progresivo, con diferencias significativas entre los frutos tratados con los diferentes tratamientos y las muestras control. El día de la recolección los frutos presentan un valor de acidez titulable de $2 \pm 0,03$. Únicamente se observa un pequeño ascenso de la acidez durante los primeros 30 días del tratamiento con GABA 10 mM.

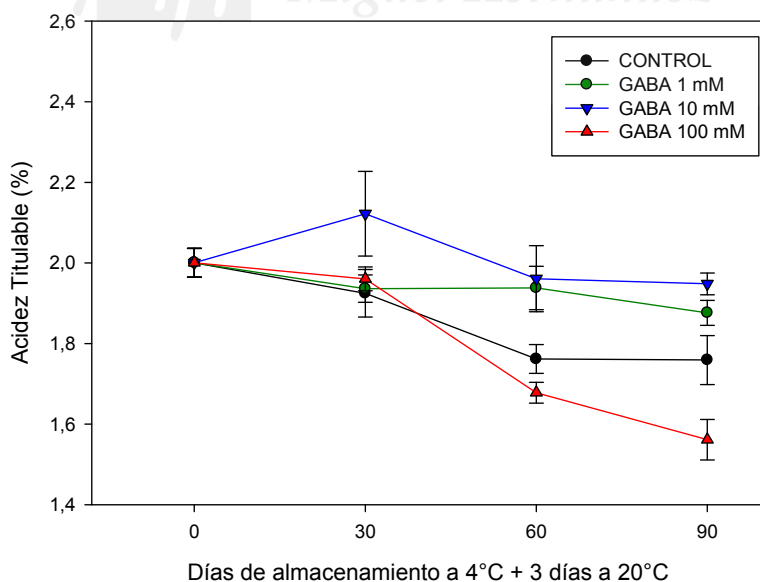


Figura 7. Evolución de la acidez titulable (%), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

Por tanto, a partir del día 0 los niveles disminuyen de forma general pudiendo acusarse una menor disminución de la acidez para los tratamientos con GABA 1 y 10 mM , mientras que se puede ver un descenso más pronunciado para las muestras control y GABA 100 mM, siendo el mayor descenso con este último con unos valores de $1,56 \pm 0,05$. No se observa un efecto dosis-dependiente.

Podemos observar como en la mayoría de los tratamientos estudiados, se observa una ligera tendencia hacia la disminución de la acidez conforme avanza el almacenamiento de los frutos, ya que los ácidos orgánicos son sustratos para las reacciones enzimáticas de la respiración (Yaman y Bayoundurh, 2002) el mayor contenido de acidez en los frutos tratados con GABA podría ser un reflejo de un menor metabolismo de degradación de los ácidos orgánicos de las granadas causado por la aplicación de GABA.

4.8. FUGA DE ELECTROLITOS.

Durante el experimento realizado se observa que aumenta de forma progresiva la fuga de electrolitos durante todo el almacenamiento, detectándose diferencias significativas en el día 30 y 60 de los frutos tratados con GABA 100 mM y 10 mM con los frutos tratados con GABA 1 mM y control. Sin embargo en la evolución global de todo el experimento no hay una relación dosis-dependiente.

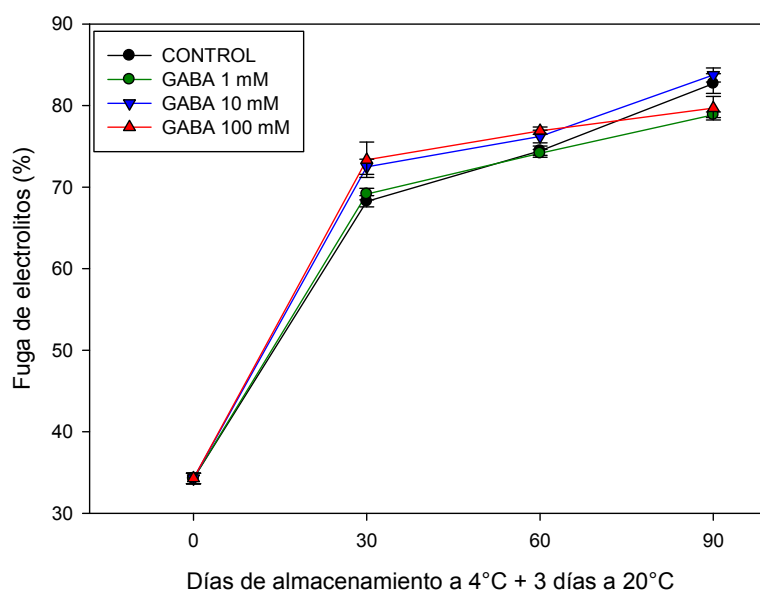


Figura 8. Evolución de la fuga de electrolitos (%), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C de las granadas.

El experimento comienza con una fuga de electrolitos uniforme para todos los frutos del $34,27 \pm 0,64$ %. Al final del experimento se observa que no hay diferencias significativas entre los diferentes tratamientos y los frutos control, y presentan un valor del $81,24 \pm 0,95$ %.

Diferentes estudios han puesto de manifiesto que las aplicaciones de GABA son capaces de reducir el impacto de los daños por frío a través de un mayor mantenimiento de la integridad de las membranas celulares de los frutos (Malekzadeh, et al., 2014; Rui et al., 2010) por lo que este parámetro junto con otros como la medida de la peroxidación de las membranas lipídicas servirían para establecer el efecto de las bajas temperaturas sobre productos sensibles a los daños por frío (Malekzadeh, et al., 2017).

4.9. PICADO.

Durante todo el experimento el picado causado por los daños por frío aumenta de manera continua, sin embargo se pueden observar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos con GABA y los frutos control. En el día 30, momento en el que se empiezan a recopilar datos se puede observar que los frutos tratados con GABA en diferente dosis tienen una menor incidencia de picado que los frutos control.

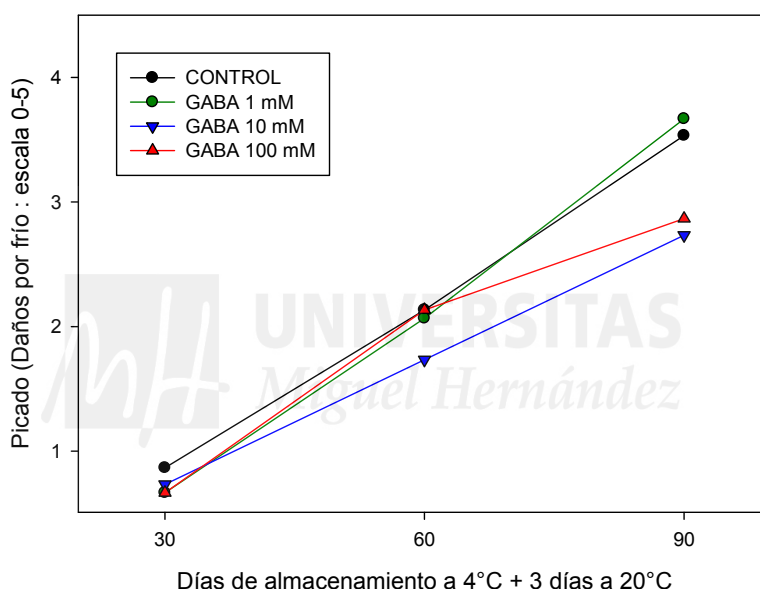


Figura 9. Evolución del picado causado por los daños por frío (escala 0-5), durante el almacenamiento refrigerado y tras 3 días más a 20°C

Al final del experimento se observa que la mayor incidencia de picado ocurrió con el tratamiento GABA de menor dosis (1 mM) y la muestra control. Por el contrario la menor incidencia de picadas ocurrió para aquellos frutos tratados con las mayores dosis de GABA, siendo menor para el tratamiento con GABA 10 mM con un valor de 2,73. Los resultados de esta evaluación mostraron que los tratamientos con GABA pueden mejorar la tolerancia a los



daños por frío mediante la protección de las membranas frente al estrés causado por las bajas temperaturas que provocan depresiones en los frutos como se ha observado en otros estudios practicados sobre manzana y pera en los que el GABA fue capaz de reducir estas alteraciones (Trovacher et al., 2013; Yu et al., 2014).



5. CONCLUSIONES

Tras estudiar los distintos datos obtenidos de este Trabajo Final de Grado y en referencia al estudio realizado sobre la aplicación de ácido γ -aminobutírico durante el almacenamiento post-cosecha de la granada 'Wonderful', concluimos que la aplicación de este compuesto fue efectiva mejorando la calidad general de las granadas.

Los tratamientos con ácido γ -aminobutírico fueron efectivos a la hora de mantener los niveles de tonalidad de las granadas, así como el contenido de sólidos solubles y acidez titulable. Además los tratamientos no tuvieron un impacto negativo sobre las pérdidas de peso y la firmeza pese a que incrementaron ligeramente la respiración. Asimismo y en general, los tratamientos redujeron los daños por frío durante el almacenamiento de las granadas a las dosis más elevadas que se aplicaron en este estudio, aunque en general no se observó un efecto dosis dependiente en todos los parámetros estudiados.

Por tanto, los tratamientos con ácido γ -aminobutírico aplicados tras la recolección, podrían ser considerados como una herramienta, segura y respetuosa con el medio ambiente, con potencial para incrementar los atributos de calidad de las granadas 'Wonderful' durante su conservación en post-cosecha.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abbott, J.A., 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 15: 207-225.

Aghdam, M.S., Kakavand, F., Rabiei, V., Zaare-Nahandi, F., Razavi, F., 2019. γ -Aminobutyric acid and nitric oxide treatments preserve sensory and nutritional quality of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by delaying softening and enhancing phenols accumulation. *Scientia Horticulturae.* 246: 812-817.

Aghdam, R., Naderi, A., Jannatizadeh, M.A.A., Sarcheshmeh, M., Babalar, M. 2016. Enhancement of postharvest chilling tolerance of anthurium cut flowers by γ -aminobutyric acid (GABA) treatments. *Sci. Hortic.* 198: 52-60.

Aghdam, R., Naderi, M.A.A., Sarcheshmeh, M., Babalar, M. 2015. Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by γ -aminobutyric acid (GABA) treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 110: 70-76.

Al-Maiman, S.A. y Ahmad, D. 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit maturation. *Food Chem.* 76: 437-441.

Barba-Teodoro, A. 2015. Nuevas tecnologías poscosecha para la conservación en fresco de la alcachofa Blanca de Tudela. Trabajo Fin de Carrera. Universidad Miguel Hernández de Elche (EPSO).

Ben-Arie, R., Segal, N., Guelfat-Reich, S. 1984. The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109: 898-902.

Calín-Sanchez, A. y Carbonell-Barrachina, A.A. 2015. La granada cultivada en España. Punicalagina antioxidante del zum de granada y el extracto de granada, en la alimentación funcional del futuro. Ed: Universidad Miguel Hernandez.

Cano-Lamadrid, M., Marhuenda-Egea, F.C., Hernández, F., Rosas-Burgos, E.C., Burgos-Hernández, A., Carbonell-Barrachina, A.A. 2016. Biological activity of conventional and organic pomegranate juices: Antioxidant and antimutagenic potential. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71: 375–380.

Cao, Y., Cai, Z., Yang, Y., Zheng, Y. 2012. MeJA induces chilling tolerance in loquat fruit by regulating proline and gamma-aminobutyric acid contents. *Food Chem.* 133: 1466-1470.

Carbonell-Barrachina, A.A y Cano-Lamadrid, M. 2017. Punicalagina-Antioxidante natural de la granada- Propiedades y beneficios para la salud. Ed: Universidad Miguel Hernandez.

Carvajal, F., Palma, F., Jamilena, M., Garrido, D. 2015. Preconditioning treatment induces chilling tolerance in zucchini fruit improving different physiological mechanisms against cold injury. *Ann. Appl. Biol.* 166: 340-354.

Crisosto, C.H., Garner D., Crisosto, G. 2003. Developing optimal controlled atmosphere conditions for 'Thompson Seedless' table grapes. *Acta Horticulturae.* 600: 817-821.

Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Echeverria, G., Puy, J. 2007. Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. *Postharvest Biology and Technology.* 44: 271-276.

Deng, L., Xu, X., Zeng, Z., Li, B., Qin, N. 2010. New perspective of GABA as an inhibitor of formation of advanced lipoxidation end-products: it's interaction with malondiadehyde. *J. Biomed. Nanotechnol.* 6: 318-324.

El-Missiry, M., Amer, M., Hemieda, A.E., Azza I., Doaa A., Haitham, L. 2015. Cardioameliorative effect of punicalagin against streptozotocin-induced apoptosis, redox imbalance, metabolic changes and inflammation. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.* 2 (4): 247-260.

Franck, N. 2009. Producción y manejo de plantaciones de granado en Chile, Israel y Argentina. pp. 28-35.

Gabriela, C. y Llerena, H. 2017. Efecto de la intensidad lumínica y espectro de luz en la calidad del fruto de granado (*Punica granatum*). Variedad "Wonderful". Tesis doctoral. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

García-Viguera, C. y Pérez-Vicente, A. 2004. La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. *Aliment Nutr Salud*. 11(4):113-20.

Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Adel, 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.

Guerra, M. y Casquero, P.A. 2008. Effect of harvest date on cold storage and postharvest quality of plum cv, Green Gage. *Postharvest Biology and Technology*. 47: 325-332.

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.

Gur, A. 1976. Responses of apple-trees to various kinds of root stress. *Israel Journal of Botany* 25 (1-2): 100.

Hu, X., Xu, Z., Xu, W., Li, J., Zhao, N., Zhou, Y. 2015. Application of γ -aminobutyric acid demonstrates a protective role of polyamine and GABA metabolism in muskmelon seedlings under $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ stress. *Plant Physiol. Biochem.*, 92: 1-10

Jean-Gilles, D., Li, L., Vaidyanathan, V.G., King, R., Cho, B., Wortnen, D.R., Chichester, C.O., Seeram, N.P. 2013. Inhibitory effects of polyphenol punicalagin on type-II collagen degradation *in vitro* and inflammation *in vivo*. *Chemico-Biological Interactions*. 205: 90–99.

Kader, A.A. 2006. Postharvest biology and technology of pomegranates. In Pomegranates. *Ancient roots to modern medicine*. 211-218.

Kays, S.J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biol. Technol.* 15: 233-247.

Kinnersley, M. y Turano, J. 2000. Gamma Aminobutyric Acid (GABA) and Plant Responses to Stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 19(6): 479-509.

Lansky, E.P. y Newman, R.A. 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J Ethnopharmacol.* 109:177–206.

Li, G., Yan, C., Xu, Y., Feng, Y., Wu, Q., Lv, X., Yang, B., Wang, X., Xia, X. 2014. Punicalagin inhibits Salmonella virulence factors and has anti-quorum-sensing potential. *Appl Environ Microbiol.* 80(19): 6204-11.

Li, L., Li, G., Xiao, J., Limwachiranon, Y., Xu, H., Lu, D., Yang, Z., Luo, Z. 2018. Effects of elevated CO₂ on energy metabolism and γ -aminobutyric acid shunt pathway in postharvest strawberry fruit. *Food Chem.* 265: 281-289.

Li, Y., Cheng, Y., Dong, Z., Shang, J., Guan, J. 2016. Effects of low temperature conditioning on fruit quality and peel browning spot in ‘Huangguan’ pears during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 131: 68-73.

Lin, C., Jungmin, Yon., Beom, J., Jong-Koo, K., Young, Y., Sang-Yoon, N. 2015. Punicalagin improves chorioallantoic and yolk sac vasculogenesis and teratogenesis of embryos induced by nicotine exposure. *Journal of Functional Foods*. 18: 617-630.

Liu, C., Cai, D., Zhang, L., Tang, W., Yan, R., Guo, H., Chen, X. 2016. Identification of hydrolyzable tannins (punicalagin, punicalin and geraniin) as novel inhibitors of hepatitis b virus covalently closed circular DNA. *Antivir Res.* 134:97.

López-Mejía, O. A., López-Malo, A., Palou, E. 2010. Granada (*Punica granatum* L.): una fuente de antioxidantes de interés actual. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos.* 4(1): 64-73.

Malekzadeh, P., Khara, J., Heydari, R. 2014. Alleviating effects of exogenous Gamma-aminobutyric acid on tomato seedling under chilling stress. *Physiol Mol Biol Plants.* 20(1):133–137.

Malekzadeh, P., Khosravi-Nejad, F., Hatamnia, A., Sheikhabari-Mehr, R. 2017. Impact of postharvest exogenous γ -aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants.* 23 (4): 827–836.

Martínez-Romero, D., Alburquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: a new edible coating. *Postharvest Biol. Technol.* 39: 93-100.

Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D. 2007. Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biol. Technol.* 44: 26-33.

Olajide, O.A., Kumar, A., Velagapudi, R., Okorji, U.P., Fiebich, B.L. 2014. Punicalagin inhibits neuroinflammation in LPS-activated rat primary microglia. *Mol Nutr Food Res.* 58:1843–51.

Opara, L.U. 2000. Fruit growth measurement and analysis. *Hort. Rev.*, 24: 373-431.

Palma, F., Carvajal, F., Jiménez-Muñoz, R., Jamilena, M., Garrido, D. 2015. Effect of putrescine application on maintenance of zucchini fruit quality during cold storage: contribution of GABA shunt and other related nitrogen metabolites. *Postharvest Biol. Technol.* 99: 131-140.

Palma, F., Carvajal, F., Jiménez-Muñoz, R., Pulido, A., Jamilena, M., Garrido, D. 2019. Exogenous γ -aminobutyric acid treatment improves the cold tolerance of zucchini fruit during postharvest storage. *Plant Physiology and Biochemistry*. 136: 188-195.

Pamplona-Roger J. 1999. Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo. Tomo 2. 1^a ed. Madrid: Safeliz.

Patil, A.V. y Karale, A.R. 1990. Pomegranate In: T. K. Bose and S. K. Mitra (eds.). *Fruits: tropical and subtropical*. Naya Prokash, Calcutta, India. pp: 615-637.

Raga-Carreño, J., Mármol-Pérez, Z., Pérez, E., Paéz, G., Araujo, K. 2015. Evaluación fisicoquímica y fitoquímica de granada (*Punica granatum L.*). *Revista Tecnocientífica*. 8: 47-56.

Ramesh, S.A., Tyerman, S.D, Xu, B., Bose, J., Kaur, S., Conn, V., Domingos, P., Ullah, S., Wege, S., Shabala, S. 2015. GABA signalling modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters. *Nat. Commun.* 6: 7879.

Rosas-Burgos, E.C., Burgos-Hernández, A., Noguera-Artiaga, L., Kačániová, M., Hernández-García, F., Cárdenas-López, JL., Carbonell-Barrachina, A.A. 2017. Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts as affected by cultivar. *J Sci Food Agric*. 97(3):802–10.

Rui, H., Cao, S., Shang, H., Jin, P., Wang, K., Zheng, Y. 2010. Effects of heat treatment on internal browning and membrane fatty acid in loquat fruit in response to chilling stress. *J Sci Food Agric.* 90:1557–1561.

Sancho, J., Bota, E., Castro, J.J. 1999. Introducción al Análisis Sensorial de los alimentos. Ed: Universitat de Barcelona.

Schechter, I., Proctor, J.T., Elfving, D.C. 1993. Characterization of seasonal fruit growth of 'Idarel' apple. *Scient. Hort.* 54: 203-210.

Seeram, N. P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S. M., Feng, L., Dreher, M., Heber, D. 2008. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *J Agric Food Chem.* 56: 1415-22.

Serrano, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valero, D. 2003. Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of four plum cultivars. *Postharvest Biology and Technology.* 30: 259–271.

Shelp, A.W., Bown, M.D., McLean, M.D. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends Plant Sci.* 4: 446-452.

Shelp, G.G., Bozzo, C.P., Trobacher, A., Zarei, K.L., Deyman, C.J., Brikis, C.J. 2012. Hypothesis/review: contribution of putrescine to 4-aminobutyrate (GABA) production in response to abiotic stress. *Plant Sci.* 193: 130-135.

Singh, R.P., Kar, P.L., Dhuria, H.S. 1978. Studies on the behaviour of flowering and sex expression in some pomegranate cultivars. *Plant Sci.*, 10: 29-31.

Smith, P.M. 1976. Minor crops In: N. W. Simmonds (ed.). Evolution of Crop Plants. Longman, London, UK. pp. 301-324.

Trobacher ,C.P., Clark, S.M., Bozzo, G.G., Mullen, R.T., DeEll, J.R., Shelp, B.R. 2013. Catabolism of GABA in apple fruit: subcellular local-ization and biochemical characterization of two γ -aminobutyratetransaminases. *Postharvest Biol Technol.* 75:106–113.

Valero, D., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Guillén, F., Serrano, M. 2003. Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 4: 339-348.

Valverde, J.M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M. 2005. Novel edible coating base don of *Aloe vera* gel to maintain table grape quality and safety. *J. Agric. Food Chem.* 53: 7807-7813.

Wang, D., Li, L., Xu, Y., Limwachiranon, J., Li, D., Ban, Z., Luo, Z. 2017. Effect of exogenous nitro oxide on chilling tolerance, polyamine, proline, and γ -aminobutyric acid in Bamboo Shoots (*Phyllostachys praecox* f. *prevernalis*). *J. Agric. Food Chem.* 65: 5607-5613.

Wang, Y., Luo, Z., Mao, L., Ying, T. 2016. Contribution of polyamines metabolism and GABA shunt to chilling tolerance induced by nitric oxide in cold-stored banana fruit. *Food Chem.* 197: 333-339.

Yaidikar, L., Byna, B., Thakur, S.R. 2014. Neuroprotective effect of punicalagin against cerebral ischemia reperfusion-induced oxidative brain injury in rats. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 23: 2869–2878.

Yaman, O. y Bayounduruk, L. 2002. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 35: 146–150.

Yamasaki, M., Kitagawa, T., Koyanagi, N., Chujo, H., Maeda, H., KohnoMurase, 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.

Yang, J., Xiu, L., Zhang, C., Liu, J. 2012. Antiviral activity of punicalagin toward human enterovirus 71 *in vitro* and *in vivo*. *Phytomedicine*. 20: 67–70.

Yu, C., Zeng, L., Sheng, K., Chen, F., Zhou, T., Zheng, X. Yu, T. 2014. γ -Aminobutyric acid induces resistance against *Penicillium expansum* by priming of defence responses in pear fruit. *Food Chem*. 159:29–37.

Zahin, M., Ahmad, I., Gupta, R.C., Aqil, F. 2014. Punicalagin and ellagic acid demonstrate antimutagenic activity and inhibition of benzo[a]pyrene induced DNA adducts. *Biomed. Res. Int.* Vol. 2014 (2014): 467465.

6.1. PÁGINAS WEB CONSULTADAS.

- Cultivo del granado – Características y estudios.
<https://zumodegranada.com/fruta-granada/cultivo-del-granado/>.
Consulta en Enero de 2019.
- Cambayas Coop. V., Granadas Elche 2018 www.cambayas.com. Consulta en Enero de 2019.
- Estructura y morfogénesis del fruto.
<https://fisiohorticola.files.wordpress.com/2008/11/estructura-y-morfogenesis-del-fruto1.pdf>. Consulta en Enero de 2019.
- El cultivo del granado. <https://cultivodelgranado.es/el-granado/variedades/>. Consulta en Enero de 2019.
- BEDCA (Base de Datos Española de Composición de Alimentos) www.bedca.net. Consulta en Enero de 2019.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), Anuario de Estadística www.mapama.gob.es. Consulta en Enero de 2019.