

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**

**Master Universitario Oficial en Técnicas Avanzadas para la  
Investigación y la Producción en Fruticultura**



**EFEECTO DEL RIEGO DEFICITARIO  
CONTROLADO EN PISTACHOS**

**TRABAJO FIN DE MASTER**

**AUTOR:**

Luis Noguera Artiaga

**DIRECTOR:**

Ángel A. Carbonell Barrachina

**Septiembre 2015**



## UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

Se autoriza al alumno **D. Luis Noguera Artiaga** a realizar el Trabajo Fin de Master titulado: “Efecto del riego deficitario controlado en pistachos” bajo la dirección de D. Ángel A. Carbonell Barrachina, debiendo cumplir las directrices marcadas para la redacción del mismo, que están a su disposición en la Normativa para la realización de Trabajos Fin de Máster que se halla en la página Web.

Orihuela, a 20 de mayo de 2015

El Director del Máster Oficial en Técnicas Avanzadas para la Investigación y la Producción en Fruticultura

UNIVERSITAS  
Miguel Hernández  
Departamento de Agricultura, Vegetal y Medio Ambiente

Fdo.: Juan José Martínez Nicolás

TRIBUNAL	
<b>FECHA:</b>	
<b>PRESIDENTE:</b>	<b>FIRMA:</b>
<b>SECRETARIO:</b>	<b>FIRMA</b>
<b>VOCAL:</b>	<b>FIRMA</b>

## ANEXO I

# MÁSTER OFICIAL EN TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN FRUTICULTURA

### INFORME Y VISTO BUENO DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER CURSO 2014/2015

Director del trabajo	Área de Conocimiento
Ángel A. Carbonell Barrachina	Ciencia y Tecnología de Alimentos

Declara que el Trabajo Fin de Máster

Título del Trabajo
Efecto del riego deficitario controlado en pistachos
Alumno
Luis Noguera Artiaga

cumple los requisitos necesarios para poder ser defendido ante el tribunal correspondiente y emite el siguiente:

Informe
El alumno, Luis Noguera, ha trabajado de forma rigurosa, constante y totalmente satisfactoria durante la realización de este Trabajo Fin de Máster (TFM). Este es el segundo trabajo científico que Luis desarrolla con pistachos; el primero concluyó con la publicación de un artículo en la revista <i>Journal of the Science of Food and Agriculture</i> . Luis ha visitado la finca donde se ha llevado a cabo el trabajo de campo de este TFM para conocer de primera mano el producto con el que ha trabajado. Posteriormente, recibió, preparó y analizó las muestras recibidas. Finalmente, ha procesado los datos obtenidos y ha preparado las tablas y figuras que figuran en este documento. Mi satisfacción con su trabajo, disposición, actitud y rendimiento es plena.

Valoración del trabajo del estudiante (de 0 a 10):

10

Orihuela, a 1 de septiembre de 2015

Firma director trabajo



SR. D. JUAN JOSÉ MARTÍNEZ NICOLÁS, DIRECTOR DEL MÁSTER OFICIAL EN TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN FRUTICULTURA

## ANEXO V

# MÁSTER OFICIAL EN TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN FRUTICULTURA

### REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MASTER

Identificaciones:

**Autor:** Luis Noguera Artiaga

**Título:** Efecto del riego deficitario controlado en pistachos

**Title:** Regulated deficit irrigation effect on pistachio

**Director del TFM:** Ángel A. Carbonell Barrachina

**Año:** 2015

**Titulación:** Máster oficial en técnicas avanzadas para la investigación y la producción en fruticultura

**Tipo de Trabajo:** Experimental

**Palabras claves:** *Pistacia Vera*, calidad, estrategias de riego, compuestos funcionales, análisis sensorial.

**Keywords:** *Pistacia Vera*, irrigation strategies, functional compounds, sensory analysis.

**Nº citas bibliográficas:** 41

**Nº de tablas:** 11

**Nº de figuras:** 19

**Nº de anexos:** 1

**Resumen:** El riego deficitario controlado (RDC) es un sistema de gestión de suministro de agua mediante la imposición de déficit hídrico en estados fenológicos concretos, afectando mínimamente la producción y la calidad de los frutos. En este trabajo se evaluó la influencia de dos tratamientos de RDC (T1: suave y T2: moderado) sobre la calidad de los pistachos, mediante el

análisis de diferentes parámetros morfológicos, físico-químicos, funcionales y sensoriales. Los resultados obtenidos han demostrado que mediante la imposición de los tratamientos de RDC estudiados, somos capaces de obtener pistachos de mayor peso, mayor contenido en polifenoles y una mayor intensidad de los descriptores básicos característicos de este producto; sin embargo, también se obtuvo un menor número de pistachos comerciales entre otros factores. Esto supone poder otorgar un valor añadido al producto final, además de conllevar un ahorro de recursos económicos (gastos de agua y energía) y ambientales (ahorro agua) durante su cultivo.

**Abstract:** Regulated deficit irrigation (RDI) is a system of managing water supply by imposing water deficit in specific phenological stages, affecting minimally the yield and fruit quality. In this work, the influence of two RDI treatments (T1: soft and T2: moderate) was evaluated on the quality of pistachios by analyzing different morphological, physico-chemicals, functional, and sensory parameters. Results have demonstrated that by imposing of the studied RDI treatments, we are able to get pistachios with a higher weight, higher polyphenols content, and higher intensity of the basic characteristic descriptors of this product; however, a lower number of commercial pistachios were obtained, among other factors. This means that an extra value can be added to the final product, and besides it is possible to save economic resources (water and energy costs) and environmental (water saving) during pistachio cultivation.

# ÍNDICE

## **INTRODUCCIÓN ..... 8**

1.1	HISTORIA.....	9
1.2	DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS .....	10
1.3	REQUERIMIENTOS CLIMÁTICOS.....	12
1.4	REQUERIMIENTOS DE SUELO .....	13
1.5	MATERIAL VEGETAL .....	14
1.6	CULTIVARES .....	14
1.7	NECESIDADES HÍDRICAS.....	16
1.8	PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	19

## **OBJETIVOS ..... 22**

## **MATERIALES Y MÉTODOS..... 24**

3.1.	MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
3.2.	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	26
3.3.	PRODUCCIÓN.....	27
3.4.	ANÁLISIS MORFOLÓGICOS.....	27
3.4.1.	<i>Peso</i> .....	27
3.4.2.	<i>Tamaño</i> .....	28
3.4.3.	<i>Número de pistachos comerciales</i> .....	28
3.5.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS.....	28
3.5.1.	<i>Humedad</i> .....	28
3.5.2.	<i>Color</i> .....	29
3.5.3.	<i>Ácidos grasos</i> .....	29
3.5.4.	<i>Composición mineral</i> .....	31
3.6.	ANÁLISIS FUNCIONAL.....	33
3.6.1.	<i>Capacidad antioxidante</i> .....	33
3.6.2.	<i>Polifenoles totales</i> .....	38
3.7.	ANÁLISIS SENSORIAL.....	39
3.7.1.	<i>Estudio descriptivo</i> .....	39
3.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	40

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... 41**

4.1.	POTENCIAL HÍDRICO .....	42
4.2.	PRODUCCIÓN.....	43
4.3.	ANÁLISIS MORFOLÓGICOS.....	44

4.3.1.	<i>Peso</i> .....	44
4.3.2.	<i>Tamaño</i> .....	45
4.3.3.	<i>Número de pistachos comerciales</i> .....	46
4.4.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS .....	47
4.4.1.	<i>Humedad</i> .....	47
4.4.2.	<i>Color</i> .....	48
4.4.3.	<i>Ácidos grasos</i> .....	49
4.4.4.	<i>Composición mineral</i> .....	50
4.5.	ANÁLISIS FUNCIONAL.....	51
4.5.1.	<i>Capacidad antioxidante</i> .....	51
4.5.2.	<i>Polifenoles totales</i> .....	53
4.6.	ANÁLISIS SENSORIAL.....	54
4.6.1.	<i>Estudio descriptivo</i> .....	54

<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>56</b>
---------------------------	-----------

<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>58</b>
--------------------------	-----------

<b>ANEXO</b> .....	<b>64</b>
--------------------	-----------





## 1.1 HISTORIA

---

Hay constancia de que los pistachos han formado parte de la alimentación del ser humano desde, al menos, finales del paleolítico. Las evidencias arqueológicas ponen de manifiesto que, en el periodo neolítico (12.000 al 4.000 a.C.), el ser humano aprovechaba frutos de especies que no se cultivarían hasta miles de años después, como higos, almendras, olivas, uvas y pistachos. Excavaciones arqueológicas en la zona de Anatolia (Turquía), sitúan este tipo de frutos hacia el año 7.000 a.C., junto con la aparición de los higos, almendras y olivas. Además, se conservan evidencias de la presencia de este fruto en áreas geográficas como Siria, Afganistán, Irak, Irán, Turkmenistán, Líbano y Palestina desde hace más de 5.000 años (Couceiro *et al.*, 2013).

Plinio, en su Historia Natural (XIII, 18; XV, 24), afirma que el árbol *Pistacia* se introdujo en Italia por el cónsul romano en Siria, Lucio Vitelio el Viejo (35 d.C.) bajo el mandato del emperador Tiberio (14-37 d.C.). Desde Roma se difunde por distintas provincias como Sicilia, Norte de África y finalmente, a la provincia imperial de Hispania de la mano de Pompeyo Craso (63 d.C.). En los años de dominación árabe, el cultivo se extendió y se convirtió en un cultivo agrícola asentado en muchas regiones mediterráneas. Tras la reconquista de la Península Ibérica, los cristianos comenzaron a eliminar paulatinamente los árboles machos por improductivos durante un dilatado período de años. Posteriormente, las siguientes generaciones, desconociendo la razón por la que los árboles anteriormente productivos (hembras) habían dejado de serlo de forma tan repentina, iniciaron su progresiva eliminación, circunstancia que hizo desaparecer la especie *Pistacia vera* L. de la Península Ibérica definitivamente (Couceiro *et al.*, 2013).

En la década de los años 80, el cultivo se reintroduce en la Península Ibérica en la región de Cataluña a través del Centro Agropecuario Mas Bové del IRTA (*Institut de Recerca en Tecnologia d'Aliments*) de Reus, iniciando cultivos en la zona sur de la provincia de Lleida.

## 1.2 DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

El pistachero (Figura 1) es un árbol pequeño del género *Pistacia*, que produce un fruto pequeño llamado pistacho o alfóncigo. Es una planta desértica con gran tolerancia al suelo salino. Es un árbol caducifolio, similar al almendro, que puede llegar a alcanzar los 10 m de altura, con flores masculinas y femeninas separadas en árboles diferentes. Es una especie muy longeva (puede llegar a vivir entre 150 y 300 años), su desarrollo es muy lento y es bastante resistente a condiciones climáticas extremas, pudiendo sobrevivir en temperaturas que van desde -10 °C en invierno, hasta 40 °C en verano.

Presenta hojas caducas, alternas, compuestas trifoliadas imparipinnadas, con 3 ó 5 folíolos ovales y redondeados en el ápice, siendo el terminal de mayor tamaño. Su color es verde, más intenso en el haz que en el envés. Durante el otoño viran a un color rojo anaranjado antes de la caída.

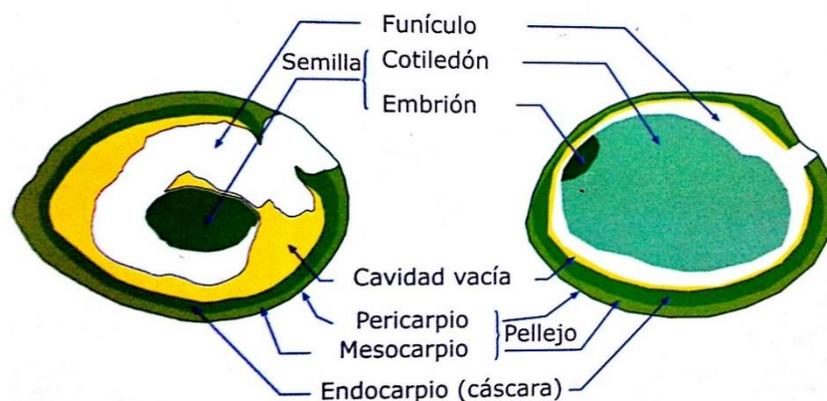


FIGURA 1. PISTACHERO (8 AÑOS)

Las flores nacen sobre ramas laterales de un año, antes de que broten las hojas; son pequeñas, apétalas, de ovario súpero con 5 carpelos, generalmente unilocular y monospermo y con 1-3 estilos muy separados. Se encuentran agrupadas en inflorescencias axilares en forma de racimos. Estas inflorescencias se abren de forma escalonada, con una duración de floración que depende de cada cultivar. Las flores femeninas son de mayor tamaño que las masculinas y están dispuestas sobre las ramas de un año. Poseen 2 brácteas, cáliz con 2-5 lóbulos, 1 ovario súpero, ovoide, con un óvulo y estilo

terminal, cortamente trifido. Las inflorescencias femeninas presentan una morfología parecida a las inflorescencias masculinas, pero con mayor ramificación. Se componen de entre 150 y 260 flores dispuestas en racimos compuestos, siendo la longitud media de este de 75 mm. En el caso de las flores masculinas, se componen de 450-500 flores agrupadas en racimos compuestos de una longitud media de 65 mm.

El fruto es una drupa monosperma, ovoide y alargada. Puede ser dehiscente o indehiscente, según posea la cáscara abierta o cerrada respectivamente; esta cualidad afecta al valor económico final de la cosecha. En el árbol se pueden observar un mayor o menor número de frutos abiertos, vacíos o cerrados llenos dependiendo de múltiples factores. El pellejo o parte externa que rodea la cáscara, se compone de epicarpio y mesocarpio que recubre el endocarpio o cáscara dura que, a su vez, encierra la semilla (Figura 2). En los frutos inmaduros este pellejo es de color amarillo, tornándose rosado cuando alcanza la madurez y separándose fácilmente de su endocarpio. Cuando el fruto madura, su cáscara se rompe y abre parcialmente de manera abrupta. A este rompimiento se le conoce como dehiscencia o eclosión y ocurre acompañado por un característico sonido audible (Couceiro *et al.*, 2013).



**FIGURA 2.** REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LAS PARTES DEL FRUTO

Los árboles se plantan en huertos y necesitan de 7 a 10 años para lograr una producción considerable. La producción es alterna, o bienal, lo cual significa que la cosecha es más abundante cada dos años. La producción pico se alcanza aproximadamente a los 20 años. Por lo general, a los árboles se les poda hasta un tamaño que permita realizar la cosecha con mayor facilidad.

La parte comestible del fruto, se caracteriza nutricionalmente por tener un gran aporte energético (562 kcal/100 g), un perfil de ácidos grasos saludable debido al elevado contenido de ácidos grasos insaturados, un gran contenido proteico (20 g/100 g), mineral (rico en potasio) y vitamínico (alto contenido en vitaminas E, C y B6) que lo hacen imprescindible en nuestra dieta mediterránea (USDA Database, 2015).

### **1.3 REQUERIMIENTOS CLIMÁTICOS**

---

El pistachero es una especie xerófita que requiere temperaturas moderadamente bajas en invierno. Para que el árbol tenga una óptima y homogénea brotación es preciso la acumulación durante el reposo invernal de un determinado número de horas frío (HF), variable según los cultivares considerados. Estas necesidades oscilan entre las 800 HF en cultivares tempranos y entre 1000 y 1200 HF en cultivares tardíos como Kerman (Guerrero, 2011).

El pistachero es muy sensible a la humedad ambiental debido al ataque de hongos patógenos que afectan a la parte aérea del árbol tales como *Botryosphaeria dothidea*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus spp.*, *Septoria spp.*, *Pileolaria terebinthi*, *Botrytis cinerea* y *Phomopsis spp.* (Michailides, 2008). Una humedad relativa (HR) media por encima del 40-45 % durante los meses de junio, julio y agosto será limitante a la hora de mantener un estado sanitario satisfactorio de la plantación y obtener una producción rentable. Además, al ser la polinización del pistachero anemófila, un exceso de lluvias

durante la floración podría reducirla considerablemente (Couceiro *et al.*, 2010).

A pesar de ser un cultivo muy resistente a bajas temperaturas durante el periodo de latencia, las heladas durante el periodo de floración y cuajado del fruto podrían llegar a ser un factor limitante en este cultivo causando pérdidas importantes en la producción (Guerrero *et al.*, 2006). Arpaci *et al.* (2005) estudiaron la respuesta a las heladas en distintos cultivares de pistachero, observando que el porcentaje de flores afectadas por heladas primaverales fue de un 50 % en todas las variedades cuando eran expuestas a -1 °C durante 1 ó 2 h. Cuando se exponían durante 1 h a -3 °C el porcentaje de daños ascendía al 70-80 %, aumentando hasta casi el 90 % cuando la exposición a esta misma temperatura era durante 2-3 h.

#### **1.4 REQUERIMIENTOS DE SUELO**

---

El pistachero puede ser cultivado en un gran número de tipos de suelo aunque se adapta mejor que cualquier otro tipo de frutal a suelos poco profundos, pedregosos, moderadamente salinos y calcáreos (Ferguson, 2005). En cuanto a la textura, para su óptimo desarrollo, requiere suelos francos o franco-arenosos bien drenados, y no suele desarrollarse ni fructificar de forma adecuada en aquellos con más de un 30 % de arcilla debido a la escasa permeabilidad que tienen, provocando encharcamiento cuando las precipitaciones son abundantes y asfixia radicular (Couceiro *et al.*, 2010). Además de la textura, independientemente de si se cultiva en secano o regadío, a mayor profundidad de los suelos mayores serán las producciones.

El grado de coincidencia entre las características edáficas de los suelos de las áreas de origen y las de buena parte de la mitad meridional de la Península Ibérica se considera bastante elevado en aspectos como la caliza activa, pH, potasio, carbonatos, etc., por lo que es una buena zona para su cultivo y desarrollo radicular (Couceiro *et al.*, 2013).

## 1.5 MATERIAL VEGETAL

---

El pistachero es una especie que no tiene gran capacidad de enraizamiento por lo que es preciso el uso de portainjertos para su propagación vegetativa, mientras que en otras especies, el uso de patrones es opcional y se utiliza como una herramienta para mejorar las características de la variedad en cuanto al tamaño del árbol, su respuesta productiva y/o su calidad. Los estudios en portainjertos de pistachero son poco numerosos y en general sólo se han centrado en comparar la respuesta productiva y/o la resistencia a enfermedades.

El cultivo del pistachero está basado en variedades clonales injertadas sobre patrones francos de la misma especie o de otras especies del género *pistacia* e híbridos interespecíficos. La elección del portainjerto es una de las decisiones más importantes para el desarrollo de la plantación, y es diferente según las zonas de cultivo. Así, *P. atlantica*, *P. integerrima* e híbridos entre *P. atlantica* x *P. integerrima* son los principales portainjertos en California, francos de *P. vera* se utilizan en Turquía y *P. mutica*, *P. khinjuk* y francos de *P. vera* son los más utilizados en Irán (Guerrero, 2011). A la hora de elegir el patrón se debe conocer la profundidad y textura del suelo, disponibilidad de agua, temperaturas mínimas absolutas y compararlas con las resistencias y debilidades de cada pie en cuanto a plagas, enfermedades, frío, etc.

## 1.6 CULTIVARES

---

En España se han importado distintos cultivares, tanto femeninos como masculinos, aunque por su comportamiento agronómico así como por sus características organolépticas, podemos destacar dos:

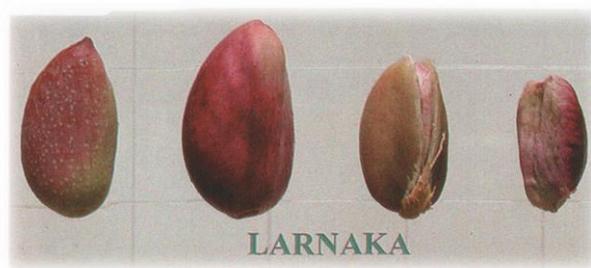
- **KERMAN** (Figura 3): Es el cultivar prioritario en EEUU y el que ocupa el 90 % de las plantaciones en la Península Ibérica. Destaca por la blancura de su cáscara, lo que lo hace más atractivo para su consumo como *snack* o aperitivo (Guerrero *et al.*, 2006). Su mayor inconveniente es el bajo

rendimiento productivo y menor porcentaje de frutos abiertos con respecto a otros cultivares cuando se cultiva en suelos pobres, sin agua y con una textura del suelo excesivamente arenosa o arcillosa (Couceiro *et al.*, 2010). Su floración es tardía, lo que lo hace de gran interés para lugares con potenciales problemas de heladas primaverales, como por ejemplo Castilla-La Mancha (Guerrero, 2011).



**FIGURA 3.** PISTACHO CULTIVAR KERMAN

- **LARNAKA** (Figura 4): Cultivar prioritario en Chipre. Destaca por su buen comportamiento agronómico en secano (buena producción, bajo índice de vecería, etc.) y la apreciable calidad de sus frutos (elevado porcentaje de frutos abiertos y bajo de frutos vacíos). Fruto de forma alargada y de tamaño medio. Su floración es temprana. La tonalidad más oscura de su cáscara en relación al cultivar Kerman es un aspecto menos valorado por el mercado para su consumo como *snack* o aperitivo (Guerrero, 2011).



**FIGURA 4.** PISTACHO CULTIVAR LARNAKA

## 1.7 NECESIDADES HÍDRICAS

---

Tradicionalmente se ha considerado el pistachero como un árbol muy resistente a la sequía y la salinidad, aunque la respuesta al estrés hídrico del pistachero ha sido poco caracterizada. Al igual que en otros cultivos, el riego incrementa la cosecha y además mejora la calidad del fruto (aumenta el número de frutos abiertos en la cosecha y disminuye el de vacíos) y disminuye la vecería (Goldhamer, 1995).

Las condiciones agronómicas en las que se va a establecer el cultivo del pistachero van a ser generalmente deficitarias en agua. En estas condiciones, el efecto del portainjerto puede ser fundamental en la respuesta de la variedad al estrés hídrico, tanto a nivel fisiológico como en la producción final, por lo que es esencial caracterizar la respuesta de las plantas tanto durante el periodo de sequía como durante el de recuperación del estrés hídrico con diferentes portainjertos (Gijón *et al.*, 2011).

Los déficits hídricos afectan a una amplia variedad de procesos fisiológicos en las plantas superiores, principalmente a la expansión foliar, la apertura de los estomas y la asimilación fotosintética de carbono. En todos estos procesos está implicada la turgencia celular, por lo que mecanismos que favorezcan el mantenimiento de esta mejorarán el crecimiento en condiciones de baja disponibilidad de agua (Robichaux, 1984).

El coeficiente de cultivo ( $K_c$ ) del pistachero, [relación entre la evapotranspiración real de cada cultivo y la evapotranspiración de referencia en esas condiciones y clima], es uno de los más altos dentro de los árboles de hoja caduca, superando el valor de 1 durante la mayoría de la estación de crecimiento. Por tanto, ya que la mayoría de zonas de cultivo del pistachero son de clima semiárido, es aconsejable el riego deficitario como práctica de ahorro de agua. A finales de la década de los 80, se diseñaron programaciones de riego deficitario controlado (RDC) para el pistachero injertado sobre *Pistacia atlantica* en California (Goldhamer *et al.*, 1987). Estas técnicas de RDC se aplican a especies leñosas y se basan en la distinta

sensibilidad de las diferentes fases fenológicas del cultivo al estrés hídrico (Behboudian y Mills, 1997; Ruiz-Sanchez *et al.*, 2010), lo cual permite un ahorro de agua sin disminución significativa de la producción ni de la calidad de esta. Estos experimentos mostraron diferentes respuestas de la cosecha a las condiciones de estrés hídrico dependiendo del estado fenológico del fruto durante el periodo de estrés. Los distintos estados o fases fenológicas se establecen en función del crecimiento y del peso del fruto:

**Fase I:** Al final de la floración y una vez cuajado el fruto, se produce una alta tasa de crecimiento de este aunque sin haber crecimiento del grano, periodo en el que casi llega a alcanzar su tamaño definitivo, lo cual se puede determinar tanto por el diámetro longitudinal como por el transversal (Figura 5). El peso fresco del fruto tiene una pauta de crecimiento parecida a la de su diámetro. En el momento en el que se alcanza el diámetro máximo del fruto, tiene lugar la transición entre la fase I y la fase II.

La fase I es sensible al estrés hídrico, determinando el tamaño del fruto. Distintos estudios han demostrado que un estrés hídrico moderado durante la fase I y II (periodo de crecimiento rápido de los frutos y periodo de endurecimiento del endocarpio, respectivamente) aumenta el porcentaje de frutos abiertos y, por tanto, la calidad de la cosecha (Goldhamer y Beede, 2004). Sin embargo, en experimentos más recientes se ha encontrado un incremento de frutos abiertos pero también de frutos rajados prematuramente en algunos años y en árboles sometidos a tratamientos de riego deficitario controlado durante la fase I (Goldhamer *et al.*, 2004, 2005, 2006). Este rajado es una ruptura del epicarpio y mesocarpio que ocurre antes de la cosecha y que hace al fruto más susceptible de sufrir infecciones de la semilla, reduciendo la calidad de la cosecha y en consecuencia, su valor económico. La apertura normal del fruto se produce en el endocarpio (la cáscara) antes de la cosecha, y aumenta la calidad y el valor comercial.



**FIGURA 5.** FRUTO EN FASE FENOLÓGICA I (GIJÓN, 2013).

**Fase II:** A este rápido crecimiento del fruto durante la fase I le sigue un período de ralentización del crecimiento del árbol y del incremento del peso fresco del fruto. En esta fase II tiene lugar el endurecimiento del endocarpio (cáscara dura) (Figura 6).

Esta fase es la menos sensible al estrés hídrico, siendo, por tanto, en la que se puede reducir el aporte de riego (Goldhamer *et al.*, 2004, 2005, 2006; Guerrero *et al.*, 2006).



**FIGURA 6.** FRUTO EN FASE FENOLÓGICA II (GIJÓN, 2013).

**Fase III:** se inicia con el comienzo del desarrollo del grano, lo que se traduce en un fuerte incremento del peso del fruto (Figura 7), y termina con la cosecha. Esta fase es la más sensible al estrés hídrico (Goldhamer *et al.*, 2004, 2005 y 2006), por lo que si se aplica un cierto estrés en la fase II se debe recuperar el árbol en la fase III para evitar un menor crecimiento del

grano, que se traduciría en una reducción de la producción (Guerrero *et al.*, 2007).

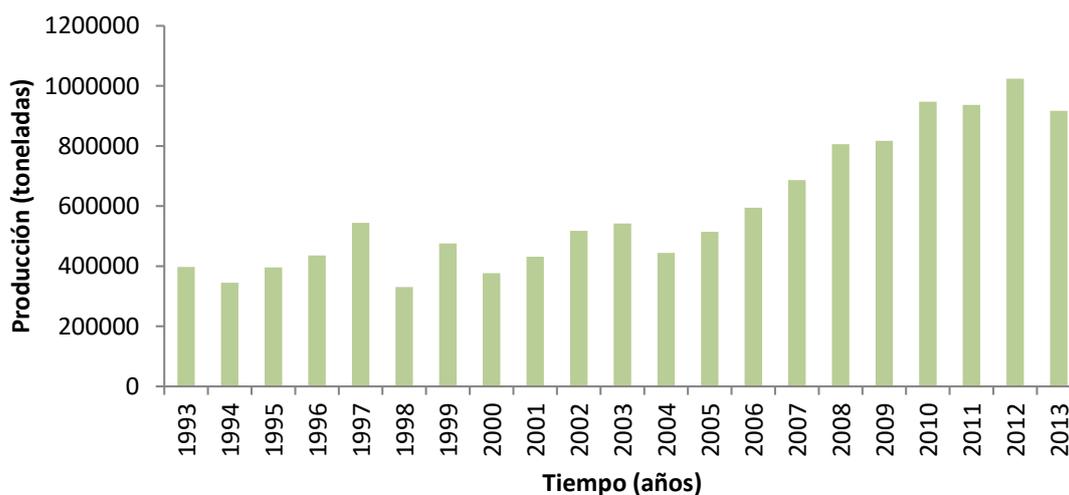


**FIGURA 7.** FRUTO EN FASE FENOLÓGICA III (GIJÓN, 2013).

## **1.8 PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA ECONÓMICA**

---

Las especies del género *Pistacia* se distribuyen principalmente en la región mediterránea, Asia Central y Occidental y Oriente Medio, con la excepción de las especies norteamericanas *P. texana* y *P. mexicana*. Aunque varias especies del género producen semillas comestibles y se usan para producción de aceites y jabones, el pistachero (*P. vera* L.) es la especie con mayor interés comercial, y se cultiva ampliamente en países mediterráneos. El pistacho es el sexto fruto seco en área cosechada a nivel mundial después del anacardo, almendro, nogal, avellano y castaño. La producción mundial de pistacho ha alcanzado el millón de toneladas en los últimos años, casi triplicando la producción en los últimos 20 años (Figura 8). El mayor productor mundial durante ese tiempo ha sido Irán, con una producción promedio de 301.484 t, seguido de EEUU (123.543 t), Turquía (72.139 t), Siria (41.452 t), y China (38.021 t) (FAOSTAT, 2015). Sin embargo, todo parece apuntar a que en los próximos años EEUU se situará como primer productor a nivel mundial debido a los problemas coyunturales acontecidos en Irán y a las notables investigaciones llevadas a cabo en el país norteamericano para la mejora del cultivo.



**FIGURA 8.** EVOLUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN MUNDIAL DE PISTACHOS DESDE 1993 HASTA 2013.

En la Unión Europea, la incertidumbre sobre el respaldo económico para los cultivos tradicionales de la región mediterránea, como el olivar y la viña, además de la explotación de terrenos empobrecidos y no aptos para la mayoría de cultivos, han llevado al progresivo incremento en la superficie plantada de pistachero (Gijón, 2013). Desde los últimos 15 años la producción en Grecia e Italia se ha mantenido constante, sin embargo en Turquía (tercer productor mundial) ha aumentado en unas 80.000 t, es decir, ha duplicado su producción. Otro país de la cuenca mediterránea como es Siria (5º productor mundial) ha aumentado en la última década la superficie plantada en 6.000 ha, lo que ha supuesto un incremento en la producción de aproximadamente 7.000 t (FAOSTAT, 2015).

En la Península Ibérica, el cultivo del pistachero fue desapareciendo paulatinamente tras el asentamiento inicial del cultivo en el periodo de dominación árabe. En la década de los 80, como ya hemos comentado anteriormente, el cultivo se reintroduce en España, a través del Centro Agropecuario "Mas Bové" del IRTA de Reus (Tarragona). Posteriormente, se comenzó a estudiar en el año 1986 el pistachero como cultivo alternativo para Castilla la Mancha mediante un proyecto de investigación (Guerrero *et al.*, 2006 y 2007), con el fin de identificar cultivos alternativos al olivar y a la viña y aprovechar terrenos marginales. Fue a partir de 1996 cuando se

comenzaron a establecer plantaciones bien organizadas agronómicamente. De las 5.754 ha de pistachero que existen en España actualmente, Castilla-La Mancha es la región con una mayor superficie dedicada a este cultivo (4.185 ha), seguida de Andalucía (649 ha), Extremadura (324 ha), Cataluña (286 ha), Castilla y León (202 ha) y Murcia (96 ha). La mayor parte de las plantaciones son jóvenes (8-10 años después de injerto), por lo que solamente 2/3 de la superficie total plantada se encuentra en producción, siendo esta muy baja (unos 400 kg/ha de media) (MAGRAMA, 2014).





El objetivo principal de este Trabajo Fin de Master es estudiar la influencia del riego deficitario controlado (RDC), sobre la calidad morfológica, físico-química, funcional y sensorial de los pistachos, evaluando los siguientes parámetros:

**I. Producción**

**II. Morfológicos**

- ❖ Peso.
- ❖ Tamaño.
- ❖ Abiertos/Cerrados.

**III. Físico-químicos:**

- ❖ Humedad.
- ❖ Color.
- ❖ Ácidos grasos.
- ❖ Composición mineral.

**IV. Funcionales:**

- ❖ Capacidad antioxidante.
- ❖ Polifenoles totales.

**V. Sensoriales:**

- ❖ Análisis descriptivo.



### 3.1. MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL

---

Los pistacheros empleados para la realización de este estudio, son de la variedad Kerman, y se cultivaron en el año 2014 en la finca experimental "La Entresierra", ubicada en Ciudad Real (España), (3°56' W, 39° N; altitud sobre el nivel del mar de 640 m).

Esta zona tiene un clima tipo mediterráneo, con una precipitación media anual de 397 mm. El suelo de la zona de estudio tiene un horizonte petrocálcico discontinuo localizado a 0,50 m (*Petrocalcic Palexeralf*), con un pH alcalino (pH = 8,1), baja conductividad eléctrica (0,2 dS/m), un 1,05 % de materia orgánica, 0,12 % de nitrógeno, un nivel de potasio de  $17 \times 10^{-4}$  mol/kg y una gran capacidad de intercambio catiónico (0,186 mol/kg).

El experimento se realizó mediante un diseño factorial, con dos repeticiones para cada uno de los tratamientos resguardadas por árboles en las mismas condiciones de ensayo, en las que se evaluaron tres tratamientos de riego:

**T0 (control):** en el que los árboles se regaron hasta asegurar unas condiciones hídricas no limitantes en el suelo (100 % ET<sub>c</sub> de la semana anterior). Este valor se obtuvo según el coeficiente de evapotranspiración de referencia (ET<sub>o</sub>), calculado mediante la ecuación de Penman-Monteith (Allen *et al.*, 1998) y un factor corrector en base a la época del año (Goldhamer, 1995). Además se obtuvo el valor del potencial hídrico del tallo a medio día ( $\Psi_{\text{tallo}}$ ) y el balance hídrico del suelo para modificar el valor de ET<sub>c</sub>, de tal manera que, por ejemplo, cuando el valor de  $\Psi_{\text{tallo}}$  se encontraba por debajo de -1,0 MPa, se incrementó el riego un 10 % a fin de asegurar que no se producía estrés hídrico;

**T1 (estrés suave):** en el que se suprimió el riego durante la fase II hasta que los árboles alcanzaron, y mantuvieron, un  $\Psi_{\text{tallo}}$  por debajo de -1,5 MPa; y,

**T2 (estrés moderado):** donde se siguió el mismo protocolo que para T1 pero manteniendo el  $\Psi_{\text{tallo}}$  por debajo de -2,0 MPa.

Los tratamientos de riego deficitario empleados se implementaron cuando los valores de  $\Psi_{\text{tallo}}$  eran inferiores a los considerados, aplicando primero un riego de 1 mm, tras el cual, cada desviación con respecto al valor tabulado (aumento o disminución) con respecto al  $\Psi_{\text{tallo}}$  medido se corregía de la siguiente forma: (i) si la tasa de desviación era menor que un 10 %, la variación en el riego era 0,25 mm/día; (ii) si la tasa de desviación era entre 10% y 20%, la variación en el riego era de 0,5 mm/día; (iii) si la tasa de desviación era entre 20% y 30%, la variación en el riego era de 1 mm/día; y, (iv) si la tasa de desviación era mayor que 30%, la variación en el riego era de 2 mm/día.

Tanto el tratamiento de riego deficitario leve como el moderado (T1 y T2, respectivamente) fueron regados exactamente igual que el tratamiento control en el resto de fases fenológicas del cultivo (fases I y III).

El potencial hídrico del tallo se midió empleando una cámara de presión (Soil Moisture Equip., Santa Barbara, CA, USA). Se tomó una hoja de cada árbol, seleccionada de la parte media y en la parte sombreada de la copa para evitar un contraste brusco en su estado. A continuación, se cubrió con papel de aluminio 1 h antes de realizar la medición, para de esta forma parar la transpiración y permitir a la hoja llegar a un estado de equilibrio con el potencial hídrico del tallo (Begg y Turner, 1970).

### **3.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

---

El mismo día que se recolectaron los pistachos, se pelaron y se secaron en un horno de convección forzada, con aire caliente a 60 °C hasta alcanzar una humedad aproximada del 5 %. Tras finalizar este proceso, se envasaron

y unos 3 kg de cada una de las muestras fueron enviadas desde Ciudad Real (España) a Orihuela y más concretamente a las instalaciones de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Alicante, España), donde se almacenaron a 4 °C hasta la realización de las determinaciones analíticas.

Todas las determinaciones que a continuación se describen se llevaron a cabo con los pistachos únicamente secados, sin la aplicación de ningún otro tratamiento. En estudios precedentes se trabajó con pistachos salados y tostados (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2015).

### 3.3. PRODUCCIÓN

---

Con el fin de conocer cómo afectan los diferentes tratamientos de riego a la producción total de los árboles, se pesó la cantidad total de pistachos obtenidos en cada uno de ellos individualmente.

### 3.4. ANÁLISIS MORFOLÓGICOS

---

#### 3.4.1. Peso

Se seleccionaron al azar 25 pistachos de cada uno de los tratamientos, y se pesó cada uno de ellos. Primero se pesó el pistacho al completo, y luego su cáscara y su parte comestible por separado. Para ello, se utilizó una balanza Mettler Toledo modelo AG204 (Barcelona, España) con una precisión de 0,1 mg (Figura 9). El análisis de las muestras se realizó por triplicado.



FIGURA 9. BALANZA METTLER TOLEDO AG204

### 3.4.2. Tamaño

Se tomaron medidas de las tres dimensiones (largo, ancho y alto) de cada una de las 25 partes comestibles de los pistachos, para cada uno de los tratamientos sometidos a estudio, utilizando un calibre digital Mitutoyo 500-197-20 150 mm (Illinois, Estados Unidos) con una precisión de 0,02 mm (Figura 10).



FIGURA 10. CALIBRE DIGITAL MITUTOYO 150 MM

### 3.4.3. Número de pistachos comerciales

Por otra parte, se seleccionaron aleatoriamente 100 pistachos de cada tratamiento y se anotó la cantidad de cada uno de ellos que se encontraban abiertos, cerrados y "otros" (en los que se englobaban aquellos que estaban vacíos, deformes, y/o con un manchado máximo).

Los análisis de tamaño y de estado de apertura de los pistachos fueron realizados por triplicado.

## 3.5. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

---

### 3.5.1. Humedad

La determinación de la humedad es un paso obligado en el análisis de alimentos. Es la base de referencia que permite comparar valores, convertir

a valores de humedad tipo y/o expresar en base seca. Para ello se empleó el método de desecación por estufa, empleando un horno a una temperatura de 60 °C hasta peso constante (unos 3 días).

### 3.5.2. Color

Las determinaciones de color se hicieron a  $25 \pm 1$  °C, empleando un colorímetro Minolta CR-300 (Osaka, Japón) (Figura 11). Este equipo está dotado de un iluminante D65 y un observador estándar de 10 grados. Con el fin de reducir la variabilidad de los datos, se introdujeron 25 pistachos molidos en placas Petri del mismo tamaño. Los resultados se expresaron de acuerdo a las coordenadas  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojo-verde),  $b^*$  (azul-amarillo),  $C^*$  (Croma,  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ ) y  $h^\circ$  (tono,  $h^\circ = \arctg(b^*/a^*)$ ) (Minolta, 1994).



FIGURA 11. COLORÍMETRO MINOLTA CR-300

### 3.5.3. Ácidos grasos

Para la extracción de los ácidos grasos presentes en las muestras, se tomó aproximadamente 1 g de pistachos molidos y se mezcló con 3 mL de *n*-hexano. Esta mezcla se introdujo en un baño de ultrasonidos de 1 L Selecta 3000512 JP (Barcelona, España) (Figura 12) con una frecuencia constante de

40 KHz durante 3 h a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se sometió a centrifugación y el aceite se recuperó mediante evaporación del *n*-hexano empleando una corriente de nitrógeno.



**FIGURA 12.** ULTRASONIDOS SELECTA 3000512 JP.

La determinación de ácidos grasos requiere la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) y su posterior análisis mediante cromatografía de gases. Para ello se empleó el método descrito por Majdi *et al.* (2012) con algunas modificaciones. Se tomaron aproximadamente 50 mg del aceite extraído y se saponificaron con 100  $\mu$ L de diclorometano ( $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ ) y 1 mL de disolución metanólica de NaOH (0,5 M) por reflujo a 90  $^{\circ}\text{C}$  durante 10 min. A continuación se añadió 1 mL de  $\text{BF}_3$ -metanólico (14 %) y se llevó a ebullición durante 10 min. Los esteres metílicos de ácidos grasos se extrajeron a partir de una mezcla saturada de sal con la adición de 600  $\mu$ L de hexano. La fase orgánica se separó y se analizó mediante GC-MS en un cromatógrafo de gases, Shimadzu GC-17A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón), acoplado con un detector de espectrometría de masas, Shimadzu GC-MS detector QP-5050 (Figura 13), equipado con una columna SupraWax-280 (Teknokroma S. Coop C. Ltd, Barcelona, España), de 30 m de longitud  $\times$  0,25 mm de diámetro interno  $\times$  0,25 mm de espesor de la película de adsorción (100 % polietilenglicol).

Los análisis se llevaron a cabo utilizando helio como gas portador a un caudal de 1,1 mL/min, con un split 1:10. El inyector y el detector se

sometieron a unas temperaturas de 230 y 260 °C, respectivamente y se siguió el siguiente programa de funcionamiento: (i) temperatura inicial de 80 °C durante 2 min, (ii) rampa de temperatura de 8 °C/min de 80 a 160 °C, (iii) incremento de 4 °C/min desde 160 a 220 °C manteniendo la temperatura durante 13 min, y por último, (iv) incremento de 10 °C/min desde 220 a 260 °C donde se mantuvo la temperatura durante 6 min.



**FIGURA 13.** CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS SHIMADZU GC-17A\_QP-5050.

#### **3.5.4. Composición mineral**

Para el análisis de composición mineral, se digirieron aproximadamente 0,5 g de pistachos molidos empleando 5 mL de una disolución 65 % (w/v) de HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico concentrado) en un bloque digestor, Selecta Block Digest 20 (Barcelona, España). Para ello se dejaron a temperatura ambiente durante 12 h y a continuación se incrementó gradualmente la temperatura hasta 130 °C, manteniendo esta durante el tiempo necesario para alcanzar una

disolución transparente, aproximadamente 4-5 h (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2002).

Las muestras fueron enfriadas a temperatura ambiente y llevadas a matraces en los que se prepararon disoluciones 1:10 y 1:50 empleando agua ultra pura. Hasta que se llevó a cabo la determinación, las muestras se mantuvieron en refrigeración (4 °C).

La determinación de Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn y Zn, en las muestras previamente mineralizadas, se llevó a cabo mediante un espectrómetro de absorción-emisión atómica Unicam Solaar 969 (Unicam Ltd., Cambridge, Reino Unido) (Figura 14). El potasio y sodio se determinaron mediante emisión atómica y el resto de elementos se analizaron por absorción atómica.

El instrumental empleado fue calibrado empleando estándares certificados. En cada lote de análisis se incluyeron al menos dos blancos, un material de referencia internacional (CRM) y un muestra enriquecida con una concentración conocida para evaluar la precisión y exactitud del análisis químico. Las curvas de calibración que se utilizaron para la cuantificación de los minerales, mostraron una linealidad buena ( $R^2 \geq 0,996$ ). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.



**FIGURA 14.** ESPECTRÓMETRO EMISIÓN-ABSORCIÓN ATÓMICA UNICAM SOLAAR 969.

## 3.6. ANÁLISIS FUNCIONAL

---

### 3.6.1. Capacidad antioxidante

Como bien es reconocido por la comunidad científica, no es válido el uso de un solo método para determinar la capacidad antioxidante en alimentos ya que cada uno de ellos se fundamenta en una vía de determinación distinta por lo que pueden dar resultados diferentes entre sí. Por esta razón, es necesario el empleo de varios de estos métodos para contrastar mejor los resultados obtenidos (Heo *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2005; Robles-Sánchez *et al.*, 2009; Tabart *et al.*, 2009).

Estos métodos están basados en la generación de radicales libres que reaccionan con la muestra, de modo que los antioxidantes presentes en esta generan una respuesta inhibiendo dichos radicales. De esta forma, determinan el efecto antioxidante global de la muestra, no de cada componente por separado; por lo que resulta interesante realizar las determinaciones con varios métodos diferentes y así comparar el efecto antioxidante sobre diferentes tipos de radicales.

Se diferencian dos tipos de ensayos para dicha determinación (Sánchez-Moreno, 2002):

- Determinación directa: se forma el radical y cuando se pone en contacto con la muestra desciende la señal debido a la disminución de la concentración del radical (por ejemplo, ABTS<sup>+</sup> y DPPH•).
- Determinación indirecta: la presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (por ejemplo, FRAP).

Para la extracción de los compuestos antioxidantes, se pesaron aproximadamente 0,5 g de muestra en un tubo de ensayo y se le añadieron 10 mL de extractante, compuesto por metanol/agua (80:20) y acidificado con HCl (1 %). A continuación se realizó la extracción, primero durante 15 min a 20 °C en un baño ultrasonidos con una frecuencia constante de 40 KHz y después durante 16 h en refrigeración a 4 °C. Transcurrido el tiempo en refrigeración, se pasaron las muestras de nuevo por el ultrasonidos durante otros 15 min. Por último, se centrifugaron a 15.000 rpm durante 10 min y se recogió el sobrenadante.

La capacidad antioxidante se midió por tres métodos diferentes, tal y como se detalla a continuación:

#### ❖ **DPPH•**

El método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se llevó a cabo siguiendo el método de Brand Williams *et al.*, (1995) con alguna modificación. Se preparó el reactivo con metanol (DPPH 95 %) y se ajustó su absorbancia a un valor cercano e inferior a 1 con una longitud de onda de 515 nm. La recta de calibrado se realizó con Trolox (97 %) 10 mM procediendo de la siguiente forma:

- i. Se añadió a 5 tubos de ensayo las cantidades de 0,05 mL, 0,15 mL, 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL y 2,0 mL de Trolox, y se completó hasta un volumen de 5,0 mL con etanol.
- ii. Empleando cubetas de 1,5 mL de volumen, se añadieron a cada una de ellas en los reactivos en el siguiente orden y volumen: 10 µL Trolox, 40 µL metanol y 950 µL de disolución DPPH•.
- iii. Se dejó reaccionar en oscuridad durante 10 min y se midió la absorbancia a 515 nm.

- iv. A los resultados obtenidos se les restó la absorbancia del reactivo y se realizó la representación gráfica (Figura 15) para obtener la ecuación de la recta y poder hallar la concentración de las muestras.

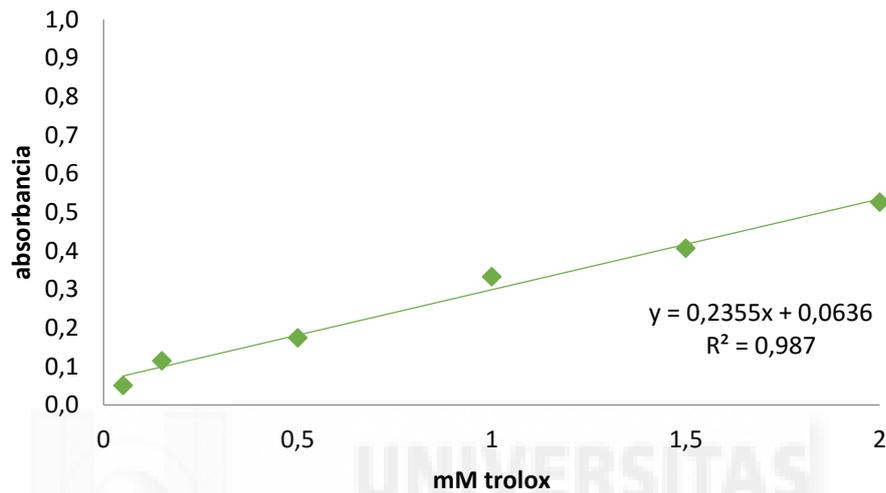


FIGURA 15. RECTA DE CALIBRADO MÉTODO DPPH•

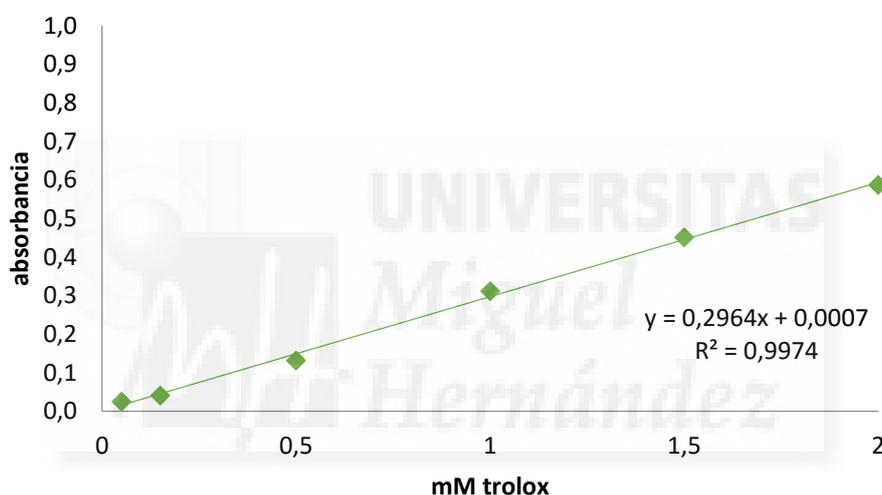
Una vez realizada la recta de calibrado, se midió la capacidad antioxidante de cada una de las muestras por triplicado. Para ello, se añadió a cada cubeta de espectrometría 10  $\mu$ L muestra problema, 40  $\mu$ L metanol y 950  $\mu$ L de la disolución DPPH•. Se dejó reaccionar durante 10 min en oscuridad y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 515 nm. A los resultados se les restó la absorbancia inicial del reactivo y se calculó la concentración de antioxidantes en función de la recta de calibrado.

#### ❖ **ABTS<sup>+</sup>**

El método ABTS<sup>+</sup> [ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico] se llevó a cabo utilizando el ensayo de decoloración del radical catión ABTS<sup>+</sup> con algunas modificaciones (Re *et al.*, 1999). Se preparó el reactivo con una concentración 7 mM y tras la adición de 1 mL de persulfato de potasio 2,45 mM; se dejó reaccionar durante 12-16 h en oscuridad para

que tuviera lugar la formación del catión ABTS<sup>+</sup>. Una vez transcurrido este tiempo, se diluyó la disolución con agua ultrapura hasta ajustar su absorbancia a  $0,700 \pm 0,020$  empleando una longitud de onda de 734 nm.

La recta de calibrado se realizó con Trolox 10 mM procediendo de igual forma que para el método del DPPH<sup>•</sup>, salvo que en este caso, únicamente se adicionó a las cubetas 10  $\mu$ L de Trolox y 990  $\mu$ L de la disolución preparada de ABTS<sup>+</sup>. Seguidamente y antes de medir su absorbancia, se dejó reaccionar durante 6 min. De esta forma se obtuvo la recta de calibrado correspondiente a este método (Figura 16), tras restar la absorbancia debida al reactivo.



**FIGURA 16.** RECTA DE CALIBRADO MÉTODO ABTS<sup>+</sup>

Una vez realizada la recta de calibrado, se midió la capacidad antioxidante de las muestras por triplicado, añadiendo en cada cubeta 10  $\mu$ L de muestra y 990  $\mu$ L de la disolución ABTS<sup>+</sup>. Tras dejar reaccionar durante 6 min se midió su absorbancia a 734 nm. A los resultados se les restó la absorbancia inicial del reactivo y se calculó la concentración de antioxidantes en función de la recta de calibrado.

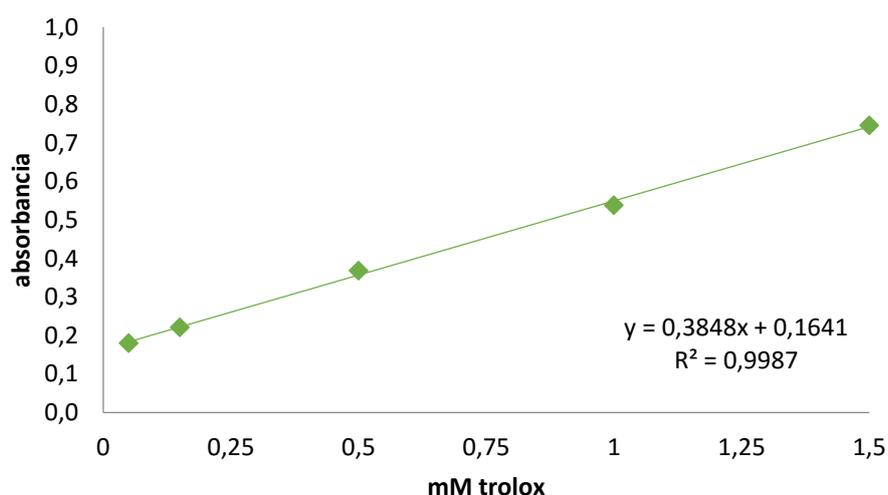
## ❖ FRAP

El método FRAP ("ferric reducing ability of plasma") se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Benzie y Strain (1996), con alguna modificación. Se preparó el reactivo compuesto por TPTZ:FeCl<sub>3</sub>:disolución tampón (1:1:10) de acuerdo a las siguientes indicaciones:

- Disolución tampón: 1,55 g CH<sub>3</sub>COONa y 0,9 mL de HCl (ajustando el pH final a 3,6).
- HCl 40 mM.
- Reactivo TPTZ: 31,21 mg de TPTZ y 10 mL de HCl 40 mM.
- Cloruro de hierro 20 mM.

La recta de calibrado se realizó con Trolox 10 mM procediendo de igual forma que para el método del ABTS<sup>+</sup>, dejando reaccionar en este caso durante 10 min en oscuridad y midiendo la absorbancia a 593 nm. Mediante este proceder, se obtuvo la recta de calibrado correspondiente al método FRAP (Figura 17).

Una vez realizada la recta de calibrado, se midió la capacidad antioxidante de las muestras por triplicado, añadiendo en cada cubeta 10 µL de muestra y 990 µL de la disolución reactivo. Tras dejar reaccionar durante 10 min se midió su absorbancia a 593 nm.



**FIGURA 17.** RECTA DE CALIBRADO MÉTODO FRAP

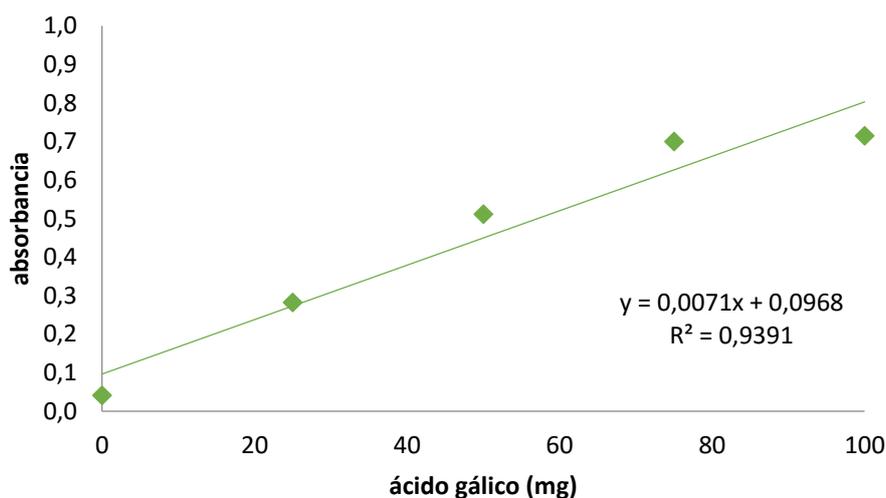
### 3.6.2. Polifenoles totales

Los polifenoles son sintetizados por las plantas como producto de su metabolismo secundario, siendo los compuestos no energéticos más abundantes que contienen. Su estructura se caracteriza por poseer uno o más anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados, que les otorgan su capacidad antioxidante. El diferente número de anillos sirve para clasificar los tipos de polifenoles: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzóico o del hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones *et al*, 2012).

Para la determinación de los polifenoles totales, se realizó la extracción de los mismos siguiendo la misma metodología descrita anteriormente para los métodos de capacidad antioxidante.

Para poder obtener resultados de concentración de compuestos polifenólicos, necesitamos realizar una recta de concentración a partir de un patrón conocido, que en nuestro caso fue ácido gálico (Figura 18). Para ello, se emplearon concentraciones de 0, 25, 50, 75 y 100 µg de ácido gálico, a los que se añadió 0,2 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y 2 mL de agua ultrapura. Tras dejar reaccionar durante 3 min, se añadió 1 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (concentración del 20 %), y se dejó en oscuridad durante 60 min. Una vez transcurrido ese tiempo, se realizó la medida de absorbancia a 765 nm.

El análisis de nuestro extracto tuvo lugar de la misma forma en la que se realizó la recta patrón, únicamente sustituyendo el ácido gálico por las muestras sometidas a estudio.



**FIGURA 18.** RECTA DE CALIBRADO MÉTODO POLIFENOLES TOTALES

## 3.7. ANÁLISIS SENSORIAL

### 3.7.1. Estudio descriptivo

En este estudio, participaron 8 panelistas entrenados (4 hombres y 4 mujeres, de edades comprendidas entre 26 y 60 años) miembros del grupo de investigación Calidad y Seguridad Alimentaria (Universidad Miguel Hernández de Elche, Alicante, España). Cada uno de estos panelistas tiene más de 500 horas de experiencia en este tipo de pruebas, con diferentes alimentos. Para reforzar un poco más las aptitudes de este grupo, se realizaron dos sesiones de orientación sobre pistachos de 1 h de duración cada una de ellas.

Las muestras (pistachos) se sirvieron en envases desechables de plástico de un volumen de 100 mL y libres de olor. Se sirvió a cada panelista un envase lleno hasta aproximadamente la mitad con pistachos. Además, por si hubiera sido necesario, se disponían muestras adicionales. Todas las muestras se sirvieron a temperatura ambiente y se codificaron utilizando números de 3 dígitos. Entre cada una de las muestras se puso a la disposición

de los panelistas agua osmotizada y galletas sin sal, para limpiar el paladar. La sala de pruebas disponía de una combinación de luz natural y luz no natural (fluorescente), y se fijó una temperatura de 22 °C.

Para la evaluación de las muestras (9 muestras en total) se realizaron tres sesiones de 2 h cada una. Todas las muestras fueron evaluadas en cada sesión y, por lo tanto, cada una de ellas se evaluó por triplicado (3 sesiones).

El panel trabajó con el léxico desarrollado por Carbonell-Barrachina *et al.* (2015) para pistachos, pero tras las sesiones de orientación, el panel acordó evaluar solamente los siguientes atributos: (*apariciencia*) color y tamaño; (*sabor*) sabor a fruto seco, sabor a pistacho, floral, salado, dulce, amargo, astringente y postgusto; y (*textura*) dureza, crujibilidad, desmenuzabilidad y adhesividad.

El panel utilizó una escala numérica de 0 a 10 para cuantificar la intensidad de los atributos estudiados; donde 0 representa una intensidad extremadamente baja, y 10 representa extremadamente intenso, con incrementos de 0,5 unidades.

En el **ANEXO I** de este Trabajo Fin de Master figura una copia del cuestionario utilizado para la realización del estudio descriptivo, en la que quedan reflejados todos aquellos atributos que fueron evaluados.

### **3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

---

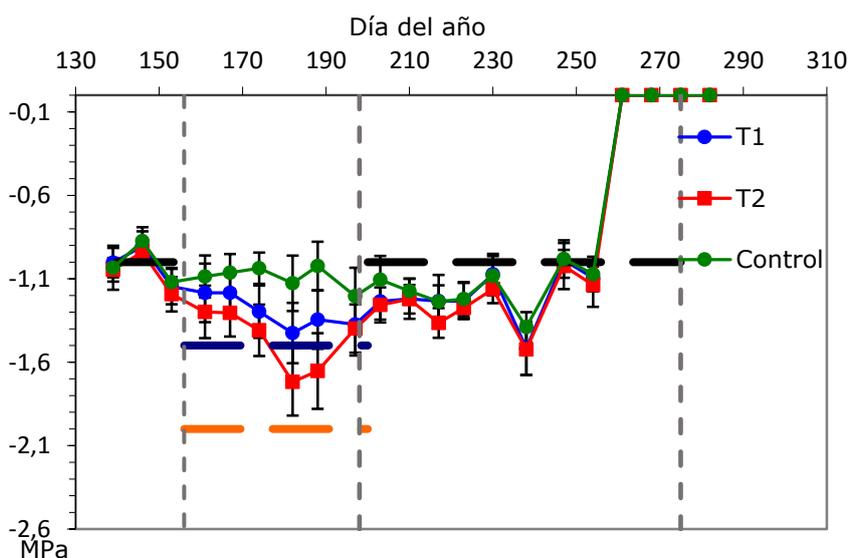
Los resultados de los análisis realizados a los pistachos fueron procesados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey. Se utilizó el software StatGraphicsPlus 5.0 Software (Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, Estados Unidos). La diferencia significativa fue definida como  $p < 0,05$ .



## 4.1. POTENCIAL HÍDRICO

En la **Figura 19** se muestran los resultados obtenidos en las medidas de potencial hídrico realizadas durante el cultivo de los pistachos sometidos a estudio.

Como podemos observar, durante la fase fenológica II del cultivo el tratamiento T1 se mantuvo cercano a un potencial hídrico de -1,5 MPa, tal y como estaba previsto en el planteamiento inicial del estudio. Esto no ocurrió para el tratamiento T2. El estudio se planteó de tal forma que los árboles regados mediante este tratamiento se mantuvieran por debajo de un potencial hídrico de -2,0 MPa, pero puesto que las condiciones climáticas acaecidas durante el año de estudio fueron muy suaves (bajas temperaturas), los árboles no consumieron tanta agua durante la fase II del cultivo, por lo que no agotaron las reservas del suelo y no dieron lugar a que los potenciales bajaran hasta el valor esperado. Esta circunstancia hace que el análisis de los resultados las diferencias encontradas entre los tratamientos T1 y T2 no sean relevantes, ya que como veremos a lo largo de la discusión de los resultados, apenas hay diferencias entre ambos tratamientos puesto que el régimen hídrico ha tenido diferencias menores a las planteadas.



**FIGURA 19.** POTENCIAL HÍDRICO DE LOS PISTACHEROS SOMETIDOS A ESTUDIO

## 4.2. PRODUCCIÓN

El análisis de la producción es un paso importante a la hora de realizar cualquier estudio ya que influye de manera muy significativa en la aplicación posterior de las técnicas que se intentan desarrollar.

En la **Tabla 1**, podemos observar la producción total por árbol que se obtuvo tras la realización de los diferentes tratamientos de riego evaluados en este trabajo.

**Tabla 1.** Producción (kg/árbol) de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

PRODUCCIÓN (kg/árbol)	
Test ANOVA †	
RIEGO	NS
	Test de Tukey ‡
T0	57,23
T1	48,42
T2	48,86

† NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ).

Tras el análisis estadístico de los datos obtenidos, podemos afirmar que no hay diferencias de producción entre los pistachos sometidos a tratamientos de riego deficitario controlado y aquellos en los que se regó con la cantidad suficiente de agua para evitar por completo su estrés hídrico.

Por otra parte y de un modo adicional al estudio estadístico, debemos realizar un análisis razonado de los datos. Aunque no existan diferencias significativas entre los tratamientos, sí se observa una tendencia a la baja tras la aplicación de los tratamientos RDC. El hecho de que la estadística no lo refleje, es porque el número de repeticiones realizadas en campo no es muy elevado debido a la complejidad del estudio, por lo que la varianza de datos es muy elevada. Por lo tanto, debemos tomar datos de estudios realizados en los próximos años para contrastar los resultados mostrados.

### 4.3. ANÁLISIS MORFOLÓGICOS

#### 4.3.1. Peso

En la **Tabla 2** podemos observar los resultados obtenidos tras el análisis del peso de los pistachos sometidos a estudio. En ella podemos observar que existen diferencias significativas entre los pistachos que se regaron de manera que el árbol no viera comprometidas sus necesidades hídricas (T0), los pistachos sometidos a un riego deficitario controlado suave (T1) y aquellos a los que se les aplicó un tratamiento de RDC moderado (T2).

**Tabla 2.** Peso (g) de la parte comestible, cáscara y fruto completo de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

PESO (g)			
	Fruto completo	Parte comestible	Cáscara
<b>Test ANOVA †</b>			
<b>RIEGO</b>	***	***	***
<b>Test de Tukey ‡</b>			
<b>T0</b>	1,35 c	0,70 b	0,65 b
<b>T1</b>	1,38 b	0,73 a	0,65 b
<b>T2</b>	1,41 a	0,73 a	0,68 a

† \*\*\* diferencias significativas  $p \leq 0,001$ .

‡ Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

Conforme se incrementa el déficit hídrico durante la fase II del cultivo del pistacho, se produce un incremento proporcional del peso del fruto del pistacho. Este incremento ocurre tanto en la parte comestible como en la cáscara del fruto, aunque de manera diferente. Mientras que en la parte comestible el efecto del RDC provoca un incremento de peso significativo en ambos tratamientos, en el caso de la cáscara este aumento de peso solamente ocurre en el tratamiento T2.

Este comportamiento tiene relación directa con los resultados mostrados anteriormente sobre la producción de los pistachos, ya que como hemos mencionado, el RDC no tuvo una incidencia estadísticamente significativa en la producción, sí se observa una tendencia dependiente entre el aumento del déficit hídrico y el descenso en la producción. Por lo que, al obtener menores producciones, los frutos obtenidos en estas son de mayor peso ya que el árbol es capaz de destinar a estos frutos un mayor aporte nutritivo para su desarrollo.

### 4.3.2. Tamaño

En el caso del tamaño de los frutos, podemos observar en la [Tabla 3](#) que los resultados obtenidos son inversamente proporcionales a los esperados tras el análisis del peso de los mismos.

**Tabla 3.** Tamaño largo, alto y ancho (mm), de la parte comestible de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

	TAMAÑO (mm)		
	Largo	Alto	Ancho
	<b>Test ANOVA <sup>†</sup></b>		
<b>RIEGO</b>	**	***	***
	<b>Test de Tukey <sup>‡</sup></b>		
<b>T0</b>	16,64 ab	10,52 a	9,02 a
<b>T1</b>	16,48 b	10,34 b	8,80 b
<b>T2</b>	16,76 a	10,11 c	8,82 b

<sup>†</sup> \*\* y \*\*\*, diferencias significativas  $p \leq 0,01$  y  $0,001$  respectivamente.

<sup>‡</sup> Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

El empleo de un RDC ha supuesto que el tamaño (alto y ancho) de la parte comestible de los pistachos obtenidos, sea menor que los pistachos que

no sufrieron ningún estrés hídrico. En el caso del largo de los pistachos, esta situación se dio en menor medida ya que el tratamiento T2 proporcionó unos pistachos iguales que el tratamiento control.

### 4.3.3. Número de pistachos comerciales

El estado de apertura de los pistachos es un factor muy determinante a la hora de realizar un estudio sobre calidad de pistachos, ya que de él depende en gran medida su comercialización basada en la elección de los consumidores puesto que facilita el consumo y, por consiguiente, la venta de los mismos.

Como podemos apreciar en la **Tabla 4**, la aplicación de los regímenes de riego estudiados en este trabajo mostró diferencias estadísticamente significativas en el número o porcentaje de pistachos abiertos, cerrados y "otros".

**Tabla 4.** Estado de apertura de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

	ESTADO		
	Abiertos	Cerrados	Otros
	<b>Test ANOVA <sup>†</sup></b>		
<b>RIEGO</b>	*	*	NS
	<b>Test de Tukey <sup>‡</sup></b>		
<b>T0</b>	59 a	36 b	5
<b>T1</b>	52 b	43 a	5
<b>T2</b>	52 b	44 a	4

<sup>†</sup> NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ). \* diferencias significativas  $p \leq 0,05$ .

<sup>‡</sup> Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

La aplicación del RDC tiene lugar, como ya hemos comentado con anterioridad, durante la fase fenológica II del cultivo en la cual únicamente se desarrolla el grosor del endocarpio del fruto. Por ese motivo, en el caso de

los pistachos sometidos a un déficit hídrico, la cáscara es más fina y menos dura, permitiendo una mayor flexibilidad y haciéndola por consiguiente, menos sensible a la rotura cuando se produce el crecimiento del grano en su interior.

## 4.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

### 4.4.1. Humedad

La realización de la determinación de la humedad responde a términos de control, ya que las muestras llevan el mismo proceso de secado en origen (Ciudad Real), por lo que debemos garantizar que la humedad es la misma para que los resultados entre tratamientos sean totalmente homogéneos. Además como se comentó en la descripción del método llevado a cabo para su determinación, el valor de la humedad es totalmente necesario para poder expresar el resultado de otras determinaciones en peso seco, y de esta forma homogenizar los resultados obtenidos entre la comunidad científica. Como se puede apreciar en la [Tabla 5](#), no se apreciaron diferencias significativas entre los pistachos sometidos a estudio.

**Tabla 5.** Humedad (%) de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

HUMEDAD (%)	
Test ANOVA †	
RIEGO	NS
Test de Tukey ‡	
<b>T0</b>	5,02
<b>T1</b>	5,33
<b>T2</b>	5,28

† \*\* diferencias significativas  $p \leq 0,01$ .

‡ Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

#### 4.4.2. Color

En la **Tabla 6** podemos observar los resultados obtenidos tras la realización del análisis de color de las muestras de pistacho, para cada uno de los tratamientos estudiados. En el caso de la luminosidad (representada por el parámetro  $L^*$ ) y el tono (representado por el parámetro  $H^*$ ), la aplicación de los tratamientos de RDC, tuvo incidencia estadísticamente significativa sobre las muestras sometidas a estudio. El tratamiento T1 condujo a pistachos con una luminosidad menor que la de los frutos del resto de tratamientos, la cual se reflejó en un ligero incremento en el tono de las muestras. En el resto de parámetros ( $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$ ), la aplicación de los regímenes de RDC no comportó diferencias significativas.

**Tabla 6.** Coordenadas de color  $CIEL^*a^*b^*$  de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

	COLOR				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$H^*$
	<b>Test ANOVA †</b>				
<b>RIEGO</b>	**	NS	NS	NS	*
	<b>Test de Tukey ‡</b>				
<b>T0</b>	66,03 a	-6,45	33,39	34,01	79,07 ab
<b>T1</b>	64,05 b	-5,90	33,04	33,58	79,92 a
<b>T2</b>	65,44 a	-6,63	33,34	33,99	78,77 b

† NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ). \* y \*\* diferencias significativas  $p \leq 0,05$  y  $0,01$  respectivamente.

‡ Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

Como podemos apreciar, las diferencias existentes entre las muestras son inferiores a dos unidades. En estudios previos (Galindo *et al.*, 2015; Navarro *et al.*, 2011), se demostró que las diferencias inferiores a 2 unidades son imperceptibles para el ojo humano, por lo que aunque las diferencias encontradas en estas determinaciones sean estadísticamente significativas,

estas no suponen un cambio apreciable en el producto final. Por lo que podemos afirmar que la aplicación de los tratamientos de riego estudiados en este trabajo, no tuvo una incidencia "importante" sobre el color de los pistachos.

Los valores de la coordenada verde-rojo cercanos al -6 son típicos del color verde tan característico y atractivo de este tipo de fruto seco.

#### 4.4.3. Ácidos grasos

Los resultados obtenidos sobre la composición de ácidos grasos en los pistachos estudiados se encuentran reflejados en la [Tabla 7](#).

**Tabla 7.** Perfil (%) de los ácidos grasos que contienen los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

ÁCIDOS GRASOS (%)									
	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1
	Test ANOVA †								
<b>RIEGO</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Test de Tukey ‡								
<b>T0</b>	0,08	12,49	1,05	1,34	52,78	31,23	0,55	0,12	0,32
<b>T1</b>	0,08	12,38	1,10	1,30	53,23	30,85	0,51	0,14	0,34
<b>T2</b>	0,08	12,29	1,04	1,36	52,90	31,29	0,54	0,13	0,36

† NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ). \* diferencias significativas  $p \leq 0,05$ .

‡ Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

Durante el análisis del perfil de ácidos grasos se identificaron un total de 9 ácidos grasos distintos, donde:

- 4 de ellos eran saturados: ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), y ácido araquídico (C20:0);

- 3 eran monoinsaturados: ácido palmitoleico (C16:1), ácido oleico (C18:1), y ácido eicosenoico (C20:1); y
- 2 de ellos eran poliinsaturados: ácido linoleico (C18:2) y ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3).

Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que la aplicación de los tratamientos de RDC llevados a cabo para la realización de este trabajo, no tienen incidencia sobre la composición de los ácidos grasos de los pistachos. Llegados a este punto es importante recordar que el que en algunos parámetros bajo estudio no se aprecien diferencias estadísticamente significativas es bueno, pues se está siendo sostenible (ahorrando agua) y los frutos obtenidos, pistachos, presentan la misma calidad o composición nutricional.

#### **4.4.4. Composición mineral**

El estudio de composición mineral se llevó a cabo mediante espectrometría de absorción-emisión, y los resultados obtenidos figuran en la [Tabla 8](#).

Como podemos apreciar, la aplicación de tratamientos de riego deficitario controlado sobre los pistachos, tuvo incidencia en la composición mineral de los mismos. Los pistachos de los tratamientos T1 y T2, presentaron mayor contenido en Na, Ca y Cu que los pistachos del tratamiento control, y además, vieron reducido su contenido en K y Mn (en este último caso solamente el tratamiento T2). Esto podría estar justificado por el efecto antagónico que el Ca y el Na provocan sobre el resto de minerales; el antagonismo entre el Na y el K es uno de los más estudiados en el metabolismo vegetal (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997). La disminución del agua de riego, pudo provocar el incremento en las concentraciones de Ca y Na en el suelo, lo se tradujo en una disminución de K y Mn en el suelo por lo que su asimilación por la planta se vio influenciada.

**Tabla 8.** Contenido mineral de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

COMPOSICIÓN MINERAL								
	Macro-nutrientes (g/kg)				Micro-nutrientes (mg/kg)			
	K	Na	Mg	Ca	Zn	Cu	Mn	Fe
	<b>Test ANOVA †</b>							
<b>RIEGO</b>	***	*	NS	**	NS	***	***	NS
	<b>Test de Tukey ‡</b>							
<b>T0</b>	9,512 a	0,264 b	1,105	0,980 b	21,6	16,4 c	7,0 a	27,3
<b>T1</b>	9,124 b	0,289 a	1,110	1,063 a	21,8	22,0 b	7,1 a	30,5
<b>T2</b>	9,050 b	0,294 a	1,137	1,047 a	22,9	28,3 a	5,9 b	30,9

† NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ). \*, \*\* y \*\*\*, diferencias significativas  $p \leq 0,05$ ,  $0,01$  y  $0,001$  respectivamente.

‡ Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

Es de destacar que los pistachos, independientemente de su modo de riego, son una buena fuente de potasio ( $\sim 9$  g/kg), hierro ( $\sim 30$  mg/kg), zinc ( $\sim 21$ - $22$  mg/kg), y cobre ( $\sim 22$  mg/kg).

## 4.5. ANÁLISIS FUNCIONAL

### 4.5.1. Capacidad antioxidante

La **Tabla 9** muestra los resultados obtenidos tras la realización de los análisis de capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>+</sup> y FRAP en los pistachos obtenidos mediante diferentes tratamientos de riego.

En el caso del método ABTS<sup>+</sup>, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos estudiados en este trabajo. No ocurrió lo mismo en los análisis realizados mediante los otros dos métodos de capacidad antioxidante. En esos casos, se observó un descenso en la capacidad antioxidante en aquellas muestras que habían sido sometidas a estrés hídrico durante la fase II de su cultivo, más concretamente

en la muestra T2, donde en ambos métodos, el descenso es bastante acusado. Esta situación es exactamente la contraria a la inicialmente esperada; nuestra hipótesis inicial de trabajo era que al estresar a la planta, esta debía activar mecanismos de defensa y, por tanto, aumentar el contenido de compuestos bioactivos y su actividad. En este caso, parece que la actividad antioxidante no sigue la hipótesis inicial de trabajo.

**Tabla 9.** Capacidad antioxidante (mg equivalentes de ácido gálico) mediante diferentes métodos (DPPH•, ABTS<sup>+</sup> Y FRAP) de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (mg eq ác. gálico)			
	DPPH•	ABTS <sup>+</sup>	FRAP
<b>Test ANOVA †</b>			
<b>RIEGO</b>	***	NS	***
<b>Test de Tukey ‡</b>			
<b>T0</b>	19,19 a	21,54	35,45 a
<b>T1</b>	18,46 a	22,82	32,50 b
<b>T2</b>	10,64 b	20,98	29,63 b

† NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ). \*\*\* diferencias significativas  $p \leq 0,001$ .

‡ Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

El empleo de este tipo de pruebas para la determinación de la capacidad antioxidante, no solo nos permite comparar resultados entre diferentes métodos para conocer la influencia que existe al aplicar un riego u otro, sino que nos sirve también para conocer cuál de estos métodos se ajusta mejor al producto que estamos estudiando. En este caso, para el análisis de pistachos observamos que el método ABTS<sup>+</sup> ofrece resultados menos concluyentes que el resto de los métodos. Por otra parte, podemos afirmar que para el análisis de capacidad antioxidante en pistachos, el método más recomendado es el DPPH• ya que nos permite observar diferencias significativas incluso para pequeños cambios; es decir, parece ser un método conducente a resultados muy reproducibles y repetitivos.

Por estas razones, podemos afirmar que para el análisis de la capacidad antioxidante en pistachos, los métodos más recomendados en orden de efectividad serían: DPPH• > FRAP >> ABTS<sup>+</sup>.

#### 4.5.2. Polifenoles totales

Los resultados obtenidos tras el análisis de los polifenoles totales presentes en las muestras de pistachos sometidas a estudio, quedan reflejadas en la [Tabla 10](#).

**Tabla 10.** Contenido de polifenoles totales (mg equivalentes de ácido gálico) de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

POLIFENOLES TOTALES (mg eq ác. gálico)	
Test ANOVA <sup>†</sup>	
RIEGO	*
Test de Tukey <sup>‡</sup>	
T0	1192 b
T1	1283 a
T2	1211 ab

<sup>†</sup> \* diferencias significativas  $p \leq 0,05$ .

<sup>‡</sup> Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma columna, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .

El empleo de un tratamiento de riego deficitario suave (T1), provocó un incremento en el contenido total de polifenoles en los pistachos con respecto al tratamiento control.

Este resultado refuerza la teoría en la que se basa este tipo de trabajos, por la que se intenta demostrar que mientras que bajo un estrés hídrico elevado se produce una importante regulación estomática y el CO<sub>2</sub> se destina al mantenimiento del metabolismo primario, bajo un déficit moderado/suave

se redistribuye el CO<sub>2</sub> hacia la formación de metabolitos secundarios en detrimento del crecimiento. Esto da lugar a frutos con mayor contenido en compuestos bioactivos en aquellos frutos en los que el déficit hídrico ha sido controlado (Behboudian *et al.*, 2011). Además, las situaciones de estrés hídrico provocan una acumulación de sustancias antioxidantes, como respuesta fisiológica a la eliminación de radicales libres formados (Grant, 2012).

## **4.6. ANÁLISIS SENSORIAL**

---

### **4.6.1. Estudio descriptivo**

El análisis sensorial descriptivo llevado a cabo mediante un panel sensorial entrenado compuesto por 8 jueces, arrojó los resultados que pueden observarse en la [Tabla 11](#). Se evaluó la apariencia (color y tamaño), el flavor o sabor (fruto seco, pistacho, floral, salado, dulce, amargo, astringente, amaderado y postgusto) y la textura (dureza, crujibilidad, desmenuzabilidad y adherencia) de los pistachos obtenidos mediante diferentes tratamientos de riego.

En este análisis, se encontraron diferencias significativas en el tamaño, flavor a pistacho, flavor amaderado y crujibilidad de los pistachos.

La aplicación de los tratamientos de riego deficitario controlado llevados a cabo en este trabajo, incrementó significativamente la intensidad del tamaño de los pistachos. Este resultado, se complementa perfectamente con el resultado experimental observado tras el análisis físico o instrumental del tamaño donde el comportamiento observado fue el mismo. En el caso del flavor a pistacho y el flavor amaderado, se observó un descenso en la intensidad de los mismos para el tratamiento de RDC suave (T1). Por último, se apreció una diferencia estadísticamente significativa en la crujibilidad de

los pistachos, siendo aquellos obtenidos mediante un tratamiento de riego deficitario controlado T2 los que mayor intensidad obtuvieron.

**Tabla 11.** Análisis sensorial descriptivo de los pistachos sometidos a diferentes tratamientos de RDC.

ATRIBUTOS SENSORIALES	ANOVA <sup>†</sup>	RIEGO		
		T0	T1	T2
<b>Apariencia</b>				
Color	NS	3,5	3,2	2,8
Tamaño	***	7,1 b <sup>‡</sup>	7,8 a	7,7 a
<b>Flavor</b>				
Fruto seco	NS	7,3	6,9	7,4
Pistacho	***	7,3 a	6,2 b	6,9 a
Floral	NS	2,9	1,6	1,7
Salado	NS	0,7	0,5	0,4
Dulce	NS	2,8	2,6	2,7
Amargo	NS	1,0	1,3	1,1
Astringente	NS	0,8	0,6	0,8
Amaderado	**	7,4 a	6,9 b	7,4 a
Postgusto	NS	5,5	5,8	5,9
<b>Textura</b>				
Dureza	NS	7,0	7,0	7,8
Crujibilidad	*	7,0 b	6,7 b	7,8 a
Desmenuzabilidad	NS	5,0	5,5	5,4
Adherencia	NS	6,7	7,0	6,3

<sup>†</sup> NS, no significativo  $F_{ratio}$  ( $p \leq 0,05$ ). \*, \*\* y \*\*\*, diferencias significativas  $p \leq 0,05$ , 0,01 y 0,001 respectivamente.

<sup>‡</sup> Valores seguidos por la misma letra, dentro de la misma fila, no son estadísticamente diferentes  $p \leq 0,05$ .



Los tratamientos de riego deficitario controlado (RDC) llevados a cabo en este estudio han demostrado no tener influencia estadística significativa sobre la producción, color, y composición de ácidos grasos de los pistachos. Por otra parte, sí han comportado un incremento de peso en los pistachos con respecto a aquellos regados de manera convencional.

La aplicación de los tratamientos de RDC ha supuesto una disminución en la capacidad antioxidante de los pistachos, incrementado sin embargo, el contenido total de polifenoles.

Este estudio ha permitido caracterizar diferentes métodos de determinación de la capacidad antioxidante, obteniendo que el más adecuado para llevar a cabo en el análisis de pistachos, de entre los estudiados, es el método DPPH\*.

El tratamiento en pistachos mediante RDC ha supuesto un incremento en la concentración de calcio, cobre y sodio, pero un descenso en la concentración de potasio.

Por todo ello, estamos en condiciones de afirmar que mediante la realización de los tratamientos de RDC desarrollados en este Trabajo Fin de Master, somos capaces de obtener pistachos de mayor peso, mayor concentración de polifenoles y mayor puntuación en los descriptores básicos característicos de este producto que los pistachos obtenidos mediante un riego convencional; sin embargo, se obtuvo un menor número de pistachos comerciales. Esto supone poder otorgar un valor añadido al producto final, además de conllevar un coste menor de recursos económicos (gastos en agua y energía) y ambientales (ahorro de un recurso natural tan limitado como el agua) durante su cultivo.



- Allen R, Pereira LS, Raes D, Smith M. 1998. Crop evapotranspiration-guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper, No. 56, FAO, Rome.
- Arpaci S, Atli HS, Tekin H, Burak M. 2005. Studies of spring frost resistance of some pistachio (*Pistacia vera*) cultivars. Acta Hort, 726, 391-395.
- Begg JE, Turner NC. 1970. Water potential gradients in field tobacco. Plant Physiol, 46, 343-346.
- Behboudian MH, Mills TM. 1997. Deficit irrigation in deciduous orchards. Hort Rev, 21, 105-131.
- Behboudian MH, Marsal J, Girona J, López G. 2011. Quality and yield responses of deciduous fruits to reduced irrigation. Hort Rev, 38, 149-189.
- Benzie IFF y Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Anal Biochem, 239, 70-76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technol, 28, 25-30.
- Carbonell-Barrachina AA, Burló-Carbonell F, Mataix-Beneyto J. 1997. Effect of sodium arsenite and sodium chloride on bean plant nutrition macronutrients. J Plant Nutr, 20(11), 1617-1633.
- Carbonell-Barrachina AA, García E, Sánchez-Soriano J, Aracil P, Burló F. 2002. Effects of raw materials, ingredients and production lines on arsenic and copper concentrations in confectionery products. J Agric Food Chem, 50, 3738-3742.
- Carbonell-Barrachina AA, Memmi H, Noguera-Artiaga L, Gijón-López MC, Ciapa R, Pérez-López D. 2015. Quality attributes of pistachio nuts as affected by rootstock and deficit irrigation. J Sci Food Agr, <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7027> (in press).

- Couceiro JF, Guerrero J, Gijón MC. 2010. Cultivo ecológico de especies alternativas leñosas en secano (El pistachero). En: Agricultura Ecológica en Secano. Mundi-Prensa, Madrid.
- Couceiro JF, Guerrero J, Gijón MC, Pérez-López D, Moriana A, Rodríguez M. 2013. El Cultivo del Pistacho. Mundi-Prensa, Madrid.
- FAOSTAT. 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations database. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/S> [Visitada en junio de 2015].
- Ferguson L. 2005. Pistachio Production Manual, 4ª ed. L. Ferguson (Ed.). Fruit and Nut Research and Information Center, University of California, Davis, CA (USA).
- Galindo A, Noguera-Artiaga L, Cruz Z, Burló F, Hernández F, Torrecillas A, Carbonell-Barrachina AA. 2015. Sensory and physico-chemical quality attributes of jujube fruits as affected by crop load. LWT - Food Sci Technol, 63, 899-905.
- Gijón MC, Giménez C, Pérez-López D, Guerrero J, Couceiro JF, Moriana A. 2011. Water relation of Pistachio (*Pistacia vera* L.) as affected by phenological stage and water regimes. Sci Hort, 128, 415-422.
- Gijón MC. 2013. Relaciones Hídricas y Manejo del Riego en Pistachero (*Pistacia vera* L.). Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, Córdoba.
- Goldhamer DA, Phene BC, Beede R, Sherlin L, Mahan S, Rose D. 1987. Effects of sustained deficit irrigation on pistachio tree performance, pp. 61-66. En: Annual Report. Crop Year 1986-1987. California Pistachio Industry, Fresno, CA (USA).
- Goldhamer DA. 1995. Irrigation management, pp. 71-81. En: Pistachio Production Manual. L. Ferguson (Ed.). Fruit and Nut Research and Information Center, University of California, Davis, CA (USA).

- Goldhamer DA, Beede RH. 2004. Regulated deficit irrigation effects on yield, nut quality and water-use efficiency of mature pistachio trees. *J Hort Sci Bio*, 79, 538-545.
- Goldhamer DA, Michailides TJ, Salinas M, Doster MA, Beede RH. 2004. Using early season water stress to increase shell splitting at harvest, pp. 115-117. En: Annual Report. Crop Year 2003-2004. California Pistachio Industry, Fresno, CA (USA).
- Goldhamer DA, Beede RH, Michailides TJ, Salinas M, Doster MA. 2005. Effects of regulated deficit irrigation on shell splitting and nut quality at harvest (second year report), pp. 104-106. En: Annual Report. Crop Year 2004-2005. California Pistachio Industry, Fresno, CA (USA).
- Goldhamer DA, Beede RH, Michailides TJ, Salinas M, Doster MA. 2006. Effects of regulated deficit irrigation on the shell splitting and nut quality at harvest (third year report), pp. 104-105. En: Annual Report. Crop Year 2005-2006. California Pistachio Industry, Fresno, CA (USA).
- Grant OM. 2012. Understanding and exploiting the impact of drought stress in plant physiology. En: Abiotic stress response in plants: Metabolism, productivity and sustainability. (Ahmad, P. y Prasad M.N.V., Eds). Pp 89-104. Springer.
- Guerrero J, Gijón MC, Moriana A, Couceiro JF. 2006. Pistachio cultivation in Castilla-La Mancha: twenty years later. *Nucis*, 13, 41-45.
- Guerrero J, Couceiro JF, Moriana A, Gijón MC, Rivero A. 2007. El Pistachero (P. vera L.) en Castilla la Mancha. Comportamiento en secano de diferentes cultivares y portainjertos. *Actas Hort*, 48, 635-638.
- Guerrero J. 2011. Comportamiento varietal del pistachero (*Pistacia vera* L.) y respuesta agronómica del portainjerto autóctono *Pistacia terebinthus* L. en Castilla la Mancha. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.

- Heo H, Kim Y, Chung D, Kim D. 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chem*, 104, 87–92.
- Huang D, Ou B, Prior R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Sci Food Agr*, 53, 1841–1856.
- MAGRAMA. 2014. Anuario de estadística del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente: Superficies y producciones anuales de cultivos. <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/> [visitada en junio 2015].
- Majdi S, Barzegar M, Jabbari A, AghaAlikhani M. 2012. Supercritical fluid extraction of tobacco seed oil and its comparison with solvent extraction methods. *J Agr Sci Tech*, 14, 1043-1051.
- Michailides TJ. 2008. Above ground fungal diseases, pp. 233-255. En: Pistachio Production Manual. L. Ferguson (Ed.). Fruit and Nut Research and Information Center, University of California, Davis, CA (USA).
- Navarro P, Nicolas TS, Gabaldon JA, Mercader-Ros MT, Calín-Sánchez Á, Carbonell-Barrachina ÁA, Pérez-López AJ. 2011. Effects of cyclodextrin type on vitamin C, antioxidant activity, and sensory attributes of a mandarin juice enriched with pomegranate and goji berries. *J Food Sci*, 76, S319–S324.
- Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*, 27(1), 76–89.
- Re R, Pellegrini N, Preteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med*, 26, 121–37.
- Robichaux RH. 1984. Variation in the tissue water relations of two sympatric Hawaiian *Dubautia* species and their natural hybrid. *Oecologia (Berlin)* 65, 75-81.

- Robles-Sánchez RM, Islas-Osuna MA, Astiazaran-García H, Vázquez-Ortiz, FA, Martín-Belloso O, Gorinstein S, González-Aguilar GA. 2009. Quality index consumer acceptability, bioactive compounds, and antioxidant activity of freshcut ataulfo mangoes (*Mangifera indica* L.) as affected by low-temperature storage. *J Sci Food Agr*, 74, 126–134.
- Ruiz-Sánchez MC, Domingo R, Castel JR. 2010. Review. Deficit irrigation in fruit trees and vines in Spain. *Span J Agric Res*, 8(S2), S5-S20.
- Sánchez-Moreno C. 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Technol Int*, 8, 121–39.
- Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne J, Dommes J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chem*, 113, 1226–1233.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2011. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://ndb.nal.usda.gov> [Visitada en junio de 2015].



NOMBRE: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

	220	161	502	330	151	722	140	861	492
<b>APARIENCIA</b>									
Color (0: amarillo; 5: verde; 10: marrón)									
Tamaño									
<b>FLAVOR</b>									
Fruto seco global									
Pistacho									
Floral									
Salado									
Dulzor									
Amargo									
Astringente									
Amaderado									
Postgusto									
<b>TEXTURA</b>									
Dureza									
Crujibilidad									
Desmenuzabilidad									
Adherencia									