

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE
ELCHE**

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

**GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**



**Efecto del tratamiento pre-cosecha con Acido Acetil
Salicílico sobre el desarrollo y maduración de la
granada (*Punica granatum* cv. Mollar de Elche).**

**TRABAJO FIN DE GRADO
DICIEMBRE-2016**

Autor: Paula Senent García

Tutor: Fabián Guillén Arco



Resumen

En este trabajo de investigación se han aplicado distintas concentraciones de ácido acetil salicílico en pre-cosecha para estudiar su efecto en el momento de la recolección con el objeto de estudiar si este compuesto es capaz de mejorar tanto la producción como la calidad del fruto. Los resultados obtenidos mostraron que algunos de los tratamientos aplicados fueron efectivos a la hora de incrementar las producciones totales, así como distintos parámetros relacionados con la calidad de las granadas que inciden directamente en la aceptación por parte de los consumidores. Por tanto se proponen estos tratamientos como una herramienta eficaz y segura capaz de mejorar tanto el rendimiento en el momento de la cosecha como la calidad general de las granadas.

Palabras clave: Granada, Pre-cosecha, Recolección, Antioxidante, Salicilatos.

Abstract

In this research study, several concentrations of salicylic acetyl acid were applied in pre-harvest to study its effect at harvest. The aim of this research study was to elucidate if this compound is able to improve the global production and the final quality after harvest. Results obtained shown that some of the treatments applied were able to increase total productions as well as several parameters related with pomegranate quality directly related with consumers acceptance. For this reason and after study the results, this treatments are propose as an effective and safe tool to improve yield at harvest and the general quality of pomegranates.

Keywords: Pomegranate, Pre-harvest, Harvest, Antioxidant, Salicilates.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1. LA GRANADA.....	6
1.2. PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	8
1.3. TAXONOMÍA.....	58
1.4. BIOLOGÍA FLORAL.....	58
1.5. VARIEDADES DE GRANADA.....	59
1.6. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL.....	64
1.7. COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA GRANADA Y BENEFICIOS SOBRE LA SALUD	
66	
1.8. ASPECTOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DE LA GRANADA.....	68
1.8.1. FACTORES PRE-RECOLECCIÓN QUE AFECTAN LA CALIDAD.....	69
1.8.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS.....	70
1.8.3. FACTORES POST-RECOLECCIÓN.....	70
1.8.4. ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN Y DAÑOS POR FRÍO.....	71
1.9. INDUSTRIALIZACIÓN DE LA GRANADA.....	72
1.9.2. APLICACIÓN DE SALICILATOS.....	77
1.9.3. CONSIDERACIONES RELEVANTES EN LA INDUSTRIALIZACIÓN DE LA	
GRANADA.....	83
2. OBJETIVOS.....	84
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	85
3.1. MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	85
3.2. DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	86
3.2.1. TASA DE RESPIRACIÓN.....	86
3.2.2. ETILENO.....	87
3.2.3. PESO DEL FRUTO.....	88
3.2.4. COLOR.....	88
3.2.5. TEXTURA.....	89
3.2.6. HOMOGENEIZACIÓN DE MUESTRAS.....	89
3.2.7. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES.....	89
3.2.8. ACIDEZ TITULABLE.....	90
3.2.9. FENOLES TOTALES.....	90

3.2.10.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL	91
3.2.11.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	91
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	92
4.1.	DIÁMETRO DE LAS GRANADAS EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.....	92
4.2.	NÚMERO DE FRUTOS POR ÁRBOL EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.	93
4.3.	PESO TOTAL DE LAS GRANADAS POR ÁRBOL EXPERIMENTAL.	94
4.4.	RESPIRACIÓN DEL FRUTO EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.	95
4.5.	PRODUCCIÓN DE ETILENO EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.....	96
4.6.	COLOR DE LAS GRANADAS.....	97
4.7.	FIRMEZA DE LOS FRUTOS.....	98
4.8.	SÓLIDOS SOLUBLES, ACIDEZ TITULABLE E ÍNDICE DE MADUREZ.	99
4.9.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT)	101
5.	CONCLUSIONES.....	103
6.	BIBLIOGRAFÍA	104



1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA GRANADA

La granada (*Punica granatum* L.) es el fruto del árbol llamado granado, perteneciente a la familia de las Punicáceas. Es un pequeño árbol que apenas supera los seis metros (4-6m), caducifolio y muy resistente a condiciones de sequía. Sus flores hermafroditas son anaranjadas casi escarlatas, muy grandes y vistosas (Fotografía 1).

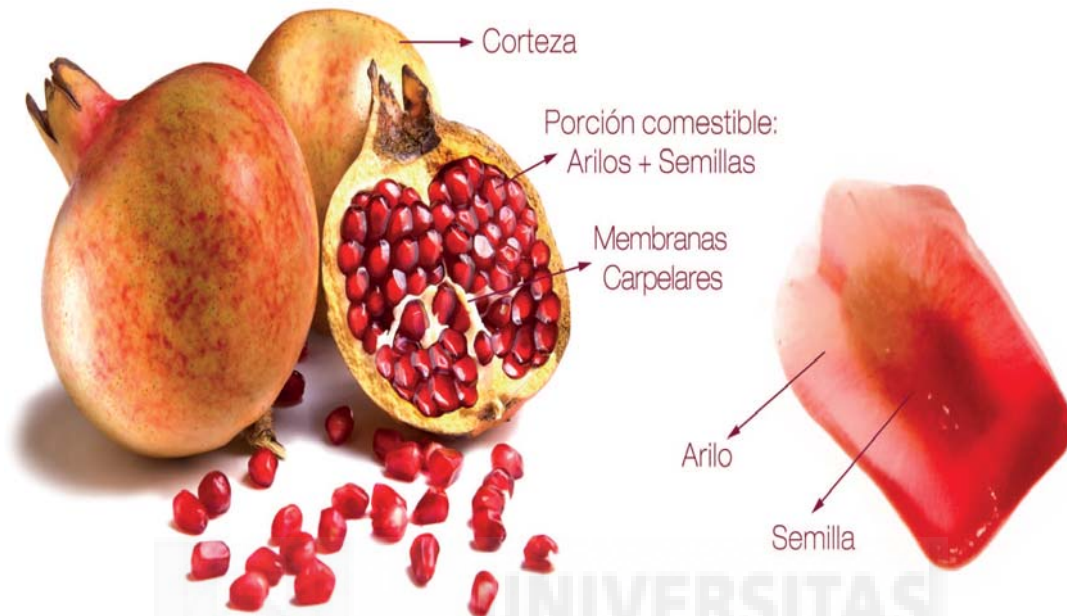


Fotografía 1: *Flor del granado.*

Fuente: *Database plants. The national gardening association.*

Las mejores granadas son aquellas que presentan un color rojo a rojo intenso y sin grietas ni roturas. Las que son pequeñas normalmente están secas, leñosas y acres. El fruto tiene diversas partes (Fotografía 2): una corteza coriácea cuyo color puede variar de amarillo-verdoso a rojo intenso, las semillas rodeadas de una pulpa jugosa de color rojo, rosa o blanco amarillento, dulce y jugosa (arilos) corresponden a la parte comestible y están separados por una membrana blanca y astringente. La pulpa es astringente, de sabor ácido, aunque las nuevas variedades introducidas para la comercialización poseen un sabor más dulce. El albedo es la sustancia blanca y carnosa que se halla directamente bajo la piel de una granada. La parte externa debe de estar

bien lisa y brillante, exenta de marcas. El fruto se abre espontáneamente al llegar a la madurez.



Fotografía 2: Partes de la granada.

Fuente: *Granatum plus. La fruta granada cultivada en España.*

La fruta de la granada ha sido utilizada como medicamento por muchas civilizaciones y ha sido descrita como símbolo religioso en diferentes mitologías y religiones desde hace siglos (Tabla 1).

Tabla 1. Creencias de distintas mitologías y religiones acerca de la granada.

Mitología/ Religión	Documento	Simbología
Mitología griega	Leyenda de perséfone	Símbolo de regeneración y vida
Mitología persa	Leyenda de isfandiyar	Símbolo de invencible
Judaísmo	Biblia	Símbolo de santidad y fertilidad
Budismo	Regalo de boda	Símbolo de fertilidad y abundancia
Islam	Corán	Fruta del paraíso

Cristianismo	Biblia	Símbolo de resurrección y vida eterna
--------------	--------	---------------------------------------

Fuente: *Diccionario de los Jeroglíficos, D. Claudio González Zúnga.*

La granada es un fruto no climatérico (Tabla 2). Un fruto climatérico es aquel que es capaz de seguir madurando incluso después de haber sido recolectada. Esto es debido fundamentalmente a que este tipo de frutos, independientemente de que ya no estén en la planta, aumentan su tasa de respiración (crisis climatérica) y su producción de etileno, principal hormona responsable del proceso de maduración y envejecimiento del fruto. Sin embargo, los frutos no climatéricos son aquellos en los que la maduración no está controlada hormonalmente por el etileno. No presentan ni crisis climatéricas ni modificaciones fisiológicas después de la recolección.

Tabla 2. *Frutos climatéricos y no climatéricos.*

Climatéricas (Frutas que producen etileno)	No climatéricas (Frutas que no producen etileno)
Manzanas, peras, membrillos	Cerezas, moras, fresas
Albaricoques, nectarinas, duraznos	Berenjenas, pepinillos, pimientos
Mangos, aguacates, bananas	Limonas, naranjas, mandarinas
Tomates, chicozapote	Sandías, melones
Melón cantalupo, maracuyá	Uvas, lichis, nísperos

Fuente: *FAO/OMS, 2011*

1.2. PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA ECONÓMICA

La Granada (*Punica granatum*, *Punicaceae*) es una fruta típica de muchos países tropicales y subtropicales, incluyendo casi todos los países del Mediterráneo. El consumo de granadas en el mundo está aumentando a un ritmo acelerado en los últimos años a causa del creciente interés por los efectos beneficiosos para la salud y a su marcada actividad antioxidante. La producción mundial de granada se estima en 1,5 millones de toneladas, siendo los principales países productores Irán, India, China, EE

UU y Turquía con 600.000, 500.000, 260.000, 100.000 y 80.000 toneladas respectivamente. Según los datos del Anuario de Estadística Agraria (MAPAMA, 2012), en 2008 en España había plantadas 2.387 hectáreas de granado, de las cuales el 84,4% se concentraba en la provincia de Alicante, concretamente en las comarcas del Bajo Vinalopó y el Bajo Segura. Si realizamos una valoración estimativa de las plantaciones realizadas en los últimos años, en la actualidad hay plantadas más de 3.000 hectáreas de granado, con una producción superior a 40.000 toneladas. China-India son grandes productores, pero casi todo es consumo interno. España es el principal exportador europeo, con un volumen en torno al 50% sobre la producción nacional, y cuyo destino por orden de importancia es Alemania, Inglaterra, Holanda, Francia e Italia.

El cultivo de granado ha variado a lo largo de los años. Como se puede ver en la figura 1, en el año 2002 hay un máximo de superficie total de granado pero a partir del año 2002, el cultivo del granado ha ido descendiendo a lo largo de los años hasta el año 2009 momento en el cual comienza a aumentar de forma importante su producción.

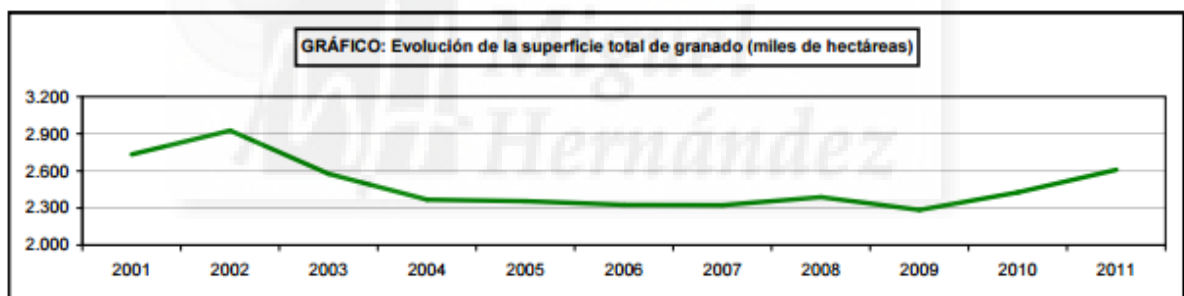


Figura 1. Evolución de la superficie total de granado (miles de hectáreas).

Fuente: MAPAMA, 2016.

Al igual que ocurría con la superficie total cultivada de granado en la producción de granado también sucede lo mismo (Figura 2).

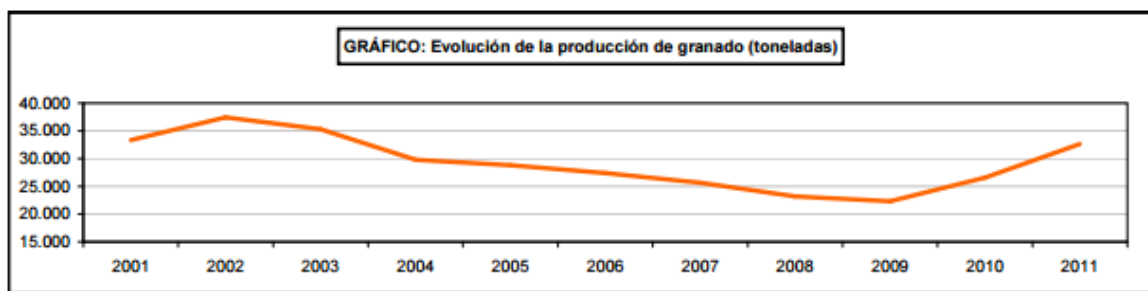


Figura 2. Evolución de la producción de granado (toneladas).

Fuente: MAPAMA, 2016.

Respecto al valor del granado podemos ver como alcanza un máximo en el año 2010 (Figura 3), lo que indica un aumento en la superficie total cultivada, pero como podemos observar el valor del granado se ha mantenido constante.

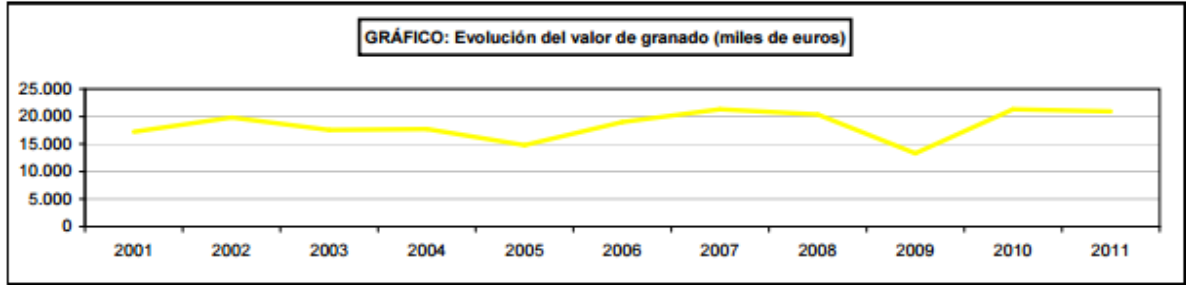


Figura 3. Evolución de la superficie total de granado (miles de hectáreas).

Fuente: MAPAMA, 2016.

comunidad valencia la mayor producción se halla en alicante seguida por valencia y Castellón. Respecto a Andalucía la provincia de mayor producción es Málaga seguida de Almería.

Tabla 3. Análisis provincial de superficie, árboles diseminados, rendimiento y producción, 2011.

Provincias y Comunidades Autónomas	Superficie en plantación regular (hectáreas)					Árboles diseminados (número)	Rendimiento			Producción (toneladas)		
	Total		En producción				Superficie en producción (kg/ha)		Árboles diseminados (kg/árbol)	En plantación regular	Árboles diseminados	Producción Total
	Secano	Regadío	Total	Secano	Regadío		Secano	Regadío				
Barcelona	-	-	-	-	-	237	-	-	6	-	1	1
Tarragona	1	1	2	1	1	869	2.000	4.000	10	6	9	15
CATALUÑA	1	1	2	1	1	1.106	2.000	4.000	9	6	10	16
BALEARES	-	2	2	-	2	1.500	-	8.700	14	17	21	38
Ávila	-	-	-	-	-	64	-	-	32	-	2	2
Palencia	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-
CASTILLA Y LEÓN	-	-	-	-	-	70	-	-	29	-	2	2
MADRID	-	-	-	-	-	146	-	-	3	-	-	-
Albacete	-	-	-	-	-	248	-	-	15	-	4	4
Ciudad Real	-	-	-	-	-	612	-	-	-	-	-	-
CASTILLA-LA MANCHA	-	-	-	-	-	860	-	-	4	-	4	4
Alicante	-	2.029	2.029	-	1.948	1.500	-	15.800	10	30.778	16	30.794
Castellón	-	3	3	-	3	-	-	3.000	-	9	-	9
Valencia	4	94	98	3	15	-	2.000	13.500	-	209	-	209
C. VALENCIANA	4	2.126	2.130	3	1.966	1.500	2.000	15.763	10	30.996	16	31.012
R. DE MURCIA	-	180	180	-	102	-	-	3.250	-	332	-	332
Badajoz	-	25	25	-	-	900	-	-	11	-	10	10
Cáceres	-	-	-	-	-	900	-	-	11	-	10	10
EXTREMADURA	-	25	25	-	-	1.800	-	-	11	-	20	20
Almería	-	24	24	-	24	-	-	10.500	-	252	-	252
Cádiz	-	27	27	-	26	-	-	1.300	-	34	-	34
Córdoba	34	21	55	26	20	-	1.500	5.850	-	156	-	156
Granada	5	15	20	-	13	-	-	14.000	-	182	-	182
Jaén	3	2	5	3	2	4.999	1.000	4.000	-	11	-	11
Málaga	17	66	83	12	64	-	2.000	6.600	-	446	-	446
Sevilla	5	25	30	5	15	-	1.850	5.850	-	97	-	97
ANDALUCÍA	64	180	244	46	164	4.999	1.636	6.725	-	1.178	-	1.178
Las Palmas	-	-	-	-	-	1.945	-	-	2	-	3	3
S.C. de Tenerife	-	27	27	-	-	745	-	-	2	-	1	1
CANARIAS	-	27	27	-	-	2.690	-	-	2	-	4	4
ESPAÑA	69	2.541	2.610	50	2.236	14.771	1.665	14.517	6	32.528	78	32.606

Fuente: MAPAMA, 2016.

1.3. TAXONOMÍA

La granada pertenece a la familia *Punicaceae* que tiene un solo género *Punica* y dos especies *P. protopunica* Balf. Se encuentra en Socotra (Yemen) y la cultivada *P. granatum* L. Según Smith (1976), *P. granatum*. tiene $2n=2x = 16, 18$ cromosomas. La especie *granatum* tiene dos subespecies *Chlorocarpa* y *Prophyrocarpa*. La más antigua se encuentra en la región de Transcaucasus mientras que la última se encuentra en Asia central (Patil y Karale, 1990). Los granados son arbustos grandes o árboles pequeños. La granada enana (*P. granatum* L. var. *nana*) es una variedad en miniatura de granado más conveniente para la producción de planta de pote.

1.4. BIOLOGÍA FLORAL

En el clima tropical, la granada florece casi en todas las épocas del año, mientras que en zonas subtropicales florece una vez al año. En áreas con temperaturas bajas en invierno el árbol es de hoja caduca, pero en condiciones tropicales es impercedero o parcialmente de hoja caduca. Bajo condiciones tropicales el brote de la flor ocurre en varios momentos. 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). Así 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). Varios rubores distintos en el mismo árbol ocurren absolutamente con frecuencia.

Las flores son cortos pedúnculos sensibles. Las flores hermafroditas y masculinas, así como formas intermedias, ocurren en el mismo árbol de la granada. El cáliz de las hermafroditas tiene forma de jarra con un ovario amplio bien desarrollado. Las flores masculinas son más pequeñas, con un cáliz acampanado y un ovario rudimentario. Las formas intermedias exhiben varios grados de degeneración del ovario. La fruta que aparece de estas flores cae temprano, o si maduran y les falta formación (Ray, 2002). 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).

1.5. VARIEDADES DE GRANADA

Las variedades se clasifican (Tabla 4) en: dulces, agridulces o agrias y los índices valorables: acidez e índice de madurez (SS/A), el índice de madurez nos sirve para saber el momento de recolección.

Tabla 4. *Clasificación de las variedades de granada.*

	IM (ss/a)	FB	Acidez
Variedades dulces	60-80	4-9	0,15-0,48
Variedades agridulces	20-25	9-15	0,48-0,091
Variedades agrias	6-10	15-20	0,91->3
Wonderfull	7-12	17-21	2-3

Fuente: <http://cultivodelgranado.es>

No podemos hablar de variedades propiamente dichas sino de variedades poblacionales, que presentan varios genotipos de diferente aspecto que son la base de identificación varietal. A continuación se procederá a analizar las variedades de granada que se citan en la literatura:

Tabla 5. Resumen de las características principales de variedades de granada que se indican como relevantes en la literatura.

Cultivo	Tamaño de la fruta(g)	Rasgos	Origen	Referencia
Alandi (o Vadki)		Arilos de color rosado intenso y semillas muy duras, dulce / agrio	India	Morton, 1987
Asinar	505	Fruto grande, arilos rojos, dulce / agrio, semillas blandas	Turquía	Gozlekci & Kaynak, 1997
Borde de Albaterra	370	Arilos de color rojo oscuro con fuerte semillas, ácido amargo, de alta	España	Amoros et al., 2000
Dholka		Grande, la corteza es de color amarillo-rojo, arilos blancos y semillas duras, dulce	India	Morton, 1987
Early Foothill		Arilos de color rojo oscuro, semillas de dureza media, dulce / agrio	USA, 2-4 semanas antes que la 'Wonderful'	LaRue, 1980
Early Wonderful		Arilos de color rojo oscuro, Semillas semiduras, dulce / agrio	2 semanas antes que la 'Wonderful'	California Rare Fruit Growers, 1997
Eversweet		Arilos de color rosa, semillas suave, dulce, incluso cuando esta inmaduro	USA	Dave Wilson Nursery, 2005; Karp, 2006
Golden Globe	Muy larga	Arilos de color rosa a rojo, suave, semillas pequeñas, dulce	USA	Karp, 2006
Granada		Arilos de color rojo oscuro, semillas semiduras, dulce / agrio	EE.UU., 1 mes anterior a 'Wonderful'	California Rare Fruit Growers, 1997

Hicaznar		Piel Rojo oscura, arilos rojos, dulce / agrio	Turquía	Gozlekci and Kaynak, 1997
Katirbasi	517	Fruto grande, arilos rojos grandes, dulce / agrio	Turquía	Gozlekci and Kaynak, 1997
Mollar de Elche 15	272	De color rojo oscuro con semillas suave , dulce, acidez baja	España	Amoros et aL, 2000
Mollar de Orihuela	414	Arilos de color rosa suave con semillas suaves, dulce, acidez baja	España	Amoros et aL, 2000
Piñón Tierno de Ojos 9	405	Arilos de color rosa suave con semillas suaves, dulce, acidez baja	España	Amoros et aL, 2000
Valenciana		Temprano, pequeño pero no de calidad superior	España	Costa and Melgarejo, 2000
Wonderful		Arilos de color rojo oscuro, semillas de dureza media(que podríamos llamar medio-blando), dulce / agrio	USA	Morton, 1987

Fuente: USDA/ARS, 2007

Como se puede ver, las variedades son numerosas. A continuación veremos algunas imágenes de las variedades más importantes cultivadas en España:

- Mollar de Elche:



Fotografía 3: Granada mollar de elche entera y partida.

Fuente: <http://granadaselche.com>

La granada ha sido tradicionalmente un fruto valorado y admirado en numerosas civilizaciones. Los granados, junto con las palmeras, son los árboles más característicos del Campo de Elche. Además, se conocen desde tiempo inmemorial. En España, la granada Mollar de Elche (Fotografía 3) es la más popular, destacando por encima del resto de variedades y siendo sin duda alguna la más cultivada en España.

El producto se encuentra amparado por la DOP “Granada Mollar de Elche”/“Granada de Elche”. Según se encuentra definido en la Norma del Códex para la granada, es el fruto de la especie *Punica granatum* L., que procede de la variedad Mollar, de las categorías Extra y I.

El fruto tiene forma redonda, dividida interiormente en varios lóbulos, dentro de los cuales se encuentran las semillas (arilos). Corteza fina a media, lisa y brillante.

Se caracteriza por su equilibrio entre acidez y azúcares, por tener una coloración exterior del amarillo crema al rojo y por la composición antociánica de los arilos que le proporciona del color rosa intenso al rojo.

- Wonderful:



Fotografía 4: *Árbol de granado wonderful.* **Fotografía 5:** *Granada wonderful.*

Fuente: <http://cultivodelgranando.es>

El cultivo de la granada 'Wonderful' (Fotografía 4) fue descubierto en Florida y llevado a California en 1896. Esta es la variedad principal de comercio en los Estados Unidos. También se cultiva en Europa Occidental, Israel y Chile (Sepúlveda et al., 2000). Las granadas 'Wonderful' (Fotografía 5) tienen un tamaño grande, de color rojo y apariencia brillante de corteza medianamente gruesa, los arilos son pequeños y de color rojo-púrpura intenso debido a su elevado contenido en antocianinas, por lo que es una buena variedad tanto para consumo fresco como para ser procesada.. Presenta un buen rendimiento de jugo, con alto contenido en sólidos solubles y elevada acidez Muchos amantes de la granada lo consideran entre los cultivares de mejor sabor (Karp, 2006). 'Wonderful' es casi ideal para el prensado, con un porcentaje de jugo excelente, así como la calidad. También tiene una resistencia útil a la fruta grietas después de la lluvia en la fruta madura (Karp, 2006). Otros cultivares comerciales de Estados Unidos incluyen 'Granada' (a 'Wonderful' deporte), 'Wonderful temprana "(también un' Wonderful 'deporte), y' Foothill temprana".

1.6. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL

Alrededor del 50% del peso total de la fruta corresponde a la cáscara, que es una fuente importante de compuestos bioactivos tales como compuestos fenólicos, flavonoides, elagitaninos (ETS), y compuestos de proantocianidina (Li et al., 2006), minerales (Mirdehghan y Rahemi, 2007), y polisacáridos complejos (Jahfar et al., 2003). Variaciones significativas de ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, azúcares, vitaminas solubles en agua, y minerales de granadas han sido reportados por varios investigadores (Davidson et al, 2009;.. Tezcan et al, 2009). La parte comestible de la fruta de la granada se compone de arilos 40% y 10% de las semillas. Los arilos están compuestos aproximadamente de un 80% de zumo y 20% de semillas. El jugo de los arilos contiene 85% de agua, 10% de azúcares (glucosa, sacarosa y fructosa) (Melgarejo y Artes, 2000), y 1,5% de pectina, ácidos orgánicos (ácido cítrico, málico, tartárico, succínico, ácido fumárico, ascórbico) (Tezcan et al., 2009), ácidos grasos (es decir, ácido linoleico conjugado, ácido linoleico, ácido punícico y ácido eleosteárico) (Fadavi et al., 2006) y aminoácidos (prolina es decir, valina y metionina) (Seppi y Franciosi, 1980), y compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y flavonoides) (Dahham et al., 2010).

La composición química de la granada y sus productos depende de la variedad, región de cultivo y el clima, el estadio de la fruta de madurez, las prácticas culturales y sistemas de fabricación (Toor et al., 2006; Borochoy-Neori et al, 2009;.. Zarei et al, 2011).. Las tabla muestra la composición nutricional de la granada:

Tabla 6. Composición nutricional de la granada*.

NUTRIENTE	UNIDAD	VALOR POR 100g
Agua	g	77.93
Energía	Kcal	83
Energía	kJ	346
Proteína	g	1.67
Lípidos totales	g	1.17
Fibra total	g	4

Carbohidratos	g	18.70
Azúcares totales¹	g	13.67
Cenizas	g	0,53
MINERALES		
Calcio	mg	10
Hierro	mg	0,30
Magnesio	mg	12
Fosforo	mg	36
Potasio	mg	236
Sodio	mg	3
Zinc	mg	0,35
Cobre	mg	0.158
Manganeso	mg	0.119
Selenio	µg	0.5
VITAMINAS		
Vitamina C 1	mg	10.2
Tiamina 1	mg	0.067
Riboflavina 1	mg	0.053
Niacina 1	mg	0.293
Ácido pantoténico 1	mg	0.377
Vitamina B6 1	mg	0.075
Folato total 1	µg	38
Vitamina K	µg	16.4
Vitamina E(alfa-tocoferols)	mg	0.60
LÍPIDOS		
Ácidos grasos saturados totales	g	0.120
Ácidos grasos monoinsaturados totales	g	0.093
Ácidos grasos poliinsaturados totales	g	0.079

Fuente: United States Department of Agriculture, 2009

*Nota: La información nutricional de arriba es para fruta de la granada entera con un 44% de desperdicio (cáscara y membrana) para una variedad de granada 'Wonderful'.

1.7. COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA GRANADA Y BENEFICIOS SOBRE LA SALUD

Durante los últimos años ha habido un interés creciente en la búsqueda y caracterización de los antioxidantes naturales presentes en los alimentos, incluyendo la granada. Gran parte de los beneficios que se le achacan, vienen dados por su gran concentración en antioxidantes naturales; siendo los polifenoles unos de los grupos más estudiados en la actualidad. Dentro del grupo de los compuestos fenólicos coloreados, la granada se caracteriza por la presencia de 6 antocianos, derivados 3-glucósidos y 3,5 diglucósidos de delfinidina, cianidina y pelargonidina (García-Viguera et al., 2004).

En la granada, a parte de los azúcares, vitaminas y minerales, se han identificado más de 100 compuestos diferentes, entre los que destacan: ácidos orgánicos, flavonas, flavonoles, antocianos, alcaloides, esteroides, glucósidos, taninos, polifenoles varios y punicalaginas. Todas estas sustancias, típicas del metabolismo secundario del árbol, tienen la función de protegerlo frente agresiones y enfermedades externas como las parasitarias y microbianas, y aportar color y aroma característico a sus frutos. Muchas investigaciones han identificado que las punicalaginas y el ácido elálgico son elementos de relevancia en la actividad biológica de la granada.

Según la parte del árbol, raíz, corteza, flor, fruto o semillas, la concentración de estas sustancias puede variar. Tal y como muestra la tabla 7, determinadas partes de la planta son más ricas en taninos, como la corteza, raíz y las hojas, y otras son más ricas en antocianos, ácidos orgánicos y polifenoles, como la fruta.

La granada es una fuente rica de dos tipos de compuestos polifenólicos: antocianinas y taninos hidrolizables, que representan el 92% de la actividad antioxidante de la totalidad fruta (Gil et al., 2000). El contenido de polifenoles solubles en el jugo de granada varía entre 0,2 y 1,0% dependiendo de la variedad (Narr Ben et al., 1996). Las

semillas son una fuente rica de lípidos; de las cuales comprendía a 12% a 20% del peso total de la semilla y se caracteriza por un alto contenido de poliinsaturados (n-3) ácidos grasos tales como el linoléico, linoleico y otros lípidos, tales como ácido púnicico, ácido oleico, ácido esteárico y ácido palmítico (Ozgul-Yucel, 2005). Las semillas también contienen proteínas, fibras crudas, vitaminas, minerales, pectina, azúcares, polifenoles, isoflavonas (principalmente la genisteína), el fitoestrógeno coumestrol, y el esteroide sexual, estrona (Singh et al., 1990; Singh & Sethi, 2003; El-Nemwhitler et al, 2006;. Syed et al, 2007).

Tabla 7. Partes de la granada y sus constituyentes.

PARTE DE LA PLANTA	CONSTITUYENTES PRINCIPALES
PERICARPIO (PIEL + ARILOS)	Punicalaginas, compuestos fenólicos, ácido gálico y otros ácidos grasos, catequizas, EGCG, quercetina, rutina, flavonoides, flavanonas y antocianidinas.
ACEITE DE SEMILLAS	95 % ácido púnicico, ácido elálgico, ácidos grasos, esteroides
ZUMO	Antocianos, glucosa, ácido ascórbico, ácido elálgico, ácido gálico, ácido cafeico, catequinas, EGCG, quercetina, rutina, minerales, aminoácidos.
EXTRACTO DE LAS HOJAS	Taninos (punicalina y punicalofina), glicósidos de flavonoides, incluido la luteolina y apigenina.
EXTRACTO DE LAS FLORES	Ácido gálico, ácido ursólico, triterpenoides, ácido asiático, ácido maslínico y otros constituyentes sin identificar
EXTRACTO DE LAS RAÍCES Y CORTEZA	Taninos (punicalina y punicalagina) y numerosos alcaloides

Fuente: *La granada.pdf*

Las Flores de la granada (Gulnar) contienen una variedad de metabolitos secundarios: i) polifenoles, incluyendo el ácido gálico (Huang et al, 2005b), ácido elálgico y etilo brevifolin-carboxilato de etilo (Wang et al, 2006), y ii) los ácidos triterpénicos que consisten de oleanólico, ursólico (Huang et al., 2005a), maslínico y asiático (Batta y Rangaswami, 1973). En la medicina popular la decocción de las flores se utiliza para detener el sangrado y las purgas (Sivarajan y Balachandran, 1994;. Jafri et al, 200).

Los polifenoles en flores de Granada tienen una fuerte actividad antioxidante (Oswa et al., 1987); el ácido elálgico tuvo un marcado efecto inhibitorio sobre la aparición

y el desarrollo de tumores en ratones (Boukharta et al., 1992), triterpenos muestran efectos antimutagénicas y anticancerígena (Ovesná et al., 2004).

Los Extractos de Granada posee diversas actividades biológicas: anticancerígena (Whitley et al., 2003; AFAQ et al., 2005), antibacteriano (Akiyama et al., 2001; Prashanth et al., 2001; Duman et al., 2009), antidiarreica (Das et al., 1999), antimicóticos (Dutta et al., 1998), antiulcer (Gharzouli et al., 1999), actividad antioxidante y capacidad de compactar radicales libres (Schubert et al., 1999; Aviram et al., 2000; Festa et al., 2001), fortalecimiento del sistema inmunológico (Lee et al., 2008), prevención de enfermedades del corazón (Johanningsmeier y Harris, 2011) y la fibrosis hepática (Thresiamma y Kuttan, 1996), y la inhibición de la peroxidación de lípidos, incluso a concentraciones más bajas que la vitamina E (Rosenblat et al., 2003). Todas estas actividades terapéuticas están relacionados con la presencia de "compuestos fenólicos, tales como el ácido gálico, ácido protocatechinic, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido cumárico, y catequina y taninos hidrolizables (tales como punicalina, pedunculagin, punicalagina, corilagin, casuarinin, punicacortein, granatin y ácido elágico), y antocianinas (delfinidina, cianidina y pelargonidina 3-glucósidos y 3,5 - diglucósidos) (Amakura et al, 2000; Noda et al, 2002; Poyrazoglu et al, 2002 ; Kulkarni y Aradya, 2005; Viuda-Martos et al, 2010).

1.8. ASPECTOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DE LA GRANADA

El término calidad implica el grado de excelencia de un producto o de su conveniencia para un uso particular. La calidad es un punto de vista humano que abarca muchas propiedades o características. La calidad del producto abarca las características sensoriales (aspecto, textura, gusto y aroma), los valores nutritivos, los componentes químicos, las propiedades mecánicas, las características funcionales y los defectos (Abbott, 1999).

El último objetivo de la producción, el manejo y la distribución de fruta y verdura fresca es satisfacer al consumidor. Se entiende generalmente que la satisfacción del consumidor está relacionada con la calidad del producto.

Mientras que el término calidad se ha definido de muchas maneras y contexto, hay poco acuerdo de qué es esto, cómo puede ser medido, y cómo se relaciona con la aceptabilidad de consumidor. La calidad se puede ver como la ausencia de defectos o grado de excelencia. La calidad de la fruta abarca tanto las cualidades sensoriales que son percibidas fácilmente por los sentidos humanos y las cualidades ocultas tales como la seguridad y la nutrición (Shewfelt, 1999). Shewfelt (1999) sugiere que la combinación de características del producto por sí mismo esté definida como calidad y que la opinión y la respuesta del consumidor a esas características estén definidas como aceptabilidad.

Las frutas y verduras son notoriamente variables, y la calidad de las piezas de individuales de fruta puede diferir en gran medida del promedio. Es esencial determinar estadísticamente el número de pedazos y el número de mediciones requeridas por pieza para alcanzar un muestreo significativo y representativo (Abbott, 1999). La calidad del producto según lo determinado por el último consumidor está afectada por los factores pre y post-recolección. La interacción entre solo las variables de pre y o post-recolección y como afecta a la calidad en general de los productos de la fruta serán descritos usando efectos climáticos y efectos de almacenaje como ejemplo.

1.8.1. FACTORES PRE-RECOLECCIÓN QUE AFECTAN LA CALIDAD

El aspecto y la calidad de frutas y verduras frescas es un primer criterio para tomar decisiones en nuestras compras. La apariencia del producto está caracterizada por el tamaño, la forma, el color, y la condición y ausencia de defectos. Una amplia gama de factores pre-recolección puede modular la calidad del producto cosechado. Éstos incluyen: 1) los factores biológicos (patológicos, entomológicos, animales); 2) factores fisiológicos (desórdenes fisiológicos, desequilibrio alimenticio, madurez); 3) factores ambientales/ culturales (p.ejemplo: clima, tiempo, suelos, relaciones del agua, intensidad

de luz); 4) daños mecánicos; 5) materia extraña (crecimiento medio, residuos químicos); y 6) variaciones y aberraciones genéticas (Kays, 1999).

1.8.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS.

El tamaño de unidades individuales de un producto puede afectar perceptiblemente la petición del consumidor, manejando prácticas, potencial de almacenaje, la selección de mercado y el uso final. El tamaño se puede determinar por uno de los tres medios generales: (1) dimensión (longitud, anchura, diámetro, o circunferencia); (2) peso: o (3) volumen.

1.8.3. FACTORES POST-RECOLECCIÓN

La calidad de una fruta fresca o de una verdura cambia desde que llega de la cosecha hasta que llega al consumidor. La importancia relativa de la calidad se atribuye a cambios desde la dirección hasta la compra del consumidor. Qué calidad depende entonces de la perspectiva del espectador. Un entendimiento de las diferentes perspectivas de diferentes participantes en la distribución post-recolección es esencial en cualquier tentativa de mejorar la calidad de una fruta fresca o de una verdura para el consumidor (Shewfelt, 1999). La susceptibilidad del producto cosechado fresco a desórdenes fisiológicos y al aumento de enfermedades post-recolección aumenta durante un almacenamiento prolongado, como resultado de los cambios fisiológicos que permiten al patógeno desarrollarse en el fruto (Eckert y Ogawa, 1988).

La respiración y producción de etileno, junto a los cambios de composición, la transpiración y pérdida de agua son los principales factores biológicos responsables de la pérdida de calidad post-cosecha de frutas y hortalizas.

Las consecuencias de la respiración post-cosecha son pérdidas en reservas alimenticias almacenadas en el fruto y la consiguiente disminución de valor alimenticio,

que afectan principalmente al dulzor, además de la pérdida de peso seco. La energía liberada durante la respiración afecta a las consideraciones tecnológicas post-cosecha (requerimientos de ventilación y refrigeración). Además, asociados a la maduración se producen en la pigmentación de frutas y hortalizas, cambios en carbohidratos, degradación de pectina, incremento del contenido de lignina, cambios en los ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos y lípidos que pueden influir en la calidad durante la post-cosecha.

1.8.4. ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN Y DAÑOS POR FRÍO

La temperatura de refrigeración es el factor por sí solo más importante que gobierna en la calidad post-recolección de frutas y verduras almacenadas. Enlentece el crecimiento microbiano, facilita el control de insectos, parásitos o procesos de modificación relacionados con la maduración, pero puede también causar daños por frío.

Los estudios sobre la conservación en cámara frigorífica de la granada han recibido poca atención, aunque esta fruta tiene un período extendido de cosecha y la refrigeración es el único método para ampliar su vida útil de la fruta fresca hasta 3 meses. Las granadas son susceptibles a daños por frío si se almacenan por más de dos meses a temperaturas por debajo de 5°C (Elyatem y Kadar, 1984). Una de las metas principales de la investigación sobre los daños por frío en materiales hortícolas es encontrar métodos eficaces para reducir lesiones inducidas por el frío. El producto fresco sensible al frío no puede recibir la ventaja completa de la conservación en cámara frigorífica, sino el deterioro de no ser refrigerado con rapidez. Si la tolerancia al frío en estos tejidos sensibles puede ser aumentada, o si el desarrollo de los síntomas de daños por frío puede ser retrasado, entonces sería factible almacenar estas materias a temperaturas más bajas para reducir la tasa de deterioración. Los síntomas potenciales de los daños por frío varían entre cosechas. Algunos de ellos se pueden manifestar internamente, mientras que la mayoría de ellos son externamente visibles y presentan diferente sintomatología. Los síntomas más comunes al frío son, la decoloración y el pardeamiento interno, la formación de las lesiones superficiales, el empapamiento de agua, la maduración anormal, y el decaimiento creciente. Esta variedad diferente de síntomas por frío muestra

que el problema de los daños por frío no es simple ya que los mecanismos implicados en estos síntomas pueden diferir entre materias (Lafuente et al., 2005). Los síntomas de daños por frío en la fruta de la granada incluyen: el pardeamiento de la cáscara, picaduras, descascarillado, sensibilidad más alta para el decaimiento y la decoloración y el pardeamiento interno de las semillas (Rahemi y Mirdehghan, 2003; Mirdehghan y Rahemi, 2004).

1.9. INDUSTRIALIZACIÓN DE LA GRANADA

La granada se consume principalmente como un alimento crudo debido a sus propiedades nutricionales deseables por lo que debe tener un aspecto deseable para el consumidor.

Los hábitos de alimentación humana han cambiado mucho en las últimas décadas. El actual ritmo de vida, con escaso tiempo para preparar comidas equilibradas, ha provocado la demanda de productos vegetales naturales, frescos, saludables y dispuestos para consumir, como productos mínimamente procesados, denominados comercialmente "cuarta gama" de la alimentación. Así, la oferta de productos de cuarta gama ha aumentado notablemente en los países industrializados, siendo muy competitivos y aportando nuevos productos y desarrollando nuevas tecnologías emergentes y sostenibles para garantizar la calidad nutricional y sensorial y la seguridad alimentaria. Económicamente la granada es muy importante en la producción de jugo, vino, mermeladas, cosméticos, etcétera. En la Fotografía 6, se muestran algunos de los productos de la granada.



Fotografía 6: *Productos industriales elaborados con granada.*

La problemática de la granada en cuanto a consumo crudo es que es sensible a distintas fisiopatías que dan lugar a un aspecto no deseable:

- Las quemaduras solares: Son originadas por una exposición directa del fruto al sol. Se caracteriza porque la cáscara se reseca, produciendo pequeñas grietas que le dan apariencia de acorchado; la zona más expuesta al sol, resulta ser la más dañada, la cual toma un color marrón hasta negro, como si estuviera quemada.



Fotografía 7: *Granada con quemadura solar.*

Fuente: <http://cultivodelgranado.es>

-Agrietamiento: Es un desorden fisiológico que se inicia con la presencia de grietas que abren el fruto dejando ver los granos, ocasiona una gradual decoloración de éstos y representa una entrada fácil de hongos y plagas. Se cree que puede deberse a tres

factores que pueden interactuar para provocar el daño: susceptibilidad varietal, desbalances hídricos y nutricionales en el fruto y en el suelo durante la época de crecimiento, como lluvias fuertes, sometimiento de la planta a sequías largas, seguidas de riegos pesados, y deficiencias de calcio, boro o potasio



Fotografía 8: *Granada agrietada.*

Fuente: <http://cultivodelgranado.es>

-Contusiones o cortes en la cáscara, así como al daño por frío (tal como picaduras y pardeamiento superficial de la cáscara) cuando se almacena a temperaturas inferiores a 5 ° C (Artes et al., 1996; Artes et al., 2000).



Fotografía 9: *Granada con rozaduras.*

Fuente: <http://cultivodelgranado.es>

Por lo general, estos defectos externos provocan el rechazo por parte de los consumidores aunque posea una excelente calidad interna, de forma que se destinan estas granadas para uso industrial o consumo animal. Por lo tanto, el procesamiento mínimo en fresco de las granadas externamente dañadas podría ser una excelente manera de obtener un beneficio comercial a partir de granadas abandonadas, inaceptable para fresco comercialización y consumo.

Otro de los factores que propician que el consumo de granadas no sea muy generalizado es debido principalmente a la dificultad de extraer los arilos. Por esta razón, el procesamiento mínimo en fresco de granadas para obtener listos para el consumo arilos, con intactas las propiedades sensoriales y nutricionales, representa una posibilidad real de aumentar la producción y el consumo de granadas (Artes et al, 1995;. Gil et al., 1996a).

El procesamiento mínimo consiste en el lavado con agentes sanitizantes para reducir el recuento microbiano inicial, modificaciones de pH, uso de agentes antioxidantes, control de temperatura y otros, para controlar parcialmente la alta perecibilidad de los frutos. Por otro lado, el uso de envases de película polimérica con el fin de desarrollar una atmósfera microcontrolado, reduce la intensidad respiratoria y mantiene condiciones desfavorables para la acción de muchos microorganismos contaminantes.

Las investigaciones realizadas en España por Gil et al., (1996a, b) sobre la granada mínimamente procesada, muestran un oscurecimiento producido por la oxidación de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento, lo que indica que la estabilización de los pigmentos de los antocianos, es esencial con el fin de conseguir una buena calidad. Gil et al., (1996b) realizó investigaciones en los arilos de granada de la variedad Mollar, dichos arilos se lavaron con agua clorada y solución antioxidante, envasado en película de polietileno y se almacenaron a 1 ° C, los resultados mostraron que los arilos mantenían una buena calidad y apariencia en durante 7 días, sin ataque visible de mohos. Hess-Pierce y Kader (1997) llegó a la conclusión de que es posible con maravillosos arilos de granada para llegar a 16 días a 5 ° C con 20% de la composición del gas de CO₂, sin

cambios en las características físicas y químicas de los frutos, los arilos con daño mecánico presentan una mayor susceptibilidad a los moldes después de 12 días.

1.9.1. ENVASADO EN ATMOSFERA MODIFICADA

Respecto al envasado en atmósfera modificada (MAP) ha sido utilizado con éxito para alargar la vida útil de los arilos mínimamente procesados frescos (Artes et al, 1995; Gil et al, 1996a, b; Villaescusa et al, 2000). Además, los nuevos métodos de desinfección se han aplicado recientemente como alternativa o en combinación con el uso convencional de cloro, en el procesamiento mínimo de frutas y hortalizas frescas. La luz ultravioleta germicida a una longitud de onda de 200-280 nm (UV-C) se ha propuesto para la desinfección de la superficie de fresco mínimamente procesados o listos para comer frutas y hortalizas (Erkan et al, 2001;. Marquenie et al, 2002;. Allende y Artes, 2003a, b; Yaun et al, 2004).

Otros estudios realizados sobre la granada 'Wonderful', en los que se almacenó en aire enriquecido con 10 o 20% de CO₂, mostraron que el color de las semillas almacenadas en aire se incrementó durante el almacenamiento refrigerado (10 ° C, 6 semanas), mientras que la pigmentación de la semilla fue menos intensa en los granadas de CO₂ almacenadas en un 10%, e incluso disminuyó en los frutos almacenados a 20% de CO₂. Este aumento de la pigmentación de las semillas se correlacionó bien con la actividad PAL de semillas de granada, una enzima clave del metabolismo fenólico (Holcroft et al., 1998). Sin embargo, estos autores encontraron que el almacenamiento en atmósferas con una composición moderada de CO₂ (10%), prolongó la vida de almacenamiento de granadas y se mantiene la calidad original, incluyendo un color de semilla adecuada.

1.9.2. APLICACIÓN DE SALICILATOS

Existen diversos tratamientos post-cosecha con efectos beneficiosos para los productos vegetales frescos que afectan a los procesos de maduración y su fisiología. Los consumidores, cada vez más, demandan métodos de conservación de alimentos con ausencia de residuos químicos o pesticidas, y por tanto, existe un creciente interés en el uso de compuestos naturales. Estudios recientes han mostrado que el uso de moléculas señal, tales como los salicilatos, pueden ser introducidos como potentes alternativos a los químicos.

El ácido salicílico o ácido 2-hidroxibenzoico (AS) y otros compuesto srelacionados, los salicilatos, han sido utilizados en medicina desde la antigüedad. En1828 Johann Buchner aisló por primera vez una pequeña cantidad de salicina, y fue en1838 cuando Raffaele Piria llamó a este compuesto ácido salicílico, nombre derivado de la palabra latina *Salix*, el árbol de cuya corteza fue aislado por primera vez, corteza que se usaba para curar la fiebre de los pantanos. En 1874 se inició la producción comercial de AS en Alemania (Raskin, 1992a; b), mientras que la Aspirina (ácido acetilsalicílico), un análogo cercano al AS, fue introducido por “Bayer Company” en 1898, convirtiéndose en el primer medicamento anti-inflamatorio más extensamente usado durante años.

El AS es un regulador endógeno del crecimiento de las plantas de naturaleza fenólica que posee un anillo aromático con un grupo hidróxilo o un derivado funcional.

Ya fue al principio de los años 90, cuando un estudio exhaustivo en hojas y estructuras reproductivas de diferentes especies, confirmó la distribución ubicua del AS en el reino vegetal y fue cuantificado en 36 plantas pertenecientes a diversos grupos (Raskin et al., 1990).

A principios de 1960, se sugirió que el ácido salicílico en plantas se sintetizaba a partir del ácido cinámico por dos posibles rutas biosintéticas. Una vía implica la

descarboxilación de la cadena lateral de ácido cinámico para formar ácido benzoico, que a su vez sufre 2 hidroxilaciones para formar ácido salicílico, como se publicó para la planta del tabaco y el arroz. La otra vía propuesta invierte los pasos e implica 2 hidroxilaciones de ácido cinámico a ácido o-cumárico que después se descarboxila dando lugar a ácido salicílico. Dos enzimas clave están involucradas en la síntesis y metabolismo del AS: ácido benzoico 2-hidrolasa, que convierte el ácido benzoico en AS, y AS-glucosiltransferasa, que cataliza la conversión de AS hasta AS-glucósido (Yalpani et al., 1993; Silverman et al., 1995).

Estudios más recientes han propuesto otra ruta (Figura 1), la del ácido siquímico, basándose en estudios realizados en *Arabidopsis*. Se han propuesto dos caminos de síntesis a partir del corismato, un producto de la vía del ácido siquímico.



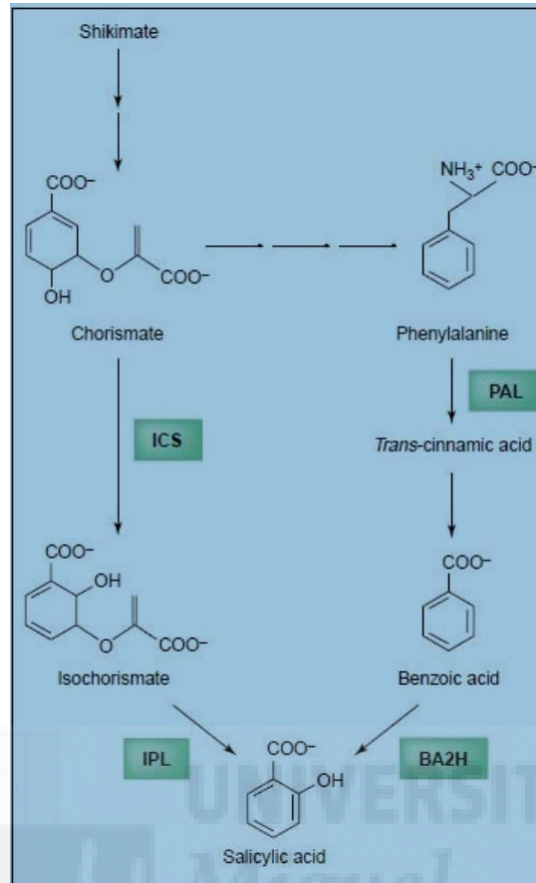


Fig. 1. Ruta metabólica propuesta para la biosíntesis de AS en plantas. Reproducido de (Sharon-Asa, 2003).

Una ruta es a través del isocorismato sintasa (ICS) en los cloroplastos, la cual se cree que es responsable de más del 90 % del AS sintetizado durante la activación de las respuestas de estrés y es responsable de proporcionar resistencia local y RSA (Wildermuth, et al., 2001). La otra ruta está mediada por la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) en el citoplasma que convierte la fenilalanina en ácido cinámico, que se transforma en ácido benzoico o ácido o-cumárico, que son los precursores de AS (Sharon-Asa, 2003).

El AS tiene la propiedad de formar conjugados con diversas moléculas por diferentes vías: glucosilación o esterificación (Popova et al., 1997), metilación, conjugación de aminoácidos, sulfonación, hidroxilación, etc., pero la mayoría de ellos no

son compuestos activos. La mayoría del AS sintetizado se convierte y es almacenado como derivados biológicamente inactivos ya que la acumulación de AS tiene consecuencias fisiológicas adversas (Heidel et al., 2004). La mayoría del AS producido en las plantas es glucosilado (SAG) y se cree que es la principal forma de almacenamiento con el potencial de ser convertido de nuevo en AS mediante reacciones enzimáticas catalizadas por la enzima AS β -glucosidasa (Lee et al., 1998; 1999).

Las primeras evidencias del papel hormonal del AS como se deben a Cleland y Ajami (1974) quienes descubrieron su capacidad de inducir la floración en *Lemna gibba* G3 y *Xanthium strumarium* L. Posteriormente, se descubrió que el AAS en plantas de tabaco, aumentaba su resistencia contra el virus del mosaico del tabaco (White et al., 1979; Antoniow, 1980). Además, se observó un efecto inhibitorio en la biosíntesis de etileno en láminas del mesocarpo de manzana (Romani et al., 1989) y en cultivos celulares de peras, mediante el bloqueo de la conversión de ACC a etileno (Leslie y Romani, 1986). El AS ha sido descrito como un compuesto efectivo, no tóxico e inhibidor reversible de la biosíntesis de etileno a concentraciones comparables con aquellas encontradas en algunos tejidos vegetales (Raskin 1992b).

Así pues, desde el año 1992, el **ácido salicílico** (AS) se considera una potente hormona vegetal (Raskin et al., 1992a), que juega un papel importante en la regulación de una gran variedad de procesos fisiológicos durante el crecimiento y desarrollo de la planta, en la interacción de la planta con otros microorganismos y en su respuesta a distintos tipos de estrés, tanto bióticos como abióticos (Raskin, 1992a, b; Yalpani et al., 1994; Popova et al., 1997; Senaratna et al., 2000). Entre sus efectos fisiológicos destacan estimular la germinación de semillas, el crecimiento del fruto, la glicólisis, la floración en plantas termogénicas (Klessing y Malamy, 1994), la captación y transporte de iones (Harper y Balke, 1981), la tasa fotosintética, la conductancia estomática y la transpiración (Khan et al., 2003). No obstante, el efecto más característico del AS es la inducción de la resistencia sistémica adquirida (RSA), que participa en la resistencia a enfermedades locales y endémicas en las plantas, activando los sistemas de defensa en los tejidos

infectados. Además el AS sintetizado como respuesta a la infección se transporta por el floema a otras partes sanas de la planta y en ellas también estimula los sistemas de defensa, protegiendo así a toda la planta de futuras infecciones después del ataque patógeno inicial (Enyedi et al., 1992; Alvarez, 2000; Beckers et al., 2006). Por otro lado, el AS modula la respuesta de las plantas frente a varios tipos de estrés abiótico, tales como luz UV, sequía, salinidad, daños mecánicos, estrés por frío y shock térmico (Ding et al., 2001; Ding y Wang, 2003).

El **ácido acetyl salicílico** (AAS), es un análogo al ácido salicílico, en el que se transforma espontáneamente al hidrolizarse. Por otro lado, el **salicilato de metilo** (SaMe) es un derivado metilado, que es también una forma inactiva pero al ser volátil, puede fácilmente difundir a través de las membranas y actúa como una molécula señal volátil a larga distancia. Así, el salicilato de metilo (SaMe) se sintetiza como respuesta a una infección por patógenos y se transporta en estado gaseoso hacia tejidos sanos de esa misma planta o incluso de plantas vecinas, y en esos tejidos desarrolla el sistema de defensa RSA, de manera que esos tejidos sanos de la planta infectada o las plantas vecinas pueden resistir y combatir la futura infección. (Hayat et al., 2010).

En los últimos años, ha habido un creciente interés en el uso de salicilatos como tratamientos post-cosecha, debido a su potencial para reducir daños por frío, como “pitting”, decoloración y susceptibilidad a las podredumbres, permitiendo así extender la vida útil de productos vegetales. Así pues, tratamientos post-cosecha con AS redujeron los daños por frío en tomate (Ding et al., 2002), plátano (Kang et al., 2003), ciruela (Luo et al., 2011) y granada (Sayyari et al., 2009).

El tratamiento post-cosecha de granadas con AAS también redujo los daños por frío y mantuvo los compuestos bioactivos y actividad antioxidante (Sayyari et al., 2011b). En otros frutos tales como melocotón, los tratamientos con AS redujeron el deterioro del fruto controlando la pérdida de electrolitos de la membrana celular, disminuyeron la respiración y producción de etileno, aumentaron el contenido de malondialdehído,

mantuvieron la firmeza de la pulpa, y aumentaron la actividad de enzimas antioxidantes (Han et al., 2003). Del mismo modo, la aplicación de AS aumentó la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, CAT y POD) y disminuyó PPO, manteniendo la calidad de melocotón durante el almacenamiento (Tareen et al., 2012), y aumentó la actividad antioxidante, compuestos bioactivos y sistema antioxidante en albaricoque (Wang et al., 2015).

Concretamente, en cereza los tratamientos post-cosecha con AS o AAS a 1 mM retrasaron el proceso de maduración y aumentaron los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante (Valero et al., 2011). La aplicación exógena de AAS disminuyó los síntomas de daño por frío, inhibió la acumulación de radicales libres superóxido y redujo la actividad de las enzimas CAT, PAL, CAD y G-POD (Cai et al., 2006), e inhibió la síntesis de etileno, maduración del fruto, acumulación de ACC y aumentó la actividad de ACS y ACO en kiwi (Yin et al., 2013).

Se observó un comportamiento similar cuando se aplicaron tratamientos postcosecha con SaMe, que redujeron los daños por frío, mejoraron la vida útil y aumentaron la capacidad antioxidante, y disminuyeron la incidencia de ataque fúngico en tomates cherry (Zhang et al., 2011), en granadas almacenadas (Sayyari et al., 2011a), y en mangos y tomates (Glowacz y Rees, 2015).

Por tanto, tratamientos post-cosecha con salicilatos pueden ser herramientas prometedoras e innovadoras para extender la vida útil de los frutos, aumentando su capacidad para resistir a los distintos tipos de estrés post-cosecha, mediante la aceleración de la respuesta de ataque por patógenos fúngicos, e incrementando su resistencia a los daños por frío. Las respuestas positivas están a veces asociadas con el aumento de la actividad de enzimas de defensa e incremento en el contenido de compuestos bioactivos. Sin embargo, las respuestas parecen ser específicas del fruto y variedad, y también dependen de otros factores, tales como el estado de desarrollo del fruto, dosis del tratamiento y condiciones de almacenamiento. Por el contrario, existe poca información sobre el uso de salicilatos en precosecha, y los existentes se enfocaron a analizar el efecto de estos tratamientos en la inducción de los sistemas de defensa

frente al ataque fúngico. Así, tratamientos precosecha con AS 2 mM redujeron significativamente el diámetro de lesión en cerezas causada por *Monilia fructicola* y aumentó la actividad de las enzimas β -1,3- glucanasa, PAL y POD durante los primeros días de almacenamiento, siendo mayor la eficacia de los tratamientos pre-cosecha que la de los tratamientos post-cosecha (Yao et al., 2005). Tratamientos con AS también redujeron la podredumbre fúngica en fresa, con un efecto adicional manteniendo la calidad general durante la conservación, y se obtuvieron mejores resultados cuando se combinaron tratamientos pre- con postcosecha (Babalar et al., 2007). Además, aplicaciones de AS en naranja, incrementaron el contenido de carotenoides, ácido ascórbico, glutatión, fenoles y flavonoides totales en la piel y la pulpa durante el almacenamiento (Huang et al., 2008).

1.9.3. CONSIDERACIONES RELEVANTES EN LA INDUSTRIALIZACIÓN DE LA GRANADA

A la hora de industrializar la granada hay que tener unos aspectos en cuenta:

La corteza de la granada protege a los arilos. Una vez que la granada ha sido procesada y eliminada su cáscara, los arilos quedan expuestos al medio de forma que son más susceptibles de sufrir reacciones de oxidación, pudriciones, pérdidas de peso y de calidad.

Las antocianinas de la granada son compuestos lábiles que pueden verse sometidas a numerosas reacciones de degradación durante el almacenamiento y el procesamiento (Alighourchi, Barzegar, y Abbasi, 2008b; Wrolstad, Durst, Y Lee, 2005).

Debido a la corta vida útil de estos productos se propone como solución la utilización de recubrimientos comestibles.

La temperatura y la humedad relativa también son factores muy importantes para la conservación de la granada.

Estudios previos (Kader, 1984; Artés, 1992) han demostrado que la temperatura es el factor más importante para el control de la actividad respiratoria de la transpiración, y el desarrollo de patógenos microbianos. Una rápida pre-refrigeración mediante aire forzado es una de las maneras más simples de prolongar la vida comercial de granada. Esta temperatura debe estar alrededor de 5 ° C para evitar la producción de trastornos fisiológicos, durante 2-3 meses de almacenamiento (Kader, 1984; Artés, 1992).

La humedad relativa es el segundo factor en importancia. El concepto clave es el déficit de presión de vapor o la diferencia entre la humedad relativa del medio ambiente. Temperatura y humedad relativa están estrechamente relacionados y el objetivo es minimizar la pérdida de peso sin aumentar el desarrollo microbiano y el deterioro. Como granadas se comercializan sin tratamientos posteriores a la cosecha (lavado, encerado, fungicidas), los frutos deben ser cuidadosamente cepillado, y se mantiene con una humedad relativa alrededor de 90-95% si los frutos están sanos y limpios (Artés, 1992).

2. OBJETIVOS

De acuerdo con los antecedentes expuestos en la introducción, el objetivo general de este Trabajo Final de Grado es evaluar el efecto de los tratamientos de granados con ácido acetil salicílico (AAS), aplicado mediante spray foliar, sobre diferentes parámetros relacionados con la calidad del fruto. Este objetivo es novedoso, ya que hoy en día no existe conocimiento del efecto de estos tratamientos aplicados en pre-cosecha y tan sólo hay algunas evidencias de estos tratamientos aplicados en post-recolección.

Este objetivo general se puede desglosar en los siguientes objetivos parciales:

- 1) Determinar la concentración más efectiva de AAS sobre el desarrollo y maduración en el árbol de este fruto. Para la consecución de este objetivo se aplicarán tres concentraciones de estos compuestos, 1, 5 y 10 mM, en tres momentos claves del desarrollo de la granada en el árbol, para determinar

en el momento de la recolección el tamaño y peso de los frutos así como las producciones por árbol.

- 2) Determinar el efecto del AAS sobre la calidad de granada en el momento de la recolección, El efecto de estos tratamientos se determinará en el momento de la recolección mediante el análisis de parámetros fisiológicos, como tasa de respiración y producción de etileno, parámetros relacionados con la calidad organoléptica, como color, firmeza y con la calidad nutritiva, sólidos solubles totales y acidez total y con la calidad funcional, mediante el análisis del contenido en fenoles totales, así como de la actividad antioxidante total.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Los experimentos pre-cosecha se realizaron en el periodo primavera-verano de 2016.

Se ha utilizado la variedad comercial “Mollar de Elche” cultivada en una explotación comercial de “Fincas Toli S.L” localizada en Crevillente. Se seleccionó una fila de árboles, y se seleccionaron 20 árboles según un diseño completamente aleatorizado. Para ello se destinaron 5 árboles completamente al azar para cada tratamiento: control (agua destilada), y ácido acetil salicílico (AAS) a tres concentraciones (1, 5 y 10 mM). Los dos últimos árboles de cada fila se consideraron árboles guardia y cada grupo de los árboles tratados se separó por dos árboles sin tratar para evitar contaminación cruzada. Las fechas de recolección comercial 18 de Octubre y 31 de Octubre 2016.

Los tratamientos de AAS recién preparados (contenían además un 0,5 % de Tween 20) se aplicaron mediante pulverización foliar con un pulverizador mecánico (7,5 L/árbol,

que fue suficiente para humedecer toda la copa del árbol), y fueron repetidos en 3 fechas clave del ciclo de crecimiento: cuando el fruto ha alcanzado un 35% de su tamaño, cuando el fruto ha alcanzado un 50% y 1 mes antes de la recolección.

En el momento de la recolección, se cogieron manualmente todos los frutos de cada árbol y tratamiento en los que se determinaron el peso y tamaño en una muestra de 30 frutos. Además se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: color, firmeza, contenido en sólidos solubles totales (SST) y acidez total (AT). Además, se determinó el contenido en fenoles totales, y actividad antioxidante total. Estas determinaciones se realizaron en frutos control y en aquellos de los árboles tratados con AAS 1 mM 5mM y 10mM. Para ello, se obtuvieron los arilos del fruto para cada lote para obtener una muestra homogénea, se congeló en N₂ líquido, se mezcló y se almacenó a -20 °C para realizar las posteriores determinaciones por duplicado de cada una de las muestras

Todas las granadas fueron recolectadas en el estado de madurez comercial, de acuerdo con el técnico de campo de la finca y basándose en las características propias de la variedad. En el momento de la recolección, se registró la producción total de fruta, de cada uno de los 5 árboles tratados o los controles, y la producción fue expresada como kilogramo por árbol. Los frutos fueron llevados al laboratorio, para tras una selección evaluar los distintos parámetros antes mencionados.

3.2. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.2.1. TASA DE RESPIRACIÓN

Para determinar la tasa de respiración se utilizó el sistema estático propuesto por Kader (1992) que implica encerrar el producto en un recipiente de cierre hermético por un periodo de tiempo. Para realizar estas medidas se introdujeron 5 frutos de cada réplica, de peso conocido, en contenedores de plástico de 10L de capacidad con tapadera de cierre hermético. Esta tapadera constaba de un septum, válvula de material

elastómero, que permitió, transcurridos 60 minutos, tomar una muestra del aire de cabeza de los botes con jeringas de 1 mL cada una.

La tasa de producción de CO₂ se cuantificó usando un cromatógrafo de gases Shimadzu™ GC-14B con un detector de conductividad térmica (TCD) y una columna de relleno concéntrica CTR I (ALLTECH), con las siguientes condiciones de trabajo: temperatura del horno de 35 °C, temperatura del inyector de 120 °C, temperatura del detector de 120 °C y flujo del gas portador (Helio) de 65 mL/min. Se realizó una calibración con patrón externo usando aire atmosférico, cuya concentración de CO₂ es 0,036 %. El cromatógrafo estaba conectado a un ordenador personal con un programa informático específico para el registro de los cromatogramas y su integración que permite la cuantificación.

El CO₂ producido como consecuencia del metabolismo se acumula y puede calcularse conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente, y el tiempo que permanece cerrado el envase. La concentración de CO₂ en las muestras tomadas de los frascos, se calculó comparando el área de integración del pico de la muestra con la de los patrones utilizados de concentración conocida. Los resultados para la tasa de respiración fueron la media ± ES y se expresaron como mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

3.2.2. ETILENO

Para medir la producción de etileno se aprovechó el sistema estático utilizado en la determinación de la actividad respiratoria. Para ello se inyectaron las jeringuillas en el cromatógrafo Shimadzu GC-2010, provisto de un detector de ionización de llama (FID) y columna de acero inoxidable de 3 m de longitud total y de 2 mm de diámetro interno, con relleno de alúmina de 60/80 mesh.

Las condiciones de trabajo del cromatógrafo son las siguientes:

- Flujo del gas portador (He_2): 50 mL/min.
- Flujo de hidrógeno (H_2): 40 mL/min.
- Flujo de aire: 400 mL/min.
- Temperatura del inyector: 100 °C.
- Temperatura del detector: 150 °C
- Temperatura de la columna: 100 °C.

El cromatógrafo estaba conectado a un ordenador personal con un programa informático que registra los cromatogramas y los integra (cuantifica). El etileno se identificó por su tiempo de retención en la columna, característico en estas condiciones (1.44 minutos) y por comparación con cromatogramas estándar obtenidos con etileno patrón de 10 ppm en nitrógeno.

3.2.3. PESO DEL FRUTO

El peso se determinó mediante una balanza Radwag WLC 2/A2 (Radwag Wagi Elektroniczne) con 2 cifras decimales de precisión y se expresó en gramos. Se pesaron los frutos de forma individual.

3.2.4. COLOR

La medida de color se determinó en la superficie de cada cara de los 10 frutos para cada réplica, usando un colorímetro Minolta (CRC 200, Minolta Camera Co., Japón), usando las coordenadas CIELab y expresando los resultados como el índice a^*/b^* , el

índice croma ($\sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$) o el ángulo Hue ($\arctg(b^*/a^*)$). Los datos son el resultado de la media \pm ES de 30 frutos.

3.2.5. TEXTURA

La firmeza se determinó independientemente en 10 frutos de cada réplica usando un Texturómetro TX-XT2i (Stable Microsystems, Godalming, UK) conectado con un ordenador personal. Se realizó un ensayo de deformación del fruto con un plato plano de acero montado sobre el texturómetro. Este disco de acero se hace descender hasta que contacta con la superficie del fruto y el equipo mide el diámetro del mismo. A continuación continúa el descenso del disco y se aplica una fuerza hasta alcanzar una deformación del 3% del diámetro del fruto. Los resultados se expresaron como la relación fuerza-deformación ($N\ mm^{-1}$) y fueron la media \pm ES.

3.2.6. HOMOGENEIZACIÓN DE MUESTRAS

Tras medir la textura de los 10 frutos de cada réplica se obtuvieron los arilos para obtener una muestra homogénea. Parte de la muestra fue utilizada para realizar las determinaciones de SST y acidez total y el resto se guardó en bolsas en el congelador ($-20\ ^\circ C$) correctamente identificadas por tratamiento.

3.2.7. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Los sólidos solubles totales (SST) se midieron por duplicado sobre el zumo obtenido de 10 g de cada muestra mediante refractometría. Para ello se utilizó un refractómetro digital Atago PR-101 (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japón) a $20\ ^\circ C$, y se expresaron como $g\ 100\ g^{-1}$ (media \pm ES).

3.2.8. ACIDEZ TITULABLE

La acidez total (AT) se determinó por duplicado en el mismo zumo mediante titulación automática con un pH metro 785 DMP Titrino (Metrohm) de sensibilidad $\pm 0,01$ pH. Se valoró con NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 8,1, usando 1 mL de zumo diluido en 25 mL de agua destilada. Los resultados son el valor medio \pm ES y se expresaron como g ácido málico equivalentes 100 g^{-1} de peso fresco.

3.2.9. FENOLES TOTALES

La **extracción de fenoles** fue realizada como se describe en Tomás-Barberán et al. (2001) con pequeñas modificaciones. En un tubo de centrífuga rodeado de hielo picado se colocaron 10 g de arilos, 10 mL de agua: metanol (2:8) conteniendo FNa 2 mM (para inactivar la actividad de la polifenoloxidasas y prevenir la degradación fenólica). Se homogeneizó en un Polytron (IKA T18 basic, Ultraturrax) durante 1 minuto y se centrifugó a $15.000 \times g$ en una centrífuga C30P (B. Braun Biotech International) durante 15 minutos a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Se tomó el sobrenadante y se guardó en tubos Eppendorf para su posterior cuantificación. Estas extracciones se realizaron por duplicado para cada una de las bolsas, como había 3 bolsas de un mismo tratamiento, se realizaron 6 extracciones por tratamiento y fecha de muestreo.

Para la **determinación** del contenido en fenoles se usaron los extractos en metanol y se cuantificaron usando el reactivo Folin-Ciocalteu que reacciona con los fenoles dando un color azul característico. En un tubo de ensayo se añadieron 200 μL de extracto de muestra, 300 μL de tampón fosfato y 2,5 mL de reactivo Folin diluido 1/10. Se agitó y se dejó reposar durante 2 minutos. Posteriormente, se añadieron 2 mL de disolución 75 g/L de Na_2CO_3 para parar la reacción y se agitó. Se introdujeron los tubos en un baño a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 minutos.

Finalmente, se procedió a la lectura mediante espectrofotometría a 760 nm en un espectrofotómetro UV-1700 Pharma Spec (Shimadzu). Se realizó una recta de calibrado

con el patrón ácido gálico. Los resultados fueron expresados como mg ácido gálico equivalentes (GAE) 100 g^{-1} de peso fresco y fueron la media \pm ES.

3.2.10. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

La actividad antioxidante total (AAT) fue cuantificada de acuerdo con Serrano et al. (2009). Brevemente, para cada muestra, en un tubo de centrífuga rodeado de hielo picado se añadieron 2 g de tejido y se homogeneizaron en 10 mL de tampón fosfato 50 mM pH= 7,8. Se homogeneizó en un Polytron durante 1 minuto y se centrifugó a 15.000 rpm en una centrífuga C30P (B. Braun Biotech International) durante 15 minutos a 4 °C.

La AAT se determinó usando el sistema enzimático compuesto por el cromóforo 2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), la enzima peroxidasa (HRP) y su sustrato (peróxido de hidrógeno) que genera radicales $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de color verde-azulado que pueden medirse espectrofotométricamente a 730 nm. La disminución de absorbancia después de añadir el extracto de muestra fue proporcional a la AAT de la muestra. Se realizó una curva de calibrado con Trolox (ácido (R)-(+)-6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametil-croman-2-carboxílico) (0-20 nmol) de Sigma (Madrid, España), y los resultados se expresaron como mg de Trolox equivalentes (TE) 100 g^{-1} de peso fresco.

3.2.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En todos los experimentos realizados se ha utilizado un diseño completamente aleatorio. El efecto de los tratamientos realizados sobre las diferentes variables determinadas se ha estudiado mediante Análisis de la Varianza. Cuando las diferencias inducidas por los diferentes tratamientos han resultado ser significativas, las medias se

han separado mediante el Test Tuckey. Todos los análisis se han realizado con el Software SPSS v. 7.5.1.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DIÁMETRO DE LAS GRANADAS EN EL MOMENTO DE LA COSECHA

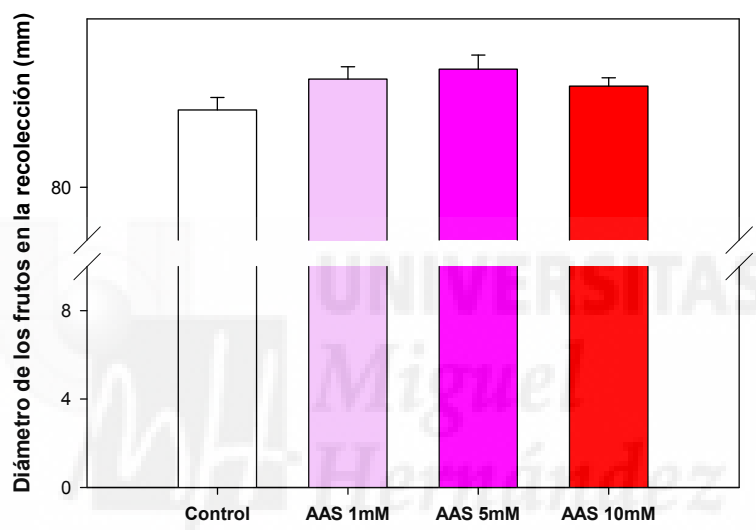


Figura 2. *Diámetro de los frutos (mm) en el día de la recolección*

Cuando estudiamos el diámetro final que alcanzaron las granadas en el árbol, pudimos comprobar como este parámetro fue generalmente mayor en aquellas granadas tratadas con las tres concentraciones de AAS, que se estudiaron individualmente, siendo el efecto evidente como podemos observar en la figura 1. En general, se obtuvieron mayores efectos con la dosis 5 mM, aunque las diferencias no fueron significativas con respecto a las distintas dosis de AAS aplicadas, siendo el tamaño final del fruto en el momento de la recolección significativamente mayor en todos los frutos tratados con AAS que en los frutos control.

4.2. NÚMERO DE FRUTOS POR ÁRBOL EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.

Se realizaron dos recolecciones ya que no todos los frutos alcanzaron la madurez comercial al mismo tiempo. De hecho observamos como las menores dosis aplicadas de AAS fueron exitosas a la hora de adelantar el momento de la madurez comercial en un mayor número de frutos con respecto al control, mientras que la dosis de 10mM de AAS retrasó la evolución de la madurez comercial en los frutos. Así, cuando evaluamos el número de frutos por árbol que presentaban los granados en el momento de la recolección, pudimos comprobar

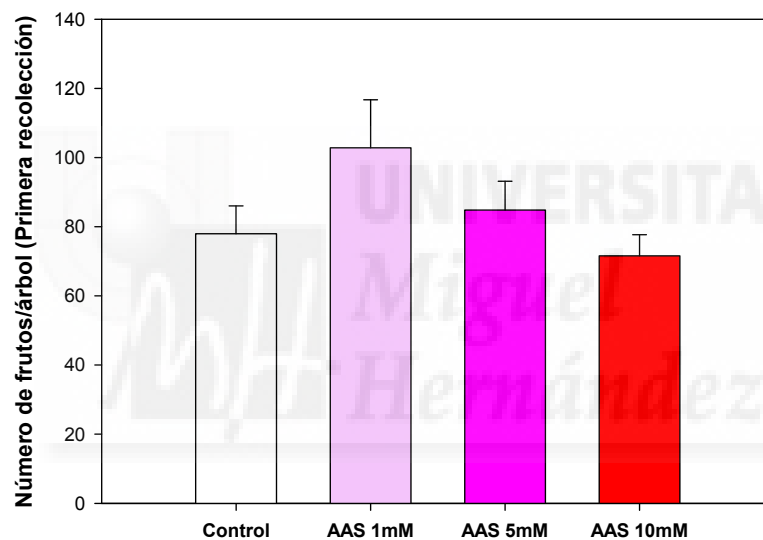


Figura 3. *Número de frutos por árbol recolectados en la primera recolección*

que mientras que para los tratamientos con AAS 1mM incrementó el número de frutos por árbol que se encontraban listos para su recogida, de forma significativamente superior a los frutos control. Sin embargo, la dosis más alta de 10mM de AAS, retrasó la evolución de los frutos en el árbol obteniendo una mayor producción comercial con respecto a los frutos control en el momento en el que se practicó la segunda recolección.

4.3. PESO TOTAL DE LAS GRANADAS POR ÁRBOL EXPERIMENTAL.

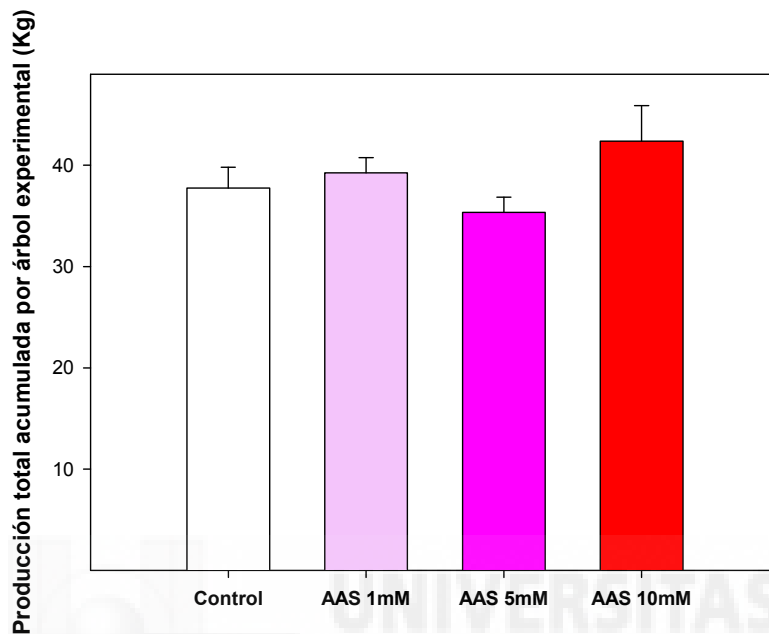


Figura 4. Número de frutos por árbol recolectados en la primera recolección

Asimismo, cuando evaluamos la producción total acumulada entre las dos recolecciones por cada árbol del experimento, pudimos comprobar como los tratamientos no tuvieron efectos negativos sobre las producciones parciales, sino al contrario ya que aunque las dosis más bajas no mostraron grandes diferencias con respecto al control, la aplicación de AAS 10mM incrementó las producciones de forma significativa con respecto al control.

Los resultados muestran que tratamientos con AAS podrían mejorar el rendimiento económico de este cultivo, ya que aunque se modificó el rendimiento total, se obtuvieron granadas más grandes, que son más apreciadas por los consumidores y alcanzan mayores precios en el mercado comparadas con las más pequeñas. Del mismo modo, tratamientos de otras especies frutales como cerezos con ácido salicílico (AS) y AAS y tratamientos de melocotoneros con AS (aplicados en tres fechas durante el ciclo de crecimiento) aumentaron el peso del fruto sin efectos significativos sobre el rendimiento total (Ali et al., 2014; Giménez et al., 2014; Hendricks et al., 2015)

Además, en olivos, la pulverización foliar con AS incrementó el peso del fruto, tamaño y rendimiento debido a un aumento tanto en el número de flores como en la densidad, puesto que los tratamientos se realizaron un mes antes de la floración (El-Razek et al., 2013). Por tanto, podría ser interesante investigar si tratamientos con AAS aplicados en granados antes de la floración, combinados con tratamientos durante el crecimiento del fruto, serían capaces de aumentar la producción del número de frutos por árbol aparte del tamaño del fruto.

Asimismo, tanto el adelantamiento como el retraso de las producciones comerciales de granadas, podrían tener un efecto económico muy positivo ya que fuera de temporada los frutos alcanzan unos precios mayores.

4.4. RESPIRACIÓN DEL FRUTO EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.

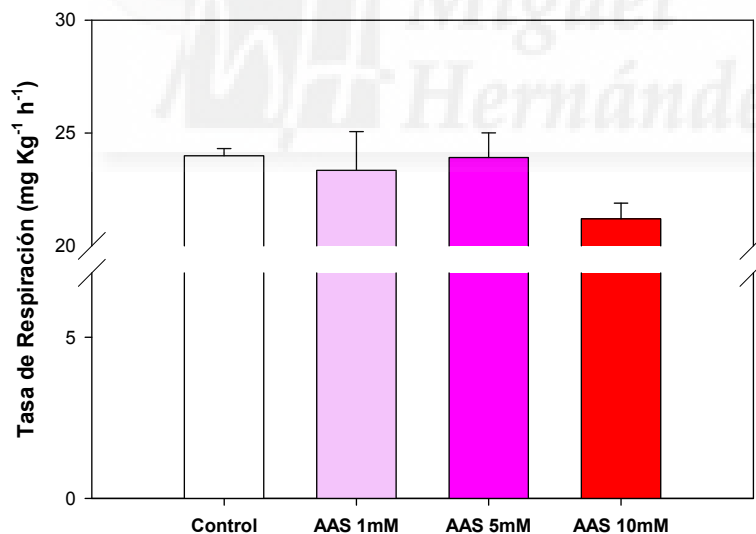


Figura 5. Tasa de respiración (mg Kg⁻¹ h⁻¹) en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles.

La respiración de las granadas no mostró diferencias significativas entre los frutos controles y tratadas a las dosis más bajas, sin embargo observamos como los frutos tratados con la mayor de las dosis disminuyó la producción de CO₂ en los frutos en el momento de la cosecha.

La respiración en frutos tanto climatéricos como no climatéricos, como es el caso de nuestras granadas, es determinante en su vida post-cosecha. Por tanto, presumiblemente, cuanto mayor sea la respiración de los frutos menor será su vida útil, ya que el incremento en la tasa de respiración nos estaría indicando una degradación de las sustancias de reserva mayor, con el fin de obtener más energía para los procesos metabólicos (Valero, D. y Serrano, M., 2010). Desde este punto de vista los frutos recolectados en el estado de madurez más avanzado, mostrarían un descenso de la vida útil que sería ligeramente más acelerado que el resto de frutos.

4.5. PRODUCCIÓN DE ETILENO EN EL MOMENTO DE LA COSECHA.

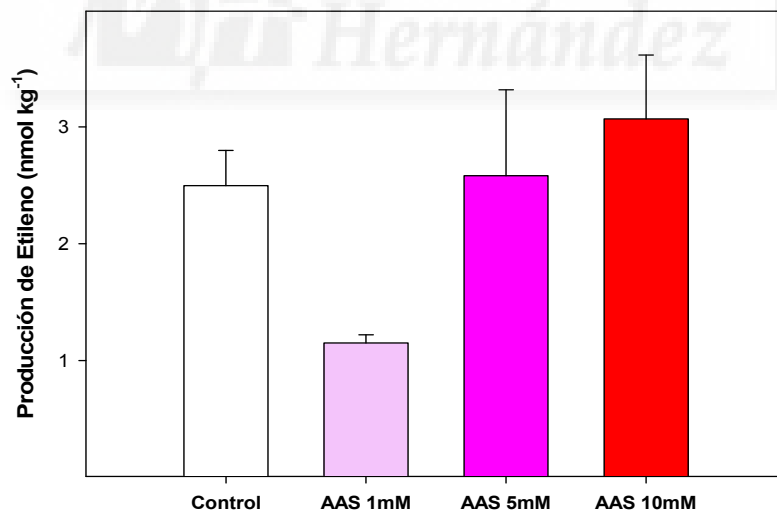


Figura 6. Producción de etileno (nmoles Kg⁻¹) en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles.

Los frutos no climatéricos, tales como cereza, granada, pimiento, uva y cítricos, entre otros, presentan una disminución gradual en su patrón de respiración y producción de

etileno durante el proceso de maduración. El control hormonal de la maduración en frutos no climatéricos se ha relacionado con el ácido abscísico (ABA). Este comportamiento fisiológico de los frutos tiene gran relevancia en las tecnologías post-cosecha que son efectivas para preservar la calidad (Valero y Serrano, 2010). De hecho en frutos no climatéricos un fallo en la producción de etileno puede acarrear problemas en el desarrollo general del fruto.

Al estudiar la producción de etileno, observamos que como cabía esperar los valores de este parámetro fueron muy bajos y sin grandes diferencias significativas. Sin embargo, en frutos climatéricos tales como melocotón, la aplicación pre-cosecha de análogos del AAS retrasó significativamente el proceso de maduración en el árbol debido a la inhibición de la producción de etileno (Ali et al., 2014).

4.6. COLOR DE LAS GRANADAS.

Los valores positivos del parámetro a^* indican tonalidades rojizas mientras que el color Cromina* indica la saturación del color. Así al evaluar el color mediante ambos parámetros (Figura 6 y 7) pudimos comprobar como los tratamientos fueron efectivos en ambos casos a la hora de incrementar las tonalidades rojizas y la saturación del color en una granada cuya variedad tiene serios problemas de coloración.

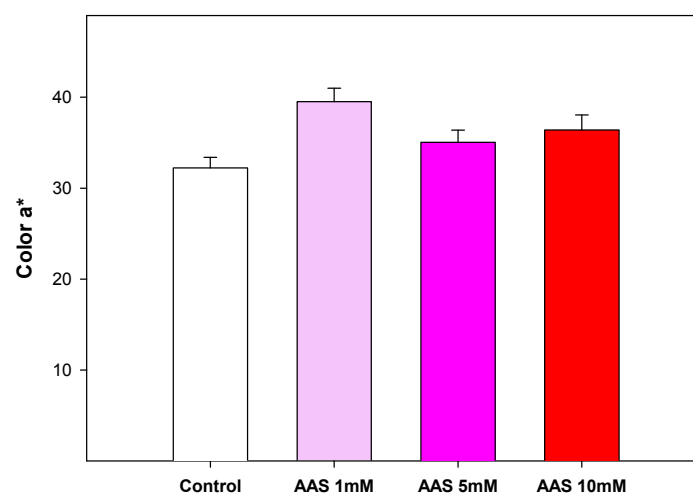


Figura 7. Color a^* en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.

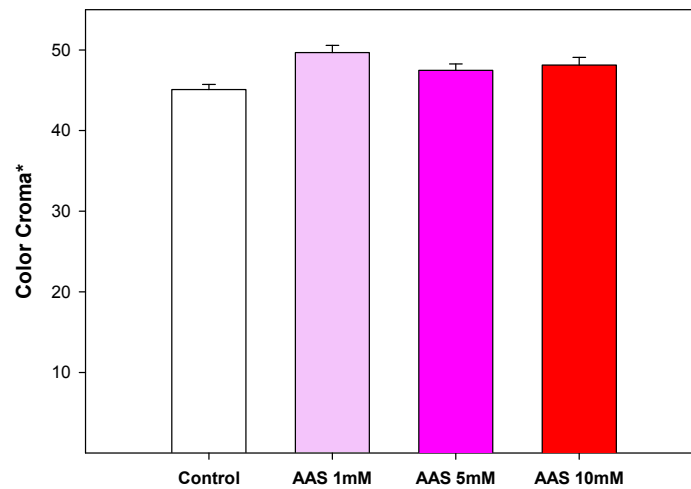


Figura 8. Color Croma* en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.

Se ha observado que la aplicación de AAS o AS en pre-cosecha (a concentraciones de 0,5, 1 y 2 mM) en cereza dio lugar a frutos con mayor color rojo (Giménez et al., 2014). Estos resultados han sido confirmados en este trabajo cuando se aplicó AAS a la más baja de las concentraciones (1 mM), en el cual el índice de color a* y Croma* fue significativamente superior con respecto al resto de los tratamientos (Figura 6 y 7), mostrando que las granadas tratadas tenían un color rojo más intenso.

4.7. FIRMEZA DE LOS FRUTOS.

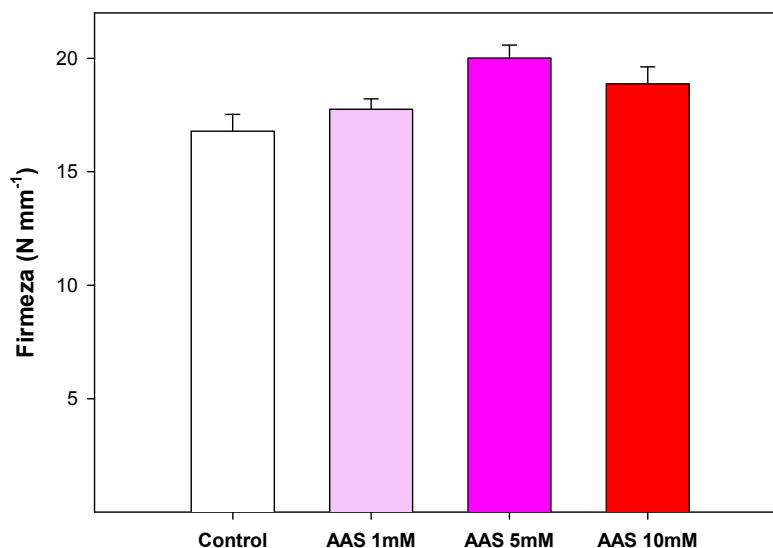


Figura 8. Firmeza (N mm⁻¹) en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.

Los niveles de firmeza de los frutos en el momento de la recolección mostraron que los frutos controles fueron los que menores niveles de firmeza obtuvieron, mientras que los frutos tratados en pre-cosecha con las dosis más altas mostraron niveles significativamente superiores de firmeza con respecto a las granadas controles. Del mismo modo, tratamientos pre-cosecha con AS de racimos de uva dieron lugar a bayas con una firmeza casi dos veces mayor durante 75 días de almacenamiento refrigerado debido a la reducción de la actividad pectinmetilesterasa (Champa et al., 2015).

Los procesos de ablandamiento normalmente están asociados con cambios de la fracción pectídica de la pared celular (Huber, 1983). Un incremento de las pectinas solubles ha sido correlacionado con el ablandamiento de los frutos (Brummell y Harpster, 2001). Estas ultraestructuras y cambios químicos pueden conllevar a la nueva síntesis de enzimas que hidrolizan la pared celular, tales como poligalacturonasa (PG), pectin metil esterasa (PME), pectato liasa (PL) y celulasa.

4.8. SÓLIDOS SOLUBLES, ACIDEZ TITULABLE E ÍNDICE DE MADUREZ.

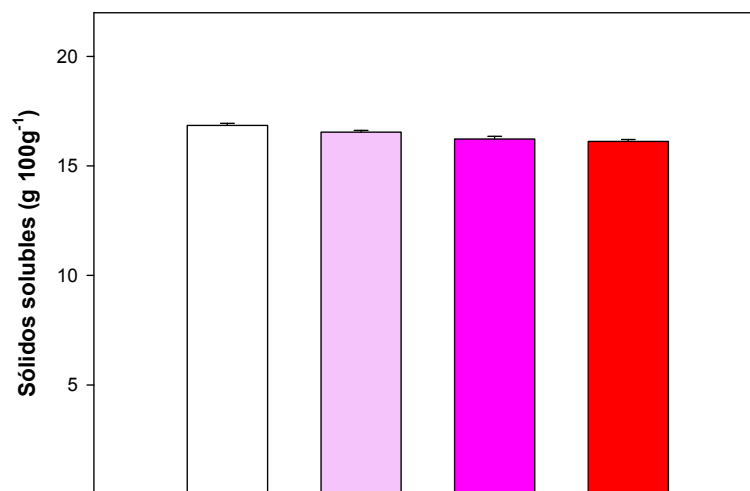


Figura 9. Sólidos solubles (g 100g⁻¹) en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.

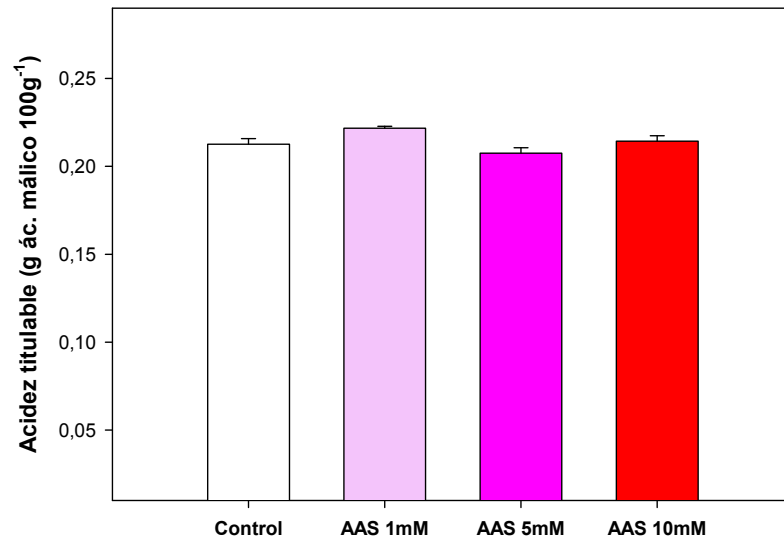


Figura 10. Acidez titulable (g ácido málico 100g⁻¹) en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.

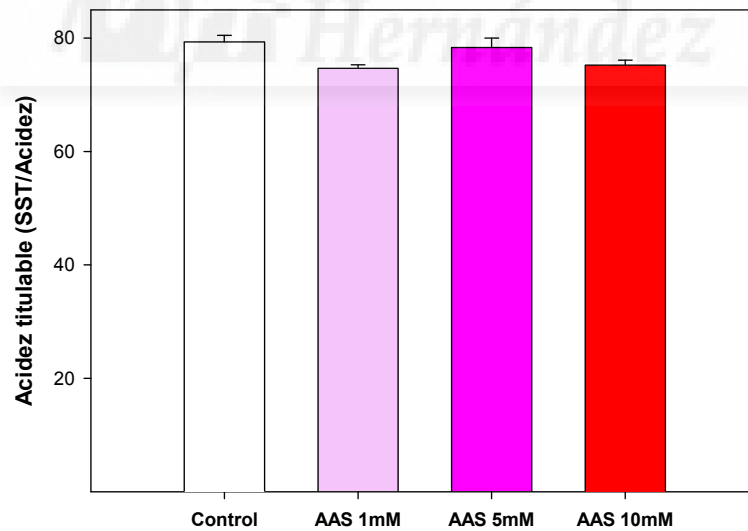


Figura 11. Índice de madurez (SST/Acidez) en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.

No se encontraron grandes diferencias con respecto a los niveles de sólidos solubles totales (SST) (Figura 9) ni en los niveles de acidez titulable (AT) (Figura 10) en las granadas muestreadas, sin embargo sí se observó un ligero descenso en los SST de las granadas tratadas a las dosis más altas, lo cual hizo que el índice de madurez fuera ligeramente menor sobre todo en aquellas granadas que fueron tratadas en pre-cosecha con AAS, por tanto, los resultados globales de estos atributos así como de los anteriores permitirían confirmar que estos compuestos (AS y AAS) son herramientas prometedoras para incrementar las propiedades de calidad del fruto en la recolección y para mantenerlas durante el almacenamiento post-cosecha.

4.9. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL (AAT)

Al observar los resultados obtenidos con respecto a la AAT, pudimos comprobar como los tratamientos con AAS fueron efectivos incrementando los niveles de actividad antioxidante, observándose un efecto dosis-dependiente. Por otro lado, los frutos controles fueron los que menores niveles mostraron de actividad antioxidante de forma significativa.

A su vez, al estudiar los niveles de compuestos bioactivos comprobamos que los niveles de compuestos fenólicos fueron menores cuando aplicamos las dosis más altas de AAS y aunque normalmente se suele relacionar el contenido en polifenoles totales con la AAT, posiblemente en este caso la AAT estaría siendo promovida además de por los polifenoles por otras sustancias con carácter antioxidante como la vitamina C.

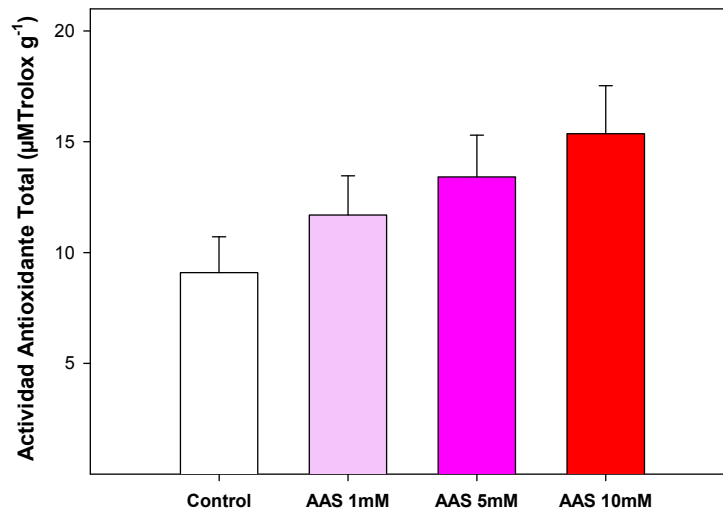


Figura 12. *Actividad Antioxidante Total en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.*

No existe literatura disponible del efecto de tratamientos pre-cosecha con AS ni con AAS sobre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante granadas, pero en uva de mesa, los fenoles totales y las antocianinas totales aumentaron en el momento de la recolección y se mantuvieron durante el almacenamiento cuando se realizó el tratamiento con AS del racimo en los estados de desarrollo de la uva (Champa et al., 2015).

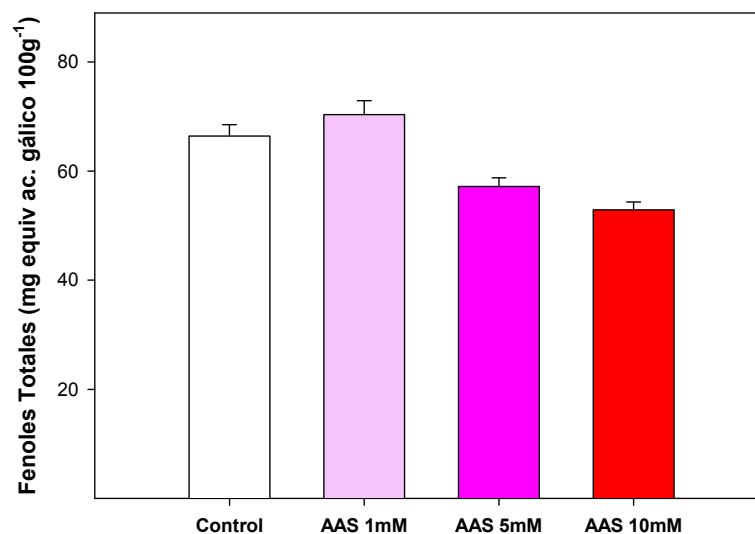


Figura 13. *Fenoles Totales en granadas tratadas con distintas dosis de AAS y controles en el momento de la recolección.*

Del mismo modo, tratamientos pre-cosecha con salicilato de metilo (SaMe), un análogo cercano al AS y AAS, fueron efectivos incrementando los compuestos antioxidantes y bioactivos en cereza durante el almacenamiento (Valverde et al., 2015).

Existen pocas publicaciones sobre el efecto de la aplicación post-cosecha de estos compuestos en el contenido de antioxidantes del fruto. Así, tratamientos post-recolección con AS, AAS o SaMe incrementaron los fenoles totales, las antocianinas totales y la actividad antioxidante total durante el almacenamiento refrigerado en granada (Sayyari et al., 2011), cereza (Valero et al., 2011), y albaricoque (Wang et al., 2015), estando estos incrementos atribuidos al aumento de la actividad de la fenilalanina amonio liasa (PAL), la principal enzima involucrada en la ruta de biosíntesis de los fenoles. En general, tratamientos pre-cosecha con AS o AAS dieron lugar a frutos con mayor contenido en compuestos bioactivos y actividad antioxidante en la recolección e incluso después del almacenamiento prolongado, y así proporcionarían frutas más saludables para el consumo.

5. CONCLUSIONES

Los tratamientos pre-cosecha con ácido acetil salicílico (AAS) a tres concentraciones (1, 5, y 10 mM), aplicados a granados en tres fechas clave del desarrollo del fruto, aumentaron los parámetros de calidad de la granada relacionados con la aceptación por parte de los consumidores, como tamaño, peso y color, en el momento de la recolección.

Además, los tratamientos afectaron a la producción total del cultivo y al proceso de maduración de las granadas en el árbol, ya que se obtuvieron producciones mayores y la dosis más baja adelantó la producción mientras que la más alta de las dosis la retrasó por lo que estos tratamientos podrían tener un importante impacto económico.

La AAT, se mantuvo en mayores concentraciones en el momento de la cosecha con respecto a los frutos controles lo que adjudicaría un mayor valor añadido a estos frutos tratados.

Por tanto, los tratamientos AAS en pre-cosecha, podrían ser considerados como una herramienta, segura y respetuosa con el medio ambiente, con potencial para mejorar los atributos de calidad de los frutos en el momento de la recolección y durante el almacenamiento, a la vez que aumentan la calidad nutricional y mejoran las propiedades beneficiosas para la salud del consumo de granadas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J. A. (1999). Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest. Biol. Technol.* 15: 207-225.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T. & Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 48(4): 487-491.
- Alighourchi, H., Barzegar, M., & Abbasi, S. (2008b). Effect of gamma irradiation on the stability of anthocyanins and shelf-life of various pomegranate juices. *Food Chemistry.* 110: 1036–1040.
- Allende, A., Artés, F. (2003a). Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of minimally processed lettuce. *Lebensm. - Wiss. U-Technol.* 36: 779–786.
- Allende, A., Artés, F., (2003b). UV radiation as a novel technique to preserve quality of minimally processed 'Lollo Rosso' lettuce. *Food Res. Int.* 36: 739–746.
- Alvarez, A.L., (2000). Salicylic acid in machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Molecular Biology*, 44, 429-442.

- Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S. & Tonogai, Y. (2000). Determination of Phenolic Acids in Fruit Juices by Isocratic Column Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*. 891(1): 183-188.
- Amoros, A., Melgarejo, P., Martinez, J.J., Hernandez, F. and Martinez. M. (2000). Characterization of the fruit of five pomegranate (*Punica granatum* L.) clones cultivated in homogeneous soils. *Options Mediterraneennes Ser. A*. 42: 129-135.
- Antoniw, J. F., Ritter, C. E., Pierpoint, W. S. & Van Loon, L. C. (1980). Comparison of three pathogenesis-related proteins from plants of two cultivars of tobacco infected with TMV. *Journal of General Virology* 47, 79-87.
- Artés, F., Gil, M.I., Martínez, J.A. (1995). Procedimiento para la conservación de semillas de granada en fresco (Procedure for conservation of fresh pomegranate seeds). Spanish Patent No. 9502362.
- Artés, F. (1992). Factores de calidad y conservación frigorífica de la granada. In: II jornadas nacionales del granado. Univ. Politécnica de Valencia.
- Artés, F., Marín, J.G. & Martínez, J.A. (1996). Controlled atmosphere storage of pomegranate. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 203, 33–37.
- Artés, F., Villaescusa, R., Tudela, J.A. (2000). Modified atmosphere packaging of pomegranate. *J. Food Sci.* 65: 1112–1116.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D. & Fuhrman, B. (2000). Pomegranate Juice Consumption Reduces Oxidative Stress, Atherogenic Modifications to LDL and Platelet Aggregation: Studies in Humans and in Atherosclerotic Apolipoprotein E-deficient mice. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71(5)1062-1076.
- Babalar, M., Asghari, M., Talaei, A., Khosroshahi, A. (2007). Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chemistry*, 105, 449-453.

- Batta, A.K. & Rangaswami, S. (1973). Crystalline Chemical Components of Some Vegetable Drugs. *Phytochemistry*:12(1): 214-216.
- Beckers, G.J.M., Spoel, H., (2006). Fine-tuning plant defence signaling: salicylate versus jasmonate. *Plant Biology*, 8, 1-10.
- Brummell, D.A., Harpster, M.H., (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.* **77**:311–340.
- Cai, C., Li, X., Chen, K.S., (2006). Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *European Food Research and Technology*, 223, 533-539.
- California Rare Fruit Growers. 1997. Pomegranate. 1 Sept. 2006. <www.crfg.org/pubs/ff/pomegranate.html>.
- Champa, W. A. H., Gill, M. I. S., Mahajan, B. V. C., Arora, N. K. (2015). Preharvest salicylic acid treatments to improve quality and postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame Seedless. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 3607-3616.
- Cleland, C.F., Ajami, A. (1974). Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant Physiology*, 54, 904-906.
- Dahham, S.S., Ali, M.N., Tabassum, H. & Khan, M. (2010). Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*9(3): 273-281.
- Das, A.K., Mandal, S.C., Banerjee, S.K., Sinha, S., Das, J., Saha, B.P. & Pal, M. (1999). Studies on Antidiarrheal Activity of *Punica granatum* Seed Extract in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 68:205-208.
- Dave Wilson Nursery. 2005. Pomegranate1 Sept. 2006. <www.davewilson.com/br40/br40_trees/br40Pomegranate.html>.
- Davidson, M.H., Maki, K.C., Dicklin, M.R., Feinstein, S. B., Witchger, M., Bell, M., McGuire, D.K., Provost, J.C., Liker, H., Aviram, M. (2009). Effects of Consumption of Pomegranate Juice

on Carotid Intima–Media Thickness in Men and Women at Moderate Risk for Coronary Heart Disease. *The American Journal of Cardiology*.104(7): 936-942.

Ding, C. K., Wang, C. Y., (2003). The dual effects of methyl salicylate on ripening and expression of ethylene biosynthetic genes in tomato fruit. *Plant Science*, 164, 589-596

Ding, C. K., Wang, C. Y., Gross, K. C., Smith, D. L., (2001). Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock protein genes in tomatoes by methyl jasmonate and methyl salicylate. *Plant Science*, 161, 1153-1159.

Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C., Smith, D.L., (2002). Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214, 95–901.

Duman, A.D., Ozgen, M., Dayisoğlu, K.S., Erbil, N. & Durgac, C. (2009). Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules*. 14(3): 1808-1817.

Dutta, B.K., Rahman, I. & Das, T.K. (1998). Antifungal Activity of Indian Plant Extracts. *Mycoses*. 41:535-536.

Eckert, J. W. and J. M. Ogawa. (1988). the chemical control of postharvest disease: deciduous fruit, berries, vegetables and root/tuber crops. *Ann. Rev. Phytopathol*. 26: 433-469.

Elyatem, S. M. and A. A. Kadar. (1984). Postharvest physiology and storage behavior of pomegranate fruits. *Scientia Hort*. 24: 287-298.

Enyedi, A.J., Yalpani, N., Sliverman, P., Raskin, I., (1992). Signal molecule in systemic plant resistance to pathogens and pests. *Cell*, 70, 879-886.

Erkan, M., Wang, C.Y., Krizek, D.T., 2001. UV-C radiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. *Environ. Exp. Bot*. 45: 1–9.

- Fadavi, A., Barzegar, M. & Azizi, H.M. (2006). Determination of Fatty Acids and Total Lipid Content in Oilseed of 25 Pomegranates Varieties Grown in Iran. *Journal of Food Composition and Analysis*.19: 676-680.
- Festa, F., Aglitti, T., Duranti, G., Ricordy, R., Perticone, P. & Cozzi, R. (2001). Strong Antioxidant Activity of Ellagic Acid in Mammalian Cells in vitro Revealed by the Comet Assay. *Anticancer Research*. 21:3903-3908.
- García-Viguera, C.; y Pérez Vicente, A. (2004). La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. *Alim., nutri. Salud*. 11: 113-120.
- Gharzouli, K., Khennouf, S., Amira, S. & Gharzouli, A. (1999). Effects of Aqueous Extracts from *Quercus ilex* L. Root Bark, *Punica granatum* L. Fruit Peel and *Artemisia Herbaalba* Asso Leaves on Ethanol-induced Gastric Damage in Rats. *Phytotherapy Research*. 13(1):42-45.
- Gil, M., Artés, F. and Tomás-Barberán, F. (1996a). Minimal processing and modified atmosphere packaging effects on pigmentation of pomegranate seeds.61: 162-164.
- Gil, M., Martínez, J. and Artés, F. (1996b). Minimally processed pomegranate seeds. 29: 708-713.
- Gil, M., Tomas-Barberan, I., Hess-Pierce, F., Holcroft, B., D. M., & Kader, 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.
- Giménez, M. J., Valverde, J. M., Valero, D., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Castillo, S. (2014). Quality and antioxidant properties on sweet cherries as affected by preharvest salicylic and acetylsalicylic acids treatments. *Food Chemistry*, 160, 226-232.
- Glowacz, M., Rees, D. (2015). Using jasmonates and salicylates to reduce losses within the fruit supply chain. *European Food Research and Technology*. doi 10.1007/s00217-015-2527-6.
- Gur, A. (1986). *Punica granatum* In: A. H. Halevy (ed.). *CRC Handbook of flowering* Vol. IV, CRC Press . Florida, USA. pp. 147-150.

- Han, T., Wang, Y., Li, L., Ge, X. (2003). Effect of exogenous salicylic acid on postharvest physiology of peaches. *Acta Horticulturae*, 628, 383-389.
- Harper, J.R., Balke, N.E., (1981). Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oats roots by salicylic acid. *Plant Physiology*. 68, 1349-1353.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 14-25.
- Heidel, A. J., Clarke, J. D., Antonovics, J., Dong, X. (2004). Fitness costs of mutations affecting the systemic acquired resistance pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 168, 2197-2206.
- Heidel, A. J., Clarke, J. D., Antonovics, J., Dong, X. (2004). Fitness costs of mutations affecting the systemic acquired resistance pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 168, 2197-2206.
- Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2003). Responses of 'Wonderful' pomegranates to controlled atmospheres. *Acta Hort.* 600: 751-757.
- Holcroft, D.M., Gil, M.I. and Kader, A.A. (1998). Effect of carbon dioxide on anthocyanins, phenylalanine ammonia lyase and glucosyltransferase in the arils of stored pomegranates. *J. Amer.Soc.Hor.Sci.* 123: 136-140.
- Huang, T. H. W., Peng, G., Kota, B. P., Li, G. Q., Yamahara, J., Roufogalis, B. D. & Li, Y. (2005b). Antidiabetic Action of Punica granatum Flower Extract: activation of PPAR-gamma and Identification of an Active Component. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 207(2): 160-169.
- Huang, T. H. W., Peng, G., Kota, B. P., Li, G. Q., Yamahara, J., Roufogalis, B. D. & Li, Y. (2005a). Pomegranate Flower Improves Cardiac Lipid Metabolism in a Diabetic Rat Model: Role of Lowering Circulating Lipids. *British Journal of Pharmacology*.45(6): 767-774.
- Huang, R., Xia, R., Lu, Y., Hu, L., Xu, Y., (2008). Effect of pre-harvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of 'Cara cara' navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 229-236.

- Huber, D.J. (1983). The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Hort. Rev.* 5: 169–219.
- Jafri, M. A., Aslam, M., Javed, K. & Singh, S. (2000). Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on Blood Glucose Level in Normal and Alloxan-induced Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.70, No.3, pp.309-314, ISSN 0378-8741.
- Jahfar, M., Vijayan, K.K. & Azadi, P. (2003). Studies on a Polysaccharide from the fruit rind of *Punica granatum*. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 7(1): 43-50.
- Johanningsmeier, S.D. & Harris, G.K. (2011). Pomegranate as a Functional Food and Nutraceutical Source. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2:181-20.
- Kader, A.A., Chordas, A. and Elyantem, S. (1984). Responses of pomegranates to ethylene treatment and storage temperature. *California agriculture*. 38: 14-15.
- Kang, G.Z., Wang, Z.X., Sun, G.C., (2003). Participation of H₂O₂ in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings. *Acta Botanica Sinica*, 45, 567-573.
- Karp, D. (2006). The pomegranate: For one and all. *Fruit Gardener* 38:8-12.
- Kays, S. J. (1999). Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biol. Technol.* 15: 233-247.
- Khan, W., Prithviraj, B., Smith, D.L., (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160, 485-492.
- Klessig, D.F., Malamy, J., (1994). The salicylic acid signal in plants. *Plant Molecular Biology*, 26, 1439-1458.
- Kulkarni, A. & Aradhya, S. (2005). Chemical Changes and Antioxidant Activity in Pomegranate Arils during Fruit Development. *Food Chemistry*.90: 319– 324.
- Lafuente, M. T., Zacarias, L. Sala, J. M., Sanchez-Ballests, M. T., Luch, Y., Gosalbes, M. J., Granll, A. Marcos, J. F., and Gonzalez-candelas, L. (2005). Understanding the basis of chilling injury in citrus fruit. *Acta Hort.* 682: 831-842.

- LaRue, I.H. 1980. Growing pomegranates in California. DANR publication leaflet 2459. 1 Sept. 2006. <http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/crops/pomegranate_factsheet.shtml#b>.
- Lee, H.I., Raskin, I., (1998). Glucosylation of salicylic acid in *Nicotianatabacum* Cv. Xanthi-nc. *Phytopathology*, 88, 692-697.
- Lee, S.I., Kim, B.S., Kim, K.S., Lee, S., Shin, K.S. & Lim, J.S. (2008). Immune-suppressive Activity of Punicalagin via Inhibition of NFAT Activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 11(371): 799-803.
- Leslie, C. & Romani, R. (1986). Salicylic acid a new inhibitor of ethylene biosynthesis. *Plant Cell Reports* 5: 144-146.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in Comparison with pomegranate pulp Extract. *Food Chemistry*. 96: 254-260.
- Luo, Z., Chen, C., Xie, J. (2011). Effect of salicylic acid treatment on alleviating postharvest chilling injury of 'Qingnai' plum fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 62, 115-120.
- Marquenie, D., Michiels, C.W., Geeraerd, A.H., Schenk, A., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Nicolai, B.M., (2002). Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. *Int. J. Food Microbiol.* 73: 187–196.
- 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 Biology and Technology*, 44, 26-33.
- Morton, J. (1987). *Fruits of warm climates*. Miami, FL.
- Narr Ben, C., Ayed, N. & Metche, M. (1996). Quantitative Determination of the Polyphenolic Content of Pomegranate Peel. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 203: 374-378.

- Noda, Y., Kaneyuka, T., Mori, A. & Packer, L. (2002). Antioxidant Activities of Pomegranate Fruit Extract and Its Anthocyanidins: Delphinidin, Cyanidin, and Pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(1) 166-171.
- Oswa, T., Ide, A., Su, J.D., & Namiki, M. (1987). Inhibiting of Lipid Peroxidation by Ellagic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.35(5): 808-812.
- Ovesná, Z., Vachálková, A., Horváthová, K., & Tóthová, D. (2004). Pentacyclic Triterpenoic Acids: New Chemoprotective Compounds Minireview. *Neoplasma*. 51:327- 333.
- Ozgul-Yucel, S. (2005). Determination of Conjugated Linolenic Acid Content of Selected Oil Seeds Grown in Turkey. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.82(12):893-897.
- Patil, A. V. and A. R. Karale. (1990). Pomegranate. In: T. K. Bose and S. K. Mitra (eds.). *Fruits: tropical and subtropical*. Naya Prokash, Calcutta, India. pp: 615-637.
- Popova, L., Pancheva, T., Uzunova, A. (1997). Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 23, 85-93.
- Poyrazoglu ,E., Gokmen, V. & Artik, N. (2002). Organic Acids and Phenolic Compounds in Pomegranates (*Punica granatum* L.) Grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15(5): 567-575.
- Prashanth, D.J., Asha, M.K. & Amit, A. (2001). Antibacterial Activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*.72 (2): 171-173.
- Rahemi, M. and S. H. Mirdehghan. (2004). Effect of temperature conditioning on reducing chilling injury of pomegranate fruits during storage. *Acta Hort*. 662: 87-91.
- Raskin, I., (1992a). Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43, 439-463.
- Raskin, I., (1992b). Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99, 799-803.

- Raskin, I., Skubatz, H., Tang, W., Meeuse, B.J.D., (1990). Salicylic acid levels in thermogenic and nonthermogenic plants. *Annals of Botany*, 66, 376–383
- Ray, P. K. (2002). *Breeding Tropical and Subtropical fruits*. Alpha Science International Ltd., Pangbourne, UK.
- Recasens, I., Benavides, A., Puy, J., Casero, T. (2004). Pre-harvest calcium treatments in relation to the respiration rate and ethylene production of "Golden Smoothie" apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 765-771.
- Romani, S., Campuzano, S., Macagno, E.R., Modolell, J. (1989). Expression of achaete and scute genes in *Drosophila* imaginal discs and their function in sensory organ development. *Genes Dev.* 3: 997-1007.
- Rosenblat, M., Draganov, D., Watson, C.E., Bisgaier, C.L., La Du, B.N. & Aviram, M. (2003). Mouse Macrophage Paraoxonase 2 Activity is Increased whereas Cellular Paraoxonase 3 Activity is Decreased under Oxidative Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 1(23): 468-474.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. (2011a). Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food Chemistry*, 124, 964-970.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., Valero, D., (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in store pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 152-154.
- Sayyari, M., Castillo, S., Valero, D., Díaz-Mula, H., Serrano, M. (2011b). Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 136-142.

- Schubert, S.Y., Lansky, E.P. & Necman, I. (1999). Antioxidant and Eicosanoid Enzyme Inhibition Properties of Pomegranate Seed Oil and Fermented Juice Flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*. 66(1):11-17.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., Dixon, K., (2000). Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulator*, 30, 157-161.
- Seppi, A. & Franciosi, A. (1980). Chemical Composition of Pomegranate Juice (*Punica granatum*): Amino Acid Contents. *Rivista della Società Italiana di Scienze dell'Alimentazione*. 9: 211-212.
- Serrano, M., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M., Valero, D. (2009). Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2741-2745.
- Sharon-Asa, L., Shalit, M., Frydman, A., Bar, E., Holland, D., Or, E., Lavi, U., Lewinsohn, E., Eyal, Y. (2003). Citrus fruit flavor and aroma biosynthesis: isolation, functional characterization, and development regulation of *Cstps1*, a key gene in the production of the sesquiterpene aroma compound valencene. *The Plant Journal*, 36, 664-674.
- Shewfelt, R.L. (1999). What is quality? *Postharvest Biology and Technology*, 15, 197-200.
- Silverman, P., Seskar, M., Kanter, D., Schweizer, P., Metraux, J.P., Raskin, I. (1995). Salicylic acid in rice, biosynthesis, conjugation and possible role. *Plant Physiology*, 108, 633-639.
- Singh, D. & Sethi, V. (2003). Screening of Pomegranate Genotypes for the Preparation of quality Grade Anardana. *Journal of Food Science and Technology*. 40(2): 236-238.
- 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.

- Singh, R.P., Gupta, A.K. & Bhatia, A.K. (1990). Utilization of Wild Pomegranate in Northwest Himalayas-Status and Problems. In: Proc Nat Semi Production and Marketing of Indigenous Fruits, pp.100-107, New Delhi, India.
- Sivarajan, V.V. & Balachandran, I. (1994). Ayurvedic Drugs and Their Plant Sources. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., ISBN 9788120408289, New Delhi, India.
- Syed, D.N., Afaq, F. & Mukhtar, H. (2007). Pomegranate derived products for cancer Chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology*. 17(5):377-385.
- Tareen, M.J., Abbasi, N. A., Hafiz, I. A., (2012). Postharvest application of salicylic acid enhanced antioxidant enzyme activity and maintained quality of peach cv. 'Flordaking' fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 142, 221-228.
- Tezcan, F., Gultekin-Ozguven, M., Diken, T., Ozcelik, B. & Erim, F.B. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic, Organic Acid and Sugar Content in Commercial Pomegranate Juices. *Food Chemistry*. 115(3): 873-877.
- Thresiamma, K.C. & Kuttan, R. (1996). Inhibition of Liver Fibrosis by Ellagic Acid. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 40: 363-366.
- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2001). HPLD-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4748-4760.
- Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Serrano, M. (2011). Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5483-5489.
- Valero, D., Serrano, M. (2010). *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality*. Boca Raton: CRC Press-Taylor and Francis.

- Valverde, J.M., Giménez, M.J., Guillén, F., Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. (2015). Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees increase antioxidant systems in fruit at harvest and during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 106-113.
- Villaescusa, R., Tudela, J.A., Artés, F. (2000). Influence of temperature and modified atmosphere packaging on quality of minimally processed pomegranate seeds. In: Artés, F., Gil, M.I., Conesa, M.A. (Eds.), *Improving Postharvest Technologies for Fruits, Vegetables and Ornamentals*. International Institute of Refrigeration, pp. 445–449.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J. & Pérez-Álvarez, J.A. (2010). Pomegranate and Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9(6): 635-654.
- Wang, Z., Ma, L., Zhang, X., Xu, L., Cao, J., Jiang, W., (2015). The effect of exogenous salicylic acid on antioxidant activity, bioactive compounds and antioxidant system in apricot fruit. *Scientia Horticulturae*, 181, 113-120.
- Wang, Z., Ma, L., Zhang, X., Xu, L., Cao, J., Jiang, W., (2015). The effect of exogenous salicylic acid on antioxidant activity, bioactive compounds and antioxidant system in apricot fruit. *Scientia Horticulturae*, 181, 113-120.
- Wildermuth, M.C., Dewdney, J., Wu, G., Ausubel, F.M. (2001). Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature*, 414, 562–565.
- Wrolstad, R.E., Dursta, R.W., Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 423-428.
- Yalpani, N., Enyedi, A.J., Leon, J., Raskin, I. (1994). Ultraviolet light and ozone stimulate accumulation of salicylic acid, pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Planta*, 193, 372-376.
- Yalpani, N., Leen, J., Lawthon, M.A., Raskin, I. (1993). Pathway of salicylic acid biosynthesis in healthy and virus-inoculated tobacco. *Plant Physiology*, 103, 315-321

- Yao, H., Tian, S., (2005). Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 253-262.
- Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D., Marcy, J.E., (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *Int. J. Food Microbiol.* 90, 1–8.
- Yin, X., Zhang, Y., Zhang, B., Yang, S-I., Shi. Y., Ferguson, I. B., Chen, K., (2013). Effects of acetylsalicylic acid on kiwifruit ethylene biosynthesis and signaling components. *Postharvest Biology and Technology*, 83, 27-33.
- Zarei, M., Azizi, M. & Bashir-Sadr, Z. (2011). Evaluation of physicochemical characteristics of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Fruit during Ripening. *Fruits*.66(2): 121-129.
- Zhang, X., Shen, L., Li, F., Meng, D., Sheng, J. (2011). Methyl Salicylate-Induced Arginine Catabolism Is Associated with Up-regulation of Polyamine and Nitric Oxide Levels and Improves Chilling Tolerance in Cherry Tomato Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9351-9357.

PÁGINAS WEB CONSULTADAS

<http://cultivodelgranado.es/el-granado/variedades/>. Noviembre 2016.

<http://www.granadaselche.com/granada>. Noviembre 2016.

<http://www.mapama.gob.es/es/>. Noviembre 2016.