

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



**“EFECTO DEL TRATAMIENTO POST-COSECHA CON  
MELATONINA SOBRE LA CALIDAD DE GRANADA  
(*Punica granatum* L. cv. Wonderful)”**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Marzo - 2019**

Autora: Ana Maria Vintila

Tutores: Antonio Fabián Guillén Arco

Alejandra Martínez Esplá



## RESUMEN

Los elicitores son aquellas sustancias que inducen un cambio fisiológico en la planta y a partir de la cual se activan una serie de mecanismos similares a las respuestas de defensa que, en condiciones naturales, se desencadenarían tras la infección de un patógeno o un estímulo del medio, afectando así al metabolismo de la planta y aumentando la síntesis de compuestos fitoquímicos. Elicitores tales como la melatonina a diferentes dosis se aplicaron en post-cosecha sobre granada para tratar de evaluar si se obtenían mejoras en los frutos durante su almacenamiento post-recolección. Tras aplicar los tratamientos, y una vez evaluados los frutos, se observó que los tratamientos mejoraron sensiblemente parámetros tales como las pérdidas de peso y la firmeza y mantuvieron mayores niveles de color, sólidos solubles y acidez titulable. Asimismo, los tratamientos fueron exitosos disminuyendo la sensibilidad a los daños por frío por lo que se incrementó la calidad general de estos frutos.

Palabras clave: Granada, melatonina, Post-cosecha, Elicitores, Almacenamiento.

## ABSTRACT

Elicitors are substances which induce physiological changes in plant. Plants respond to these stressors by activating an array of mechanisms, similar to the defense responses to pathogen infections or environmental stimuli, affecting the plant metabolism and enhancing the synthesis of phytochemicals. Elicitors as melatonin at different doses were applied at post-harvest stage on pomegranate, to evaluate if these treatments were able to maintain quality during storage. After applied these treatments and once fruits were evaluated, results showed that these fruits were able to improve or maintain quality parameters as weight loss or firmness and were able induced an increase of some color parameters, total soluble solids and titratable acidity. On the other hand these treatments were successful reducing chilling injury parameters leading to a higher general quality of these fruit.

Keywords: Pomegranate, melatonin, Post-harvest, Elicitors, Storage.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 La granada.....	5
1.2 Origen.....	7
1.3 Taxonomía .....	7
1.4 Biología floral .....	8
1.5 Composición química y nutricional .....	9
1.6 Efectos beneficiosos de la granada.....	12
1.7 Calidad del fruto .....	13
1.8 Variedades de granada .....	14
1.9 Factores que afectan la calidad post-cosecha .....	19
1.10 Elicitores.....	20
1.10.1 Melatonina.....	21
1.11 Producción de granada e importancia económica.....	22
2. OBJETIVOS.....	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1 Material vegetal .....	29
3.2 Diseño experimental.....	29
3.3 Determinaciones analíticas .....	30
3.3.1 Pérdida de peso.....	30
3.3.2 Determinación de CO <sub>2</sub> .....	31
3.3.3 Evaluación del color.....	32
3.3.4 Determinación de la firmeza.....	33
3.3.5 Evaluación de los sólidos solubles.....	34
3.3.6 Determinación del pH y de la acidez titulable .....	35
3.3.7 Determinación de la susceptibilidad a los daños por frío.....	36
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	38
4.1 Evolución de la pérdida de peso.....	38
4.2 Evolución de la respiración .....	39
4.3 Evolución de la firmeza.....	41
4.4 Evolución del color.....	42
4.5 Evolución de los sólidos solubles totales .....	45
4.6 Evolución de la acidez .....	47

4.8 Evolución del grado de picado (pitting).....	50
5. CONCLUSIONES .....	52
6. BIBLIOGRAFÍA .....	53
6.1 Páginas web consultadas .....	60



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 La granada

El granado (*Fotografía 1*) es un árbol caducifolio perteneciente a la familia de las *Punicaceae*, que tiene una altura entre 4 y 7 metros y cuyo fruto es la granada (*Punica granatum* L.). Las hojas del granado miden entre 2 y 9 cm de longitud y entre 1 y 3 cm de ancho, son de color verde brillante y ovaladas.



*Fotografía 1:* Granado con granadas.

Las flores (*Fotografía 2*) pueden aparecer solidarias, en parejas o en grupos. En la etapa temprana, la flor se asemeja a una pequeña pera con un color verdoso por su parte globosa y de color rojizo en su ápice. A medida que la flor madura, se desarrolla un color rojo anaranjado a rojo intenso en el color de los sépalos. Los pétalos son naranja-rojo o rosado y raramente blancas.

La granada (*Fotografía 3.*) es una baya carnosa denominada balausta. Tiene una corteza gruesa y coriácea que protege a la pulpa, de un color que va de amarillo-verdoso a rojo intenso y en el extremo tiene el cáliz persistente. Las semillas están rodeadas de una pulpa jugosa (arilos) cuyo color va de un rubí intenso hasta blanco. Los arilos de los frutos se encuentran agrupados en lóculos y están separados por las membranas carpelares, constituyen la parte comestible del fruto y llegan a unos 1300 arilos por fruto.



*Fotografía 2:* Flor del granado.



*Fotografía 3:* Partes de la granada.

Las frutas climatéricas son aquellas frutas que tienen una alta tasa de respiración y una abundante producción de etileno durante su maduración, por lo tanto, pueden madurarse después de haberse cosechado. En cambio, las frutas no climatéricas son frutas que no incrementan su producción de etileno cuando maduran. En el caso de la granada es una fruta no climatérica.

## 1.2 Origen

El cultivo de granado se conoce desde la antigüedad. El granado es uno de los frutos bíblicos, como la vid, el olivo o el palmeral, pero también se cita en el Corán. Los fenicios y los griegos eran los que cultivaban este frutal, pero podría tener su origen en Persia tal y como se puede apreciar en los escritos.

El científico ruso Vavilov sitúa su origen en el Centro de diversidad IV, Centro de Oriente Próximo, que incluye el interior de Asia Menor, la Transcaucasia, Irán y las tierras altas de Turkmenistán. A este centro también pertenece otros frutales tales como la higuera, manzano, peral, membrillo, cerezo, almendro, avellano, castaño, entre otras especies vegetales (Sánchez-Monge, 1974).

## 1.3 Taxonomía

El granado pertenece a la familia *Punicaceae* que solo posee el género *Punica* L. De este género las dos especies más conocidas son: *Punica granatum* L. granado cultivado por sus frutos y *Punica nana* L., granado de uso ornamental y frutos no comestibles. En ocasiones esta especie es considerada una variedad de *P. granatum*, denominándose como *P. granatum var. Nana* L.

El granado cultivado, *Punica granatum* L., es una especie cuyo número de cromosomas es  $2n = 16$  o  $18$  (Mars, 1998). Esta especie tiene dos subespecies, *chlorocarpa* y *prophyrocarpa*. La más antigua se encuentra en la región de Transcaucasus (Armenia, Georgia y Azerbaiyán), mientras que la última se encuentra en Asia central (Patil y Karale, 1990).

**Tabla 1:** Clasificación sistemática del granado.

CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA	
Reino	Plantae
División	Fanerógamas
Clase	Dicotiledóneas



Orden	Myrtales
Familia	Punicaceae
Género	Punica
Especie	P. granatum

*Fuente:* Tratado de Fruticultura para zonas áridas y semiáridas (Melgarejo y Salazar, 2003).

#### 1.4 Biología floral

En el clima subtropical, la granada florece una vez al año, en cambio en el clima tropical la granada florece casi todas las épocas del año. En las zonas con bajas temperaturas (invierno) el árbol es de hoja caduca mientras que en climas tropicales el árbol es parcialmente de hoja caduca o imperecedero. En las zonas con clima tropical el brote de la flor transcurre 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). El florecimiento en climas subtropicales del hemisferio norte 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 unos pedúnculos cortos y sensibles. Son hermafroditas y masculinas, así como formas intermedias, ocurren en el mismo árbol de la granada. En el caso de las hermafroditas el cáliz tiene una forma de jarra con un ovario amplio bien desarrollado. En cambio, las flores masculinas son más pequeñas y con un cáliz acampanado y un ovario rudimentario. Las formas intermedias muestran varios grados de degeneración del ovario. Las frutas procedentes de estas flores caen temprano, o sin madurar y les faltan 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 Composición química y nutricional

Gran parte de su importancia organoléptica y posible papel beneficioso para la salud, se debe a la presencia de compuestos fenólicos. Los antocianos son los responsables de la pigmentación roja del fruto y de las semillas, la intensidad depende de la cantidad y del tipo que presenta. Los taninos son sustancias de origen vegetal que proporciona el sabor astringente. Por otra parte, los elagitaninos y, en menor proporción los antocianos aporta propiedades antioxidantes.

Así mismo, la granada es rica en otros componentes nutricionales que se reflejan en la *tabla 2*. El agua es el componente mayoritario seguido de los carbohidratos. Tiene un bajo valor calórico (63 Kcal/100 g) debido a que su contenido en grasas y proteínas es bajo. Presenta también una pequeña proporción de fibra alimentaria, localizada fundamentalmente en el piñón (3,5 g/100 g).

En cuanto a los micronutrientes se puede afirmar que es rica en potasio y aporta una cantidad considerable de calcio, magnesio, fósforo y hierro. Además, contiene vitaminas del grupo B y C.

*Tabla 2:* Composición nutricional de la granada por 100 g comestibles.

Componente	Valor	Unidad
Proximales		
Energía	261 (63)	KJ (Kcal)
Grasa, total (lípidos totales)	0,3	g
Proteína, total	1	g
Agua (humedad)	80,2	g
Hidratos de carbono		
Fibra, dietética total	3,5	g
Carbohidratos	13,7	g

Grasas		
Ácidos grasos, monoinsaturados totales	Traza	g
Ácidos grasos, poliinsaturados totales	Traza	g
Ácidos grasos, saturados totales	Traza	g
Colesterol	0	mg
Vitaminas		
Vitamina A equivalentes de retinol de actividades de retinos y carotenoides	7	µg
Vitamina D	0	µg
Vitamina E equivalentes de alfa tocoferol de actividades de vitámeros E	0,55	mg
Folato, total	29	µg
Equivalentes de niacina, totales	0,3	mg
Riboflavina	0,03	mg
Tiamina	0,05	mg
Vitamina B-12	0	µg
Vitamina B-6, total	0,2	mg
Vitamina C (ácido ascórbico)	20	mg
Minerales		
Calcio	13	mg
Hierro, total	1	mg
Potasio	247	mg
Magnesio	6	mg

Sodio	4	mg
Fósforo	25	mg
Ioduro	-	-
Selenio, total	0,6	µg
Zinc (cinc)	0,1	mg

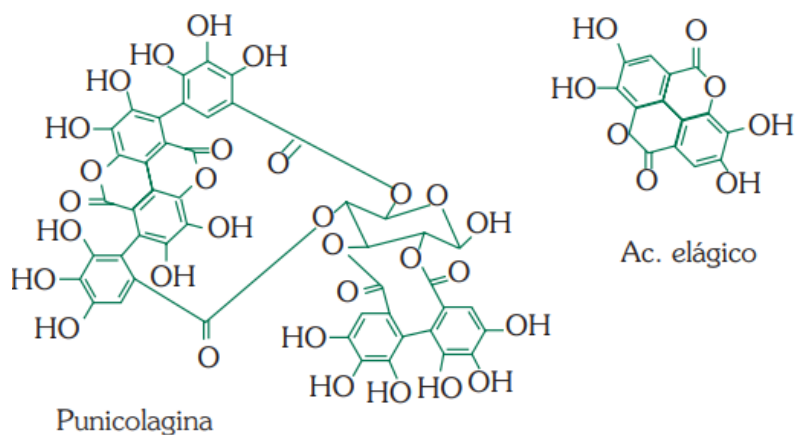
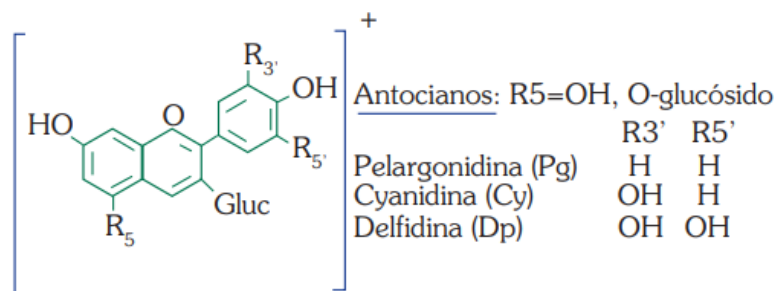
*Fuente:* BEDCA.

Los fenoles totales se encuentran en una elevada concentración (aprox. 83 mg/100 g de porción comestible o 250 mg/100 mL), similar a la del vino tinto (valores medios de 203 mg/100 mL) y muy superior a la del té verde (aprox. 103 mg/100 mL), tan apreciado hoy día por su capacidad antioxidante (Gil et al., 2000).

Dentro de esta fracción fenólica los compuestos mayoritarios pertenecen al grupo de los antocianos (flavonoides coloreados), elagitaninos, derivados del ácido elágico y otros taninos hidrolizables.

En cuanto a los compuestos fenólicos coloreados, cabe destacar que la granada se caracteriza por la presencia de seis antocianos, derivados 3-glucósidos y 3,5-diglucósidos de delfinidina, cianidina y pelargonidina (*Imagen 1*). Los derivados de cianidina se encuentran en mayor proporción (por encima del 60 %), otorgando en total una alta concentración de estos flavonoides (alrededor de 13,3 mg / 100 g de porción comestible o 40 mg / 100 mL de zumo).

En el segundo grupo las punicalaginas (*Imagen 1*) son los compuestos más abundantes, alcanzando concentraciones de 52 mg / 100 mg de porción comestible (156 mg / 100 mL de zumo). El ácido elágico (*Imagen 1*) y sus derivados se encuentran en proporciones algo inferiores (4 mg / 100 mg o 12 mg/ 100 mL zumo) y el total de otros taninos hidrolizables alcanza valores de 14 mg / 100 mg (42 mg/ 100 mL zumo).



**Imagen 1:** Principales compuestos fenólicos de la granada.



### 1.6 Efectos beneficiosos de la granada.

Desde antiguo se conocen los beneficios que este fruto proporciona a nuestra salud, apareciendo ya en el libro “Historia Naturalista” de Plinio el Viejo, y en pinturas y mosaicos de los tiempos de Pompeya.

Probablemente, lo más llamativo es su fama como estimulante sexual, visto lo cual se le ha considerado desde la época griega como un alimento afrodisíaco.

Su alto contenido en agua y potasio y escasa concentración de sodio, le confieren propiedades diuréticas y depurativas, lo que unido a su concentración en ácido cítrico hace que se favorezca la eliminación de ácido úrico y sus sales a través de la orina, por lo que su consumo es muy adecuado en caso de padecer gota, litiasis renal por sales de ácido úrico, obesidad o hipertensión.

También es importante su papel astringente y antiinflamatorio, debido a la presencia de taninos, y presenta cualidades antisépticas y antiinflamatorias debidas a presencia de los ácidos cítrico y málico.

La corteza del fruto y las láminas internas que separan los granos son ricas en alcaloides, fundamentalmente en peleterina, lo que les confieren propiedades vermífugas. Así mismo, las punicorteínas de la corteza les otorgan efectos antitumorales a sus preparados.

Recientemente también se ha descrito que la granada tiene propiedades antisépticas y desinfectantes contra *Bacillus subtilis*, *E. coli* y *S. cerevisiae*.

Existen sustancias que les otorgan elevada capacidad antioxidante, siendo los compuestos fenólicos los principales responsables de la misma, indicando estudios actuales que frenan los procesos de envejecimiento, y aparición de enfermedades degenerativas como cerebro y cardiovasculares, cáncer y patologías asociadas. También se ha descrito el efecto antiarterioesclerótico del zumo, en humanos y ratones y puede ser recomendado para la prevención de enfermedades inflamatorias y apoplejías, así como en tratamientos contra el sida.

Los extractos de Granada tienen diversas actividades biológicas como son: anticancerígena (Whitley, 2003; AFAQ, 2005), antimicrobiana (Akiyama et al., 2001; Parshanth 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, 2003) 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 las actividades terapéuticas descritas anteriormente están relacionadas con la presencia de compuestos fenólicos (ácido gálico, ácido protocatechinic, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido curmárico y catequina), taninos hidrolizables (punicalina, pedunculagin, punicalagina, corilagin, casuarinin, punicacortein, granatín y ácido elágico) y antocianinas (delfinidina, cianidina y pelargoidina 3-glucósidos y 3,5-diglucósidos).

## **1.7 Calidad del fruto**

La palabra «calidad» proviene del latín *qualitas*, que significa atributo, propiedad o naturaleza básica de un objeto. Sin embargo, en la actualidad y en sentido abstracto su significado es «grado de excelencia o superioridad» (Kader

et al., 1985). Aceptando esta definición, se puede decir que un producto es de mejor calidad cuando es superior en uno o varios atributos que son valorados objetiva o subjetivamente.

En términos del servicio o satisfacción que produce a los consumidores, se podría también definirla como el «grado de cumplimiento de un número de condiciones que determinan su aceptación por consumidor». Se introduce aquí un carácter subjetivo, ya que distintos consumidores juzgarán con un mismo producto de acuerdo con sus preferencias personales.

El término de calidad se ha definido de muchas formas y no hay un acuerdo en común que es, como se puede medir o/y cómo se relaciona con la aceptabilidad del consumidor. No obstante, se puede afirmar que la calidad es el grado de excelencia o ausencia de defectos.

En el sector de las frutas la calidad incluye tanto la calidad organoléptica que son aquellas que se perciben por los sentidos (aspecto, textura, sabor y aroma) como la calidad nutritiva y calidad funcional que son aquellas calidades que no se pueden percibir por los sentidos (Shewfelt, 1999). Shewfelt (1999) afirma 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.

Los factores que influyen en la calidad de las frutas pueden ser factores de producción (clima, variedad, poda, riego, enfermedades, tratamientos, etc.), factores de recolección y manipulación (momento de recolección, sistema de recolección, transporte, tratamientos post-recolección, etc.), factores de conservación (sistema de conservación, tiempo de conservación, manejo de la cámara, etc.) y factores de comercialización (sistema de clasificación, envasado, transporte, manipulación y tiempo hasta llegar al consumidor, etc.)

## 1.8 Variedades de granada

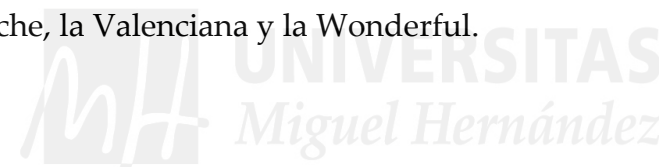
Las variedades se pueden clasificar en dulces, agri dulces o agrias según la acidez e índice de madurez (SST/AT). Además, el índice de madurez indica el momento de recolección. En la **Tabla 3** se muestran los valores de acidez e índice de madurez de las diferentes variedades de granadas.

**Tabla 3:** Clasificación de las variedades de granadas.

	IM (SST/AT)	FB	Acidez
Dulce	60-80	4-9	0,15-0,48
Agridulce	20-25	9-15	0,48-0,91
Agrias	6-10	15-20	0,91->3
Wonderful	7-12	17-21	2-3

*Fuente:* <https://cultivodelgranado.es/>

Hay una amplia variedad de granadas (*Tabla 4*), a continuación, se explicará las características de las variedades más conocidas en España como es la Mollar de Elche, la Valenciana y la Wonderful.



**Tabla 4:** Algunas de las variedades de granadas.

Variedad	Descripción
King	Originaria de Estados Unidos. El color exterior es de rosa crema y el color de los arilos es de un rosa intenso. Muy dulce y acidez baja.
Azadi	Originaria de Turkmenistán. El color exterior es de crema amarillo y el color de los arilos es de un rojo claro. Dulce, acidez baja y ligera resistencia al frío.
Desertnyi	Originaria de Turkmenistán. El color exterior y de los arilos es rojo. Dulce, acidez media y poca resistencia al frío.



Nikitski ranni	Originaria de Rusia. El color exterior y de los arilos es rojo oscuro. Dulce y acidez baja.
Sakerdze	Originaria de Rusia. El color exterior y de los arilos es rojo oscuro. Dulce medio y acidez media.
Al-Sirin-Nar	Originaria de Rusia. El color exterior y de los arilos es rojo. Dulce, acidez media y resistente al frio.
Afganski	Originaria de Rusia. El color exterior y de los arilos es rojo. Dulce, acidez media y resistente al frio.
Medovyi Vahsha	Originaria de Turkmenistán. El color exterior y de los arilos es rojo oscuro. Dulce y acidez baja.
Shani	El color exterior es de rojo a rosado y el color de los arilos es de un rojo oscuro. Dulce y no acida.
Acco	El color exterior es de rojo a rosado y el color de los arilos es de un rojo oscuro. Dulce y acidez baja.
Emek	El color exterior es rosado oscuro y el color de los arilos es de un rojo. Dulce.
Smith	El color exterior y de los arilos es rojo intenso. Dulce y acidez baja. Poco dulces y acidez alta.
Surh-Anor	Originaria de Rusia. El color exterior es de rojo amarillo y el color de los arilos es de un rojo claro. Dulce, acidez baja y resistente al frio.
Salavatski	Originaria de Rusia. El color exterior y de los arilos es rojo. Dulce, acidez media y resistente al frio.
Tabestani malas Biranden saveh	Originaria de Irán. El color exterior es de un amarillo rosado.
Treehouse Vietnam	El color exterior es amarillo. Dulce, acidez media y resistente al frio.

*Fuente:* <https://cultivodelgranado.es/>

La variedad Mollar de Elche (*Fotografía 4*) es la variedad más cultivada a nivel nacional y actualmente tiene concedida la denominación de origen protegida. Es originaria de Elche, como su nombre indica. La recolección como se indica en la *Imagen 2* se inicia a mediados de septiembre y finaliza a finales de enero. Presenta una forma redondeada, de calibre medio-grande, con arilos dulces y de color rojo claro en el interior. La piel de las granadas de dicha variedad presenta un color rojo-amarillento y es resistente a la manipulación. El contenido en sólidos solubles totales oscila entre 13,44 y 17,68 °Brix. La acidez presenta un valor de 0,24 - 0,35, con un porcentaje en zumo del orden del 34,42 – 40 % y con un contenido medio en fibra bruta de 3,8 - 7,9 % (Cambayas Coop. V., 2018).



*Fotografía 4:* Granada de la variedad Mollar de Elche.

Como se puede observar en la *Imagen 2* la recolección de la variedad Valenciana (*Fotografía 5*) se inicia a mediados de agosto y finaliza a finales de septiembre convirtiendo esta variedad en la más temprana y la que menos tiempo dura. Dicha variedad posee una forma redondeada, es de calibre medio, con arilos dulces y un piñón inapreciable. El color interno es rosa claro y el externo es un rosa más intenso. Al contrario que la variedad Mollar de Elche, la variedad Valenciana posee una piel sensible a la manipulación. Los sólidos solubles totales presentan valores medios de 13,90 - 15,50 °Brix, con una acidez de 0,14 - 0,26, un porcentaje en zumo del orden del 29,26 - 53,84 % y con un contenido medio en fibra bruta de 8 - 16 % (Cambayas Coop. V., 2018).

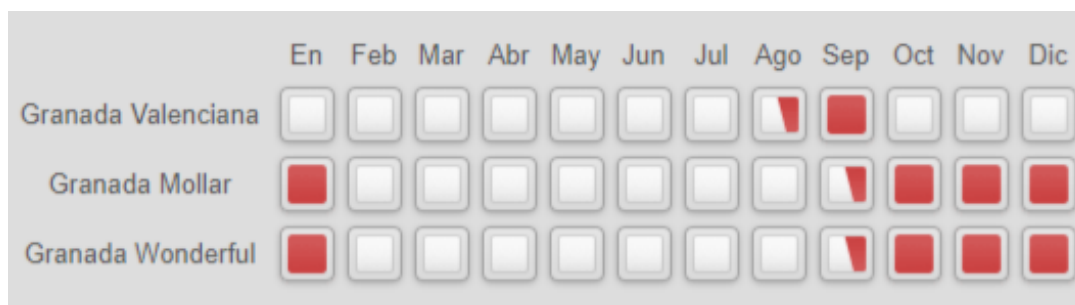


*Fotografía 5:* Granada de la variedad Valenciana.

La más conocida es la variedad Wonderful (*Fotografía 6*), la recolección como se indica en la *Imagen 2* se inicia a mediados de septiembre y finaliza a finales de enero. Presenta una forma redondeada con su corona alargada, de calibre medio y muy grandes, con arilos agridulces y de color rojo intenso en el interior. La piel de las granadas de dicha variedad presenta un color rojo intenso y es resistente a la manipulación. El contenido en sólidos solubles totales oscila entre 13 y 18 °Brix. La acidez presenta un valor de 2 - 3, con un porcentaje en zumo del orden del 30 – 45 % y con un contenido medio en fibra bruta de 17 - 21 % (Cambayas Coop. V., 2018).



*Fotografía 6:* Granada de la variedad Wonderful.



*Imagen 2:* Calendario de la producción de los diferentes tipos de variedades de granada.

*Fuente:* Cambayas Coop. V., 2018

### 1.9 Factores que afectan la calidad post-cosecha

Desde que las frutas y las verduras son recolectadas hasta que llegan al consumidor cambian la calidad debido a que suceden una serie de procesos que son responsables de estos cambios. La respiración, la producción de etileno, la transpiración, los daños mecánicos y la pérdida de peso son los principales factores biológicos y físicos responsables de la pérdida de calidad post-cosecha de frutas y hortalizas.

Con la respiración se pierden las reservas alimenticias almacenadas en las frutas o en las verduras y por lo tanto disminuye el valor alimenticio, que afecta principalmente al dulzor y la pérdida de peso. La energía que se libera durante este proceso de respiración requiere tecnologías de ventilación y refrigeración para poder mantener la calidad.

Durante la maduración de la granada se producen cambios en los carbohidratos (degradación de pectina e incremento de lignina), cambios en los ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos y lípidos que pueden influir en la calidad durante la post-cosecha.

El factor más importante que afecta a la calidad post-cosecha es la temperatura, por lo que se debe controlar, dependiendo de las frutas y verduras que es tiene una temperatura óptima. La temperatura de refrigeración disminuye el crecimiento microbiano, facilita el control de insectos, parásitos o procesos de modificación relacionados con la maduración, pero puede también causar daño por frío.

La granada es una fruta que tiene un periodo de cosecha reducido y la refrigeración es el único método para ampliar su vida útil 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). Los síntomas de los daños por frío pueden que no sean visibles en el exterior y que tengan daños en el interior de la fruta, pero, la mayoría de estos daños son visibles y presentan diferentes sintomatologías. Los síntomas más comunes al frío son 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, 2004).

### **1.10 Elicitores**

Las frutas y las verduras a partes de la composición nutricional (carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales) también tienen una composición en fitoquímicos. Entre estos, se incluyen los compuestos fenólicos y los glucosinolatos, los cuales favorecen la capacidad de adaptarse al medio e intervienen en los sistemas de defensa de la planta frente a agentes de origen biológico, fúngico y/o viral.

Dado los beneficios que aportan los componentes fitoquímicos, se aplican tratamientos con elicitores, que actúan incrementando la producción metabólica de la planta y, por consiguiente, mejorando su composición en fitoquímicos.

Los elicitores son aquellas sustancias que inducen un cambio fisiológico en la planta, a partir del cual se activan una serie de mecanismos similares a las respuestas de defensa que, en condiciones naturales, se desencadenan tras la infección de un patógeno o un estímulo del medio, afectando así al metabolismo de la planta y aumentando la síntesis de compuestos fitoquímicos (Baenas et al., 2014). Los elicitores se pueden clasificar como compuestos bióticos o abióticos, aunque las hormonas de las plantas también deben ser consideradas elicitores. Un ejemplo de dichos los elicitores empleados son: ácido oxálico, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de metilo, jasmonato de metilo y melatonina.

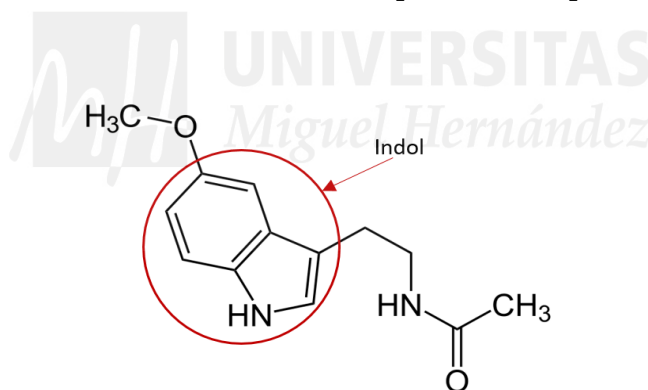
Como resultado del gran interés por los componentes fitoquímicos ha surgido numerosas publicaciones dedicadas al estudio de la acción de los elicitores, actuando sólo o en combinación con otros elicitores, para mejorar el contenido fitoquímico de la planta. También resulta relevante determinar el

momento idóneo para aplicar el elicitor durante el crecimiento del vegetal. La aplicación de elicitores genera múltiples efectos sobre la planta, siendo destacables un incremento sobre la resistencia sistémica adquirida y/o inducida (Terry y Joyce, 2004) y la estimulación del metabolismo secundario para la síntesis de fitoquímicos (Ruíz-García y Gómez-Plaza, 2013).

### 1.10.1 Melatonina

La melatonina o N-acetil-5-metoxitriptamina (*Fotografía 7*) es una hormona secretada fundamentalmente por la glándula pineal y se encuentra tanto en humanos como en animales, plantas, bacterias y hongos (Lerner et al., 1958; Balzer y Hardeland 1991).

Es una indolamina, es decir, un compuesto que tiene un grupo amino y que deriva del indol, un hidrocarburo que tiene un anillo hexagonal unido a uno pentagonal (*Fotografía 7*). Concretamente pertenece a la familia de los metoxiindoles, los cuales son sintetizados a partir del triptófano.



*Fotografía 7:* Estructura de la melatonina.

En un estudio sobre los efectos de la melatonina en el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos hortofrutícolas se expuso que la melatonina es un regulador de crecimiento de tipo hormonal en las plantas, debido a que su distribución y función en el tejido fue similar al del ácido indol-3-acético (IAA, hormona vegetal) en la promoción del crecimiento. La actividad de promoción de crecimiento de la melatonina es aproximadamente del 10 al 50 % de la de IAA debido a la falta de carboxilo en la cadena lateral de la melatonina (Hernández-Ruiz et al., 2004). Aunque la melatonina y el IAA son compuestos de indol amina,

sus mecanismos de regulación de la señal difieren (Arnao y Hernández-Ruiz, 2007). La falta de receptores de unión específicos para la melatonina en las plantas dicta que la melatonina no se puede definir como una hormona vegetal.

La melatonina afecta el crecimiento de las plantas y la fotosíntesis. Cuando se aplica en dosis bajas se ha demostrado que promueve el crecimiento de las plantas al aumentar el metabolismo de los carbohidratos y la fotosíntesis. Sin embargo, cuando se aplica en altas dosis inhibe la fotosíntesis de las hojas y el crecimiento de las plantas (Zhao et al., 2015).

### **1.11 Producción de granada e importancia económica**

La granada es propia de climas tropicales y subtropicales, debido a esto su cultivo es adecuado en los países de la cuenca Mediterránea. España es el principal productor de granadas y exportador a nivel europeo. Además, se ha situado entre los primeros productores de granada a nivel mundial junto con Irán, India, E.E.U.U, China y Turquía.

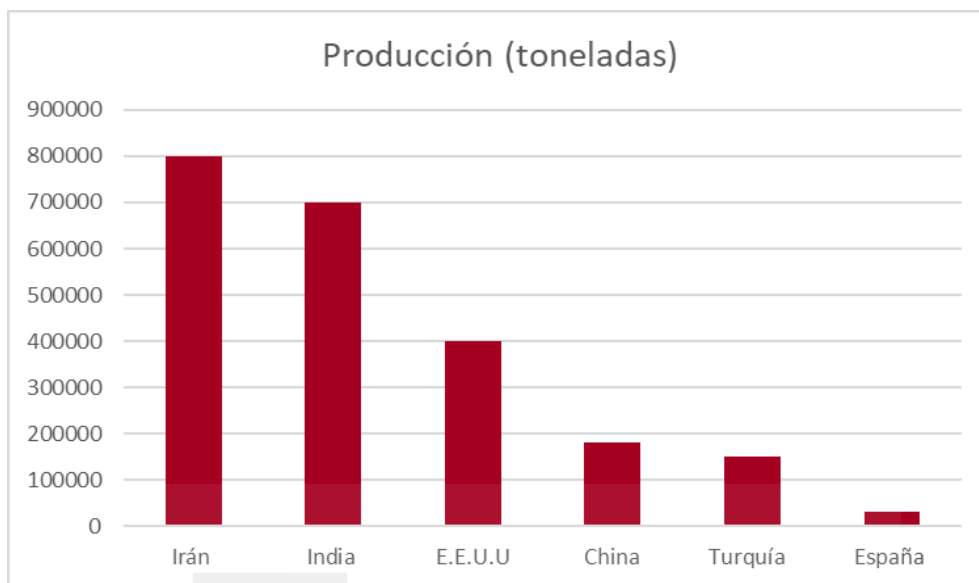
Entre los años 1980-1990 la producción mundial fluctuaba entre los 800.000 y 1 millón de toneladas. En cambio, en la actualidad la producción mundial del granado esta alrededor de los 3 millones de toneladas. Esta amplia diseminación del granado se debe a su carácter excepcional, ya que se desarrolla en condiciones que otros frutales no vegetan ni producen (López y Moreno, 2015). Es difícil estimar la superficie cultivada y la producción del granado ya que estas plantaciones son escasas y por norma general no se suelen contabilizar de forma individual, sino bajo el título de "otras frutas", aun así, se han realizado unas estimaciones de este cultivo.

En este momento los países productores del granado a nivel mundial son India, Irán, China, Turquía, E.E.U.U y España. (Bonet, 2012).

En el año 2010, el principal productor del cultivo del granado es Irán donde la producción estaba entre 750.000-800.000 toneladas y una superficie de plantación de 60.000-70.000 hectáreas. El segundo productor de este cultivo es India con una producción que oscila entre 500.000-700.000 toneladas. E.E.U.U es el tercer productor mundial con una producción de 400.000 y una superficie de plantación de 20.000 hectáreas. China se sitúa en el cuarto lugar con una producción de 180.000 toneladas. En el quinto lugar esta Turquía con una producción de 150.000 toneladas. Y, por último, en el sexto lugar se sitúa España

con una producción de 32.000 toneladas y un total de la superficie de plantación de 2.200 hectáreas (*Gráfica 1*).

*Gráfica 1:* Producción (toneladas) mundial del granado en 2010.



*Fuente:* Mira, 2010.

*Tabla 5:* Datos sobre superficie, producción y valor del granado en España.

Años	Superficie en plantación regular		Árboles diseminados (miles de árboles)	Rendimiento de la superficie en producción (qm/ha)	Producción (toneladas)	Precio medio percibido por los agricultores (euros/100kg)	Valor (miles de euros)
	Total (hectáreas)	En producción (hectáreas)					
2006	2325	2270	43	120,7	27.389	69,30	18.981
2007	2321	2281	37	112,4	25.632	83,01	21.277
2008	2387	2302	27	100,6	23.169	87,95	20.377
2009	2285	2230	20	100,0	22.311	59,59	13.295
2010	2425	2198	23	120,9	26.582	80,20	21.319
2011	2610	2285	15	142,7	32.606	64,17	20.923
2012	2791	2398	12	152,2	36.495	66,27	24.185
2013	3167	2591	13	167,2	43.324	64,95	28.139
2014	3830	2950	6	153,8	45.382	50,75	23.031
2015	4753	3197	6	175,7	56.185	49,09	27.581
2016	5163	3328	6	159,8	53.187	55,96	29.763

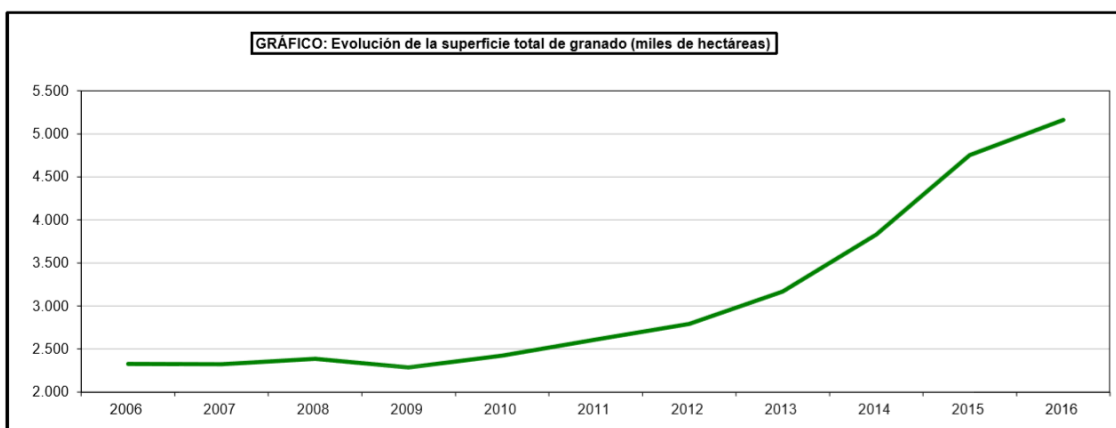
*Fuente:* MAPAMA, 2017.

En la *Gráfica 2* se representa la evolución de la superficie total de granado en miles de hectáreas. Desde el 2006 hasta el 2009 se observa que la superficie se



mantiene constante. En cambio, a partir del 2009 se puede observar un aumento de la superficie del granado llegando a un valor de 5.163 hectáreas en el año 2016 (*Tabla 5*).

*Gráfica 2:* Evolución de la superficie total de granado en miles de hectáreas en España.

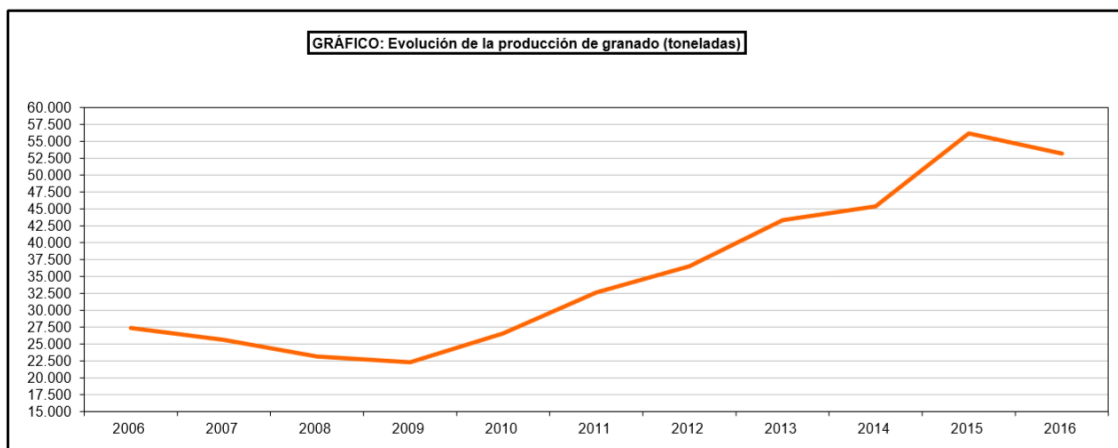


*Fuente:* MAPAMA, 2017.



Al observar la *Gráfica 3*, que representa la evolución de producción de granado en toneladas, del 2006 al 2009 hay una ligera disminución de la producción de granada. A partir del 2009 hay un aumento de la producción llegando en el año 2016 a un valor de 53.187 toneladas (*Tabla 5*). Pero, siendo el año con mayor producción el 2015 que llegó a un valor de 56.186 toneladas. Esto se debe a que hay un mayor consumo de esta fruta ya que los consumidores están mejor informados de los beneficios que pueden aportar y el poder antioxidante que tiene.

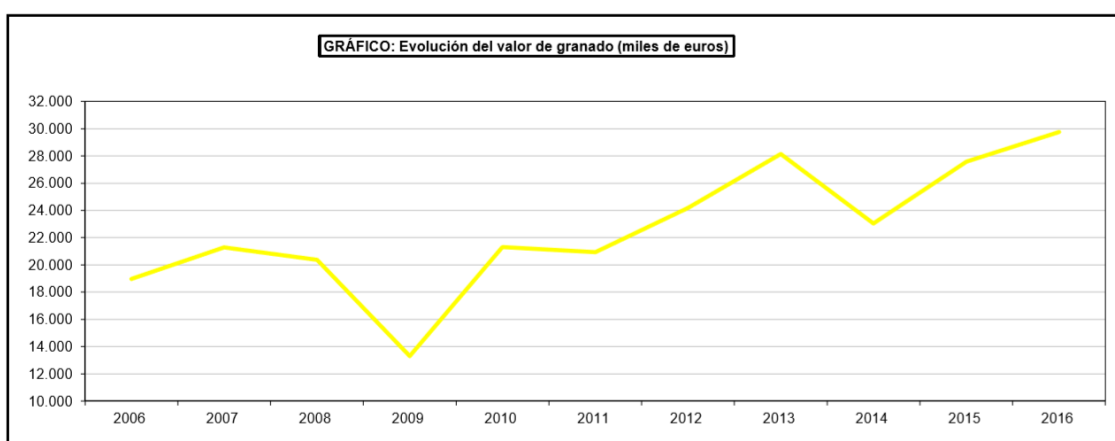
**Gráfica 3:** Evolución de la producción de granado en toneladas en España.



*Fuente:* MAPAMA, 2017.

En la **Gráfica 4** viene reflejado la evolución del valor del granado en miles de euros. Se observa que hay una variación entre 2006 y 2016. Alcanzando el menor valor en el año 2009, 13.295 miles de euro (*Tabla 5*) y el valor máximo en al año 2016 llegando a 29,763 miles de euro (*Tabla 5*).

**Gráfica 4:** Evolución del valor de granado en miles de euros en España.



*Fuente:* MAPAMA, 2017.

A nivel nacional la superficie destinada a la plantación de granados es de 5.048 hectáreas (*Tabla 6*). En el primero lugar está la Comunidad Valenciana con una superficie destinada a la plantación de 3.856 hectáreas, de las cuales 3.171 hectáreas se encuentran en Alicante. En el segundo lugar esta Andalucía que destina 529 hectáreas para la plantación, seguido de la Región de Murcia con 282 hectáreas.

En cuanto a la producción en toneladas en el año 2016 la Comunidad Valenciana es la mayor productora de granado llegando a un valor de 44.235 toneladas, seguida de la Región de Murcia con un valor de 4.310 toneladas y de Andalucía con un valor de 2.071 toneladas. Teniendo en el 2016 un valor de producción total en España de 53.187 toneladas

*Tabla 6:* Análisis provincial de la superficie, producción y rendimiento en España.

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	Secano	Regadío	Secano		Regadío					
Huesca	-	23	23	-	11	-	7.856	-	86	-	86	
Zaragoza	5	9	14	-	2	-	5.000	-	10	-	10	
<b>ARAGÓN</b>	<b>5</b>	<b>32</b>	<b>37</b>	-	<b>13</b>	-	<b>7.417</b>	-	<b>96</b>	-	<b>96</b>	
Girona	-	1	1	-	1	-	12.000	-	12	-	12	
Lleida	2	54	56	2	51	-	10.100	-	875	-	875	
Tarragona	-	40	40	-	39	-	10.000	-	390	-	390	
<b>CATALUÑA</b>	<b>2</b>	<b>95</b>	<b>97</b>	<b>2</b>	<b>91</b>	-	<b>10.100</b>	<b>13.895</b>	-	<b>1.277</b>	<b>1.277</b>	
<b>BALEARES</b>	-	<b>6</b>	<b>6</b>	-	<b>6</b>	-	-	-	<b>58</b>	-	<b>58</b>	
Avila	-	-	-	-	-	48	-	-	20	-	1	
Palencia	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	
<b>CASTILLA Y LEÓN</b>	-	-	-	-	-	<b>53</b>	-	-	<b>18</b>	-	<b>1</b>	
<b>MADRID</b>	-	<b>1</b>	<b>1</b>	-	-	<b>145</b>	-	-	<b>13</b>	-	<b>2</b>	
Ciudad Real	-	-	-	-	-	161	-	-	16	-	3	
Toledo	2	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>CASTILLA-LA MANCHA</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	-	-	<b>161</b>	-	-	<b>16</b>	-	<b>3</b>	
Alicante	-	3.171	3.171	-	2.474	1.900	-	16.500	20	40.821	38	40.859
Castellón	-	35	35	-	20	-	-	4.000	-	80	-	80
Valencia	-	650	650	-	150	-	-	22.000	-	3.300	-	3.300
<b>C. VALENCIANA</b>	-	<b>3.856</b>	<b>3.856</b>	-	<b>2.644</b>	<b>1.900</b>	-	<b>16.717</b>	<b>20</b>	<b>44.201</b>	<b>38</b>	<b>44.239</b>
<b>R. DE MURCIA</b>	-	<b>282</b>	<b>282</b>	-	<b>221</b>	-	-	<b>19.500</b>	-	<b>4.310</b>	-	<b>4.310</b>
Badajoz	-	182	182	-	27	-	-	16.000	-	432	-	432
Cáceres	-	30	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>EXTREMADURA</b>	-	<b>212</b>	<b>212</b>	-	<b>27</b>	-	-	<b>16.000</b>	-	<b>432</b>	-	<b>432</b>
Almería	-	45	45	-	26	-	-	12.538	-	326	-	326
Cádiz	-	27	27	-	26	-	-	1.000	-	26	-	26
Córdoba	38	31	69	27	21	-	1.500	5.500	-	156	-	156
Granada	14	17	31	10	16	1.510	4.185	11.688	21	229	32	261
Huelva	4	248	252	4	25	-	2.000	16.500	-	421	-	421
Jáen	5	5	10	5	5	-	1.100	3.300	-	22	-	22
Málaga	38	62	100	18	58	-	1.900	6.800	-	429	-	429
Sevilla	6	94	100	6	42	-	2.050	9.935	-	430	-	430
<b>ANDALUCÍA</b>	<b>105</b>	<b>529</b>	<b>634</b>	<b>70</b>	<b>219</b>	<b>1.510</b>	<b>2.034</b>	<b>8.654</b>	<b>21</b>	<b>2.039</b>	<b>32</b>	<b>2.071</b>
Las Palmas	-	-	-	-	-	1.820	-	-	2	-	4	4
S.C. de Tenerife	1	34	35	1	34	745	-	20.675	2	683	1	684
<b>CANARIAS</b>	<b>1</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	<b>1</b>	<b>34</b>	<b>2.565</b>	-	<b>20.675</b>	<b>2</b>	<b>683</b>	<b>5</b>	<b>686</b>
<b>ESPAÑA</b>	<b>115</b>	<b>5.048</b>	<b>5.163</b>	<b>73</b>	<b>3.255</b>	<b>6.334</b>	<b>2.227</b>	<b>16.267</b>	<b>13</b>	<b>53.106</b>	<b>81</b>	<b>53.187</b>

Fuente: MAPAMA, 2017.

## 2. OBJETIVOS

La granada (*Punica granatum* L.) es una de las frutas más antiguas y aunque es originaria de Oriente Medio su consumo ha aumentado recientemente en gran escala en los países occidentales debido a su amplia gama de posibles propiedades terapéuticas, incluida la prevención del cáncer y el tratamiento de la enfermedad cardiovascular y afecciones dentales, y protección contra la radiación ultravioleta (Pagliarulo et al., 2016). En poblaciones del Mediterráneo, incluyendo a España, generalmente se consume en fresco (arilos) o en zumo. Los frutos son recolectados normalmente cuando están completamente maduros, puesto que son frutos no climatéricos y muestran una tasa de respiración baja (Ben-Arie et al., 1984), poseen un brillo ceroso y un color que va desde el rojizo al rojo dependiendo de la variedad.

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

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

- Pérdida de peso de los frutos
- Tasa de respiración
- Firmeza
- Color
- Determinación de los sólidos solubles
- Determinación de la acidez total

- Fuga de electrolitos
- Evaluación de los daños por frío



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Material vegetal

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

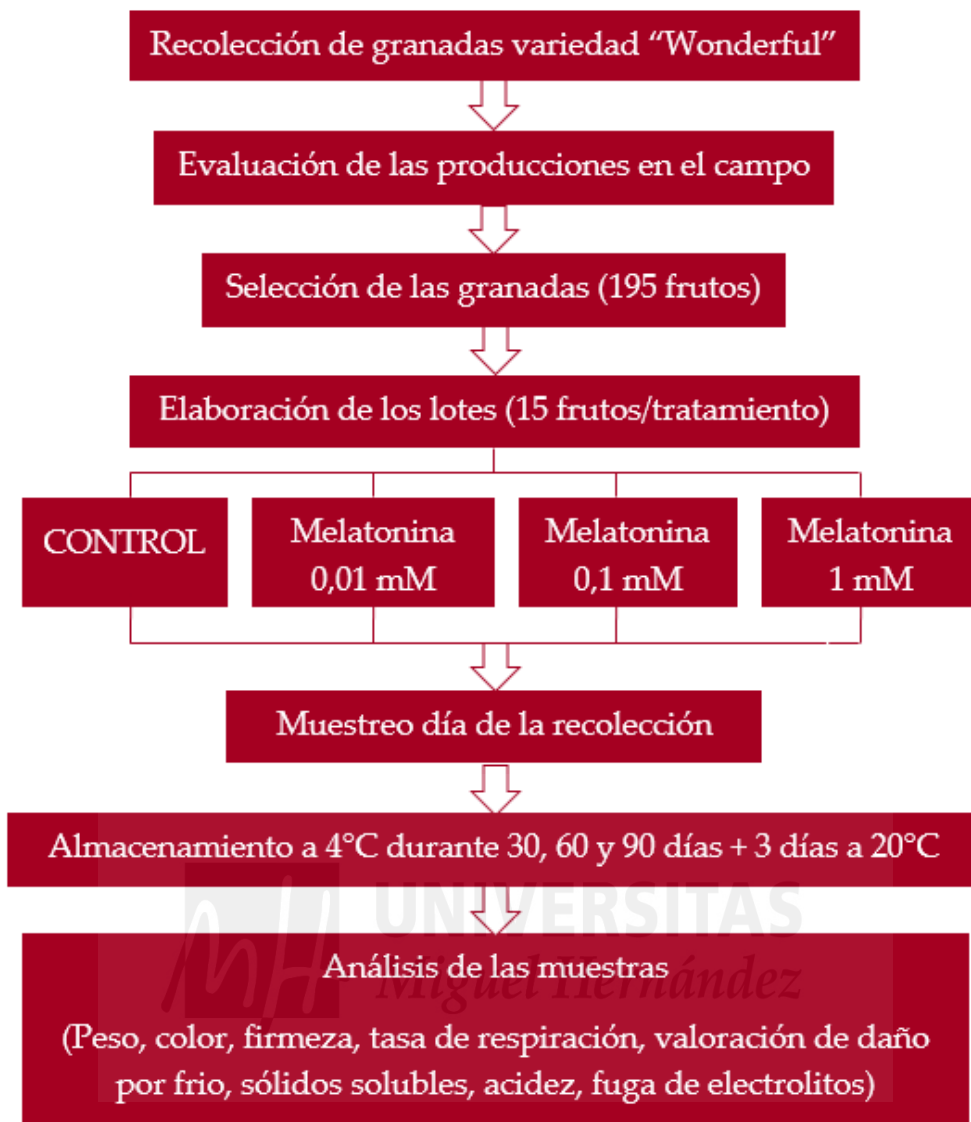
Las granadas de este experimento provienen de una finca situada en el campo de Elche propiedad de la cooperativa 'Cambayas'.

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

#### 3.2 Diseño experimental

El diseño experimental de este Trabajo Fin de Grado comenzó con la selección de las granadas las cuales se seleccionaron 195 frutos atendiendo al tamaño y coloración desechándose aquellas que hubieran sufrido daños previos a la llegada al laboratorio. Tras la selección las granadas exentas de cualquier tipo de contaminación se dividieron en lotes de 15 frutos para cada tratamiento, es decir, para los frutos control y para los tratados a las distintas dosis más un lote más de 15 frutos en el que se evaluó el día 0 para establecer las condiciones en que las granadas llegaron al laboratorio. Los tratamientos se realizaron mediante inmersión en soluciones de melatonina a tres distintas dosis (0,01, 0,1 y 1mM) durante 10 minutos. Tras este tratamiento los frutos se dejaron secar y se almacenaron a 4°C durante 90 días para ser evaluados mensualmente.

Las granadas en los distintos muestreos mensuales se evaluaron tras un periodo adicional de 3 días de almacenamiento a 20°C tras la salida del frío. Las primeras determinaciones que realizamos fueron las no destructivas, como son el peso de las granadas, el color, la firmeza, la tasa de respiración y una valoración general de los daños por frío causados por el almacenamiento refrigerado. A continuación, se partían las granadas en dos obteniendo muestras homogéneas de 10 mitades por repetición y tratamiento. Una de ellas se utilizó para obtener dos zumos que eran, a su vez, analizados por duplicado para obtener el contenido en sólidos solubles y acidez. A su vez se extrajeron tiras completas de la piel de las granadas para evaluar en ellas los daños causados por el frío mediante la medida de la fuga de electrolitos.



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

### 3.3 Determinaciones analíticas

#### 3.3.1 Pérdida de peso

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

### 3.3.2 Determinación de CO<sub>2</sub>

Durante la respiración, todo tejido vegetal consume O<sub>2</sub> y libera CO<sub>2</sub>. El metabolismo del fruto está íntimamente ligado con la actividad respiratoria. La medida de la respiración se refiere tanto a la producción de CO<sub>2</sub> como al consumo de O<sub>2</sub>. Sin embargo, normalmente se mide la producción de CO<sub>2</sub> por ser un procedimiento más sencillo. La medida de la actividad respiratoria se puede realizar por un sistema estático o cerrado, o por un sistema dinámico, de flujo o abierto. En nuestro experimento se optó por un sistema estático.

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

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

Donde:

- V= volumen del recipiente (ml)
- P= peso de la muestra (g)
- Área CO<sub>2</sub>= área obtenida en el cromatógrafo
- T= tiempo que ha permanecido cerrado el recipiente (min)

Para la determinación de etileno y CO<sub>2</sub> en sistema estático se introdujeron los frutos enteros por lotes en tarros de plástico de 4 litros de capacidad, con cierre hermético y una tapadera que tenía una válvula de material elastómero que permitió realizar las inyecciones.

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



Para determinar el CO<sub>2</sub>, se inyectó el contenido de las jeringuillas en un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC 14 A) siguiendo unas determinadas condiciones de trabajo, que son las siguientes:

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

El pico de CO<sub>2</sub> se detecta por su tiempo de retención, que en estas condiciones de trabajo se encuentra entre 1,4 y 1,6 minutos. La concentración de CO<sub>2</sub> en las muestras tomadas en los botes, se calcula comparando el área de integración del pico de la muestra con la de un patrón de CO<sub>2</sub> de concentración conocida, que en este experimento fue la presente en la atmosfera, de 0,036%.

Los resultados se expresaron en mg de CO<sub>2</sub> desprendido por kg de fruta y hora (mg CO<sub>2</sub> × kg<sup>-1</sup> × h<sup>-1</sup>).

### 3.3.3 Evaluación del color

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

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

Estos tres parámetros son:

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



*Fotografía 8:* Colorímetro utilizado para medir el color.

Cada color viene dado por los valores de estas tres coordenadas, que representan un punto en el espacio tridimensional (Minolta, 1994). Los resultados se expresaron como  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y el ángulo de Hue ( $H^* = \arctg b^*/a^*$ ).

#### **3.3.4 Determinación de la firmeza**

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

Con esta prueba se pretende deformar el producto con respecto a su diámetro ecuatorial. Para ello, se empleó un disco plano de acero montado sobre un texturómetro TA-XT2i® como se observa en la *Fotografía 9*.

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



*Fotografía 9:* Texturómetro utilizado para medir la firmeza de los frutos.

### 3.3.5 Evaluación de los sólidos solubles

Para la determinación del contenido total en sólidos solubles (SST) se utilizó la refractometría sobre el zumo filtrado extraído de cada lote de cinco granadas. Esta técnica se basa en la diferencia que existe entre los índices de refracción del agua destilada y un medio de concentración determinada de sustancias disueltas. Este método no establece estrictamente el nivel de azúcares, sino la concentración de sólidos solubles, la cual se relaciona con el nivel de azúcares y con el estado de madurez de los frutos.

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

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



*Fotografía 10:* Refractómetro utilizado para medir los °Brix (SST).

### 3.3.6 Determinación del pH y de la acidez titulable

Para determinar la acidez de los frutos se utilizó 1 mL del zumo extraído tras exprimir los arilos de las granadas y se disolvió en 25 mL de agua destilada. Para llevar a cabo el análisis se utilizó un valorador automático Metrohm, modelo 785DMP Tritino, complementado con un cambiador de 24 posiciones modelo 760 y con una impresora modelo DP40-24N. Así se obtiene el pH inicial y se realiza la valoración hasta un pH final de 8,1 con NaOH 0,1 N. Los resultados se expresaron en mg equivalentes del ácido orgánico mayoritario.

$$\frac{\text{Gramos de ácido málico}}{100 \text{ ml}} = \frac{6,7 \cdot V1 \cdot f \cdot N}{P}$$

Donde:

- N= Normalidad del NaOH
- V1= volumen de NaOH 0,1 N utilizado en la valoración
- F= Factor del NaOH
- P= Peso de la muestra (g)

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



*Fotografía 11:* Valorador automático Methrom, utilizado para determinar la acidez.

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

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

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

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

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

$$Fuga\ de\ electrolitos = \frac{conductividad\ inicial}{Conductividad\ final} \cdot 100$$

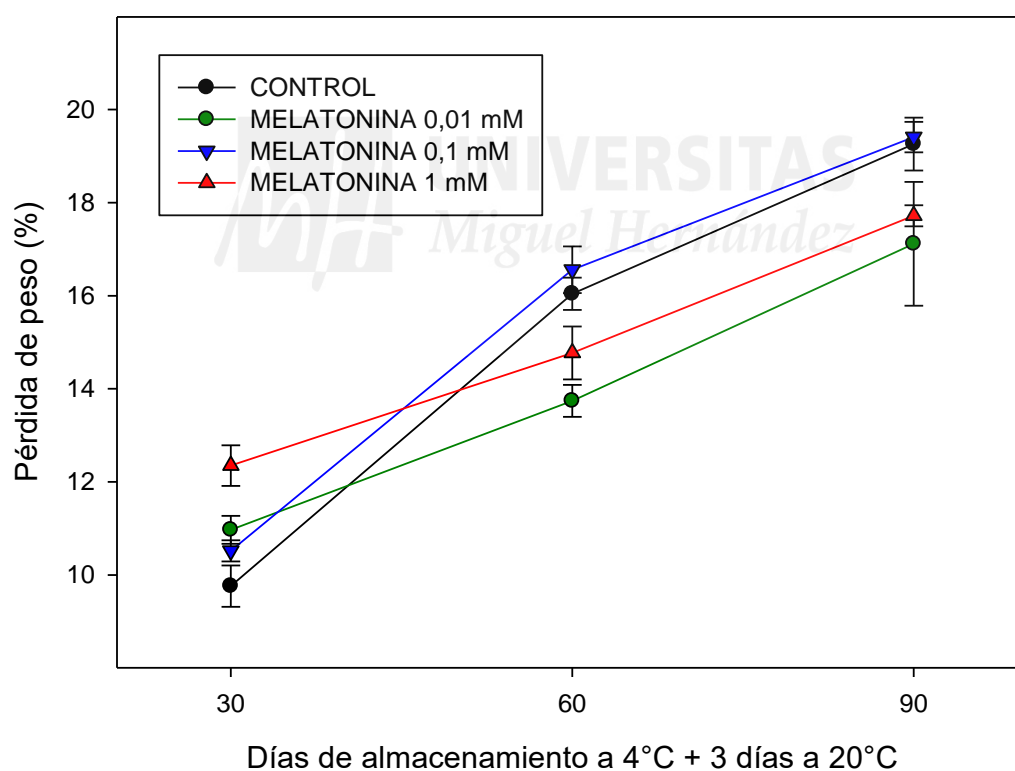


## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1 Evolución de la pérdida de peso

Una vez las granadas son recolectadas los procesos de transpiración del fruto continúan. Por causa de este proceso el agua en estado vapor, puede atravesar estomas y la epidermis de manera que se produce pérdidas de peso en el fruto (Valero y Serrano, 2010).

Cuando estudiamos la evolución de la pérdida de peso pudimos comprobar como este parámetro aumentó a lo largo del almacenamiento que se practicó a 4°C más 3 días a 20°C.



**Figura n°1:** Pérdida de peso (%) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a 20°C.

Varios de los tratamientos aplicados con distintas dosis de melatonina fueron eficaces a la hora de retrasar la evolución de las pérdidas de peso en las granadas tratadas. Estos tratamientos fueron los que contenían a las concentraciones de 0,01 y 1 mM que alcanzaron pérdidas de peso  $\approx 17,3$  % siendo estas pérdidas de peso menores cuando aplicamos en las granadas la menor de las dosis de melatonina (0,001 mM). Sin embargo, los frutos controles mostraron niveles superiores respecto a los tratamientos comentados, ya que alcanzaron pérdidas de peso de  $19,25 \pm 0,56$  % sin diferencia significativas con la dosis intermedia de melatonina aplicada en este experimento.

El efecto de los tratamientos con melatonina sobre la menor pérdida de peso observada en los frutos durante su almacenamiento podría estar debida a una mejora en la firmeza e integridad de los frutos la cual es crucial a la hora de controlar las pérdidas de peso (Liu et al., 2018). Estas observaciones fueron verificadas por Gao et al., (2016) quienes constataron que tanto la incidencia de podredumbres como las pérdidas de peso fueron reducidas significativamente por los tratamientos aplicados con melatonina.

#### 4.2 Evolución de la respiración

Tras la recolección las frutas y verduras siguen respirando, aunque la actividad fotosintética se interrumpa. La respiración consta de una serie de reacciones catalizadas por enzimas donde la velocidad está directamente relacionada con la temperatura. Por lo tanto, un aumento en la temperatura, producidas por la respiración, provoca aún más el proceso de respiración, de modo que se vuelve muy difícil controlar la temperatura del fruto (Barba-Teodoro, 2015).

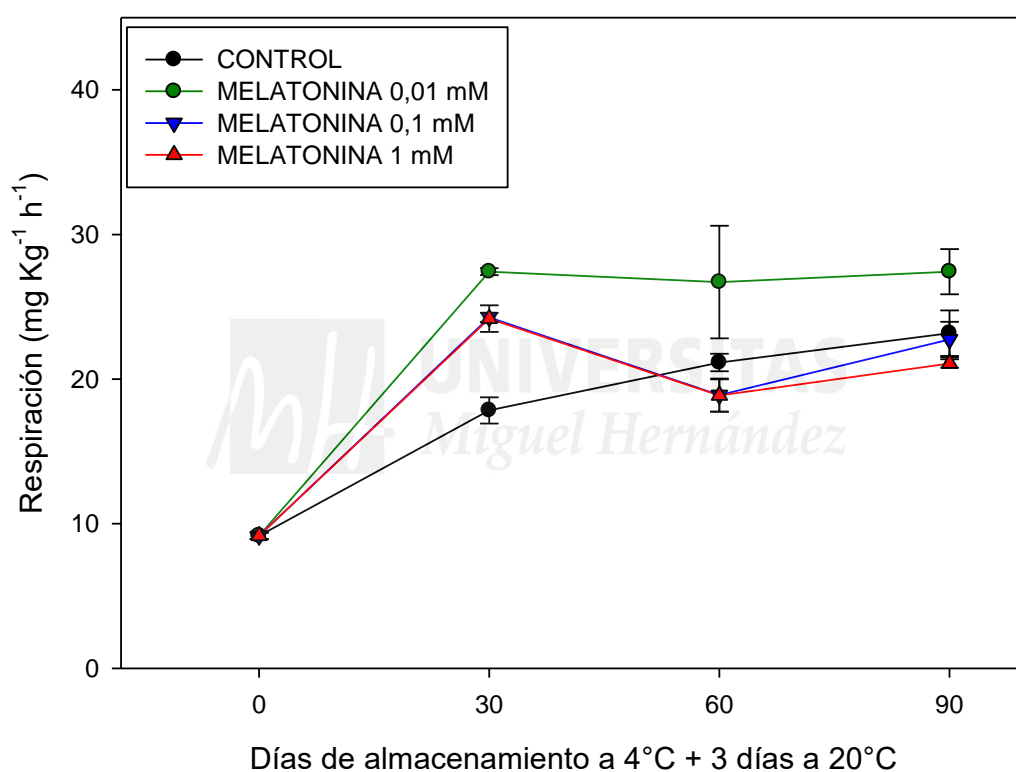
Una tasa de respiración elevada lleva a una menor vida útil del producto, debido a que el producto presenta una actividad metabólica elevada, y con ello conlleva a un periodo de almacenamiento menor (Gil, 2010).

Al analizar la evolución de la respiración pudimos comprobar que está presentó un aumento a lo largo del almacenamiento que se practicó a  $4^{\circ}\text{C}$  más 3 días a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Al principio del almacenamiento todos los tratamientos sufrieron una tasa de respiración superior al control, pero al final de este sí se pudo observar que algunos de los tratamientos tuvieron menor tasa de respiración. Estos



tratamientos fueron los que contenía concentraciones de 0,1 y 1 mM en los que se obtuvo un valor de  $\approx 22,4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  siendo este parámetro menor cuando se aplica la mayor dosis de los tratamientos sobre las granadas. Por otro lado, el control alcanzó un valor de  $23,17\pm 1,57 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  y la menor tasa de respiración que se obtuvo fue para las granadas tratadas con melatonina 1 mM donde se alcanzaron unos valores de  $21,07\pm 0,28 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  tras 90 días de almacenamiento refrigerado más 3 días a  $20^\circ\text{C}$ .



**Figura n°2:** Respiración ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a  $20^\circ\text{C}$ .

Las granadas son frutas no climatéricas por lo que tras su recolección no se produce un aumento de la tasa de respiración y tampoco de la producción de etileno (Abeles et al., 1992; Lelièvre et al., 1997; Giovannoni, 2001). La menor respiración obtenida con la mayor de las dosis de melatonina aplicada podría

estar indicando que al igual que en melocotón (Gao et al., 2016) este compuesto estaría retrasando la senescencia a través de un menor metabolismo del fruto coincidiendo con los resultados obtenidos por otros autores en otros productos vegetales (Arnao y Hernández-Ruiz, 2009; Wang et al., 2012).

### **4.3 Evolución de la firmeza**

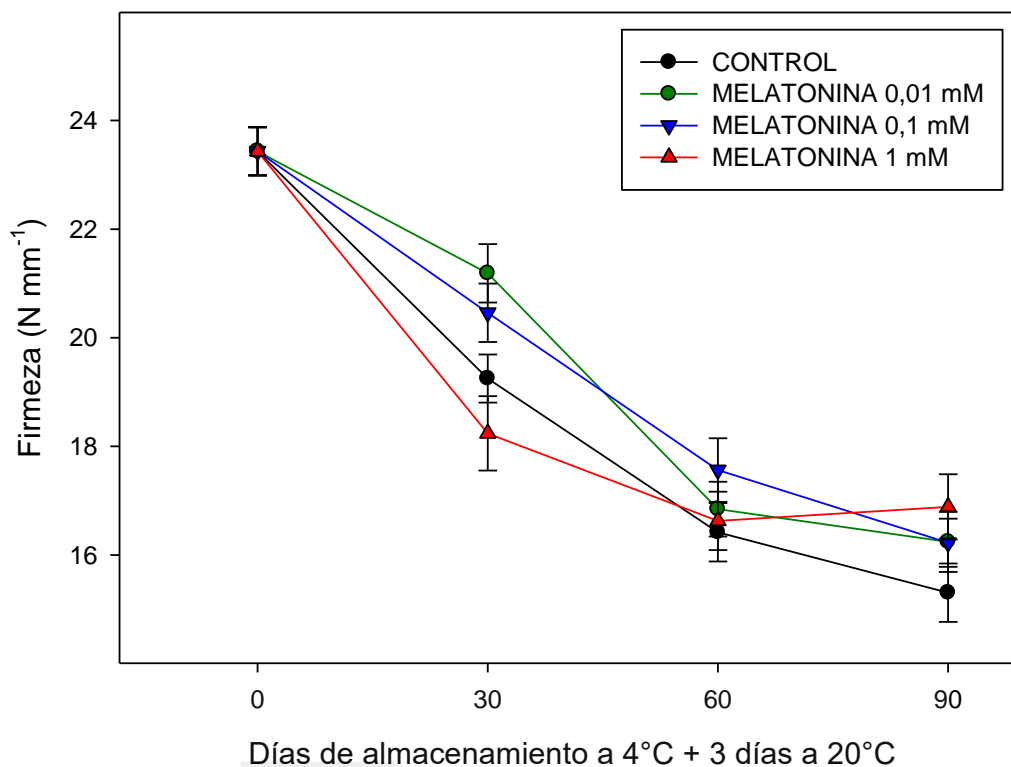
La textura de un fruto se puede definir como, la sensación general que se obtiene en la boca al morder y masticar un fruto y que comprende características mecánicas, como dureza, crujibilidad y viscosidad, características químicas, como contenido en jugo y en grasas (Sams, 1999).

Las frutas y hortalizas sufren unos cambios en la textura cuando el fruto está en la planta y permanece durante el almacenamiento en post-cosecha. Estos cambios en la textura se deben a la actividad hidrolítica de las enzimas que degradan pectinas, celulosa y hemicelulosas de la pared celular (Brummell y Harpster, 2001; Lasbrook, 2005; Valero y Serrano, 2010; Paniagua et al., 2014). También influye en la textura la transpiración que conlleva a una disminución de la turgencia, y esta pérdida de turgencia lleva a un ablandamiento del fruto, y con ello se produce un aumento de la susceptibilidad de ataques por parte de microorganismos o a la aparición de daños durante la manipulación (Goulao y Oliveira, 2008).

Al estudiar la evolución de firmeza pudimos observar que este parámetro disminuyó a lo largo del almacenamiento que se practicó a 4°C más 3 días a 20°C.

Los tratamientos con dosis de 0,01 y 0,1 mM fueron eficaces manteniendo la firmeza sin presentar diferencias significativas con respecto a las dosis aplicadas. Los frutos controles obtuvieron los niveles de firmeza más bajos alcanzando al final del experimento unos valores  $15,30 \pm 0,49 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ .

El tratamiento con melatonina 0,1 Mm obtuvo el mejor resultado donde se alcanzaron  $16,22 \pm 0,22 \%$  tras 90 días de almacenamiento refrigerado más 3 días a 20°C.



**Figura n°3:** Firmeza ( $\text{N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Gao et al., (2016) los cuales observaron que el tratamiento con melatonina a similares concentraciones que las efectuadas en este estudio mantenía significativamente la firmeza en melocotón durante el almacenamiento. Por el contrario, Sun et al., (2015) observó que la aplicación con melatonina exógena mediante inmersión a concentraciones menores aceleró el ablandamiento en tomates inmaduros. Teniendo esto en cuenta se podría postular que la diferencia de respuesta a los tratamientos con melatonina podría estar relacionada con el estado de madurez.

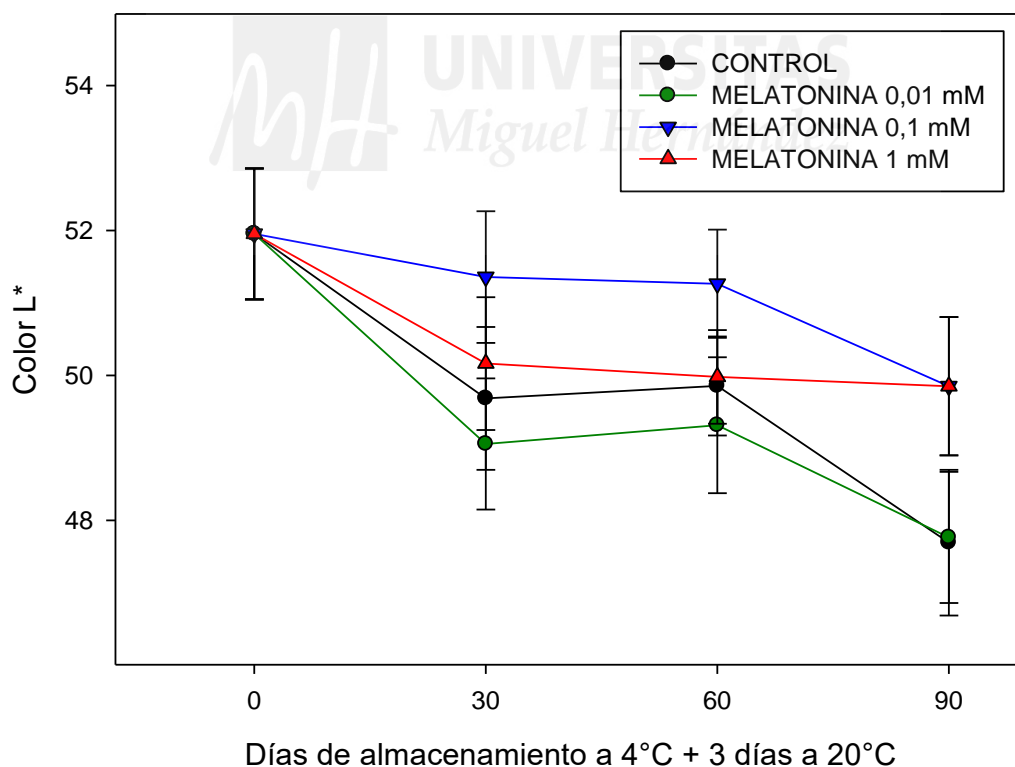
#### 4.4 Evolución del color

A la hora de escoger un producto los consumidores se fijan mucho por el color, por lo que el color se convierte en uno de los parámetros que más influencia

tiene sobre la aceptación del producto. En las frutas y en los vegetales el color se debe a los pigmentos que contiene cada uno, tales como clorofila, carotenoides, flavonoides o betalaína. El color también se puede ver relacionado con la vida útil del producto, ya que ésta será menor cuanto mayor sea el grado de oscurecimiento del mismo (Crisosto et al., 1997).

El parámetro  $L^*$  corresponde a la luminosidad. La evolución del color  $L^*$  descendió a lo largo del almacenamiento a  $4^{\circ}\text{C}$  más 3 días a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Las granadas tratadas con dosis de 0,1 y 1 mM presentaron mayor luminosidad teniendo unos valores de  $\approx 49,8$ , entre las dos dosis no presentan diferencias significativas. Sin embargo, los frutos controles mostraron niveles inferiores de luminosidad respecto a los tratamientos comentados, ya que alcanzaron un valor de  $47,69 \pm 1,00$  sin diferencias significativas con la dosis más baja de melatonina (0,01 mM).

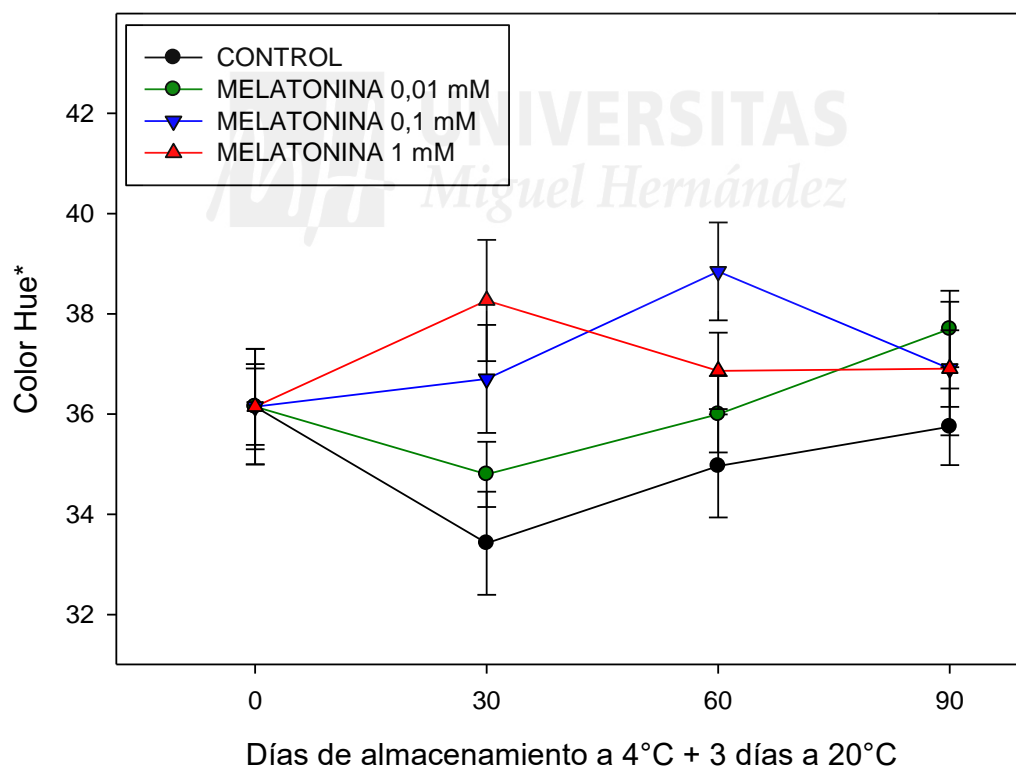


**Figura n<sup>o</sup>4:** Evolución del color  $L^*$  en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Por otra parte, se determinó el parámetro Hue\* (tono). Este parámetro aumento a lo largo del almacenamiento a 4°C más 3 días a 20°C.

Se puede observar que todos los tratamientos con distintas dosis de melatonina que se aplicaron a las granadas produjeron unos valores de tonalidad mayores con respecto a las granadas control. Los tratamientos con mayores valores de tonalidad fueron los obtenidos tras aplicar las dosis más altas de melatonina.

Los frutos controles mostraron niveles inferiores de este parámetro respecto a todos los tratamientos alcanzando un valor de  $35,74 \pm 0,76$  sin diferencias significativas con los frutos tratados con la dosis más pequeña de melatonina (0,01 mM).



**Figura n°5:** Evolución del color Hue\* en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a 20°C.

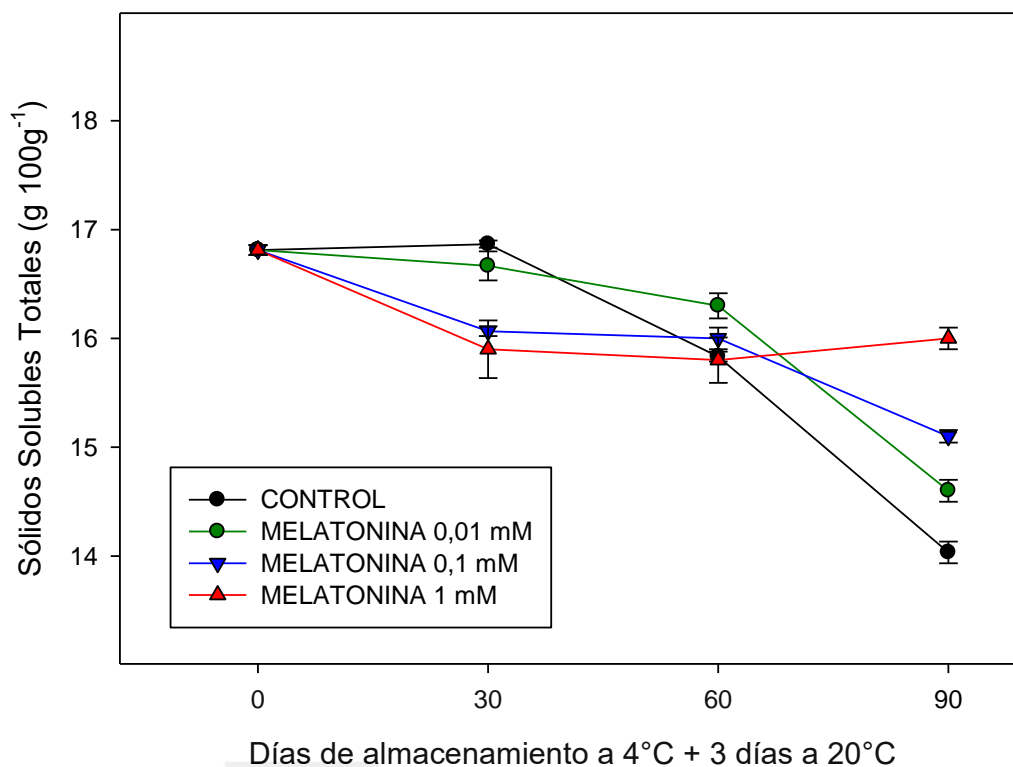
Como el parámetro  $L^*$  representa la luminosidad este parámetro resulta muy práctico a la hora de evaluar el oscurecimiento y pardeamiento de la piel de las granadas durante el almacenamiento que al igual que el parámetro  $Hue^*$  mantuvo mayores niveles durante todo el almacenamiento a diferentes dosis de melatonina aplicada. La aplicación de melatonina a dosis similares en fresa también mostró el mismo efecto a la hora de mantener tanto el parámetro  $L^*$  como el color  $Hue^*$  (Liu et al., 2018) mostrando la capacidad de este compuesto a la hora de mantener los parámetros de color.

#### **4.5 Evolución de los sólidos solubles totales**

El sabor y el aroma de las granadas dependen del contenido de azúcares, ácidos orgánicos y los compuestos volátiles. Durante el desarrollo en la planta los azúcares se acumulan en las frutas. Por lo tanto, cuanto más tiempo este la fruta en la planta mayor contenido de sólidos solubles tendrá. Esto se debe a que se produce reacciones de hidrólisis de los azúcares, principalmente de almidón, sobre todo en las últimas etapas de desarrollo de la fruta y durante la post-recolección (Knee, 1993).

La evolución del parámetro de los sólidos solubles totales disminuyó a lo largo del almacenamiento que se practicó a  $4^{\circ}\text{C}$  más 3 días a  $20^{\circ}\text{C}$ .

Al principio del almacenamiento todos los tratamientos tuvieron unos valores de sólidos solubles totales inferiores al control, pero al final del almacenamiento todos los tratamientos obtuvieron valores superiores al control. Obteniendo el mayor valor las granadas tratadas con dosis de 1 mM alcanzaron un valor de  $16 \pm 0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ , seguidas de las granadas tratadas con dosis de 0,1 mM que alcanzaron un valor de  $15,01 \pm 0,05 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  y las de menor valor las granadas tratadas con dosis de 0,01 mM que alcanzaron un valor de  $14,60 \pm 0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ , teniendo diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Por otro lado, el control a lo largo del almacenamiento obtuvo el menor valor de sólidos solubles totales siendo este de  $14,03 \pm 0,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  teniendo diferencias significativas todos los tratamientos.



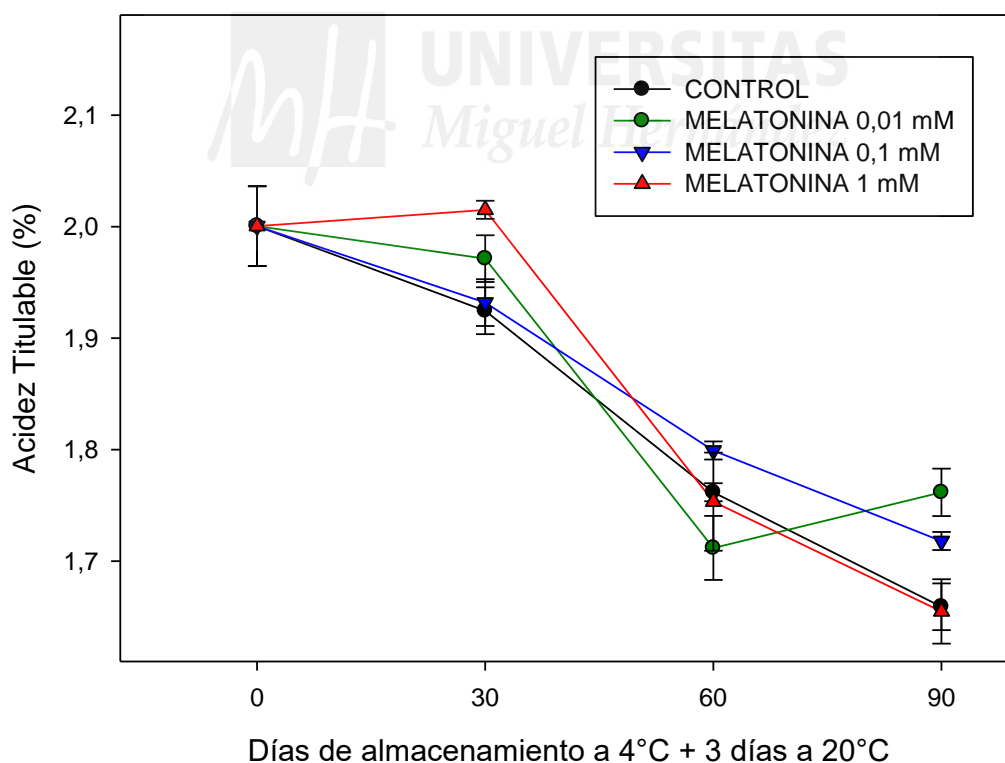
**Figura n°6:** Evolución de los sólidos solubles totales ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a  $20^{\circ}\text{C}$ .

El mantenimiento de los sólidos solubles en los frutos mediante la aplicación de melatonina exógena ha sido evaluado anteriormente por Gao et al., (2016) en melocotón donde mantuvo los niveles de sólidos solubles a niveles superiores que los frutos controles. Sin embargo, en fresa tuvo un efecto contrario mostrando una reducción en este parámetro causado por la aplicación de melatonina (Liu et al., 2018) por lo que la acción de la melatonina sobre los sólidos solubles podría estar afectada por la especie sujeta a estudio, aunque no se puede descartar que en ambos casos se pudiera estar observando un retraso del metabolismo de los azúcares dependiendo del estado de madurez.

#### 4.6 Evolución de la acidez

Los ácidos orgánicos presentes en los alimentos influyen en el sabor, color y estabilidad de los mismos. La acidez puede deberse a la presencia de distintos ácidos, sin embargo, se expresa dependiendo del ácido predominante del alimento en términos de un ácido en particular, como el ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, etc. En el caso de las granadas el ácido que predomina es el ácido cítrico, por lo tanto, la acidez se expresa dependiendo de este ácido. Las granadas se clasifican en dulces (0,15-0,48 %), agri dulces (0,48-0,91 %) y agrias (0,91-3 %) en función de la acidez que presentan.

Al estudiar la evolución de la acidez titulable pudimos comprobar como este parámetro disminuyó a lo largo del almacenamiento que se practicó a 4°C más 3 días a 20°C.



**Figura n°7:** Evolución de la acidez titulable (%) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a 20°C.



Al comienzo del almacenamiento todos los tratamientos tuvieron una acidez mayor respecto al control. En cambio, al final del almacenamiento las granadas tratadas con dosis de 0,01 y 0,1 mM mantuvieron la acidez mayor respecto al control alcanzando unos valores de  $\approx 1,7\%$  presentando diferencias significativas entre ellos. Por el contrario, las granadas tratadas con dosis de 1 mM mostraron menor acidez respecto al control alcanzando un valor de  $1,65 \pm 0,02$ , sin presentar diferencias significativas respecto al control. Los frutos tratados con la dosis más pequeña (0,01 mM) alcanzaron la mayor acidez teniendo un valor  $1,76 \pm 0,02\%$  tras 90 días de almacenamiento refrigerado más 3 días a  $20^\circ\text{C}$ .

Podemos observar como en la mayoría de los tratamientos estudiados, se observa una ligera tendencia hacia la disminución de la acidez conforme avanza el almacenamiento de los frutos, ya que los ácidos orgánicos son sustratos para las reacciones enzimáticas de la respiración (Yaman y Bayoundurh, 2002) el mayor contenido de acidez en los frutos tratados con melatonina podría ser un reflejo de un menor metabolismo de degradación de los ácidos orgánicos de las granadas causado por la aplicación de melatonina como se ha observado en otros estudios en los que la aplicación de melatonina mantuvo mayores niveles de acidez titulable en los frutos (Liu et al., 2018; Gao et al., 2016).

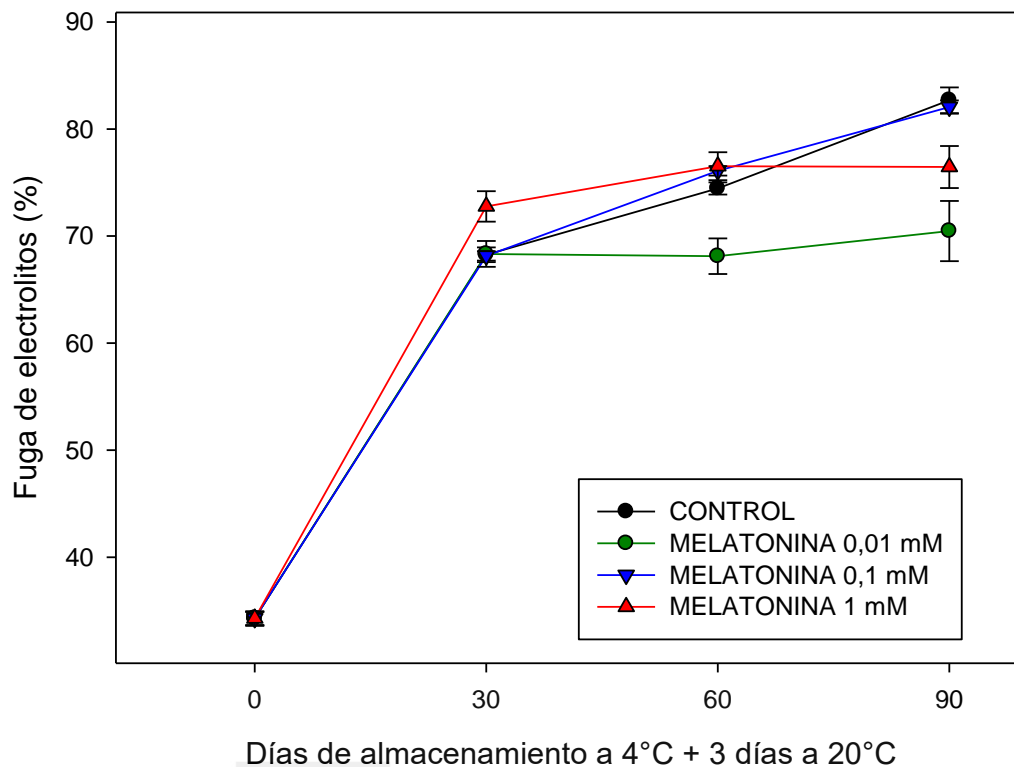
#### **4.7. Evolución de la fuga de electrolitos**

Los electrolitos son sales minerales responsables de equilibrar los fluidos dentro y fuera de las células, aunque también participan en otras funciones importantes. Los electrolitos se pierden por la respiración y la transpiración.

Al estudiarse la evolución de la fuga de electrolitos pudimos comprobar como este parámetro aumento a lo largo del almacenamiento que se practicó a  $4^\circ\text{C}$  más 3 días a  $20^\circ\text{C}$ .

Todos los tratamientos con distintas dosis de melatonina aplicados a las granadas fueron eficaces con respecto a este parámetro estudiado. La menor fuga de electrolitos se obtuvo cuando se aplicó la dosis más baja (0,01 Mm).

Los frutos controles mostraron niveles superiores de este parámetro respecto a todos los tratamientos alcanzando un valor de  $82,69 \pm 1,19$  sin diferencias significativas con los frutos tratados con la dosis intermedia de melatonina (0,1 mM).



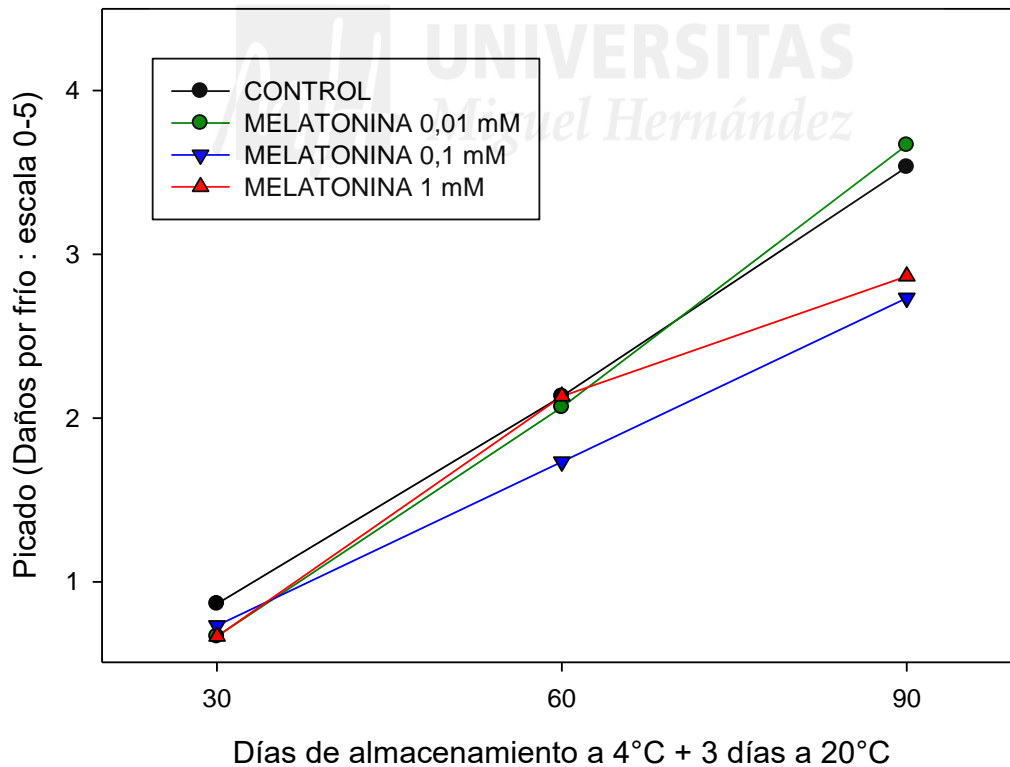
**Figura n°8:** Evolución de la fuga de electrolitos (%) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a 20°C.

El estrés que sufren las granadas frente a la exposición a la baja temperatura induce en los frutos un incremento de las especies reactivas de oxígeno que acaban causando daños oxidativos de las membranas y peroxidación lipídica incrementando los niveles de fuga de electrolitos por pérdida de la integridad celular (Malekzadeh et al., 2017). Sin embargo, en varios estudios se ha puesto de manifiesto que la melatonina es capaz de reducir la peroxidación lipídica de las membranas mejorando la integridad celular y la capacidad de distintos frutos de mantener un equilibrio en la célula del metabolismo oxidativo (Gao et al., 2016; Zhang et al., 2016).

#### 4.8 Evolución del grado de picado (pitting)

El daño por frío es un desorden fisiológico que se manifiesta en los frutos al ser expuestos a temperaturas superiores al punto de congelación, generalmente entre 1 y 12°C (Parkin, 1989; Saltveit y Morris, 1990). La severidad de la expresión de los síntomas depende de varios factores, como especie, cultivar, condiciones y localidad de desarrollo, temperatura y tiempo de exposición, así como los tratamientos posteriores al desarrollo del daño por frío (Saltveit, 2003). Usualmente los síntomas de daño por frío se expresan después de transferir los productos de la temperatura de daño, a otra mayor ( $\approx 20^\circ\text{C}$ ).

Cuando estudiamos la evolución del grado de picado (pitting) pudimos comprobar como este parámetro aumento a lo largo del almacenamiento que se practicó a 4°C más 3 días a 20°C.



**Figura n°9:** Evolución del picado (pitting) en granadas tratadas en post-cosecha con distintas concentraciones de melatonina y controles durante su almacenamiento refrigerado más 3 días a 20°C.

Varios de los tratamientos aplicados a las granadas con distinta dosis de melatonina fueron eficaces a la hora de disminuir el picado. Estos tratamientos fueron los que contenían una dosis de 0,1 y 1 mM que alcanzaron un valor de  $\approx 2,79$ , siendo este parámetro menor cuando se aplica la dosis intermedia (0,1 mM). En cambio, los frutos controles mostraron mayor picado alcanzando unos valores de 3,53. En cuando al tratamiento con dosis menor (0,01 mM) en el principio del almacenamiento tuvo un valor menor respecto al control, pero al final del almacenamiento alcanzo un valor de 3,66.

Los resultados de esta evaluación mostraron que los tratamientos con melatonina pueden mejorar la tolerancia a los daños por frío mediante la protección de las membranas frente al estrés causado por las bajas temperaturas que provocan alteraciones en los frutos como se ha observado en otros estudios (Azadshahraki et al., 2018; Cao et al., 2018; Gao et al, 2018).

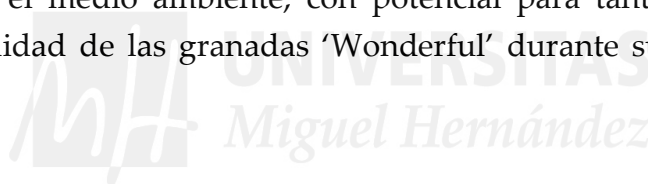


## 5. CONCLUSIONES

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

Los tratamientos con melatonina fueron positivos a la hora de mantener los niveles de luminosidad y de tonalidad de las granadas, así como el contenido de sólidos solubles y acidez titulable. Además, los tratamientos redujeron las pérdidas de peso y mantuvieron mayores niveles de firmeza. Además, los tratamientos a diferentes dosis redujeron los daños por frío durante el almacenamiento de las granadas, aunque en general no se observó un efecto dosis dependiente en todos los parámetros estudiados.

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



## 6. BIBLIOGRAFÍA

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

**Abeles, F.B., Morgan, P.W. y Saltveit, M.E. (1992).** Ethylene in Plant biology Second edition. 182-221. Academic Press Inc., San Diego, CA. ISBN 0-12041451-1.

**Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T. y Iwatsuki, K. (2001).** Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 45(4): 487-491.

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

**Arnao, M.B y Hernández, R.J. (2007).** Melatonin in plants: more studies are necessary. *Plant Signal Behav* 2: 381–382.

**Arnao, M.B. y Hernández, R.J., (2009).** Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *J. Pineal*. 4: 58–63.

**Artés, F. (1992).** Factores de calidad y conservación frigorífica de la granasa. In: II jornadas nacionales del granado. Universidad Politécnica de Valencia.

**Artés, F., Melgarejo, P. y Caballer, J. (2010).** Conservación frigorífica prolongada de dos variedades de granada recolectadas muy tardíamente. I Jornada nacional sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud.

**Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D. y 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.

**Azadshahraki, F., Jamshidi, B. y Mohebbi, S. (2018).** Postharvest melatonin treatment reduces chilling injury and enhances antioxidant capacity of

tomato fruit during cold storage. *Advances in Horticultural Science*. 32(3): 299-309

**Baenas, N., García-Viguera, C. y Moreno, D.A. (2014).** Biotic Elicitors Effectively Increase the Glucosinolates Content in Brassicaceae Sprouts. *American Chemical Society*. 62(8): 1881-1889.

**Balzer, I. y Hardeland, R. (1991).** Photoperiodism and effects of indoleamines in a unicellular alga, *Gonyaulax polyedra*. *Science* 253: 795–797

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

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

**Bonet, L., Bartual, J. y Intrigliolo, D.S. (2012).** Aproximación a la pauta de riego óptimo en granado. Instituto Valenciano Investigación Agrarias – IVIA.

**Brummell, D.A. y Harpster, M.H. (2001).** Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology*. 47: 311-340.

**Calín Sánchez, A. y Carbonell Barrachina, Ángel A. (2012).** La granada y sus productos derivados: Propiedades para la salud.

**Cao, S., Shao, J., Shi, L., Xu, L., Shen, Z., Chen, W., Yang, Z. (2018)** Melatonin increases chilling tolerance in postharvest peach fruit by alleviating oxidative damage. *Scientific reports*. 8(1): 806.

**Carbonell Barrachina Ángel A. y Cano Lamadrid, M. (2017).** Punicalagina –Antioxidante natural de la granada-. Propiedades y beneficios para la salud.

**Castañares, J.L. y Bouzo, C.A. (2019).** Effect of Exogenous Melatonin on Seed Germination and Seedling Growth in Melon (*Cucumis melo* L.) Under Salt Stress. *Horticultural Plant Journal*.

**Changhong, L., Huanhuan, Z., Kangliang, S., Wei, L. y Lei, Z. (2018).** Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 139: 47-55

**Crisosto, C., Johnson, R. y Dejong, T. (1997).** Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. *Hortsciencie*. 32: 820–823.

**Das, A.K., Mandal, S.C., Banerjee, S.K., Sinha, S., Das, J., Saha, B.P. y Pal, M. (1999).** Studies on Atidiarrheal Activity of *Punica granatum* Seed Extract in Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 68: 205-208.

**Duman, A.D., Ozgen, M., Dayisoğlu, K.S., Erbil, N. y Durgac, C. (2009).** Antimicrobial activity of six pomegranates (*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. y Das, T.K. (1998).** Antifungal Activity of Indian Plant Extracts. *Mycoses*. 41: 535-536.

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

**Festa, F., Aglitti, T., Duranti, G., Ricordy, R., Perticone, P. y Cozzi, R. (2001).** Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay. *Alimentación, nutrición y salud*. 11: 113-120.

**Gao, H., Lu, Z., Yang, Y., Wang, D., Yang, T., Cao, M. y Cao, M. (2018).** Melatonin treatment reduces chilling injury in peach fruit through its regulation of membrane fatty acid contents and phenolic metabolism. *Food Chemistry*. 245: 659-666.

**Gao, H., Zhang, Z., Ni Cheng, C., Yang, Y., Wang, D., Yang, T., Cao, W. (2016).** Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 118: 103-110.

**García Sahagún, M.L., Vargas-Arispuro, I., Alfonso A., Gardea Béjar, Martín H. Tiznado y Martínez-Téllez, M.A. (2005).** Daño por frío en melón cantaloupe en dos estados de madurez. *Fitotec* 28(1): 161 – 170.

**García-Viguera. C y Pérez Vicente. A. (2004).** La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. *Alimentación, nutrición y salud*. 11(4): 113-120.

**Gharzouli, K. Khennouf, S., Amira, S. y 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-induce Gastric Damage in Rats. *Phytotherapy Research*. 13(1): 42-45.

**Gil, A. (2010).** Tratado de Nutrición, Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos (2ªed.) Tomo II. (Ed.) Médica Panamericana S.A. 165-182.

**Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. y Kader, A.A. (2000).** Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and its Relationship with Phenolic composition and Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10): 4581-4589.

**Giovannoni, J. 2001.** Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 52: 725-749.

**Goulao, L.F. y Oliveira, C.M. (2008).** Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science and Technology*. 19: 4-25.

**Gur, A. (1986).** *Punica granatum*. A. H. Halevy. CRC Handbook of flowering 4: 147-150.

**Hernández-Ruiz, J., Cano, A. y Amao, M.B. (2004).** Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues. *Planta* 220:140-144.

**Jianlong Liu, Rongrong Yue, Min Si, Meng Wu, Liu Cong, Rui Zhai, Chengquan Yang, Zhigang Wang, Fengwang Ma y Lingfei Xu. (2018).** Effects of Exogenous Application of Melatonin on Quality and Sugar Metabolism in 'Zaosu' Pear Fruit

**Johanningsmeier, S.D. y Harris, G.K. (2011).** Pomegranate as a Functional Food and Nutraceutical Source. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2: 181-200.

**Kader, A., Kasmire, R., Mitchek, G., Reid, M. y Thompson, J. (1985).** Postharvest Technology of horticultural crops. Cooperative Extension University of California Division of Agriculture and Natural resources. Special publication. 3311: 192.

**Knee, M. (1993).** Pome fruits. In *Biochemistry of Fruit*. Chapman and Hall: 325-346.

**Lasbrook, C.C. (2005).** New insights into cell disassembly during fruit ripening. *Stewart Postharvest Review*. 3: 2.

**Lee, S.I., Kim, B.S., Kim, K.S., Lee, S., Shin, K.S y Lim, J.S. (2008).** Immune-suppressive activity of punicalagin via inhibition of NFAT activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 371(4): 799-803.

**Lelièvre, J.M., Latché, A., Jones, V., Bouzayen, M. y Pech, J.C. (1997).** Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*. 101: 727-739.

**Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H. y Mori, W. (1958).** Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc*. 80: 2587–2587

**Lili X.U., Qianyu, Y.U.E., Feng'e, B.I.A.N., Heng, Z.H.A.I. y Yuxin, Y.A.O. (2018).** Melatonin Treatment Enhances the Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Red Wine. *Horticultural Plant Journal*. 4(4): 144-150.

**Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W. y Zheng, L. (2018).** Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* .139, pp. 47-55.

**López Gálvez, M.Y y Moreno Vega, A. (2015).** El granado. Variedades, técnicas de cultivo y usos. Mundi-Prensa.

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

**Mars M., (2000).** Pomegranate plant material: Genetic resources and breeding, a review. *Options Méditerranéennes., Série A*, 42: 55 - 62.

**Melgarejo Moreno, P.** Pomegranate tree: Description and use. Escuela Politecnica Superior – Universidad Miguel Hernandez.

**Melgarejo, P. (2010).** Conferencia general: el granado, su problemática y usos. En: *El Granado I Jornadas nacionales sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud*. 7-28.

**Melgarejo, P. y Salazar, D.M (2003).** Capitulo II. Granado. *Tratado de Fruticultura*. Mundi-Prensa. 2: 167-218.

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

**Morton, J. (1987).** Pomegranate. *Fruits of warm climates.* 352–355.

**Pagliarulo, C., De Vito, V., Picariello, G., Colicchio, R., Pastore, G., Salvatore, P. y Volpe, M.G. (2016).** Inhibitory effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenol extracts on the bacterial growth and survival of clinical isolates of pathogenic *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Food Chemistry.* 190: 824-831

**Paniagua, C., Posé, S., Morris, V.J., Kirby, A.R., Quesada, M.A. y Mercado, J.A. (2014).** Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of Botany.* 114: 1375-1383.

**Patil, A.V. y Karale, A.R. (1990).** Pomgranate. *Fruits: tropical and subtropical.* 651-637.

**Peñarrieta, J.M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J.L. y Bravo, J.A. (2014).** Phenolic compounds in food. *Bolivian Journal of Chemistry.* 32(2): 68-81.

**Prashanth, D.J., Asha, M.K. y Amit, A. (2001).** Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia.* 72(2): 171-173.

**Rahemi, M. y S. H. Mirdehghan. (2004).** Effect of temperatura conditioning on reducing chilling injury of pomgranate fruits during storage. *Acta Hort.* 662: 87-91.

**Ray, P.K. (2002).** *Breeding Tropical and Subtropical fruits.* Alpha Science International.

**Rosenblat, M., Draganov, D., Watson, C.E., Bisgaier, C.L., La Du, B.N. y 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.

**Ruíz García, Y. y Gómez Plaza, E. (2013).** Elicitors: A tool for improving fruit phenolic content. *Agriculture* 3: 33-52.

- Sams, C.E. (1999).** Postharvest Biology and Technology. 15: 249-254.
- Sánchez-Monge, E. (1974).** Fitogenética (mejora de plantas). Instituto Nacional de Investigación Agrarias-Ministerio de Agricultura. 456.
- Schubert, S.Y., Lansky, E.P y Necman, I. (1999).** Antioxidant and Eicosanoid Enzyme Inhibition Properties of Pomegranate Seed Oil and Fermented Juice Flavonoids. Journal of Ethnopharmacology. 66(1): 11-17.
- Serrano, M. (2014).** La Granada: maduración y post-recolección. I Jornada nacional sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud.
- Shewfelt, R.L. (1999).** What is quality? Postharvest Biol. Technol. 15: 197-200.
- Singh, R.P., Kar, P.L. y Dhuria, H.S. (1978).** Studies on the behaviour of flowering and sex expression in some pomegranate cultivars. Plant Sci. 10: 29-31.
- Sun, Q.Q., Zhang, N., Wang, J.F., Zhang, H.J., Li, D.B. y Shi, J. 2015.** Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. J. Exp. Bot. 66(3):657-668
- Teixeira da Silva, J.A., Rana, T.S., Diganta, N., Nidhi, V., Deodas Tarachand, M., Shirish, A.R. (2013).** Pomegranate biology and biotechnology: A review. Scientia Horticulturae. 160: 85-107.
- Terry, L.A. y Joyce, D.C. (2004).** Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. Postharvest Biology and Technology. 32: 1-13.
- Thresiamma, K.C. y Kuttan, R. (1996).** Inhibition of Liver Fibrosis by Ellagic Acid. Indian Journal of Physiology and Pharmacology. 40: 363-366.
- Valero, D. y Serrano, M. (2010).** Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. Boca Raton.
- Wang, P., Yin, L.H., Liang, D., Li, C., Ma, F.W. y Yue, Z.Y. (2012).** Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. J. Pineal Res. 53: 11-20.

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

**Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y., Ren, S., Zhao, B. y Guo, Y.D. (2016).** Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Front. Plant Sci.* 7: 197

**Zhao, H., Su, T., Huo, L., Wei, H., Jiang, Y., Xu, L., y Ma, F. (2015).** Unveiling the mechanism of melatonin impacts on maize seedling growth: sugar metabolism as a case. *J Pineal Res* 59: 255–266.

### 6.1 Páginas web consultadas

BEDCA (Base de Datos Española de Coposición de Alimentos) [www.bedca.net](http://www.bedca.net). Consulta en Enero de 2019.

Cambayas Coop. V., Granadas Elche 2018 [www.cambayas.com](http://www.cambayas.com). Consulta en Enero de 2019

MAPAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), Anuario de Estadística [www.mapama.gob.es](http://www.mapama.gob.es). Consulta en Enero de 2019.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas, Capítulo 5. La calidad en frutas y hortalizas. <http://www.fao.org>. Consulta en Enero de 2019.

El cultivo del granado. <https://cultivodelgranado.es/> Consulta en Enero 2019.

PlantVillage, Plants, Pomgranate. <https://plantvillage.psu.edu/> Consulta en Enero 2019.