

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO EN INGENIERIA AGROALIMENTARIA Y
AGROAMBIENTAL



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

TRABAJO FIN DE GRADO

ENERO - 2020

Autor: Javier García Martín

Tutores: Antonio Fabián Guillén Arco

M^a José Giménez Torres

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 el ácido γ -aminobutírico a diferentes dosis se aplicaron en post-cosecha sobre granada '*Mollar de Elche*' 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 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, ácido γ -aminobutírico, 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 γ -aminobutyric acid at different doses were applied at post-harvest stage on pomegranate '*Mollar de Elche*', 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 and were able to induce 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 fruits.

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



ÍNDICE

1. INTRODUCCION	8
1.1 La granada.....	8
1.2 Características botánicas	10
1.2.1 El cultivo de la granada	10
1.2.2 Taxonomía	10
1.2.3 Biología floral.....	11
1.3 Composición química y nutricional	13
1.3.1 Efectos beneficiosos de la granada.....	19
1.4 Exigencias relativas a la calidad.....	20
1.4.1 Factores de pre-recolección que afectan a la calidad.....	21
1.4.2 Características físicas	21
1.4.3 Etapas desarrollo de la fruta	21
1.4.4 Factores post-recolección	24
1.5 Variedades de la granada.....	25
1.6 Ácido γ -Aminobutírico	30
1.7 Producción granada e importancia económica.....	32
2. OBJETIVOS	37
3. MATERIAL Y METODOS	38
3.1 Material vegetal	38
3.2 Diseño experimental.....	38
3.3 Determinaciones analíticas	41
3.3.1 Pérdida de peso	41
3.3.2 Determinación del CO_2	41
3.3.3 Evaluación del color	43
3.3.4 Determinación de la firmeza	45
3.3.5 Evaluación de los sólidos solubles.	45
3.3.6 Determinación del pH y de la acidez titulable.....	46
3.3.7 Evaluación de los daños por frío.....	47
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1 Pérdidas de peso (%)	49
4.2 Respiración ($\text{mg Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	51

4.3	Firmeza (N mm ⁻¹).....	53
4.4	Color L*	55
4.5	Color a*.....	57
4.6	Color Hue*	58
4.7	Color b*.....	59
4.8	Color Cromax	60
4.9	Sólidos Solubles Totales (g 100 g ⁻¹).....	61
4.10	Acidez Titulable (%)	62
4.11	Fuga de Electrolitos (%)	63
4.12	Pitting.....	64
5.	CONCLUSIONES	66
6.	BIBLIOGRAFIA	67
6.1	PÁGINAS CONSULTADAS	75

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1.	<i>Descripción del fruto de la granada y semillas.</i>	9
Fotografía 2.	<i>Flores del granado</i>	12
Fotografía 3.	<i>Arilo y semilla de la granada</i>	14
Fotografía 4.	<i>Arilos de granadas 'Mollar de Elche'</i>	15
Fotografía 5.	<i>'Mollar de Elche'</i>	28
Fotografía 6.	<i>'Valenciana'</i>	29
Fotografía 7.	<i>'Wonderful'</i>	29
Fotografía 8.	<i>Balanza Radwag</i>	41
Fotografía 9.	<i>Cromatógrafo de gases</i>	43
Fotografía 10.	<i>Calibrador colorímetro</i>	44
Fotografía 11.	<i>Calibrador colorímetro</i>	44
Fotografía 12.	<i>Texturómetro para medir la firmeza de las granadas</i>	45
Fotografía 13.	<i>Refractómetro</i>	46
Fotografía 14.	<i>Valorador automático Methrom, para calcular la acidez y el pH</i>	47

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.	<i>Compuestos fenólicos de bajo peso molecular.</i>	15
------------------	---	----

Imagen 2. Estructura molecular de la punicalagina	15
Imagen 3. Curva de crecimiento de la granada	23
Imagen 4. Calendario de recolección de granadas	30
Imagen 5. Estructura molecular de GABA	31

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de los granos de la granada	13
Tabla 2. Información composición nutricional (por 100 g de porción comestible)	17
Tabla 3. Propiedades funcionales de la granada	19
Tabla 4. Comparación de acidez e Índice de maduración según el tipo de variedad	25
Tabla 5. % de acidez y usos, según su categoría	25
Tabla 6. Superficie. Comunidad Valenciana 2018	26
Tabla 7. Rendimiento. C. Valenciana 2018	27
Tabla 8. Producción total. C. Valenciana 2018	27
Tabla 9. Niveles de sólidos solubles y acidez en granadas variedad 'Mollar de Elche'	27
Tabla 10. Niveles de sólidos solubles y acidez en granadas variedad 'Valenciana'	28
Tabla 11. Niveles de sólidos solubles y acidez en granadas variedad 'Wonderful'	29
Tabla 12. Superficie, rendimiento y producción a nivel nacional	33

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. Mayores productores nacionales	33
Gráfico 2. Evolución de la producción total de granado en (t)	34
Gráfico 3. Superficie ocupada según el tipo de riego (ha)	35
Gráfico 4. Evolución de la superficie total de granado (ha)	36
Gráfico 5. Evolución del valor de mercado (miles de €)	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de las pérdidas de peso (%) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado 8y tres días más a 20°C	50
Figura 2. Evolución de la respiración en (mg Kg ⁻¹ h ⁻¹) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C	51

Figura 3. Evolución de la firmeza ($N\ mm^{-1}$) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	53
Figura 4. Evolución del color (L^*) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	55
Figura 5. Evolución del color (a^*) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	57
Figura 6. Evolución del color hue*(tonalidad de los frutos) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	58
Figura 7. Evolución del parámetro b^* en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	59
Figura 8. Evolución del color cromax en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	60
Figura 9. Evolución de los sólidos solubles totales ($g\ 100\ g^{-1}$) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	61
Figura 10. Evolución de la acidez titulable (%) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	62
Figura 11. Evolución de la fuga de electrolitos (%) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	63
Figura 12. Evolución del picado o pitting (daños por frío: escala 0-5) en granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a $20^{\circ}C$	64

1. INTRODUCCION

1.1 La granada

La granada cuyo nombre científico es *Punica granatum* L. El género “*Punica*” fue atribuido por los romanos, ya que fue introducido en las zonas del mediterráneo por los cartagineses durante las Guerras Púnicas y la especie “*granatum*” a la densidad de granos del fruto.

El científico Vavilov sitúa su origen en el Centro IV, Centro de Oriente Próximo, que incluye el interior de Asia Menor, la Transcaucasia, el Irán y las tierras altas de Turkmenistán, centro al que también pertenecen otros frutales como la higuera, manzano, peral, membrillero... entre otras especies vegetales (Sánchez-Monge, 1974).

Los babilonios consideraban a las semillas de granada como un agente de resurrección; los persas creían que las semillas conferían invencibilidad en los campos de batalla, mientras que para los antiguos chinos las semillas simbolizaban la longevidad y la inmortalidad (Aviram y otros 2000).

Su origen procede de Oriente Medio y se expandió hacia el este de China y al oeste de África. Los árabes lo introdujeron en España. Las proliferaron sobretudo por el sur de la Península, donde finalmente la ciudad de Granada tomó este nombre. Con la conquista de América los colonos españoles extendieron esta fruta por el continente.

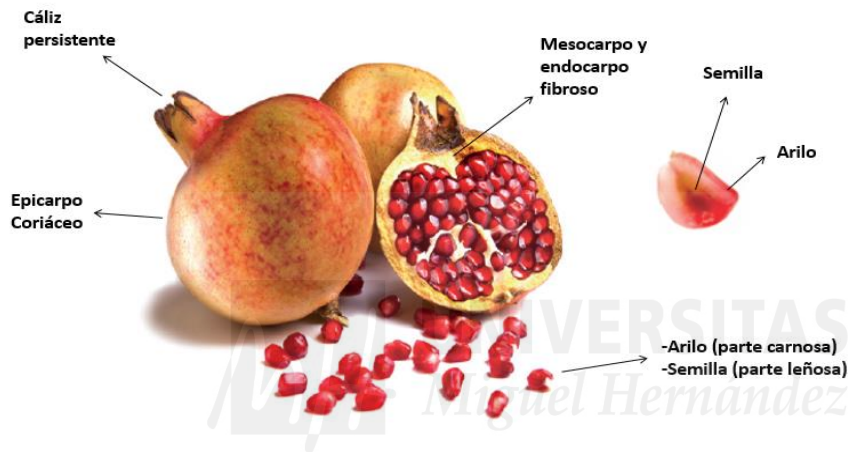
La granada se trata de un fruto no climatérico cuya maduración no muestra un aumento significativo ni de la producción de etileno ni de la actividad respiratoria al iniciarse la maduración. Ya que la maduración de estos frutos se detiene al desprenderse del árbol. Se produce cambios de color, sabor y textura de forma gradual y lenta. Y presentan un aumento de los niveles de ABA pero no de etileno al inicio de la maduración además de ser poco sensibles al etileno exógeno. (La maduración no está controlada hormonalmente por el etileno)

Los climas más favorables para el desarrollo de este cultivo son los climas tropicales, subtropicales y de tipo mediterráneo. Además, también puede desarrollarse en climas templados pero en este caso, el fruto no lleva a madurar de la misma forma, por lo que se emplea principalmente como ornamental.

Para obtener un fruto de buena calidad es necesario altas temperaturas durante la época de maduración del fruto y para ello, el verano ha de ser seco y

cálido. Sin embargo, para que el fruto sea de mejor calidad los inviernos han de ser frescos y los veranos cálidos y secos. Sin olvidar la alta necesidad de agua y humedad en sus raíces para que el fruto sea también de mayor calidad aunque el granado soporta bien la sequía y que se encuentre bajo condiciones de estrés en la que la planta produzca poco (Melgarejo y Salazar 2003).

El granado no es exigente con el tipo de suelo, pero producen mejor en suelos profundos y ricos en materia orgánica y con un pH que oscila entre 5,5 -7 aunque se adaptan tanto a suelos arenosos como arcillosos. Aunque el suelo ideal ha de ser: ligero, permeable, profundo y fresco. Es tolerante a la sequía, la salinidad, clorosis férrica y caliza activa.



Fotografía 1. Descripción del fruto de la granada y semillas.

1.2 Características botánicas

1.2.1 El cultivo de la granada

El granado es conocido desde tiempos remotos, su cultivo procede del Oriente Próximo, extendiéndose por el resto de Asia hasta llegar al Mediterráneo. Hoy en día, se ha extendido por los cinco continentes ya que se trata de un cultivo que presenta altas expectativas debido a su rentabilidad en climas áridos (siendo capaz de vegetar y producir en condiciones en las que otro tipo de cultivo no podría realizar dicha función).

España el líder país europeo con mayor producción de granada contando con un total de 5943 hectáreas de cultivo, siendo la provincia de Alicante la mayor productora representando el 90 % de cultivos, contando con 4744 ha y la Región de Murcia con una extensión de 473 ha. (Fuente: MAPAMA, 2018).

La Unión Europea (UE) es el primer importador de granadas frescas. En 2013, se enviaron 67 mil toneladas adicionales al mercado europeo, además de la producción local (World Pomegranate Market Supply & Forecast., 2015)

El cultivo comercial de la granada abarca diversos países tales como Irán, Egipto, China, Israel, Túnez, Siria, Líbano, Turquía, Grecia, Chipre, Italia, Francia, España, Chile, Portugal, Estados Unidos, Omán y otras países recientes del sur de África. (Bchir et al.,2010).

1.2.2 Taxonomía

El granado (*Punica granatum L.*) hasta hace poco pertenecía a la familia de las Punicaceas pero según una serie de estudios se ha demostrado que pertenece a la familia de las *Lythraceas* en la cual se incluyen 31 géneros y 600 especies (Graham et al., 2005)

Según la clasificación de Koehne et al., (1881), excluye el género *Punica* y reconoce en su lugar la familia *Punicaceae*, aunque sugiere que está ligada a la familia *Lythraceae* mientras que hay otros autores que incluyen *Punica* dentro de la familia *Lythraceae* basándose en el aumento de datos autonómicos, palinológicos y embriológicos (Thorne et al., 1992) una idea que fue apoyada

por el primer análisis cladístico completo de caracteres morfológicos en *Myrtales* (Johnson y Briggs 1984), y en *Lythraceae* (Graham et al., 1993).

Tras una serie de estudios se ha comprobado que pertenece a la familia *Lythraceae* (anteriormente ubicada en su propia familia mono genérica, *Punicaceae*) (Ahad, Tanveer, Malik y Nawchoo, 2018 ; Yuan et al., 2018).

Dentro del género *Punica* encontramos dos especies *P.granatum* L. y *P.protopunica* Balf. f. ambas aceptadas en *The Plant List*.

Punica granatum L. es una especie diploide cuyo número somático es $2n = 16$ y su número haploide de cromosomas es $n=8$ (Westwood, 1982) ó $2n = 16$ ó 18 (Mars, 1998).

1.2.3 Biología floral

Arbusto o pequeño árbol hasta de 5 m, caducifolio, espinoso y muy ramificado. Tronco derecho, con la corteza esquebrajada, ramas opuestas, patentes; las jóvenes tetrágonas y a veces péndulas. Hojas 1,5-2 -5-7 x 0,8-2 cm, entre lanceoladas y oblongas, opuestas o subopuestas en ramas jóvenes o bien reunidas en fascículos alternos o subopuestos, caducas, subcoriáceas, lustrosas por el haz, glabras, de un verde amarillento, atenuadas en corto pecíolo; ápice obuso, a menudo redondeado por excepción emarginado con glándula terminal (nectario) .

- ✓ Flores de 3-4 cm de diámetro, solitarias, más raramente geminadas o ternadas; pedicelo hasta de 3 mm, acrescente al fructificar.
- ✓ Cáliz 2-4 x 1,7-2 cm, campaniforme, coriáceo, grueso, persistente, granate, glabro, brillante; segmentos triangulares, papilosos por el margen de la cara interna.
- ✓ Pétalos 1,8 -2,4 x 1-1,5 cm, obovados, corrugados, caedizos, de color rojo intenso (por excepción rosáceas).
- ✓ Androceo con estambres de filamentos largos, rojizos; anteras amarillas.
- ✓ Gineceo con ovario ínfero, totalmente soldado al hipanto; estilo filiforme; estigma capitado.
- ✓ Fruto 5-12 cm, esférico, coriáceo, rojizo o amarillo-rojizo, coronado por los restos de los segmentos calicinales, con lóculos en 2 verticilos (raramente 3), de ordinario en inferior con 6 lóculos y el superior con 3,

todos ellos separados por el endocarpo membranoso y amarillento (tastanas).

- ✓ Semillas 4 mm (las desecadas), muy carnosas, translúcidas, angulosas, prismáticas, granates.



Fotografía 2. Flores del granado

Punica granatum L. muestra diferentes características fenológicas a través de su ciclo vegetativo en respuesta a la temperatura. La fenología se estudia para hacer comparaciones de las etapas de crecimiento y reproducción en distintas áreas geográficas y condiciones.

Para el estudio de cv *Mollar Elche*, se identificaron trece etapas fenológicas durante un ciclo anual (periodo comprendido entre el brote en latencia hasta la caída de las hojas). Para ello, se emplea la Escala general de BBCH. La duración de las etapas se midió en días y en grados acumulados al día.

1.3 Composición química y nutricional

La composición química de la granada depende de la variedad, región de cultivo (clima), el estadio de la madurez de la fruta, prácticas culturales y sistemas de fabricación. (Zarei et al., 2011).

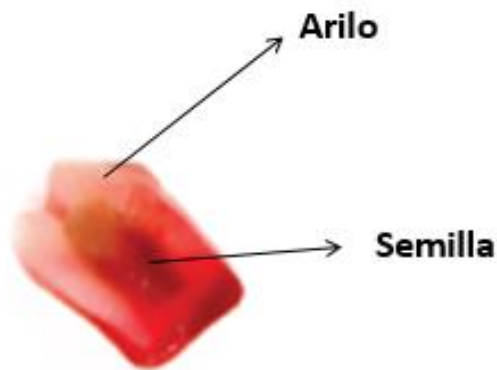
La parte comestible de esta fruta serían los granos compuestos por el arilo (la parte carnosa) y las semillas (parte leñosa), constituyendo alrededor del 50 % del peso total, pero a su vez, el 80 % corresponde al peso de los arilos y el 20 % el de las semillas de la granada.

Mientras que el otro 50 % corresponde con la corteza y las membranas carpelares, que son una gran fuente de compuestos bio-activos como polifenoles, flavonoides, elagitaninos, proantocianidinas y minerales.

Tabla 1. Composición de los arilos de la granada

AGUA	85 %		
AZUCARES	10 %	Fructosa	Glucosa
ACIDOS ORGANICOS	1,5 %	Ácido ascórbico	
		Ácido cítrico	
		Ácido málico	
COMPUESTOS BIOACTIVOS	Polifenoles		
	Flavonoides		
	Antocianinas		

Fuente. (Dahham et al., 2010)



Fotografía 3. *Arilo y semilla de la granada*

Las semillas de la granada (fotografía 3) son una fuente rica de lípidos totales, ya que el aceite de las semillas comprenden del 12-20 % del peso total de las semillas.

Este aceite se caracteriza por su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (n-3) como linolénico, linoleico, ácido púnico, oleico, eseárido y palmítico. (Ozgul-Yucel 2005; Fadavi et al., 2006). Además, las semillas contienen proteínas, fibras crudas, vitaminas, minerales, pectina, azúcares, polifenoles, isoflavonas (principalmente genisteína), el cumestrol del fitoestrógeno y la esteroide sexual, estrona (El-Nemr et al., 2006; Syed et al., 2007).



Fotografía 4. Arilos de granadas 'Mollar de Elche'

En cuanto, a los compuestos fenólicos se pueden agrupar en dos grandes grupos: los compuestos fenólicos de bajo peso molecular entre los que se encuentran los ácidos fenólicos como son el ácido gálico y elálgico.

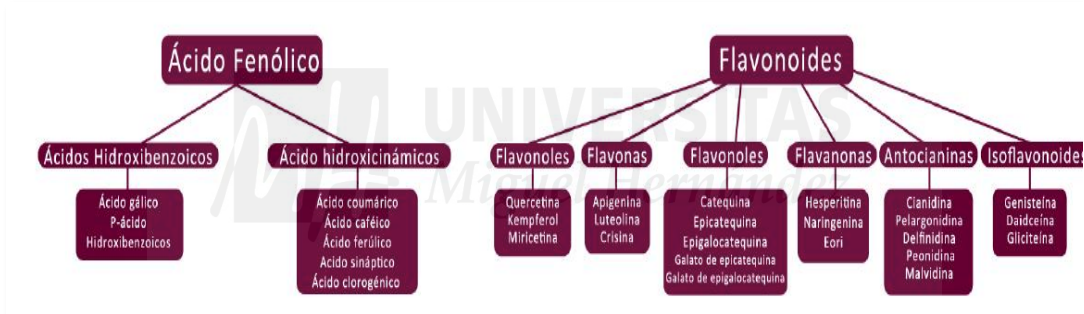


Imagen 1. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular. Fuente: Calín-Sanchez y Carbonell. Barrachina, 2005.

Y los compuestos fenólicos de alto peso molecular, como sería el caso de los taninos. La piel de la granada es rica en taninos hidrolizables, principalmente punicalina, pedunculagina y punicalagina.

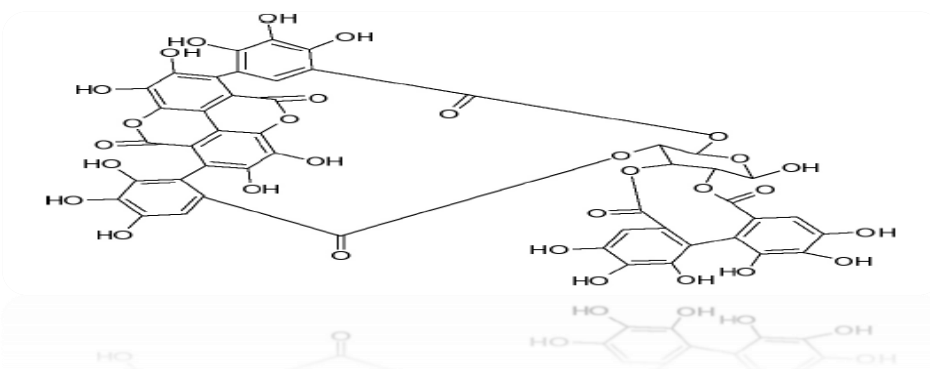


Imagen 3. Estructura molecular de la punicalagina

Las antocianinas son los responsables de la pigmentación roja en las granadas, por eso estos compuestos fenólicos tienen la función de antioxidante que retrasa el proceso de envejecimiento de las células. Además, la capacidad captadora de radicales libres de estos flavonoides fue demostrada según varios estudios (Espin et al., 2000). Se estima que el 10 % de la capacidad antioxidante del zumo de granada se debe a la presencia de estos polifenoles, los antocianinas (Gil et al., 2000).

La granada se caracteriza por la gran capacidad de antioxidantes naturales que contiene una fuente rica en polifenoles un grupo de los más estudiados en la actualidad. Siendo caracterizados estos compuestos fenólicos coloreados por la presencia de 6 antocianinas, derivados de 30 glucósidos y 3,5 diglucósidos de delphinidina, cianidina y pelargonidina (García-Viguera et al., 2004).

En la granada se han encontrado más de cien compuestos distintos a parte de azúcares, vitaminas y minerales, tales como: ácidos orgánicos, flavonas, flavonoles, antocianinas, alcaloides, esteroides, glucósidos, taninos, polifenoles varios y punicalaginas.

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

Se trata de una fuente rica de polifenoles con numerosos efectos beneficiosos para la salud que se ha convertido en un producto atractivo para el consumidor tanto por sus propiedades organolépticas como nutricionales.

Esta fruta ha conseguido una alta popularidad en los últimos quince años gracias a su fuente rica en polifenoles cuando se compara con otras bebidas ricas en compuestos como el vino y el té verde (Gil et al., 2000, Fischer et al., 2013).

Los flavonoides son pigmentos vegetales que están presentes en una amplia gama de plantas. Además de la pigmentación, son antioxidantes efectivos, importantes en la fijación de nitrógeno simbiótico y la filtración UV. Actúan como anticancerígenos, antimicrobianos, antialérgicos y antiestrogénicos (Cutler et al., 2008) en estudios in vitro (Cushnie and Lamb, 2011). Al aumentar la proporción de flavonoides en la dieta humana, podría ser

posible prevenir el cáncer o enfermedades cardiovasculares, el asma y la diabetes tipo 2 (Knekt et al., 2002).

Tabla 2. Información composición nutricional (por 100 g de porción comestible)

COMPONENTES	VALOR NUTRICIONAL	UNIDADES
PROXIMALES		
Alcohol (etanol)	0	g
Energía, total	261 (63)	KJ / Kcal
Grasa, total (lípidos totales)	0,3	g
Proteína, total	1	g
Agua (humedad)	80,2	g
HIDRATOS DE CARBONO		
Fibra, dietética total	3,5	g
Carbohidratos	13,7	g
GRASAS		
Ácidos grasos, mono insaturados totales	Traza	g
Ácidos grasos, poliinsaturados totales	Traza	g
Ácidos grasos saturados totales	Traza	g
Ácido graso 12:0 (laúrico)	Traza	g
Colesterol	0	Mg
VITAMINAS		
Vitamina A	7	Mg

equivalentes de retinol de actividades de retinos y carotenoides)		
Vitamina D	0	Mg
Vitamina E equivalentes de alfa tocoferol de actividades de vitámeros E	0,55	Mg
Folato, total	29	Mg
Equivalentes de niacina, totales	0,3	Mg
Riboflavina	0,03	Mg
Tiamina	0,05	Mg
Vitamina B-12	0	Mg
Vitamina B-6, total	0,2	Mg
Vitamina C (ácido ascórbico)	20	Mg
MINERALES		
Calcio	13	Mg
Hierro, total	1	Mg
Potasio	247	Mg
Magnesio	6	Mg
Sodio	4	Mg
Fósforo	25	Mg
Selenio, total	0,6	Mg
Zinc (cinc)	0,1	Mg

Fuente. Red BEDCA

1.3.1 Efectos beneficiosos de la granada

Según una serie de estudios realizados sobre la composición química de la granada y sobre los efectos de la salud, se puede considerar la granada como un alimento funcional (Melgarejo, 2010).

Propiedades anticancerígenas y antitumorales, prevención enfermedades cardiovasculares, propiedades antiinflamatorias, propiedades contra diabetes, previene deterioro oxidativo, previene daños sobre la piel, propiedades antimicrobianas, salud bucodental, calidad del esperma y disfunción eréctil, sobre la obesidad.

Tras una serie de investigaciones sobre el componente antioxidante de la granada, se ha llegado a las siguientes conclusiones expuestas en la siguiente tabla.

Tabla 3. *Propiedades funcionales de la granada*

PROPIEDADES	CITAS
Anticancerígena	AFAQ et al., 2005
Antibacteriano	Duman et al., 2009
Antidiarreica	Das et al., 1999
Antimicóticos	Dutta et al., 1998
Anti úlceras	Gharzouli et al., 1999
Actividad antioxidante y capacidad de compactar radicales libres	Festa et al., 2001
Fortalecimiento del sistema inmunológico	Lee et al., 2008
Prevención de enfermedades del corazón	Johanningsmeier y Harris, 2011
Fibrosis hepática	Thresiamma y Kuttan, 1996
Inhibición de la peroxidación de lípidos e incluso concentraciones más	Rosenblat et al., 2003

La fruta de granada podría considerarse un alimento funcional porque tiene compuestos valiosos en diferentes partes de la fruta que muestran efectos funcionales y medicinales . Estos pueden actuar como antioxidantes (Çam et al., 2009), como agentes antitumorales (Hamad y Al-Momene, 2009) o antihepatotóxicos (Celik et al., 2009) y mejorar la salud cardiovascular (Davidson et al., 2009). Se ha visto que tienen propiedades antimicrobianas (Duman et al., 2009), antiinflamatorias (Lee et al., 2010), antivirales (et al., 2009), antidiabéticos (Xu et al., 2009) y pueden mejorar la administración oral (Di Silvestro et al., 2009) y salud de la piel (Aslam et al., 2006). Ayudan a prevenir la enfermedad de Alzheimer (Singh et al., 2008) y mejoran la calidad del esperma (Türk et al., 2008) y la disfunción eréctil en pacientes masculinos (Forest et al., 2007). Sin embargo, se han completado pocos ensayos clínicos bien controlados y estos efectos no se han establecido sólidamente. Estamos de acuerdo con Lansky y Newman (2007) que indicaron que se requiere una investigación mucho más profunda en este campo de rápido crecimiento para evaluar el valor y la seguridad generales de la granada como una fruta intacta o de varios extractos derivados de los componentes de la granada.

1.4 Exigencias relativas a la calidad

Los intentos por definir la calidad a menudo discriminan entre características intrínsecas inherentes a la naturaleza de los productos, dictadas por factores genotípicos, agroambientales y post-cosecha, y características extrínsecas influenciadas por factores socioeconómicos y factores de comercialización que condicionen la percepción del consumidor de los productos y formulan prototipos de calidad (Schreiner et al., 2013)

La calidad hace referencia al grado de excelencia de un producto, desde el punto de vista humano, la calidad presenta numerosos tipos de características como: valores nutritivos, componentes químicos, características funcionales y defectos, propiedades mecánicas y sensoriales (textura, sabor, aspecto y aroma) (Abbott,1999).

1.4.1 Factores de pre-recolección que afectan a 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, la condición y la ausencia de defectos. Existe una serie de factores que pre-recolección que afecta en la calidad del producto cosechado. Según Kays (1999), estos son los siguientes factores:

- ✚ Factores biológicos → patógenos, entomológicos, animales...
- ✚ Factores fisiológicos → alteraciones fisiológicas, desequilibrio alimenticio, madurez...
- ✚ Factores ambientales o culturales → clima, tiempo, suelo, relaciones del agua, intensidad de la luz...
- ✚ Daños mecánicos
- ✚ Materia extraña → crecimiento medio, residuos químicos
- ✚ Variaciones y aberraciones genéticas

1.4.2 Características físicas

Hoy en día, los productos hortofrutícolas deben de cumplir una serie de requerimientos exigidos por la mercadotecnia, para que de esta manera puedan ser comercializados a grandes superficies.

Estos consisten en la medida de dimensión (longitud, anchura, diámetro o circunferencia), peso y/o volumen.

1.4.3 Etapas desarrollo de la fruta

El desarrollo fenológico de la granada hasta su madurez y la senescencia implica una secuencia de cambios físicos y bioquímicos. Los mecanismos moleculares, celulares y fisiológicos implicados en el desarrollo de la fruta (Gillaspy et al., 1993), la regulación de asimilar el suministro de fruta (Ho, 1996)

y el papel de auxinas endógenas en el desarrollo de la fruta están bien documentados.

El periodo durante el cual estos cambios de desarrollo ocurren se puede clasificar en tres etapas: crecimiento, maduración y senectud.

En muchas especies, la estructura de crecimiento de la fruta está condicionada por un periodo inicial con una rápida división de la célula y de desarrollo de las paredes de ésta, seguido por un período de extensión de la célula debido por la vacuolación. La duración de la división de la célula durante el desarrollo de la fruta y grado al cual la división de la célula contribuye al crecimiento entero de la fruta, varía considerablemente entre las especies (Schechter et al., 1993).

Las curvas de crecimiento se han descrito de forma prolongada durante numerosos años. El gráfico podría considerarse un diagrama de los datos brutos del crecimiento contra el tiempo, o los porcentajes de valor máximo total de la cantidad del crecimiento contra el porcentaje del período total de crecimiento. Para cada tipo de fruta, la forma del diagrama de los datos medidos del crecimiento en un cierto plazo sigue un patrón distintivo que incluye etapas identificables de desarrollo (Opara, 2000). En general, la estructura de crecimiento de frutas es sigmoidea o doble sigmoideo o doble-sigmoideo. Se sabe que esta curva es la integración de los procesos de la división de la célula y de la ampliación de la célula que se pueden separar temporal y espacialmente (Schechter et al., 1993).

En 1919, Connors subdividió lo que se ha conocido como la curva doble-sigmoideo de crecimiento en tres etapas (*Imagen 3*), la fase inicial de crecimiento exponencial (etapa I), la fase de retraso (etapa II), y la segunda fase exponencial (etapa III). Un fruto con pepitas tiene varias semillas relativamente pequeñas y un patrón sigmoideo de crecimiento de la fruta (Griggs y Iwakiri, 1956), mientras que los frutales de hueso tiene la semilla proporcionalmente grande y genera una curva doble-sigmoideo de crecimiento (Schechter et al., 1993).

El tipo de datos empleados para trazar el crecimiento (Ejemplo. Datos primarios brutos contra datos de la tasa de crecimiento; longitud contra masa; masa fresca contra masa seca) también influye en la forma de la curva de crecimiento (Worrel et al., 1998). Varios investigadores han descrito resultados contradictorios en las estructuras de crecimiento para el mismo tipo de fruta.

Hasta que en los años 80, se concluyó que el crecimiento de la fruta de la manzana seguía un curva sigmoidea (Blanpied y Wide, 1968). Sin embargo, muchos investigadores han identificado un período corto o temporal de crecimiento reducido de la fruta, que dio origen a una curva doble-sigmoideo de crecimiento (Magein, 1989).

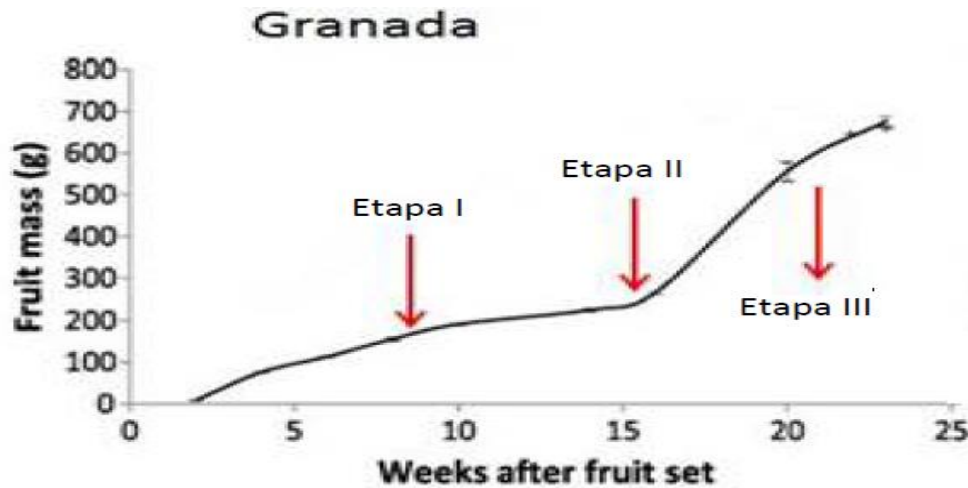


Imagen 5. Curva de crecimiento de la granada

Varios factores pueden contribuir a estas diferencias, incluyendo variaciones en el cultivo, errores de muestreo, diversos factores de la gestión de la huerta y diversos índices de crecimiento que dan curvas de crecimiento bastante diferentes (Opara, 2000). Magein (1989) observó que el crecimiento de la naranja 'Pippin de Cox' y la manzana 'Golden Delicious' siguió un crecimiento sigmoideo simple usando el diámetro de la fruta, y cuando los datos absolutos de crecimiento fueron utilizados, la estructura de crecimiento era doble sigmoideo.

Desde otra perspectiva, la fisiológica, la maduración se refiere a los procesos asociados a completar el crecimiento natural y al desarrollo del tamaño completo. En tecnología de la post-recolección, la maduración se define como " esa etapa en la que una materia ha alcanzado una etapa suficiente de desarrollo que después de la cosecha y el manejo de la post-recolección, su calidad será por lo menos el mínimo aceptable por el consumidor final " (Reid, 2002). El término maduración se refiere a los procesos que cualitativamente transforman la fruta madura mientras que alcanza el final de su período de crecimiento.

Según Al-Maiman y Ahmad (2002) estudiaron los cambios en las propiedades físicas y químicas de la granada durante la maduración de la fruta. Clasificaron las frutas en tres etapas.

Etapa 1 → verde

Etapa 2 → Mitad maduro

Etapa 3 → Maduro

Encontraron que la fruta de cada etapa no mostró ninguna diferencia estadística en longitud, diámetro o contenido de volumen si no que las diferencias fueron obtenidas en el peso total, contenido de semillas y densidades.

1.4.4 Factores post-recolección

Hoy en día, existe una tendencia hacia la estandarización internacional sobre los diferentes grados de calidad en el que se establecen especificaciones estándares referentes a los productos frescos, dado al aumento del mercado internacional. La Comisión Europea fue una de las primeras organizaciones en desarrollar estándares para frutas frescas. Aunque muchos de estos estándares fueron adoptados por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE). Estos estándares son definidos por los vendedores para los proveedores.

En cuanto al punto de vista de la calidad de fruto los factores que limitan el almacenamiento y la vida útil son los siguientes:

- ✚ Pérdida de peso
- ✚ Apariencia
- ✚ Textura
- ✚ Sabor/aroma
- ✚ Podredumbre

Aunque en el proceso de la manipulación se producen daños mecánicos que pueden acelerar cambios en algunos factores anteriores, afectando negativamente en la calidad del fruto. Estos cambios son debidos a procesos fisiológicos o tecnológicos relacionados con la maduración del fruto y la senescencia, determinando la vida útil de dicho fruto.

1.5 Variedades de la granada

Las variedades de granadas en España se agrupan de acuerdo según la clasificación de Melgarejo (1993). De esta forma mediante el empleo de estos parámetros se permite obtener el momento óptimo de la recogida de la granada. Con estos parámetros se relaciona la acidez y el índice de maduración.

Tabla 4. Comparación de acidez e Índice de maduración según el tipo de variedad

Tipo de variedades	Acidez	Índice Maduración
Variedad dulce	0,15 – 0,48 % ácido cítrico/L	60 – 80
Variedad agridulce	0,54 – 0,91% ácido cítrico/L	20 – 25
Variedad agria	2,34 – 2,69% ácido cítrico/L	6 – 10

Fuente. <https://cultivodelgranado.es/el-granado/variedades/>

Una vez clasificas las variedades según su grado de acidez, se pueden agrupar en tres categorías.

Tabla 5. % de acidez y usos, según su categoría

CATEGORIAS	% ACIDEZ	USOS
DULCE	< 0,9	Consumo en fresco
AGRIDULCE	$1 < X < 2$	Producción bebidas refrescantes
ACIDA	> 2	Extracción de ácido cítrico

Fuente: Raga Carreño et al., 2015

La Comunidad Valenciana es la principal zona productora de granada, junto con la Región de Murcia y Andalucía (mencionadas según su mayor grado de producción) a nivel nacional.

Siendo la variedad más cultivada ‘*Mollar de Elche*’, seguida de la variedad población denominada “*Valencianas*” y variedad ‘*Wonderful*’. Existiendo en estas zonas otras variedades locales no tan conocidas como las mencionadas, tales como: ‘*Blanca*’, ‘*Tendral*’, ‘*Piñonenca*’, ‘*Albar*’, ‘*San Felipe*’, ‘*Cajín*’, ‘*Pulpí*’, etc.

Además del material autóctono cultivado en España, en los últimos años se han introducido nuevas variedades, citándose a nivel mundial un total de más de quinientas variedades, por lo que hay una gran riqueza existente de variedades de *Punica granatum* L. Algunas de las variedades comerciales conocidas a nivel mundial como ‘*Acco*’, ‘*Shany*’, ‘*Emek*’, ‘*Kamel*’, etc.

Tabla 6. Superficie. Comunidad Valenciana 2018

Provincias Y Comunidades Autónomas	Superficie en plantación regular (hectáreas)				
	Secano	Total		En producción	
		Regadío	Total	Secano	Regadío
Alicante	–	3.208	3.208	–	2.694
Castellón	–	95	95	–	49
Valencia	–	684	684	–	275
C. VALENCIANA	–	3.987	3.987	–	3.018

Fuente: MAPAMA, 2018

Como se observa en la *tabla 6*, la Comunidad Valencia cuenta con una de superficie total en plantación de 3.987 ha, considerándose una de las comunidades autónomas con más superficie de regadío.

Tabla 7. Rendimiento. C. Valenciana 2018

Provincias Y Comunidades Autónomas	Rendimiento		
	Superficie en producción		Arboles
	(kg/ha)		diseminados
	Secano	Regadío	(kg/árbol)
Alicante	–	19.500	–
Castellón	–	4.500	–
Valencia	–	24.480	–
C. VALENCIANA	–	19.710	–

Fuente: MAPAMA, 2018

Tabla 8. Producción total. C. Valenciana 2018

Provincias y Comunidades Autónomas	Producción Total en toneladas (t)
Alicante	52.533
Castellón	221
Valencia	6.732
C. VALENCIANA	59.486

Fuente: MAPAMA, 2018



La variedad 'Mollar de Elche' (fotografía 5), originaria de Elche (Alicante) se caracteriza por su forma redondeada, frutos de calibres medios-grandes, semillas dulces, y de piñón blando. El color externo del fruto es rojo-amarillento y el color interior es rojo claro. La piel resiste bien el manipulado. Tiene concedida la Denominación de Origen Protegida. Se caracteriza por su equilibrio entre acidez y azúcares.

Tabla 9. Niveles de sólidos solubles y acidez en granadas variedad 'Mollar de Elche'

Sólidos soluble (ss)	Acidez	% en zumo	Contenido medio fibra bruta
13,44- 17,68 ° Brix	0,24 – 0,35	34,42 – 40 %	3,8 – 7,9 %

Fuente. Cambayas OCoop V., 2010



Fotografía 6. *'Mollar de Elche'*

La variedad *'Valenciana'* (fotografía 6) se caracteriza por tratarse de una variedad temprana, tiene forma redondeada, calibre medio, semillas dulces, piñón inapreciable. Color interno rosa claro y color externo rosa intenso. Piel sensible al manipulado.

Tabla 10. Niveles de sólidos solubles y acidez en granadas variedad *'Valenciana'*

Sólidos soluble (ss)	Acidez	% en zumo	Contenido medio fibra bruta	Índice Maduración (IM)
13,90 – 15,50 ° Brix	0,14 – 0,26	29,26 – 53,84 %	8 – 16 %	42,39 – 84,43

Fuente. *Cambayas OCoop V., 2018*



Fotografía 7. 'Valenciana'

Variedad 'Wonderful' (fotografía 7) se trata de variedad tardía y originaria de Florida, siendo la más extendida a nivel mundial, la cual se caracteriza por tener unos frutos de calibre medio a grande, corona alargada, color externo rojo, semillas de color rojo intenso, pequeñas, piñón semiduro y de sabor ácido. Piel resistente a la manipulación. Presenta una amplia diversidad genética por lo que presenta diversos rendimientos y características muy variables.

Tabla 11. Niveles de sólidos solubles y acidez en granadas variedad 'Wonderful'

Sólidos solubles (ss)	Acidez	Índice de Maduración
13 – 18 ° Brix	2-3 g ácido cítrico/L	7 – 12



Fotografía 8. 'Wonderful'

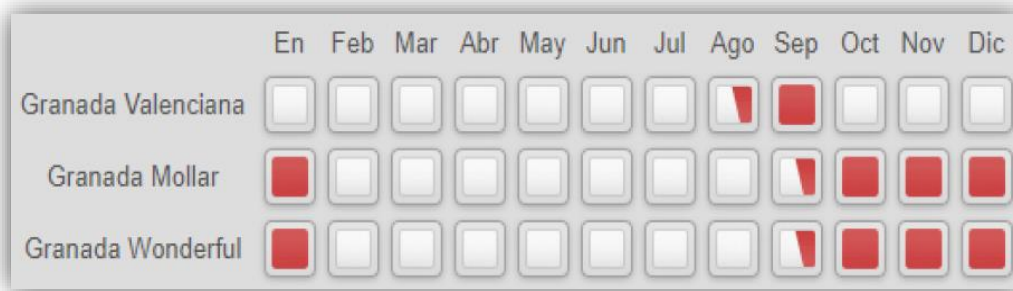


Imagen 7. Calendario de recolección de granadas. **Fuente.** Cambayas OCoop V., 2018.

En la *imagen 4*, se puede comprobar el calendario de recolección de las tres variedades de granadas más comercializadas tanto a nivel nacional como mundial

1.6 Ácido γ -Aminobutírico

El estrés medioambiental puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS) que en condiciones extremas de estrés causa un daño oxidativo progresivo y que en consecuencia genera la muerte celular (Sharma et al., 2012). Para poder hacer frente al daño oxidativo, la plantas desarrollan un complejo sistema de defensa encaminado a la desintoxicación de las especies oxidativas de la planta. El ácido γ -aminobutírico (GABA) es una hormona natural presente en los tejidos vegetales que juega un papel importante en este mecanismo de defensa de la planta como respuesta al estrés medioambiental. (Kinnersley y Turano 2000 ; Seifi et al, 2013).

El GABA es un aminoácido no proteico presente en organismos procariotas y eucariotas. Se produce de forma endógena en las células vegetales y provoca la regulación del crecimiento y la tolerancia al estrés (Vijayakumari y Puthur 2016).

Este compuesto se localizó por primera vez en 1949 en tejidos de tubérculos de patatas (Steward et al., 1949). Otros investigadores encontraron grandes cantidades de GABA en el tejido nervioso central de los animales (Watanabe et al., 2002). Es por eso por lo que el GABA se ha estudiado tanto en el caso de las plantas como de los animales.

En el reino vegetal, según numerosos estudios se ha observado que el GABA se acumula rápidamente como consecuencia de la exposición a altas temperaturas como respuesta al estrés medioambiental (Allan et al., 2008), al aumento de la presión osmótica (Renault et al., 2011), a las bajas temperaturas (Kaplan et al., 2004), la alta salinidad (Xing et al., 2007) y a la toxicidad por metales pesados (Bor et al., 2009).

Este aminoácido no proteico, disminuye los daños causados por el estrés del calor en las plantas a través de la inhibición de la senescencia de las hojas, la mejora de la fotosíntesis, la tasa de transpiración y la inducción de la actividad antioxidante.

Al igual que otras plantas expuestas a bajas temperaturas, éstas presentan una serie de mecanismos de defensa que incluyen la biosíntesis de crioprotectores que mejoran la tolerancia de la planta (Janská et al., 2010). De esta forma el GABA se presenta como un metabolito sustancial asociado con los mecanismos de crioprotección en las plantas (Mazzucotelli et al., 2006).

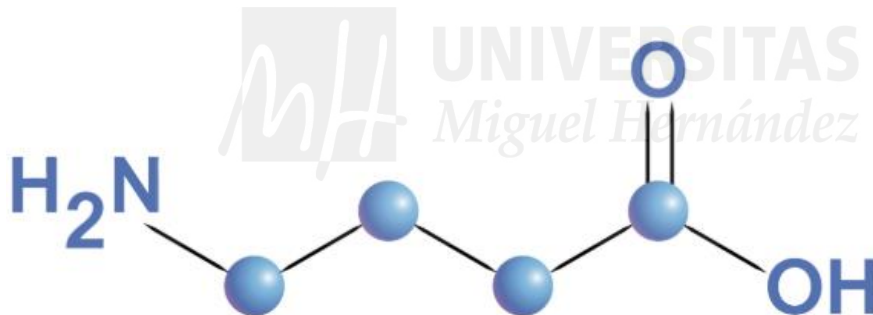


Imagen 9. Estructura molecular de GABA

1.7 Producción granada e importancia económica

El valor de la producción del sector de frutas y hortalizas exclusivamente (sin incluir flores y plantas, uva de vinificación ni aceitunas) superó en 2017 los 14.000 millones de euros, un 3% más que en 2016 y un 14 % más que la media de las últimas 5 campañas (2012-2016). En 2018 la primera estimación presenta un valor similar a 2017. Fuente: MAPAMA, 2018.

España es el primer productor de la UE de frutas y hortalizas con más del 25% de la producción europea y el sexto a nivel mundial. En 2017 la producción española de frutas y hortalizas superó los 28 millones de toneladas, un 1% más que en 2016 y un 5% más que la media. Más del 50% de la producción es de hortalizas, al que sigue cítricos (24%) y fruta dulce (11%).

España es el primer exportador de UE y uno de los tres primeros exportadores junto con China y EEUU.

El sector presenta una balanza comercial netamente positiva tanto en frutas como en hortalizas y creciente.

La vocación exportadora está muy marcada ya que en torno al 50% de la producción se destina a la exportación, siendo además el primer subsector dentro del conjunto de las exportaciones del sector agroalimentario.

Hay que destacar que las exportaciones tienen una evolución creciente en los últimos años, alcanzando en 2017 la cifra récord de 13,8 millones de toneladas, con un valor cercano a los 15.000 M€. Las ventas al exterior aumentaron ligeramente respecto a 2016, un 2% en volumen y un 3% en valor, mientras que respecto a la media de los últimos cinco años se incrementaron un 5% y un 17% respectivamente.

Tabla 12. Superficie, rendimiento y producción a nivel nacional

GRANADO: Análisis provincial de superficie, rendimiento y producción, 2018												
Comunidades Autónomas	Superficie en plantación regular (hectáreas)					Arboles diseminados (número)	Rendimiento			Producción (toneladas)		
	Total		Total	En producción			Superficie en producción (kg/ha)		Arboles diseminados (kg/árbol)	En plantación regular	Árboles diseminados	Producción Total
	Secano	Regadío		Secano	Regadío		Secano	Regadío				
ARAGÓN	3	102	105	1	35	-	3.250	7.590	-	267	-	267
CATALUÑA	5	106	111	5	102	-	6.660	14.462	-	1.508	-	1.508
BALEARES	-	6	6	-	6	-	-	6.200	-	37	-	37
CASTILLA Y LEÓN	-	-	-	-	-	53	-	-	-	-	-	-
MADRID	-	2	2	-	1	145	-	9.500	13	9	2	11
CASTILLA-LA MANCHA	3	6	9	1	-	161	2.300	-	17	2	3	5
C. VALENCIANA	-	3.987	3.987	-	3.018	-	-	19.710	-	59.486	-	59.486
R. DE MURCIA	-	451	451	-	348	8	-	29.400	10	10.231	-	10.231
EXTREMADURA	-	282	282	-	76	-	-	20.750	-	1.577	-	1.577
ANDALUCÍA	108	643	751	65	294	1.770	1.802	7.523	21	2.331	37	2.368
CANARIAS	1	36	37	1	34	2.565	-	19.995	2	670	5	675
ESPAÑA	120	5.621	5.741	73	3.914	4.702	2.136	19.411	63	76.118	47	76.165

Fuente: MAPAMA, 2018

España es líder en producción de granadas al ser el mayor exportador en Europa.

Alicante es la provincia productora más importante (90%) con un total de 52533 t, (MAPAMA, 2018). Los principales municipios productores de este frutal son: Elche, Albuera y Crevillente, por orden de importancia socio-económico.

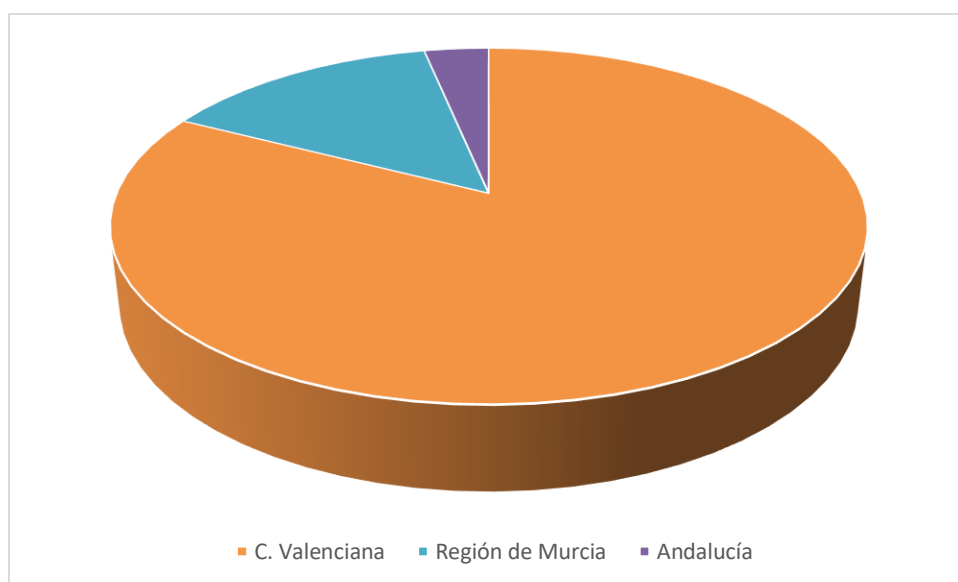


Gráfico 1. Mayores productores nacionales. Fuente: MAPAMA, 2018.

Como se puede observar en el *gráfico 1*, el mayor productor es la C. Valenciana contando con un total de 59.486 toneladas de granada representando el 80 % del mercado nacional. En segunda posición se encuentra la Región de Murcia con un tonelaje de 10.231 y con un porcentaje del 14 % y siendo Andalucía la tercera comunidad autónoma con mayor producción con un total de 2.368 toneladas con tan sólo el 3 %. De forma general, obtenemos un total de 76.165 toneladas de granada producidas en 2018 (*Gráfico 2*).

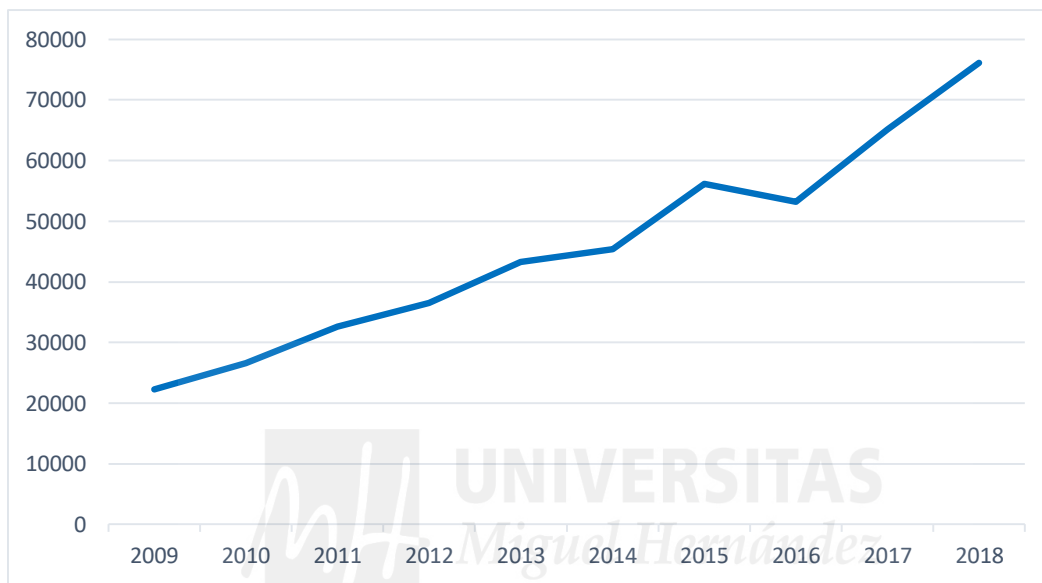


Gráfico 2. Evolución de la producción total de granado en (t). Fuente: MAPAMA, 2018

En el *gráfico 2*, se observa que a lo largo de los últimos 10 años se muestra un aumento progresivo de la producción en el cultivo del granado alcanzando las mayores cotas de producción en el año 2018.

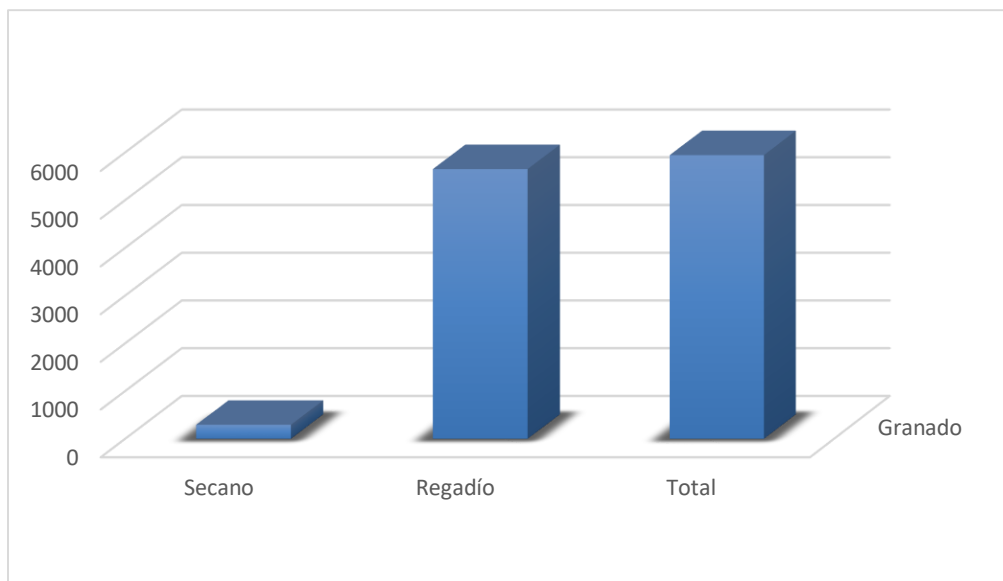


Gráfico 3. Superficie ocupada según el tipo de riego (ha). Fuente: MAPAMA, 2018.

Según el gráfico 3, la superficie total en hectáreas según el tipo de riego empleado, para secano cuenta con una superficie de 112 ha, el cual observamos que este tipo de cultivo ya está en declive por el empleo del goteo, ya muy bien instalado en los tiempos actuales. Sin olvidar el cultivo por regadío, ya que de esta manera se aumenta de forma considerable la rentabilidad del cultivo, contando con un total de 4.632 ha. Obteniéndose un total de 4.744 ha.

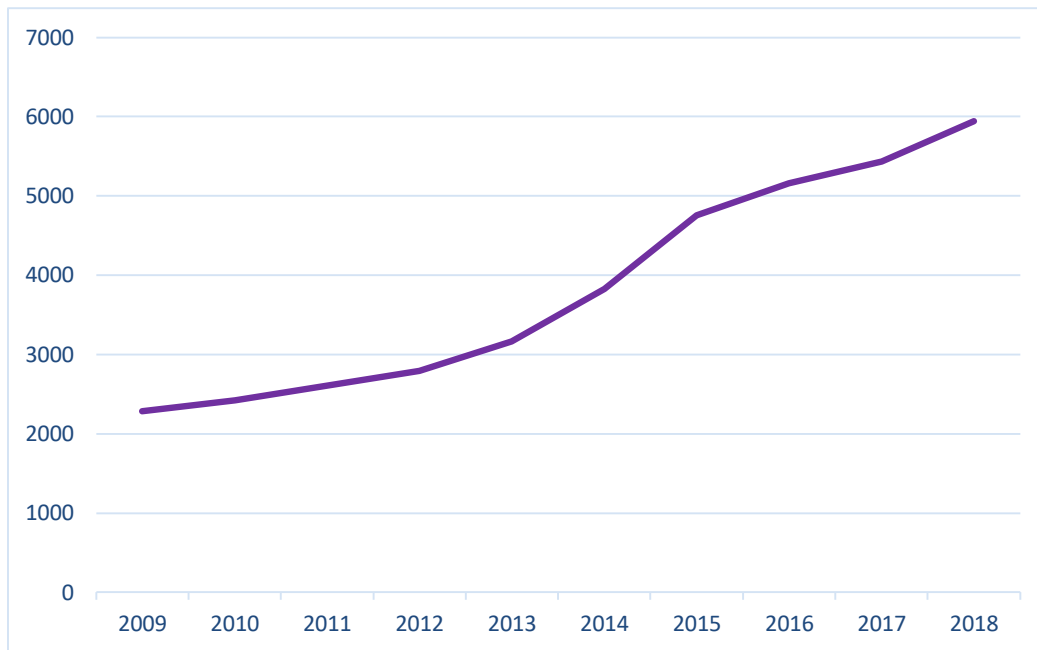


Gráfico 4. Evolución de la superficie total de granado (ha). Fuente: MAPAMA, 2018

Según el gráfico 4, se muestra una evolución progresiva de superficie ocupada para el cultivo del granado contando con un total de 4.744 ha.

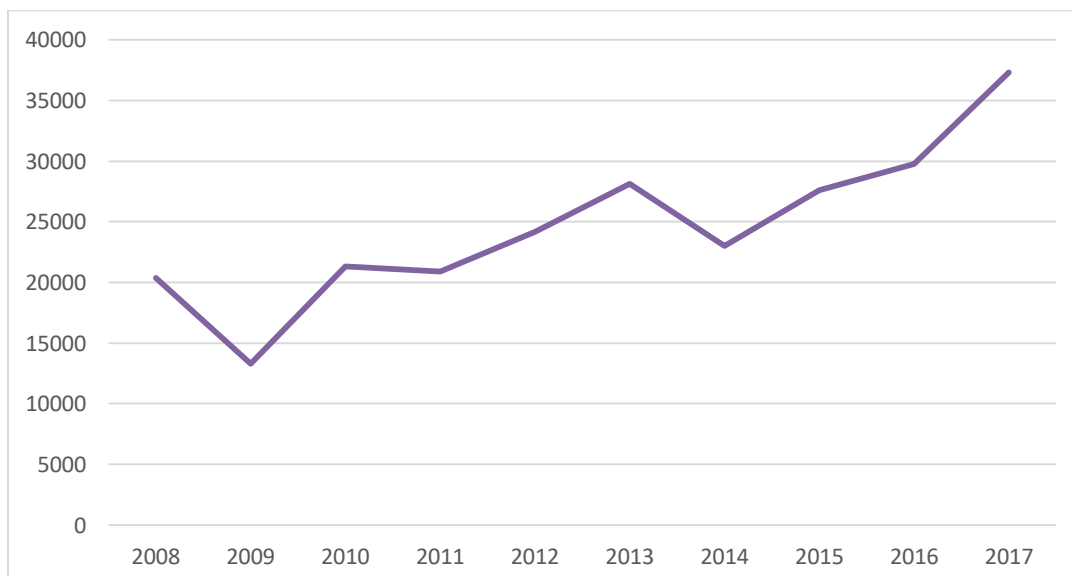


Gráfico 5. Evolución del valor de mercado (miles de €) . Fuente: MAPAMA, 2018

En la *gráfica 5*, se observa cierta inestabilidad en la evolución de los precios de este producto, pero a pesar de esa situación, el precio del Kg de granada ha conseguido un incremento gradual hasta la actualidad, llegándose a alcanzar los valores más alto en el año 2017, con un total de 37.333 miles de euros.

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. enfermedades 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 (granos) 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 ecológicos y sostenibles 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 ácido γ -aminobutírico (GABA), que se ha demostrado que afecta al 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 GABA, a diferentes dosis para evaluar su posible papel en la mejora de la calidad y en el aumento de la vida útil de las granadas '*Mollar de Elche*'. 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. MATERIAL Y METODOS

3.1 Material vegetal

La fruta empleada para el trabajo de fin de grado (TFG) ha sido la granada cv. 'Mollar de Elche' (*Punica granatum*).

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

Tras su recogida en campo, las granadas fueron transportadas al laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO), perteneciente de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH).

3.2 Diseño experimental

El diseño experimental comenzó mediante un proceso de selección de granadas, en el cual se seleccionaron un total de 195 granadas atendiendo al tamaño y coloración, desechándose únicamente aquellas frutos que habían sufrido daños previos a la llegada del laboratorio. Tras la selección de las granadas exentas de cualquier tipo de contaminación se agruparon en lotes de quince para cada uno de los tratamientos, o sea, para granadas control,

granadas tratadas a distintas concentraciones de 1, 10 y 100 mM con ácido γ -aminobutírico, sin olvidar otro lote de quince granadas que se evaluó el día 0 para establecer las condiciones en las que las granadas llegaron al laboratorio.

El tratamiento se realizó mediante la inmersión con ácido γ -aminobutírico a tres concentraciones diferentes ya mencionadas en el párrafo anterior durante diez minutos. Tras este tratamiento las frutas se dejaron secar y se almacenaron a 4°C durante noventa días para ser evaluados mensualmente.

Las granadas en cada uno de los muestreos mensuales se evaluaron tras un periodo adicional de 3 días de almacenamiento a 20°C tras la salida del frío.

En primer lugar, se realizaron determinaciones no destructivas tales como:

- ✓ El peso de las granadas
- ✓ El color
- ✓ La firmeza
- ✓ La tasa de respiración
- ✓ Valoración general de los daños por frío causados durante el almacenamiento en las cámaras de refrigeración

Mas tarde, se procedía a realizar un corte transversal quedándose dos mitades, obteniéndose muestras homogéneas de diez mitades por repetición y tratamiento. Una de esas mitades, se utilizó para obtener dos zumos, analizados por duplicado que me emplearon para obtener el contenido en sólidos solubles y la acidez. A su vez se extrajeron tiras completas de la piel de la granada para evaluar los daños causados por el frío mediante la medida de la fuga de electrolitos.

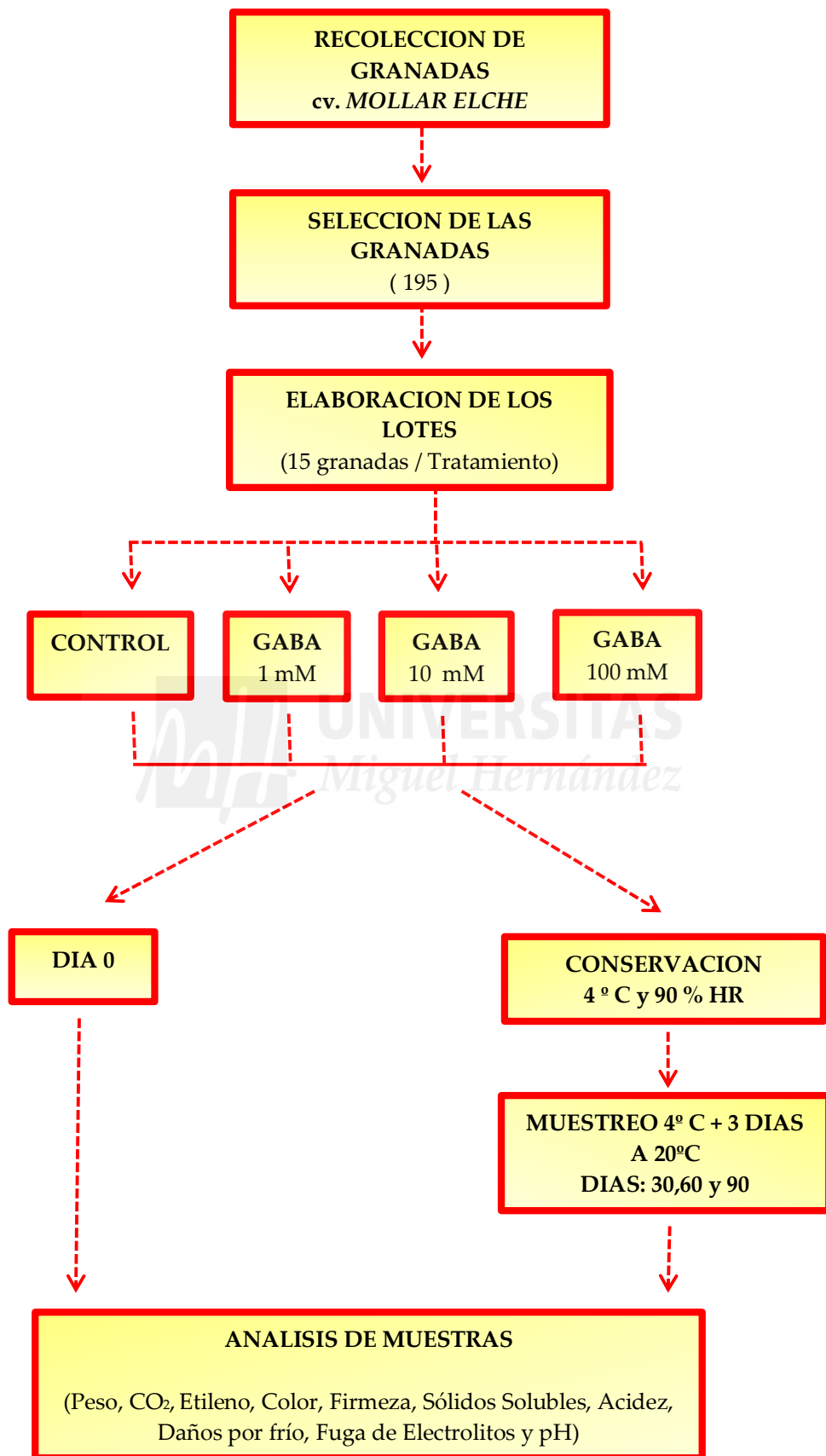


Diagrama 1. Diseño experimental en las granadas de la variedad "Mollar de Elche "

3.3 Determinaciones analíticas

3.3.1 Pérdida de peso

En cada uno de los días de muestreo se pesaron los lotes correspondientes, expresados en gramos (g). La determinación del peso se hizo mediante una balanza Radwag con dos cifras decimales de precisión $\pm 0,01$.

Las granadas de cada lote fueron pesadas de forma individual y los resultados representan la media \pm ES.



Fotografía 10. Balanza Radwag

3.3.2 Determinación del CO₂

Durante el proceso de la respiración, los tejidos vegetales consumen O₂ y liberan CO₂ ya que el metabolismo del fruto está conectado con la actividad de respiración. La medida de la respiración se refiere tanto a la producción de CO₂ como al consumo de O₂. En cambio, se mide la producción del CO₂ por ser más sencillo. La medida de la actividad respiratoria se puede realizar por un sistema estático o cerrado o por un sistema dinámico o abierto, en nuestro caso, se escogió el sistema estático.

Se empleó el sistema propuesto por Kader (1992). Con este sistema se pretende encerrar el producto en un recipiente herméticamente cerrado durante un período de tiempo. El gas producido como consecuencia de la respiración de la fruta se va acumulando en el interior del recipiente.

La cantidad del gas producido puede determinarse conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente y la concentración del gas después de un determinado tiempo.

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

Donde:

V = volumen del recipiente (ml)

P = peso de la muestra (g)

Área (CO₂) = área obtenida en el cromatógrafo

T = tiempo que permanece cerrado el recipiente (min)

Para poder determinar las concentraciones de etileno y CO₂ en el sistema estático o abierto, se introdujeron las granadas según su lote en cubos de plástico de cuatro litros de capacidad con cierre hermético, la que la tapadera el cubo tenía una válvula de material elastómero que permitía incorporar el gas con el uso de unas jeringuillas.

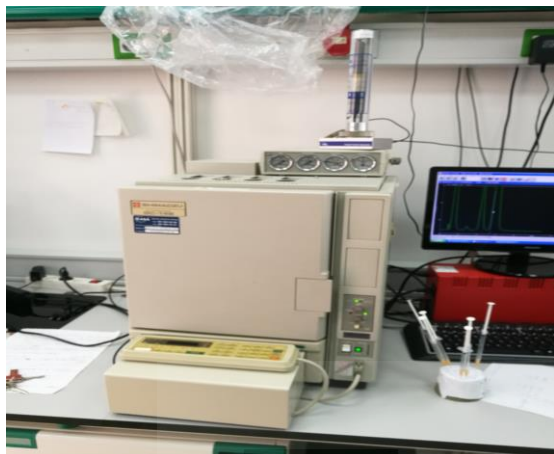
Las granadas permanecían en estos recipientes cerradas durante una hora. Transcurrido ese periodo de tiempo, se extraía el aire del espacio de cabeza interior del recipiente. Además, de obtenerse un volumen de 1 ml de cada una de las jeringuillas, en cada recipiente.

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

- ✓ Temperatura del horno → 50 ° C
- ✓ Temperatura del inyector → 115 ° C
- ✓ Flujo del gas portador (Helio) → 16 ml/mm
- ✓ Patrón empleado → aire atmosférico (0,036 %)

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

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



Fotografía 11. Cromatógrafo de gases

3.3.3 Evaluación del color

El color se determinó empleando el sistema Hunter Lab (L * , a * , b *) mediante un colorímetro triestímulo Konica Minolta modelo CR400. Se realizaron tres medidas del color para cada fruto en tres puntos equidistantes de la zona ecuatorial.

Este sistema de medida es el más 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.

Los tres parámetros son los siguientes:

✚ L* → Indica la luminosidad de la fruta y varía de 0 (negro) a 100 (blanco)

- ✚ a^* b^* → Indican conjuntamente la cromaticidad, a^* representa el eje que va desde colores verdes ($-a^*$) hasta colores rojos ($+a^*$); b^* representa el eje que va desde el color azul ($-b^*$) hasta el color amarillo ($+b^*$)



Fotografía 12. *Calibrador colorímetro*



Fotografía 13. *Calibrador colorímetro*

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 en ángulo de Hue ($H^* = \arctan b^*/a^*$).

3.3.4 Determinación de la firmeza

Para la determinación de la firmeza del fruto entero se empleó un texturómetro que está conectado a un ordenador que permite procesar los datos.

Con esta prueba se pretende deformar el producto con respecto a su diámetro ecuatorial. Para ello, se utilizó un disco plano de acero montado sobre un texturómetro como en de la *fotografía 12*.

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



Fotografía 14. *Texturómetro para medir la firmeza de las granadas*

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 poder exprimirlos con la ayuda de un mortero. De esta manera, se extrajo el zumo y se realizó dos medidas de cada cinco granadas.

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



Fotografía 15. Refractómetro

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 después de exprimir los arilos de la granada y se disolvió en 25 ml de agua destilada. Para poder realizar este análisis, se empleó un valorador automático Metrohm, modelo 785DMP Tritino, complementado con un cambiador de veinticuatro posiciones modelo 760 y con una impresora modelo DP40-24 N. Así se obtuvo el pH inicial y se consiguió realizar la valoración hasta un pH final de 8,1 con Na OH 0,1 N.

Los resultados se expresaron en mg equivalentes del ácido orgánico mayoritario.

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

Donde:

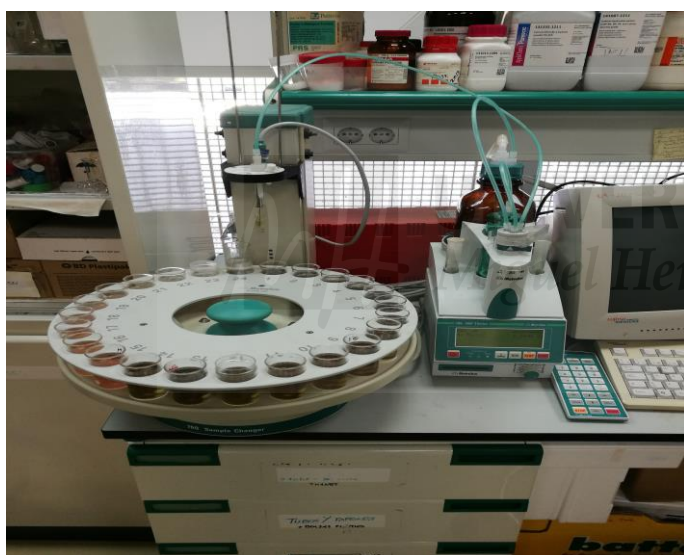
N = Normalidad del Na OH

V₁ = Volumen de Na OH 0,1 N. En valoración

F = Factor del Na OH

P = Peso de la muestra (g)

El resultado final se expresó en : media ± ES



Fotografía 16. *Valorador automático Methrom, para calcular la acidez y el pH*

3.3.7 Evaluación de los daños por frío

La determinación de la susceptibilidad de la granada al sufrir daños por frío se realizó por:

- ✓ Una evaluación sensorial del exterior de la granada.
- ✓ Una evaluación de la medida de la fuga de electrolitos en la piel de la granada.

La evaluación sensorial se realizó individualmente con cada uno de los frutos mediante una escala hedónica de cinco puntos que refleja el porcentaje de la superficie del fruto afectado por los síntomas de los daños por frío:

- 0 (Sin síntomas)
- 1 (1-25 %)
- 2 (26-50 %)
- 3 (51-75%)
- 4 (Síntomas de daño por frío en la superficie del fruto mayores del 75%)

Los resultados se expresaron como media de la valoración de quince frutas siguiendo la siguiente fórmula:

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

La evaluación de la fuga de electrolitos se determinó mediante el método descrito por Mirdehghan et al., (2007) con ligeras modificaciones. En primer lugar, se extrajeron 16 discos de piel de las granadas, que conforman cada réplica, utilizando un perforador metálico de 10,6 mm de diámetro. Estos discos se dejaron incubar en 25 mL de agua destilada durante 3 horas en botes herméticos de cristal. Una vez pasado este tiempo de incubación se midió la conductividad de las muestras en el medio acuoso mediante un conductivímetro Crison.

Más tarde, 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:

$$\rightarrow (\text{Conductividad inicial} / \text{conductividad final}) \times 100$$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Pérdidas de peso (%)

Las frutas y verduras tras su recolección continúan los procesos de transpiración, siendo un proceso físico por el cual el agua, en estado de vapor, atraviesa los estomas y la epidermis provocándose la pérdida del peso del fruto (Valero y Serrano 2010).

La pérdida del agua aparece como una reducción del peso del producto, afectando de esta manera a otras propiedades del fruto como : la reducción de la turgencia y un aspecto deshidratado, lo que produce una mayor susceptibilidad al ataque de microorganismos.

De esta manera se puede decir, que el control de la velocidad de la transpiración juega un papel muy importante ya que influye de forma inversa en la vida útil del producto. Esta velocidad se ve influenciada por varios factores externos como: la temperatura o la humedad relativa, presentando una relación inversa.

En cuanto a las pérdidas de peso, en nuestra variedad '*Mollar de Elche*' en granada. Pudimos comprobar como durante el almacenamiento refrigerado se dio un incremento de las pérdidas de peso que sufrieron las granada durante el almacenamiento. Sin embargo, existieron diferencias entre los tratamientos ya que los frutos controles mostraron pérdidas de peso más acusadas con respecto al resto de tratamientos. Alcanzando tras noventa días de almacenamiento a 4°C + 3 días a 20°C valores de $24,68 \pm 3,24$

El uso de ácido γ -aminobutírico provoca un efecto negativo sobre la transpiración del fruto, ya que aumenta. Manifestándose una mayor pérdida de peso, pudiéndose comprobar en la (*Figura 1*).

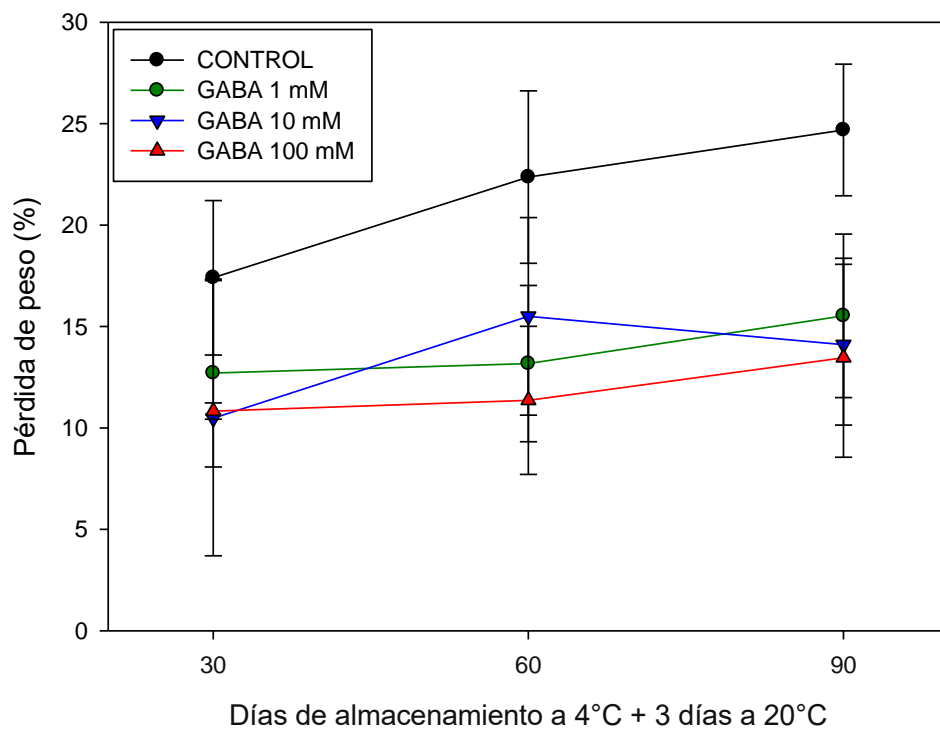


Figura 1. Evolución de las pérdidas de peso (%) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

4.2 Respiración ($\text{mg Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$)

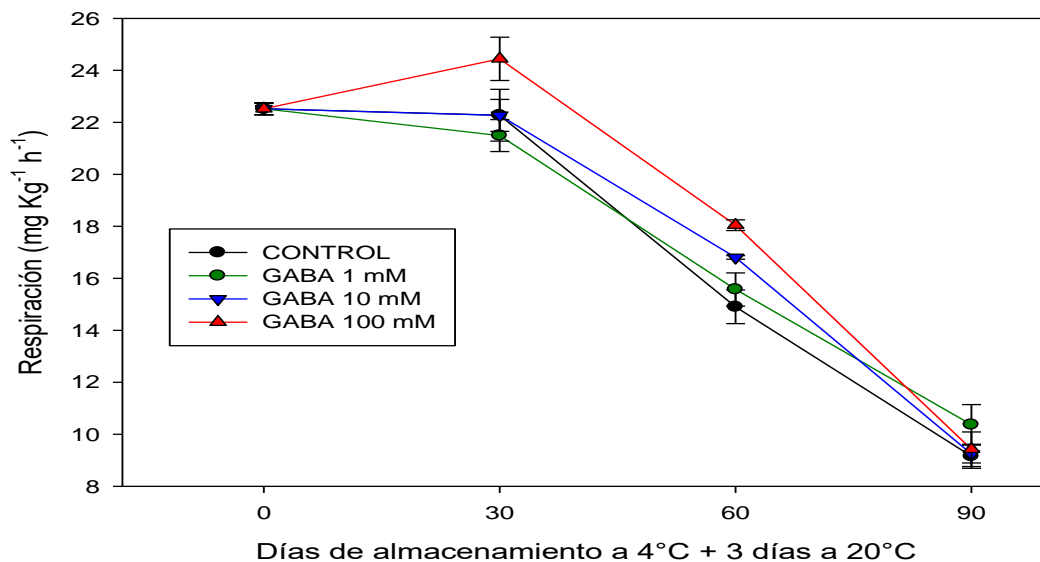


Figura 2. Evolución de la respiración en ($\text{mg Kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Las frutas y hortalizas respiran tras su recolección, a pesar de que la actividad fotosintética se interrumpa. Con el fin de obtener energía, los azúcares provenientes de la degradación del almidón se oxidan, formándose H_2O y CO_2 . La respiración consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, cuya velocidad está relacionada con la temperatura. Por lo que un aumento de la temperatura del fruto generado por las reacciones necesarias para la respiración, estimula el proceso de respiración. Siendo un modo difícil para controlar la temperatura del fruto (Barba-Teodoro, 2015).

Para el caso de las granadas, al tratarse de un fruto no climatérico, tras su recolección, no se produce aumento en la tasa de respiración ni en la producción de etileno durante el proceso de maduración y se considera que la maduración del fruto es independiente del etileno (Giovannoni, 2001).

Tras evaluar el parámetro de la respiración del fruto se observó un descenso acentuado en este parámetro tras el periodo de almacenamiento refrigerado y tres días más a 20 °C durante todo el estudio realizado.

El tratamiento que presenta una menor respiración es el control, a lo largo de todo el proceso, mostrando en el día cero unos niveles con $22,52 \pm 0,22$ de $\text{mg Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ hasta finalizar el tratamiento el día 90 con valores de $9,15 \pm 0,46$ $\text{mg Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre los diferentes tratamiento de GABA a distintas dosis y controles. Cabe destacar, que el tratamiento aplicado con una dosis de GABA 100 mM, mostró un incremento significativo con respecto a los demás tratamientos.

Al finalizar el tratamiento los niveles de respiración oscilaban alrededor de $10 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ sin diferencias entre los tratamientos tras 90 días de almacenamiento a $4^{\circ} \text{C} + 3$ días a 20°C .

En estudios previos se ha podido observar que el ácido γ -aminobutírico actúa reduciendo la tasa de respiración, lo que se puede relacionar con una disminución de la actividad metabólica de las células durante el desarrollo del fruto en la planta, y esto puede presentar relación con una reducción del proceso de senescencia durante el almacenamiento (Huang et al., 2013).



4.3 Firmeza ($N\ mm^{-1}$)

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

La textura de las frutas y hortalizas sufren una serie de transformaciones desde que el fruto se encuentra presente en la planta hasta que llega el momento de la recogida y el almacenamiento en post-cosecha. Estos cambios en la textura son debidos a la actividad hidrolítica de enzimas que se encargan de degradar pectinas, celulosas y hemicelulosas de la pared celular (Paniagua et al., 2014).

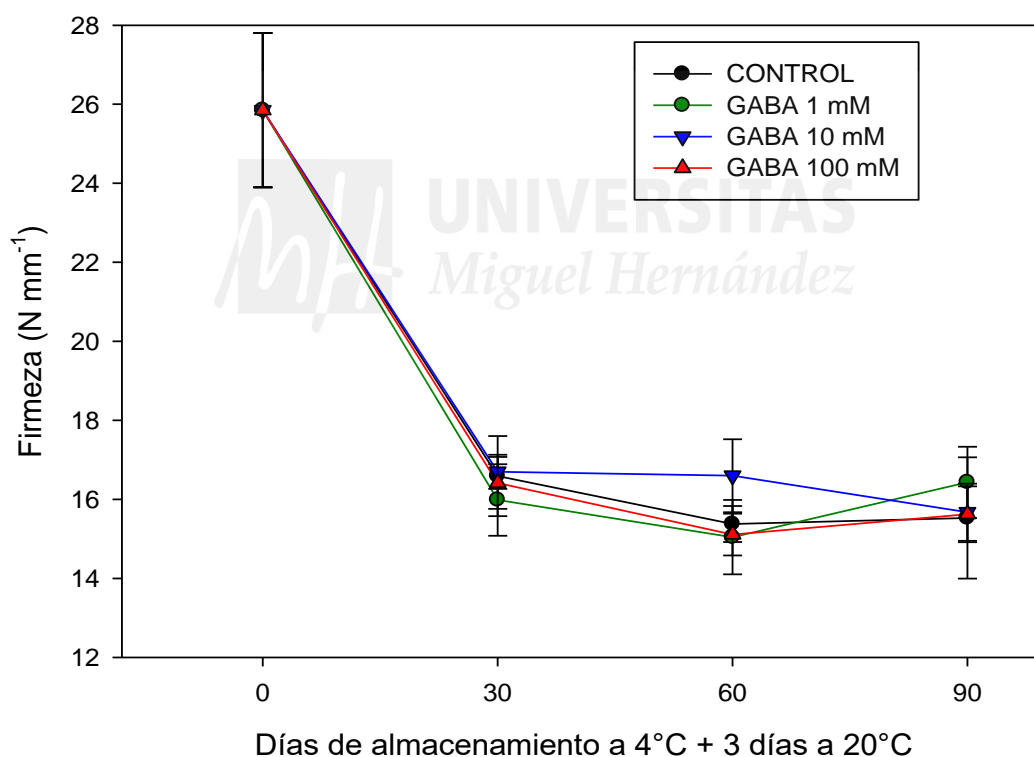


Figura 3. Evolución de la firmeza ($N\ mm^{-1}$) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Tras evaluar el parámetro de firmeza expresado en $N\ mm^{-1}$ en la *figura 3*, pudimos comprobar como era de esperar que durante el almacenamiento este parámetro disminuyó a lo largo de los muestreos, en este caso, no encontramos

diferencias significativas entre los tratamientos ya que todos los lotes tuvieron un comportamiento similar. Por tanto, el tratamiento con GABA no tuvo ningún efecto negativo característico de estos frutos.

Aghdam et al., (2019) constataron que los tratamientos con GABA son capaces de reducir la pérdida de firmeza mediante una menor actividad de enzimas involucradas en la degradación de la pared celular como son los poligacturonasas y pectin-metilesteras.



4.4 Color L*

Cuando estudiamos la evolución del parámetro L*, pudimos comprobar un descenso del parámetro en la *figura 4*, a medida que aumentaban los días de almacenamiento refrigerado.

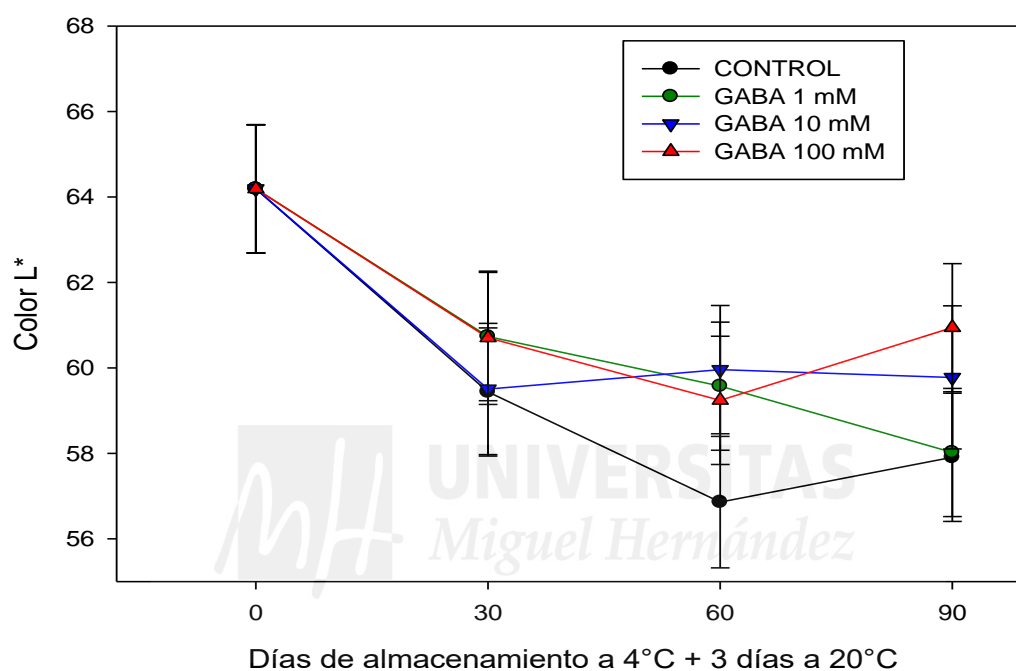


Figura 4. Evolución del color (L*) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C

Cuando estudiamos la evolución del parámetro L* pudimos comprobar como a lo largo del almacenamiento refrigerado, los frutos tratados con GABA mostraron valores ligeramente superiores con respecto a los frutos controles, sin embargo, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. De hecho, al finalizar el almacenamiento refrigerado a 4°C y tres días a 20°C se comprobó que no existían diferencias significativas con respecto a los diferentes tratamientos y controles, alcanzándose una luminosidad o color L*, valores próximos a 60, al finalizar el estudio, sin llegar a observarse un efecto dosis-dependiente en este parámetro.

Según una serie de autores han descrito que a medida que el color de la piel se oscurece, la vida en post-cosecha disminuye (Crisosto et al., 2007). Además diversos autores han descrito que la pérdida de color L* puede deberse

a las pérdidas de peso que se producen en los frutos durante el almacenamiento en post-cosecha (Martínez-Romero et al., 2006).



4.5 Color a*

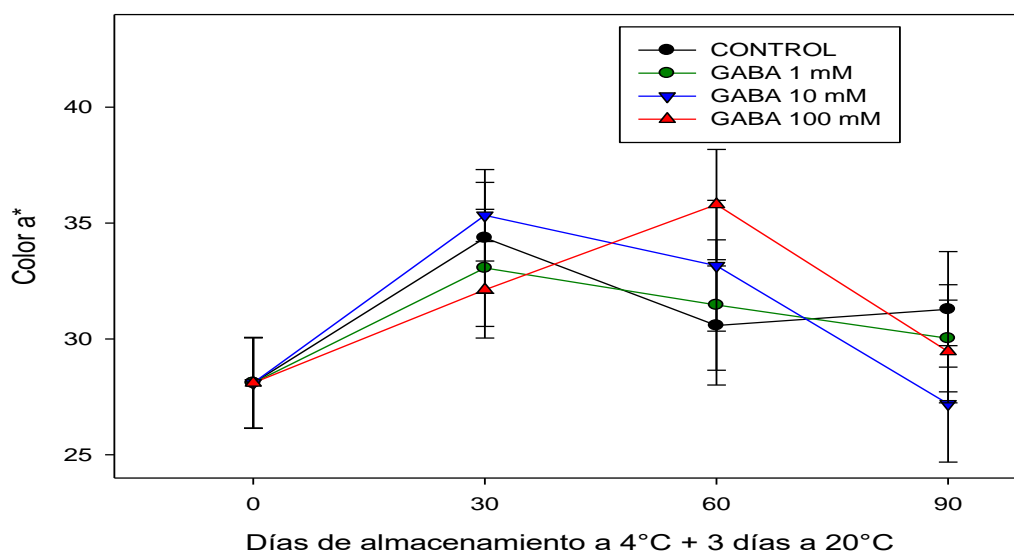


Figura 5. Evolución del color (a^*) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Cuando se determinó la evolución del parámetro a^* que permite evaluar tonalidades de colores verde-rojo, presentando valores negativos el color verde y valores positivos el rojo. En concreto, resulta de interés que este parámetro tenga un valor positivo, puesto que corresponde al color rojo.

Con respecto a este parámetro, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de GABA y controles. Sin embargo sí se observó un ligero retraso en el desarrollo del parámetro a^* en aquellos frutos en los que aplicamos la mayor de las dosis (GABA 100mM). Observándose valores de parámetro $a^* \approx 30$ después de noventa días de almacenamiento a 4°C más tres días a 20°C

4.6 Color Hue*

Con respecto al parámetro Hue*, este representa la arcotangente del parámetro b* partido del parámetro a*, definiendo la tonalidad del producto.

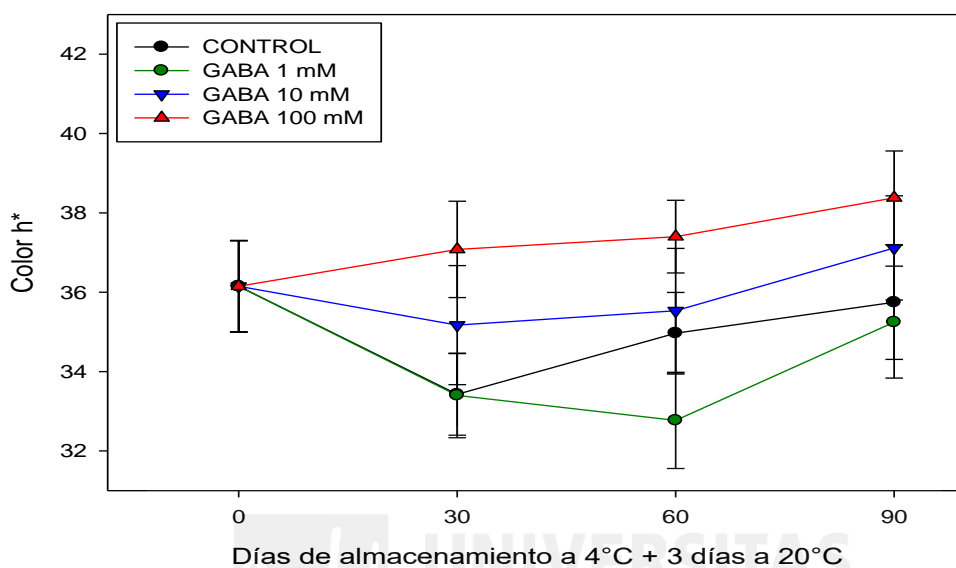


Figura 6. Evolución del color hue*(tonalidad de los frutos) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C

Respecto a este parámetro, los mayores niveles mostrados sobre la tonalidad de los frutos aparecen en las muestras tratadas con GABA 100 mM con valores de $38,37 \pm 1,18$ mostrando valores similares que aquellos obtenidos tras aplicar la dosis de GABA 10 mM. Sin embargo, estos valores fueron superiores con respecto a los obtenidos en los lotes tratados con GABA 1 mM y controles alcanzando valores ≈ 35 transcurridos los 90 días de almacenamiento refrigerado.

4.7 Color b*

Para el color b*, se determinó la evolución del parámetro b* que permite evaluar tonalidades de colores amarillo-azul, presentando valores negativos el color azul y valores positivos el amarillo.

Con respecto a la evolución del color b* como se observa en la *figura 7*, pudimos comprobar cómo se dio un aumento del parámetro a medida que aumentaron los días de almacenamiento en refrigeración.

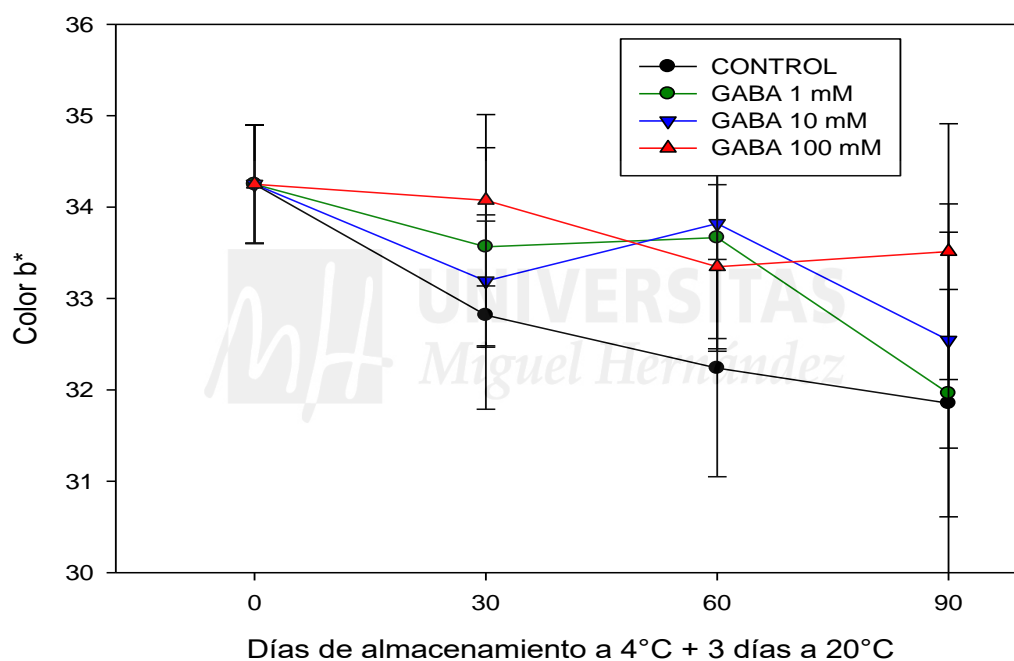


Figura 7. Evolución del parámetro b* en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Con respecto al color b*, no se aprecian diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de GABA y controles aunque los valores obtenidos tras aplicar las distintas dosis de GABA incrementaron el parámetro b*. Estos valores mayores se mantuvieron a lo largo del experimento hasta la finalización del almacenamiento refrigerado más tres días a 20°C.

4.8 Color Cromo*

Para la evolución del parámetro como se observa en la *figura 8*, pudimos comprobar cómo se dio descenso del color croma* a medida que aumentaron los días de almacenamiento en refrigeración.

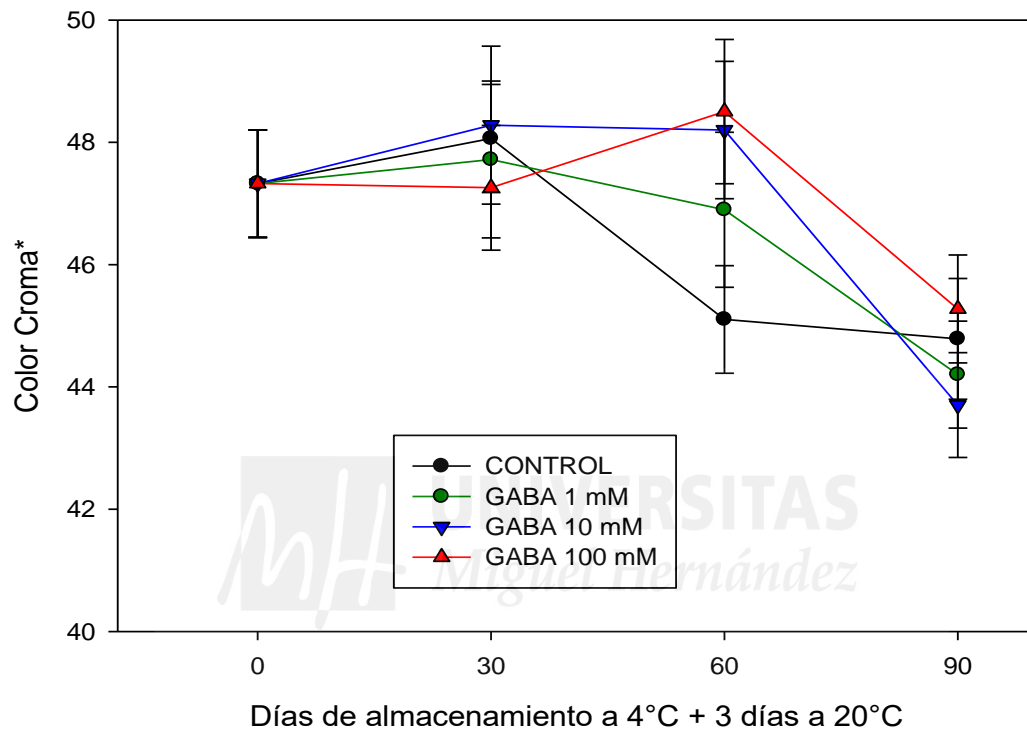


Figura 8. Evolución del color croma* en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Con respecto al parámetro del color cromático, al comenzar el ensayo se observa el mismo valor de $47,32 \pm 0,87$ para los diferentes tratamientos tanto GABA como controles sin diferencias significativas, transcurridos los noventa días se observó valores próximos a 42.

4.9 Sólidos Solubles Totales ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$)

Con respecto a la evolución de los sólidos soluble como se observa en la *figura 9*, pudimos comprobar cómo se dio un aumento de este parámetro a medida que aumentaron los días de almacenamiento en refrigeración.

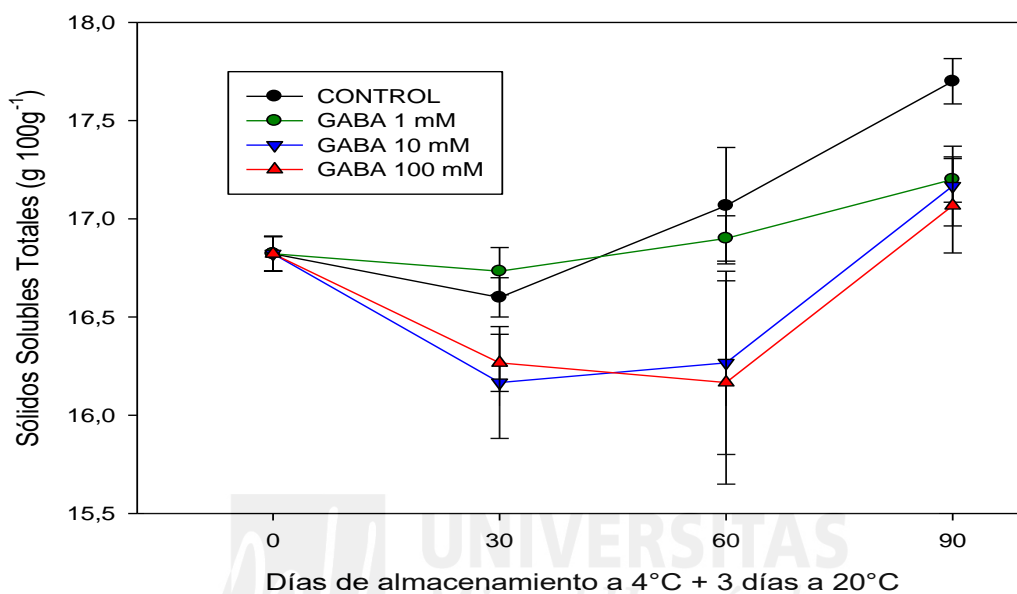


Figura 9. Evolución de los sólidos solubles totales ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Al estudiar la evolución de los sólidos solubles totales expresados en ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) no se observaron diferencias significativas al comienzo del experimento. Sin embargo a lo largo de todo el proceso de almacenamiento posterior y hasta la finalización del estudio, se observó como las dosis mayores de GABA fueron eficaces a la hora de reducir significativamente la acumulación de sólidos solubles totales con respecto a los frutos controles. De hecho al final del experimento los frutos tratados con GABA mostraron alrededor de medio grado Brix menos que los frutos controles.

4.10 Acidez Titulable (%)

Con respecto a la evolución del parámetro como se observa en la *figura 10*, pudimos comprobar cómo se dio un descenso de la acidez titulable a medida que aumentaron los días de almacenamiento en refrigeración.

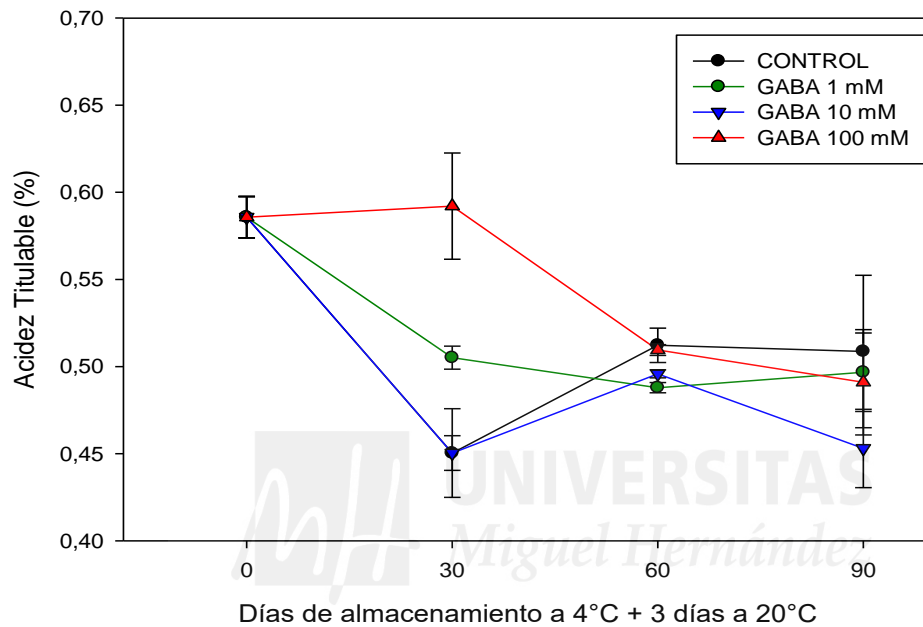


Figura 10. Evolución de la acidez titulable (%) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C

Tras estudiar la evolución de la acidez (%) en los frutos sujetos a estudio, pudimos comprobar como algunos de los tratamientos con GABA fueron capaces de retrasar la pérdida de acidez de las granadas durante el almacenamiento. Concretamente la dosis de GABA 100 mM, fue la que mostró un mayor retraso en la pérdida de acidez en las granadas muestreadas. Sin embargo al final del almacenamiento estas diferencias desaparecieron sin observarse diferencias significativas.

4.11 Fuga de Electrolitos (%)

Cuando estudiamos la evolución del parámetro, pudimos comprobar un aumento de lo la fuga de electrolitos a medida que aumentaban los días de almacenamiento refrigerado.

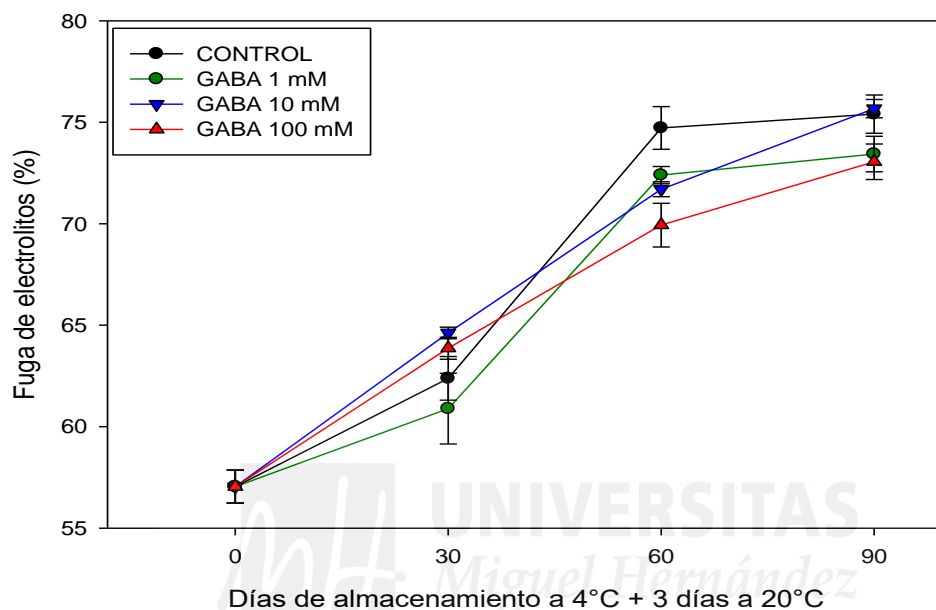


Figura 11. Evolución de la fuga de electrolitos (%) en las granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C

Con respecto a la fuga de electrolitos (%), pese a que no se observaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de GABA y controles al comienzo del experimento, conforme se alargó el mismo pudimos comprobar como los tratamientos con GABA fueron eficaces a la hora de reducir la fuga de electrolitos en todos los tratamientos tras 60 días de almacenamiento en frío más 3 días a 20°C. De hecho estas diferencias se mantuvieron para la mayor y menor de las dosis aplicadas hasta el final del experimento.

Según una serie de estudios, se comprobó que la aplicación de GABA es capaz de reducir el impacto del daño por frío a través de un mantenimiento de la integridad de las membranas celulares de los frutos (Rui et al., 2010). Por lo que este parámetro junto con otros como la medida de la peroxidación de las membranas lipídicas servirían para establecer el efecto de las bajas temperaturas sobre productos sensibles a los daños por frío (Malekzadeh, et al., 2017), como es el caso de las granadas 'Mollar de Elche'.

4.12 Pitting

El pitting o picado (daño por frío) se trata de un daño mecánico que se manifiesta como una depresión en la superficie del fruto debido a la ruptura de las células parenquimáticas.

Los síntomas aparecen después de unos días a temperatura ambiente o en tiempo prolongado a bajas temperaturas (Alonso and Alique, 2006) y ha sido observado que los frutos con pitting sufren un inmediato aumento en la tasa de respiración (Wade and Bain, 1980), lo cual provocan un mayor deterioro general del fruto.

La sensibilidad de la fruta a los daños mecánicos depende de la variedad (Kappel and Toivonen, 2005), de la madurez (Kupferman and Sanderson, 2001; Candan, 2007) y de la temperatura de la fruta, al momento del impacto.

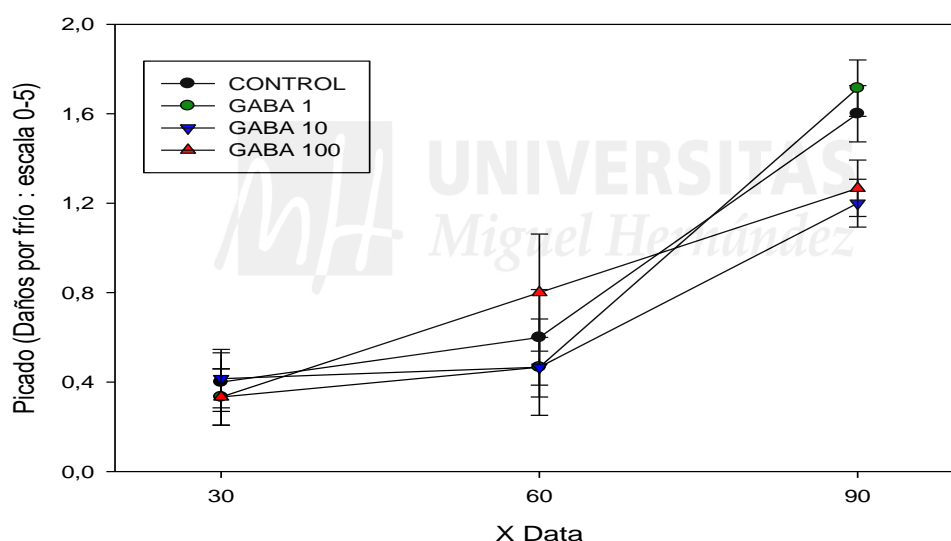


Figura 12. Evolución del picado o pitting (daños por frío: escala 0-5) en granadas tratadas con distintas dosis de GABA y controles tras el almacenamiento refrigerado y tres días más a 20°C.

Con respecto a la evolución del picado como se observa en la *figura 12*, pudimos comprobar cómo se dio un aumento de los daños por frío a medida que aumentaron los días de almacenamiento en refrigeración.

Además, aunque no se observaron diferencias significativas con respecto a los distintos tratamientos al comienzo del experimento, sí pudimos comprobar cómo hacia el final del experimento estas diferencias aparecieron. De hecho fueron los tratamientos con GABA a las dosis más altas las que fueron capaces

de reducir el picado o pitting de los frutos ya que se obtuvieron valores de este parámetro de $1,20\pm 0,10$ y $1,26\pm 0,12$ para las granadas tratadas con GABA 10 y 100 mM respectivamente mientras que en el caso de los frutos controles fueron de $1,60\pm 0,12$ observándose la eficacia de los tratamientos a altas dosis a la hora de controlar este desorden fisiológico.



5. CONCLUSIONES

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

Los tratamientos con GABA 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 aunque no se observaron 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 sí se observaron mejores resultados aplicando las dosis mayores.

Por tanto, los tratamientos realizados con ácido γ -aminobutírico y 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 '*Mollar de Elche*' durante su conservación en post-cosecha.

MH UNIVERSIDAD Miguel Hernández

6. BIBLIOGRAFIA

- Abbott, J.A.** 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* **15**: 207-225.
- Aghdam, M.S., Kakavand, F., Rabiei, V., Zaare-Nahandi, F., Razavi, F.** 2019. γ -Aminobutyric acid and nitric oxide treatments preserve sensory and nutritional quality of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by delaying softening and enhancing phenols accumulation. *Scientia Horticulturae*. **246**: 812-817.
- Akbarpour, V., Hemmati, K., Sharifani M.** 2009. Physical and chemical properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit in maturation stage. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* **6 (4)** : 411-416.
- Allan, W.L., Simpson J.P., Clark, S.M. Shelp, B.J.** 2008. γ -Hydroxybutyrate accumulation in Arabidopsis and tobacco plants is a general response to abiotic stress: putative regulation by redox balance and glyoxylate reductase isoforms. *J Exp Bot.* **59**: 2555–2564.
- Al-Maiman, S.A., Ahmad, D.** 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chem.* **76**: 437- 441.
- Alonso, J., Alique, R.** 2006. Tratamientos de post-cosecha para mantener la calidad de las cerezas. *Vida Rural*, 223.
- Aslam, M.N., Lansky, E.P., Varani, J.** 2006. La granada como fuente cosmecéutica: las fracciones de la granada promueven la proliferación y la síntesis de procolágeno e inhiben la producción de la metaloproteinasa de matriz 1 en células de la piel humana . *J Ethnopharmacol* **103**: 311 – 318.
- 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. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**: 1062-1076.
- Barba-Teodoro, A.** 2015. Nuevas tecnologías poscosecha para la conservación en fresco de la alcachofa Blanca de Tudela. Trabajo Fin de Carrera.

Bchir, B., Besbes, S., Karoui, R., Paquot, M., Attia, H., Blecker, C. (2010a). Osmotic dehydration kinetics of pomegranate seeds using date juice as an immersion solution base. *Food and Bioprocess Technology*. **5**(3): 999-1009.

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

Blanpied, G.D. & Wilde, M.H. 1968. A study of the cells in the outer flesh of developing 'McIntosh' apple fruit. *Bot. Gaz.* **129**: 173- 183.

Bor M, Seckin B, Ozgur R, Yılmaz O, Ozdemir F., Turkan I. 2009. Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Acta Physiol Plant.* **31**: 655–659.

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

Çam, M., HiSil, Y., Durmaz, G. 2009. Clasificación de ocho jugos de granada según la capacidad antioxidante medida por cuatro métodos. *Food Chem* **112** : 721 – 6.

Celik, I., Temur, A., Isik, I. 2009. Función hepatoprotectora y capacidad antioxidante de la infusión de flores de granada (*Punica granatum*) contra ratas expuestas al ácido tricloroacético. *Food Chem Toxicol* **47**(1): 145 – 149.

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

Cushnie, T.P., Lamb, A. J. 2011. Avances recientes en la comprensión de las propiedades antibacterianas de los flavonoides. En t. *J. Antimicrob. Agentes*. **38**: 99 – 107.

Cutler, G.J., Nettleton, J.A., Harnack, L.J., Jacobs, D.R., Scrafford, C.G., Barraji, L.M., Mink, P.J., Robien K. 2008. Ingesta de flavonoides en la dieta y riesgo de cancer en mujeres posmenopáusicas. Estudio de la salud de la mujer. *Iowa. en t. J. Cancer*. **123**: 664 – 671.

- 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.
- Davidson, MH., Maki, KC., Dicklin, MR., Feinstein, SB., Witchger, M.S., Bell, M., McGuire, DK., Provos, J.C., Liker, H., Aviram, M. 2009.** Efectos del consumo de jugo de granada sobre el grosor de la íntima y media carotídea en hombres y mujeres con riesgo moderado de enfermedad coronaria. *Ame J Cardiol* **104** (7): 936 – 942.
- Di Silvestro, R.A., Di Silvestro, D.J., Di Silvestro., DJ. 2009.** Efectos de enjuague bucal de extracto de granada en las medidas de saliva relevantes para el riesgo de gingivitis. *Phytother Res.* **23** (8) : 1123 – 1127.
- Duman, A.D., Ozgen, M., Dayisoylu, K.S., Erbil, N., Durgac, C. 2009.** Actividad antimicrobiana de seis variedades de granada (*Punica granatum* L.) y su relación con algunas de sus características pomológicas y de fitonutrientes. *Moléculas* **14** : 1808 – 1817.
- Dutta, B.K., Rahman, I. Das, T.K. 1998.** Antifungal activity of Indian plat extracts. *Mycoses.* **41**: 535-536.
- El-Nemr, S.E., Ismail, I.A., Ragab, M. 2006.** Composición química del zumo y semillas de granada. *Die Nahrung.* **34** (7): 601 – 6.
- Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J., García-Viguera, C. 2000.** Antocyaninbased natural colorants: a new source of antiradical activity for foodsuff. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 1588-92.
- Fadavi, A., Barzegar, M., Azizi, HM. 2006.** Determinación de ácidos grasos y contenido total de lípidos en semillas oleaginosas de 25 variedades de granadas cultivadas en Irán. *J Food Comp Anal.* **19** : 676 - 80.
- 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.
- Forest, C.P., Padma-Nathan, H., Liker, H.R. 2007.** Eficacia y seguridad del jugo de granada en la mejora de la disfunción eréctil en pacientes varones con

disfunción eréctil leve a moderada: un estudio aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego cruzado. *Int J Impot Res* **19** (6): 564 – 567.

García-Viguera, C., Pérez Vicente, A. 2004. La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. *Alim., nutri.Salud.* **11**: 113-120.

Gharzouli, K., Khenouf, 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 etanol-induced gastric damage in rats. *Phytotherapy research.* **13** (1) : 42-45.

Gil, M.I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., Kader, A., A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **48**: 4581-4589.

Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, 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**: 4581-4589.

Gillaspy, G., Ben-David, H. y Gruissem, W. 1993. Fruits a developmental perspective. *Plant Cell.* **5**: 1439-1451.

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

Graham, S.A., Crisci, J.V., Hoch, P.C. 1993. Cladistic analysis of the Lythraceae sensu lato base don morphological characters. *Bot. J. Linn. Sol.* **113**: 1-33.

Graham, S.A., Hall, J., Sytsma, K., Shi, S. 2005. Phylogenetic analysis of the Lythraceae base don four gene regions and morphology. *Int. J. Plant Sci.* **166**: 995-1017.

Griggs, W.H., Iwakiri, B.T. 1956. A comparison of methodes in obtaining growth curves of bartlett pears. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **67**: 91-94.

Haidari, M., Ali, M., Casscells, S.W., Madjid, M. 2009. El extracto de polifenol purificado de granada (*Punica granatum*) inhibe el virus de la influenza y tiene un efecto sinérgico con el oseltamivir. *Phytomed.* **16** (12): 1127-1136.

- Hamad, A.W., Al-Momené, W. 2009.** Separación y purificación de ácido elágico crudo de pulpa blanca de frutos de granada como un potente anticancerígeno . *Nuevo Biotechnol.* **25** (1) : 286.
- Ho, L.C. 1996.** The mechanism of assimilate partitioning and carbohydrate compartmentation in fruit in relation to the quality and yield of tomato. *J.Expt.* **47**: 1239-1243.
- Huang, H., Jing, G., Guo, L., Zhang, D., Yang, B., Duan, X., Ashraf, M. y Jiang, Y. 2013.** Effect of oxalic acid on ripening attributes of banana fruit during storage. *Postharvest Biol. Technol.* **84**: 22–27.
- Janská A, Maršík, P., Zelenková, S., Ovesná, J. 2010.** Cold stress and acclimation—what is important for metabolic adjustment? *Plant Biol.* **12**: 395–405.
- Johanningsmeier, S.D., Harris, G.K., 2011.** Pomegranate as a functional food and nutraceutical source. *Annual review of food science and technology.* **2**: 181-200.
- Johnson L.A.S., Briggs, B.G. 1984.** Myrtales and Myrtaceae: a phylogenetic analysis. *Ann. Mo. Bot. Gard.* **71**: 700- 756.
- Kaplan, F., Kopka, J., Haskell, D.W., Zhao, W., Schiller, K.C., Gatzke, N., Sung, D.Y., Guy, C.L. 2004.** Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis*. *Plant physiol.* **136**: 4159–4168.
- Kappel, F., Toivonen, P. 2005.** Resistance of advanced sweet cherry selections and cultivars to fruit surface pitting. *Acta Hort.* **667**: 515-522.
- Kays, S.J., 1999.** Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biol. Technol.* **15**: 233-247.
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen A., Hakulinen, T., Aromaa, A. 2002.** Ingesta de flavonoides y riesgo de enfermedades crónicas. *A.m. J. Clin. Nutr.* **76** : 560- 568.
- Koehne, E. 1881.** Lythraceae monographice describuntur. *Bot. Jahrb. Syst.* **1**: 142-157.
- Lansky, E.P., Newman, R.A. 2007.** *Punica granatum* (granada) y su potencial para la prevención y el tratamiento de la inflamación y el cáncer. *J etnofarmacol* **109** : 177 - 206 .

- Lee, C.J., Chen, L.G., Liang, W.L., Wanga, C.C. 2010. Efectos antiinflamatorios de *Punica granatum* Linne *in vitro* e *in vivo*. *Food Chem* **118**: 315 – 322.
- 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 communication*. **11**: (371) : 799- 803.
- Magein, H. 1989. Growth and abscission dynamics of 'Cox's Orange Pippin' and 'Golden Delicious' apple fruits. *J. Hort. Sci.* **64**: 265-273.
- Malekzadeh, P., Khosravi-Nejad, F., Hatamnia, A., Sheikhabari- Mehr, R. 2017. Impact of postharvest exogenous γ -aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. **23** (4): 827–836.
- Martínez-Romero, D., Alburquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: a new edible coating. *Postharvest Biol. Technol.* **39**: 93-100.
- Mazzucotelli, E., Tartari, A., Cattivelli, L., Forlani, G. 2006. Metabolism of γ -aminobutyric acid during cold acclimation and freezing and its relationship to frost tolerance in barley and wheat. *J Exp Bot.* **57**: 3755–3766.
- Melgarejo, P., Calín-Sánchez, A., Vázquez-Araújo, L., Hernández, F., Martínez, J.J., Carbonell-Barrachina, A.A. 2010. Analysis of volatile composition of pomegranates from nine Spanish cultivars using solid phase microextraction. *J. Food Sci.* en revision.
- Melgarejo, P. 1993. Selección y tipificación varietal de granado. Tesis doctoral. *Agrónomos de Valencia* (Universidad Politécnica de Valencia). 617 pp.
- Melgarejo, P., Salazar, D. M., & Artés, F. 2000. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *European Food Research and Technology*. **211**: 185–190.
- 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 temperatura by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biol. Technol.* **44**: 26-33.
- Opara, L.U. 2000. Fruit growth measurment and analysis. *Hort. Rev.* **24**: 373-431.

Pagliarulo, C., De Vito, V., Picariello, G., Colicchio, R., Pastore, G., Salvatore, P., 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. & 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.

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

Reid, M.S. 2002. Maturation and maturity indices. *Postharvest technology of horticultural crops*. **3**: 55-62.

Renault H, El Amrani, A., Palanivelu, R., Updegraff, E.P., Yu, A., Renou, J.P., Preuss, D., Bouchereau, A., Deleu, C. 2011. GABA accumulation causes cell elongation defects and a decrease in expression of genes encoding secreted and cell wall-related proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*. **52**: 894–908.

Rosenblat, M., Draganov, D., Watson, C.E., Bisgaier, C.L., La Du., B.N., & Aviram, M. 2003. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology*. **1** (23) : 468-474.

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

Sams, C.E. 1999. *Postharvest Biology and Technology*. **15**: 249-254.

Sánchez-Monge, E. 1974. *Fitogenética (mejora de plantas)*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias-Ministerio de Agricultura. Madrid. 456 pp.

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

Schreiner, M., Korn, M., Stenger, M., Holzgreve, L., Altmann, M. 2013. Comprensión actual y uso de las características de calidad de los productos de horticultura. *Sci. Hortic*. **163**: 63-69.

Seifi, H.S., Van Bockhaven, J., Angenon, G., Höfte, M. 2013. Glutamate metabolism in plant disease and defense: friend or foe? *Mol Plant Microbe Interact.* **26:** 475–485.

Sharma, P., Jha, AB., Dubey, RS., Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J Bot.* 217037.

Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Morthy, V., Ramassamy, C. 2008. Desafíos para la investigación sobre los polifenoles de los alimentos en la enfermedad de Alzheimer: biodisponibilidad, metabolismo y mecanismo celular y molecular . *J Agric Food Chem.* **56 :** 4855 – 4873.

Steward, F., Thompson, J., Dent, C. 1949. γ -Aminobutyric acid: a constituent of the potato tuber. *Science.* **110:** 439–440.

Syed, D.N., Afaq, F., Mukhtar, H. 2007. Productos derivados de la granada para la quimiopreención del cáncer . *Sem Cancer Biol.* **17 :** 377 – 85.

Thorne, R.F. 1992. Classification and geography of the flowering plants. *Bot. Rev.* **58:** 225-348.

Thresiamma, K.C., Kuttan, R. 1996. Inhibition of liver fibrosis by ellagic acid. *Indian journal of physiology and pharmacology.* **40:** 363- 366.

Türk, G., Sönmez, M., Aydın, M., Yüce, A., Gür, S., Yüksel, M., Aksu, E.H., Aksoy, H. 2008. Efectos del consumo de jugo de granada sobre la calidad del esperma, la densidad de células espermatozóidas, la actividad antioxidante y el nivel de testosterona en ratas macho . *Clin Nut* **27 (2):** 289 - 296 .

Valero, D., y Serrano, M. 2010. Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality, CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton, FL, USA.

Vijayakumari, K., Puthur, J.T. 2016. γ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Regul.* **78:** 57–67.

Wade, N. L., Bain., J. M. 1980. Physiological and anatomical studies of surface pitting of sweet cherry fruit in relation to bruising, chemical treatments and storage conditions. *Journal of Horticultural Science.* **55 (4):** 375-384.

Watanabe, M., Maemura, K., Kanbara, K., Tamayama, T., Hayasaki, H. 2002. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int Rev Cytol.* **213**: 1–47.

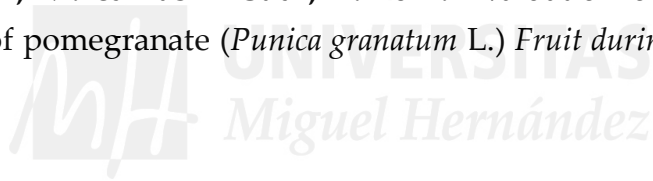
Westwood, N.H. 1982. Fruticultura de zonas templadas. Ediciones *Mundi Prensa*. Madrid. 461 pp.

Worrel, D.B., Carrington., C.M.S., y Huber., D.J.H. 1998. Growth, maturation and ripening of breadfruit (*Artocarpus altilis*).*Scient. Hort.* **79**: 17-28.

Xing, S.G., Jun, YB., Hau, Z.W., Liang, LY. 2007. Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiol Biochem.* **45**: 560–566.

Yuan, Z., Fang, Y., Zhang, T., Fei, Z., Han, F., Liu, C. 2018. El genoma de la granada (*Punica granatum* L.) proporciona información sobre la calidad de la fruta y la biología del desarrollo del óvulo. *Plant Biotechnology Journal.***16** (7) : 1363 – 1374.

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.



6.1 PÁGINAS CONSULTADAS

- ❖ <https://www.vitalgrana.com/blog/diferencias-entre-distintos-tipos-de-granada.html>. Consultada en Junio 2019.
- ❖ www.cambayas.com. Consultada en Junio 2019.
- ❖ <https://cultivodelgranado.es/elgranado/variedades/>.
- ❖ www.bedca.net. Consulta en Junio de 2019.
- ❖ www.mapama.gob.es. Consultada en Junio de 2019
- ❖ www.inta.gov.ar/altovalle/actividad/investigacion/poscosecha/carozo. Consultada en Junio de 2019.