Documentos Poscosecha

# El Granado

## I Jornadas nacionales sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud


**Editores:**
Pablo Melgarejo Moreno
Francisca Hernández García
Pilar Legua Murcia

**Departamento de Producción Vegetal y Microbiología**

UNIVERSITAS Miguel Hernández de Elche

Una Universidad pública con excelencia acreditada.


**Patrocinadores:**

GENERALITAT VALENCIANA
CONSELLERIA D'AGRICULTURA, PESCA I ALIMENTACIÓ

agroalimed
FUNDACIÓN DE LA COMUNIDAD VALENCIANA PARA LA INVESTIGACIÓN AGROALIMENTARIA

GREEFA

BONNYSA
agroalimentaria


Publicado por SPE3, S.L. (Valencia) España - www.poscosecha.com
info@poscosecha.com

# Índice


07 Conferencia general: el granado, su problemática y usos
**Dr. Pablo Melgarejo Moreno**

29 Material vegetal y técnicas de cultivo
**Martínez, J.J. y Hernández, Fca.**

43 Fertirrigación del granado
**Miguel Giménez Montesinos**

51 Certificación GlobalGAP
**María García García**

59 Equipamiento y automatización de la programación del riego localizado
**Domingo, R., Puerto, P., García, M., De la Rosa, J.Mª., Torres, R. y Pérez-Pastor, A.**

69 Proyecto integral del granado: resultados en fertirrigación
**J. Bartual, F. Pomares, L. Bonet, E. Nicolás, P. Ferrer, J.J. Alarcón, B. Perez, L. Palou y D.S. Intrigliolo**

79 Compatibilidad floral de cuatro clones de granado
**J.J. Martínez, P. Melgarejo, Fca. Hernández, R. Martínez-Font y P. Legua**

81 Uso del kaolin para disminuir el albardado en granadas
**P. Melgarejo, Fca. Hernández, J.J. Martínez, R. Martínez-Font y P. Legua**

83 Producción y caracterización morfológica de los frutos de tres clones de granado
**J.J. Martínez, P. Melgarejo, R. Martínez-Font, P. Legua y Fca. Hernández**

85 Comercialización de granos refrigerados en envases
**Rafael Alberola Robles**

93 Problemática en la comercialización de productos derivados de la granada
**Eduardo Vidal**

101 Marcas de calidad. El proyecto Granatium Center
**D. Manuel Esclapez Román**

109 Necesidad de creación de una calidad diferenciada para la granada
**Jose Vicente Guillem Ruiz**

113 La Granada: maduración y post-recolección
**María Serrano**

125 Conservación frigorífica prolongada de dos variedades de granada recolectadas muy tardíamente
**Artés, F., Melgarejo, P. y Caballer, J.**

133 Enfermedades de poscosecha de la granada en la zona de Elche
**Lluís Palou**

143 Innovaciones en los tratamientos postrecolección de granada
**Daniel Valero**

153 Uso de la visión artificial en la estimación automática de la calidad de los arilos de granada
**José Blasco y Sergio Cubero**

161 El tratamiento con ácido oxálico mantiene la calidad visual y el potencial antioxidante durante la conservación de la granada
**Zapata, P.J., Guillén, F., Sayyari, M., Díaz-Mula, H.M., Valero, D. y Serrano, M.**

163 Los tratamientos térmicos reducen la severidad de los daños por frío durante la conservación de la granada
**Martínez-Romero, D., Mirdehghan, S.H., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Serrano, M. y Valero, D.**

# Índice

165 Efecto de los tratamientos com metil salicilato y metil jasmonato en la incidencia de los daños por frío y en el contenido de compuestos antioxidantes de la granada
**Guillén, F., Castillo, S., Sayyari, M., Serrano, M. y Valero, D.**

167 La aplicación de poliaminas mantiene la calidad durante la conservación a temperaturas que causan daños por frío
**Castillo, S., Martínez-Romero, D., Mirdehghan, S.H., Valero, D. y Serrano, M.**

169 Calidad sensorial de la granada y los productos derivados
**Á.A. Carbonell-Barrachina, A. Calín-Sánchez, F. Burló, K. Koppel, L. Vázquez-Araújo y E. Chambers IV**

179 Efecto de distintos tipos de ciclodextrinas en la vitamina C, capacidad antioxidante y análisis sensoriales en una nueva bebida de mandarina, granada y zumo de goyi
**Patricia Navarro, Tamara San Nicolás, María T. Mercader-Ros, Ángel A. Carbonell-Barrachina y Antonio José Pérez-López**

189 Fabricación de confituras de granada
**Melgarejo, P. y Legua, P.**

197 El grupo de calidad y seguridad alimentaria y la granada
**A. Calín, A. Ramírez, P. Jurado, F. Burló, M.J. Frutos, F. Martínez-Sánchez y Á.A. Carbonell-Barrachina**

199 Perfil aromático de zumos de granada procedentes de los Estados Unidos: diferencias entre zumo recién exprimido y zumos comerciales
**L. Vázquez-Araújo, K. Koppel, E. Chambers IV, K. Adhikari y Á.A. Carbonell-Barrachina**

201 Características físico-químicas y sensoriales de zumos de granada con diferentes porcentajes de extracto de corteza
**L. Vázquez-Araújo, E. Chambers IV, K. Adhikari y Á.A. Carbonell-Barrachina**

202 Gran&Go!
**Domingo Saura, Nuria Martí, Patricia Melgarejo, Pablo Melgarejo y Miguel A. Sánchez**

205 Granada y salud: aspectos farmacológicos y terapéuticos de la granada
**Francisco A. Tomás-Barberán**

215 La granada y el sistema nervioso
**Pedro Mena Parreño y Cristina García Viguera**

227 Propiedades antiinflamatorias de la granada en un modelo de colitis ulcerosa
**Mar Larrosa, Antonio González-Sarrías, María J. Yáñez-Gascón, María V. Selma, María Azorín-Ortuño, Mayte García-Conesa, Francisco Tomás-Barberán y Juan Carlos Espín**

239 Utilidad del zumo de granada en oncologia, urologia y andrologia
**Gilberto E. Chéchile Toniolo**

249 **Patrocinado por:**
Greefa

# Índice

**1.** Resumen ..... 7
**2.** Abstract ..... 7
**3.** Origen, botánica y biodiversidad ..... 8
**4.** Importancia económica ..... 9
**5.** El material vegetal y las técnicas de cultivo ..... 15
**6.** Industrialización y obtención de productos alimentarios ..... 18
**7.** Bibliografía ..... 25
**8**. Sobre el autor ..... 27

# Conferencia general: el granado, su problemática y usos

**Dr. Pablo Melgarejo Moreno**
pablo.melgarejo@umh.es
Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Escuela Politécnica Superior de Orihuela
Universidad Miguel Hernández de Elche. Ctra. de Beniel Km 3,2. 03312 Orihuela (Alicante).

## 1. Resumen

El granado es conocido desde muy antiguo, su cultivo se ha realizado tradicionalmente en la zona de Oriente próximo, extendiéndose por el resto de Asia y el Mediterráneo. Actualmente, ya extendido por los cinco continentes, presenta unas excepcionales expectativas de cultivo debido a su rentabilidad y a la posibilidad de cultivo en zonas áridas y con menores requerimientos hídricos que otros cultivos, siendo capaz de vegetar y producir en condiciones en las que otros frutales más importantes no lo harían de manera rentable. El conocimiento del material vegetal y la selección de nuevos individuos capaces de dar abundantes cosechas y frutos de calidad, unido al descubrimiento de sus numerosas propiedades alimenticias, farmacológicas, funcionales y cosméticas, ha hecho que este frutal sea cada día más demandado por los consumidores, lo que está provocando, junto a todo lo expuesto anteriormente,un incremento muy considerable de las plantaciones de la especie en todos los países en los que es posible su cultivo.

**Palabras clave**: granado, *Punica granatum*, comercialización, producción, industrialización.

## 2. Abstract

Pomegranate is an ancient fruit tree species traditionally cultivated in the Near and Middle East, Southern Asia and the Mediterranean Basin. In recent years pomegranate has seen a great expansion in several countries, especially those with a Mediterranean-like climate, where fruit of excellent quality can be obtained. The possibilities for its expansion in arid and semi-arid zones and marginal soils of the world are enormous, especially where sa-

linity and water scarcity are limiting factors for other tree crops. Because of market demand, it has become increasingly important to characterise the different varieties and clones to obtain a high quality product with economical interest. Since pomegranate consumption is driven by both fresh market and processing industry, it is crucial to acknowledge all fruit characteristics to not only classify varieties from a botanical point of view, but also to meet current market demand for quality fruits. There is a growing interest in this fruit not only because it is pleasant to eat, but also because it is considered to be a functional product of great benefit in the human diet, as it contains several groups of substances that are useful in disease prevention and cosmetics.

**Keywords:** pomegranate tree, Punica granatum, production, industrial processing, marketing.

## 3. Origen, botánica y biodiversidad

### 3.1. Origen

El granado es un frutal cuyo cultivo se conoce desde la antigüedad, es uno de los frutales bíblicos, como la vid, el olivo o la palmera (también citado en el Corán). El científico ruso 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, cerezo, almendro, avellano, castaño, etc., entre otras especies vegetales (Sánchez-Monge, 1974). Su cultivo se extendió desde esta zona al resto de países del área mediterránea, India y China. Los españoles lo llevaron a América, y aquí está adquiriendo gran importancia, especialmente durante los últimos 15 años, con crecimientos continuos de la superficie cultivada.

### 3.2. Botánica

El granado, *Punica granatum* L pertenece a la familia *Punicaceae*, que sólo posee el género *Punica* L. (Font Quer, 1959). De este género las dos especies más conocidas son:

*Punica granatum* L.: granado cultivado por sus frutos.

*Punica nana* L.: granado enano, de uso ornamental y frutos no comestibles. En ocasiones esta especie es considerada una variedad de *P. granatum*, denominándose como *P. granatum* var. nana L.

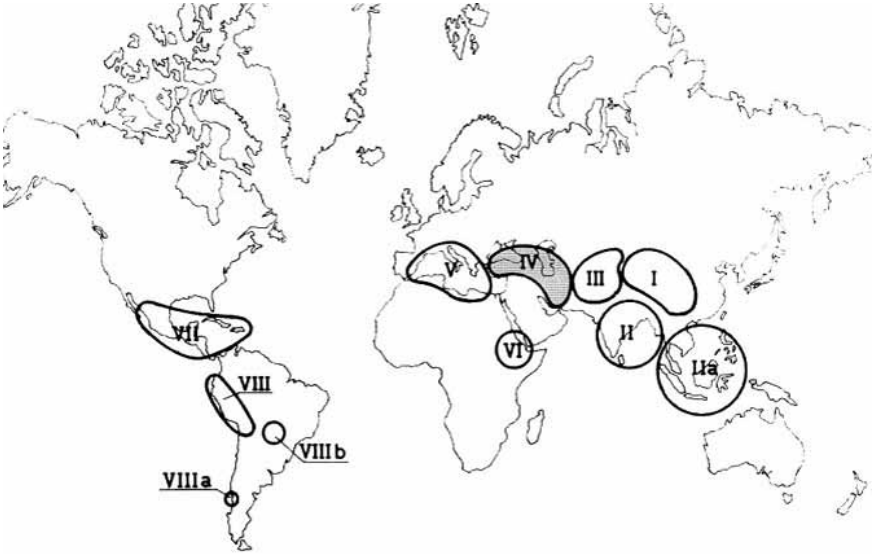
Otros autores (Zukvskij, 1950; Moriguchi *et al*., 1987; Guarino *et al*., 1990) indican que el género *Punica* incluye dos especies: *P. protopunica* (endémico en la isla de Socotra (Yemen) *y P. granatum* (Mars, 1998), presumiéndose que la primera está implicada en el origen del granado cultivado (*P. granatum* L.).

*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).

### 4.3. Biodiversidad

El granado es un frutal cultivado desde la antigüedad y, como se ha indicado su Centro de Origen se encuentra en Oriente Próximo (Centro IV de Vavilov) (Fig. 1). Desde aquí se

**Figura 1:**
Centros de origen y diversidad de las plantas cultivadas, según Vavilov.




*Fuente: Sánchez-Monge (1974).*

difundió a diferentes zonas donde se cultiva y en las que existe gran diversidad genética como consecuencia de su propagación por semillas, que germinan con gran facilidad o son difundidas por aves y otros animales.

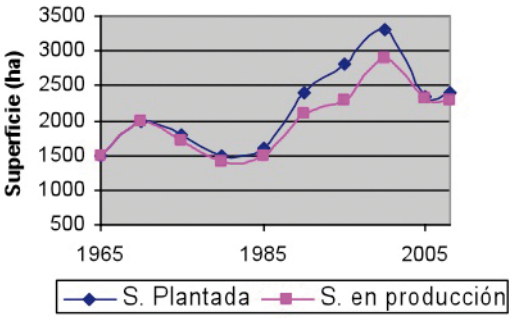
La gran diversidad que presenta la especie queda patente por el gran número de variedades descritas en los diferentes países de Oriente, área mediterránea y occidente. Así en España se dispone del principal banco de germoplasma de Europa con más de 104 accesiones, y en otros países como India, Turkmenistán, Irán, etc. también existen grandes colecciones, como la existente en Irán (principal productor mundial) con más de 760 accesiones o en Turkmenistán, cuya Estación Experimental de Recursos Genéticos de Plantas, creada en 1934, cuenta con 1117 accesiones (Mars, 1988).

## 4. Importancia económica

### 4.1. Importancia del cultivo en España

España es el principal país productor de granadas de Europa y el mayor exportador de este continente. La producción española, 23.169 t (MMARM, 2009) se concentra fundamentalmente en la provincia de Alicante (90%). En Alicante a su vez este cultivo se concentra principalmente en tres municipios, Elche, Albatera y Crevillente, por orden de importancia, lo que pone de manifiesto su importancia socio-económica en éstos.

**Gráfico 1:**
Evolución de la superficie nacional plantada y en producción (1965-2008).




*Fuente: MAPA (1999); MMARM (2009).*

Durante los años noventa el granado alcanzó su mayor superficie de cultivo en España como consecuencia de su rentabilidad, sobre todo teniendo en cuenta que se desarrolla de manera rentable en zonas donde difícilmente podrían competir con él otros frutales cultivados en el Levante español. Este frutal es capaz de tolerar suelos y aguas salinas, suelos con mal drenaje y presentar al mismo tiempo una extraordinaria resistencia a la sequía. Sin embargo, estas características no deben llevarnos a confusión, pues en realidad el cultivo del granado presenta una problemática específica que debe ser considerada para obtener frutos de calidad y cosechas abundantes.

### 4.2. Evolución del cultivo en España

El granado, comparado con otros frutales, no ha sufrido incrementos notables en los últimos decenios, registrándose periodos en los que incluso se han producido descensos de la superficie dedicada a su cultivo. En el Gráfico 1 siguiente puede observarse tanto la evolución de la superficie total en plantación regular como la superficie en producción. A partir de 1970 se produce una separación entre las curvas de superficie plantada y superficie en producción, cifrándose en unas 100 ha en 1975. Entre 1970 y 1980 la superficie plantada se reduce desde 2.000 a 1.500 ha. A partir de 1980 se produce un gran crecimiento, alcanzándose el máximo histórico de 3.300 ha en el año 2000 y en 2008 la superficie plantada asciende a 2.885 ha (MAPA (1999); MMARM (2009). Gráfico 1.

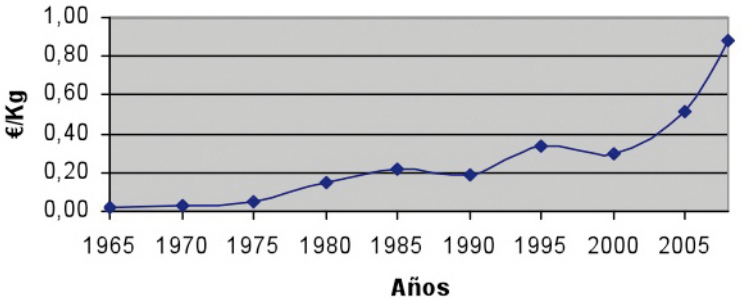
Este crecimiento se debe, fundamentalmente, a la progresiva evolución del precio obtenido por el agricultor, como podemos apreciar en el Gráfico 2:

Los agricultores asociados en cooperativas de comercialización o en Sociedades Agrarias de Transformación suelen percibir unos 0,06-0,10 € más por kilogramo, con independencia de la variedad cultivada.

Respecto a los precios percibidos por los agricultores (Gráfica 2), debe tenerse en cuenta que:

a) El precio indicado corresponde a medias aritméticas y no al valor medio ponderado.

**Gráfico 2:**
Precio medio pericibido por los agricultores (€/Kg) en el periodo 1965-2008.




*Fuente: MAPA (1999);.MMARM (2009).*

b) Ni en el Gráfico expuesta, ni en otras fuentes se diferencian precios por variedades.

La producción media nacional de la superficie en producción: 10.600 Kg/ha (MMARM, 2009), muy baja, aunque existen plantaciones cuyo potencial productivo alcanza las 30.000 t/ha.

En España los principales grupos varietales son Mollar y Valenciana y, en los últimos años también se ha introducido la variedad Wonderful, que es una de las variedades más cultivadas y conocidas en el mundo, si no se consideran las numerosas variedades cultivadas en Irán o India.

En 2008, el precio medio percibido por los agricultores españoles por sus granadas fue de 0,88 €/Kg (MMARM, 2009). El valor de la producción española de granadas se expone en el Gráfico 3.

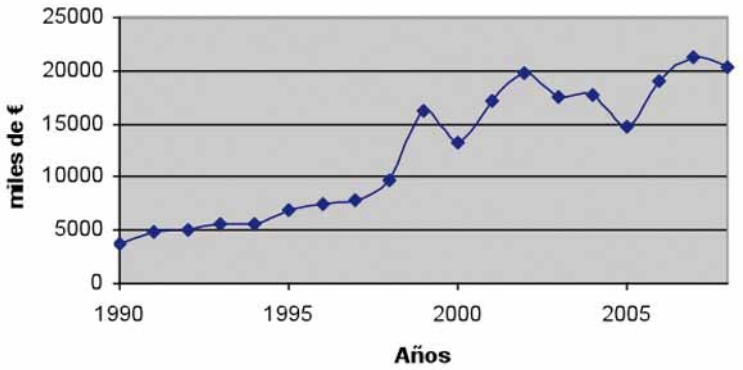
El valor del producto en los mercados mayoristas pude duplicar fácilmente la cantidad percibida por los agricultores.

### 4.3. Evolución de la producción y de la comercialización española

En cuanto a la evolución de los mercados nacionales de granada destacan los correspondientes a las dos grandes ciudades españolas, Mercamadrid en Madrid y Mercabarna en Barcelona; la cantidad vendida en el mercado interior es inferior al 45% del total comercializado, siendo mayoritario el porcentaje destinado a la exportación (Melgarejo y Salazar, 2003).

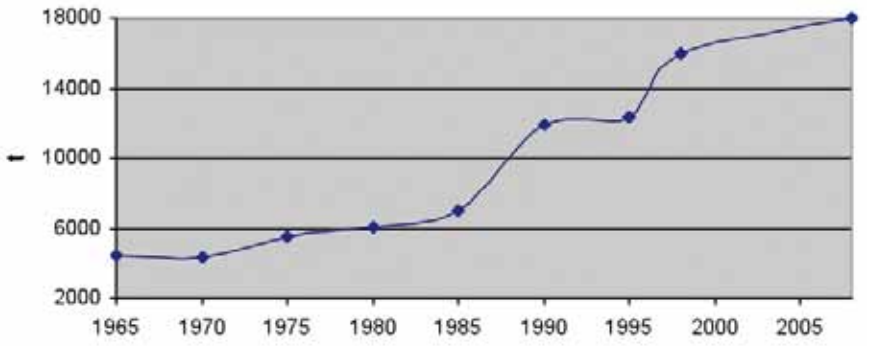
Las cifras de exportación correspondientes a 2009, dadas por el ICEX (2010) en su página web no parecen coincidir con las exportaciones reales, por ello se ha hecho una encuesta entre algunas empresas exportadoras de granadas, encontrando que sólo 13 de ellas exportaron 16.916 t en 2009, por lo que conociendo que existen otras empresas exportadoras en la provincia de Alicante y Murcia, se estima que la exportación en 2009 debió superar las 18.000 t. Con los datos existentes hasta 1998 y los estimados para 2009 se ha elaborado el Gráfico que estima la evolución de las exportaciones de granadas españolas y que se expone en el Gráfico 4.

**Gráfico 3:**
Valor (miles E) en el periodo 1990-2008.




*Fuente: MMARM, 2009.*

**Gráfico 4:**
Exportación de granadas en periodo 1965-2009 (t).




*Fuente: Melgarejo y Salazar (2003); 2009*: Estimación propia.*

### 4.4. Exportación e importación de granadas

Como puede apreciarse en el gráfico anterior, la exportación de granadas ha experimentado un gran incremento desde 1965 hasta el 2009 (datos de encuesta realizada en 2010), pasando de 4.500 hasta 18.000 t. Entre los factores que han determinado el aumento de la exportación de granadas españolas, pueden citarse el incremento de la producción durante los meses de agosto y septiembre y el aumento tanto de la superficie plantada como de la producción. En 1994 se exporta por primera vez en el mes de agosto, gracias al significativo incremento del cultivo de variedades tempranas, aunque algunas distan mucho del estándar de calidad que exige el consumidor. A esta diversificación contribuye también el aumento

**Gráfico 5:**
Importación de granadas en el periodo 2002-2009 (t).

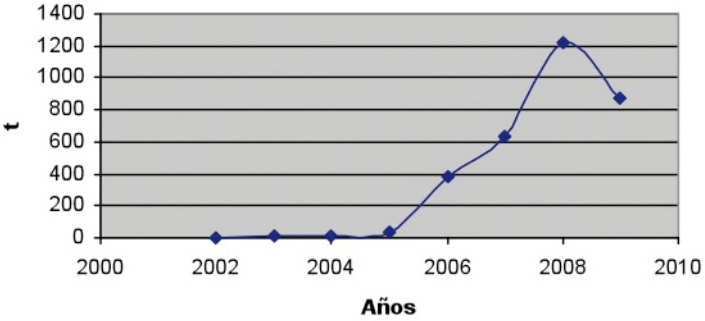
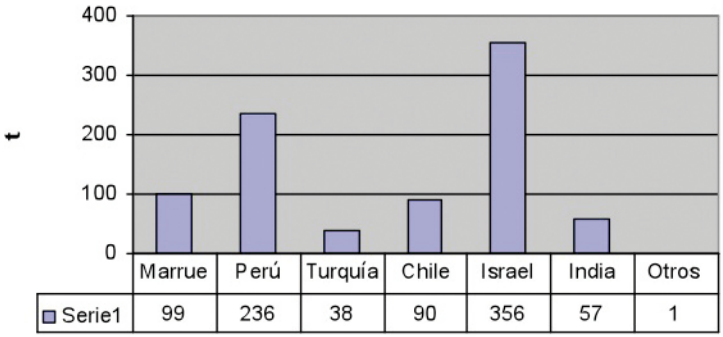



**Gráfico 6:**
Importación de granadas en 2009 (t) Total 877 t.

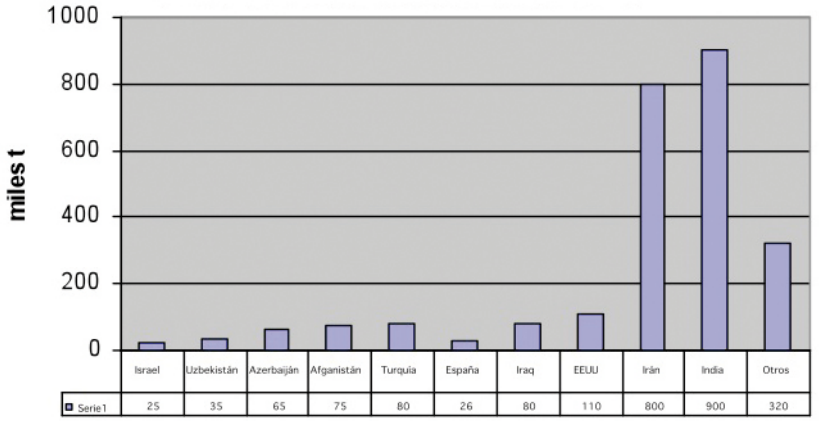



de las exportaciones en los meses de enero y febrero, como consecuencia de la mejor aplicación de las técnicas de manipulación y de conservación frigorífica.

La importación mensual de granadas en el periodo 2002-2009 (ICEX, 2010), se ha incrementado notablemente, lo que pone de manifiesto el incremento en el comercio de esta fruta, que cada vez es más apreciada por los consumidores. Por otro lado, el análisis mensual de las importaciones durante 2009 (ICEX, 2010), nos indica los países desde los que importamos esta fruta y su cuantía (Gráficos 5 y 6).

La entrada de España en la Comunidad Económica Europea en 1986, posibilitó que se aumentasen las exportaciones de granada, exportándose anualmente más del 50% de la producción nacional. España es el principal productor y exportador de granadas europeo, lo que nos diferencia claramente de los principales países productores de la Cuenca Mediterránea, Turquía y Túnez, que se diferencian de España, entre otros aspectos referentes al cultivo,

**Gráfico 7:**
Producción mundial de granadas (miles de t), en 2007.
Procucción mundial: 2516 miles de t.




por tener una red comercial menos desarrollada que la española, exportando solamente entorno al 2-7% de su producción.

### 4.5. Producción mundial de granadas

A pesar del buen momento que, en general, ha atravesado el sector en España, el aumento de la producción podría afectar negativamente al precio percibido por el agricultor, si no se adoptan medidas que favorezcan el consumo de este producto; en el año 2009 España exportó más de 18.000 t de granadas (estimación por encuesta personal), lo que supondría un porcentaje de exportación entorno al 70%, cifra muy alta si se compara con lo que ocurre en otros frutales cultivados en nuestro país. Por otro lado, muchos países se están convirtiendo en serios competidores de España en el mercado europeo y mundial, como ocurre con Irán, India o Turquía (grandes productores) o con otros de más reciente incorporación al sector (Chile, Perú, Argentina) que exportan tanto a EE.UU como a Europa. Algunos países del continente americano están creciendo muy considerablemente, especialmente EE.UU, y pronto pueden convertirse en serios competidores de España; también otros países como Sudáfrica o Australia aparecen ya en la lista de productores de granada. En California las granadas se recolectan entre agosto y mediados de noviembre (como en España). EEUU exportó a Japón (17.000 t), también exporta a Canadá, Méjico e Inglaterra, destinando el 80% de su producción a la obtención de zumo, que en 2006 alcanzó los 0,35 $/Kg, (Simonian, 2007), precio muy interesante para su procesado industrial. Otro referente en América del Sur es Chile, país en el que las exportaciones están creciendo muy rápidamente y que exporta a EEUU y a Europa; aquí la recolección se realiza entre marzo y abril.

La superficie dedicada al cultivo del granado en el mundo se estima en más de 300.000 ha, de las que más del 50% se encuentran en tres países (India, China e Irán) (Gráfico 7); sin

embargo, los países que les siguen en superficie (Turquía, EE.UU., España, Egipto e Israel), con superficies entre 16.000 y 2.400 ha, son los de mayor desarrollo en materia de exportaciones, investigación, rendimientos, desarrollo de mercado y nuevas variedades (Quiroz, 2009).

### 4.4. Perspectivas del cultivo

El gran incremento sufrido por este cultivo en los últimos años está poniendo de manifiesto la necesidad de adoptar medidas que reduzcan el riesgo que conlleva un incremento de la producción mucho más rápido que el incremento en el consumo. Este aspecto hace peligrar la economía tanto de las explotaciones agrícolas como de las empresas comercializadoras del sector. Esta situación, negativa a corto plazo, creemos que beneficiará al sector, ya que está despertando el interés de los afectados y de la Administración pública para afrontar y resolver el problema. De este interés nacen nuevas ideas y actuaciones que permitirán mantener este cultivo de manera rentable, ya sea mediante nuevas formas de comercialización del producto fresco o mediante la obtención de productos derivados, que han despertado un gran interés entre científicos y consumidores.

## 5. El material vegetal y las técnicas de cultivo

### 5.1. El material vegetal

La diversidad genotípica de la especie es muy grande, pero los estudios de selección y caracterización del material vegetal son muy recientes. El hombre siempre ha intentado, a lo largo de la historia, seleccionar los mejores individuos; la calidad del material vegetal es un problema actual que ya fue referenciado por Columela (I d.C.), quien en su libro V: "El granado y sus remedios", puso de manifiesto la problemática todavía actual sobre el rajado, la acidez y la dureza de las semillas. También Alonso de Herrera (1513) en su obra "Agricultura General" planteó la misma problemática expuesta por Columela, poniendo de manifiesto su facilidad de adaptación o todo tipo de suelos y climas, indica las ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos y clasifica las granadas en dulces, agrias y agridulces, describe algunas técnicas de cultivo, las propiedades medicinales de sus flores, a las que los médicos daban el nombre de *Balaustías* y eran conocidas en farmacia como *flores granati*, así como del zumo, la corteza y frutos. Sin embargo los estudios científicos sobre esta especie, hasta hace unos 30 años, eran realmente escasos, aunque en este último periodo se está produciendo un extraordinario interés científico por sus propiedades para afrontar muchos problemas que afectan a la salud humana

En España se distinguen tradicionalmente dos grandes grupos varietales de interés comercial, Valencianas y Mollares, aunque diferentes estudios han puesto de manifiesto la riqueza e interés varietal españolas fuera de estos grupos. El grupo Mollar es el más importante, constituido por un gran número de individuos, que se caracterizan por su gran calidad, buena productividad y época de recolección entre el 25 de septiembre y el 15 de noviembre. El grupo Valencianas, constituido también por un gran número de individuos, se caracteriza por presentar menor calidad que el grupo Mollar y por ser de recolección temprana, los ár-

*Fotografía 1. Clon VA11.*

*Fotografía 2.Frutos de Valencina.*

boles son significativamente más pequeños y la recolección se realiza entre el 5 de agosto y el 20 de septiembre.

Además de la problemática tradicional sobre la dureza de las semillas, la acidez o el rajado, que han sido superados con el uso de clones y técnicas de cultivo adecuados, el problema hoy se centra fundamentalmente en la utilización de variedades de color interno y externo rojo, de gran tamaño y especialmente en incrementar la productividad media de nuestras plantaciones, cuyo valor medio nacional no supera las 11 t/ha. En este sentido se puede enunciar que con el conocimiento actual de las técnicas de cultivo y de las nuevas selecciones de material vegetal, tanto la calidad de la fruta como la productividad pueden incrementarse notablemente.

Por otro lado, además del material autóctono cultivado en España, en los últimos años se han introducido nuevas variedades de diferente procedencia como la Wonderful (varios clones) y otras. En el mundo han sido citadas más de 500 variedades de granada, lo que da una idea de la riqueza genética existente y, por tanto, de las posibilidades para obtener nuevos individuos que satisfagan la demanda de los diferentes sectores que aprovechan esta fruta. (fotografía 1 y 2)

La variedad Wonderful, una de las más cultivadas en el mundo (EE.UU., Israel, Grecia, Chile, etc.), presenta semillas de agrias a agridulces, dependiendo de la época de la época de recolección, con piñón duro, de color rojo atractivo, es adecuada para uso industrial pero no para el consumo en fresco; su productividad suele ser de media a baja y no supera, generalmente, los 18.000 Kg/ha.

En la actualidad no sólo se pueden seleccionar variedades para su cultivo por sus cualidades organolépticas y de agradabilidad no gustativa para el consumo en fresco, sino que además hay que seleccionarlas por su aptitud para la industrialización, con fines nutricionales o para la prevención o curación de enfermedades, entre otros, como ya se hacía desde antiguo en culturas como la hindú.

El programa de obtención y selección de nuevas variedades en España, se inició en los años ochenta del pasado siglo por el Departamento de Producción Vegetal de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (UMH) y hoy ya se ha extendido a otros centros públicos y privados, por lo que pronto se podrán obtener nuevas variedades que satisfagan las necesida-

*Fotografía 3. Frutos de Mollar.*

*Fotografía 4. Frutos de PTO7.*

des del consumidor, de la industria y del productor.

En España existen nuevas variedades en experimentación, algunas de las cuales pueden superar los 40.000 Kg/ha, por lo que la producción media se podría duplicar haciendo más rentable el cultivo para el mismo nivel de inversión y de costes de producción.

(fotografía 3 y 4)

### 5.2. Las técnicas de cultivo

Los principales problemas que afectan a la especie son, en general, los derivados de la falta de selección del material vegetal existente y la escasez de equipos de investigación dedicados a su estudio, aunque en los últimos años, como consecuencia de la revalorización de esta fruta, ha crecido tanto el número de equipos dedicados a la mejora vegetal y de las técnicas de cultivo como el de investigadores interesados por las propiedades de los frutos para su uso alimentario y medicinal. Como consecuencia, la técnicas de cultivo tradicionales han mejorado en los últimos años, habiéndose obtenido importantísimos avances en algunas como la propagación y plantación, la fertirrigación, el control de las sierpes o el uso de coberturas plásticas del suelo.

Es corriente que muchos técnicos y agricultores consideren al granado como una especie marginal y de fácil manejo; sin embargo la realidad es bien distinta, y si se conoce bien el material vegetal, su destino, las técnicas de cultivo, las técnicas de conservación y manipulación y las de industrialización, se pueden obtener cosechas con un rango de recolección más amplio que el tradicional, frutas de mayor calidad, cosechas tan importantes como en otros frutales, frutos adecuados para cada uso o destino y, finalmente, una rentabilidad tan alta como en los frutales más valorados. Además, en este frutal se pueden y se deben considerar y difundir sus excepcionales características para la prevención y/o curación de enfermedades, lo que sin duda lo situará una posición muy diferente a la actual.

La problemática y actuaciones para aumentar su rentabilidad y aprovechamiento de la especie podemos resumirla en los siguientes puntos:

1º.- Es imprescindible incrementar los estudios de selección y mejora de la especie.

2º.- Debe establecerse un plan de mejora de las técnicas de cultivo que permita optimizar producción y la calidad del producto.

*Fotografía 5. Clon de Wonderful.*

*Fotografía 6. Clon C26.*

3º.- Debe alargarse el periodo de producción con objeto de escalonar la comercialización, comenzando antes y acabando después, lo que además nos permitiría competir con las granadas de otros países, evitando que se comercialicen frutos no adecuados.

4º.- Hay que aumentar el nivel tecnológico de los almacenes de manipulación y perfeccionar las técnicas de potsrecolección, conservación frigorífica y presentación del producto. La creación de empresas de dimensión suficiente facilita la necesaria implementación tecnológica y un mayor control de la oferta.

5º.- Debe incentivarse la investigación de los procesos de industrialización (productos de interés alimentario, dietéticos, farmacológicos y cosméticos) y difundir los beneficios que las diferentes partes de la granada presentan para los humanos. Todo ello permitirá no sólo el aprovechamiento de los frutos de mayor calidad, sino también de aquellos con falta de calibre o defectuosos.

6º.- Por último, resulta conveniente crear el Consejo Regulador de la Denominación de Origen de la Granada, o figura administrativa equivalente, como elemento fundamental para defender un estándar de calidad en las zonas acogidas, que sin duda redundará positivamente sobre el consumidor y sobre el productor. Para conseguirlo en febrero de 2008 la Asociación de Productores y Comercializadores de Granadas de Elche, se reunieron con este objetivo, para defender, difundir y promocionar las granadas mollares que se producen entre los términos municipales de Elche y Albatera, cuya producción nacional se concentra en estas áreas. (fotografía 5 y 6)

## 6. Industrialización y obtención de productos alimentarios

Hasta hace unos 15 años, en España, la única industria para el tratamiento de la granada era la de confección de producto fresco e incluso no se podía encontrar en los supermercados ningún zumo natural de granada; todo lo que se vendía, generalmente con el nombre de granadina, no era más que una bebida artificial obtenida con esencias que no procedían de esta fruta, aunque años atrás existió en España una pequeña producción de zumo de granada. Sin embargo en la tradición popular existen muchas recetas para su aprovechamiento, habiendo sido utilizada en la industria farmacéutica y la química, comercializándose licores de esta fruta.

En la actualidad, el principal uso de la granada es su consumo en fresco, aunque en los últimos años se ha incrementado constantemente la industrialización para la obtención de

zumos y extractos de sus diferentes partes. Su uso ornamental tiene cada día más importancia, utilizándose tanto sus frutos frescos y secos como la planta; cuando se utiliza como planta ornamental suele recurrirse a árboles adultos de *Punica granatum* L. procedentes de plantaciones antiguas, en muchos casos y, en otros, se utilizan formas enanas (*Punica granatum* var. Nana).

El árbol también se ha utilizado desde muy antiguo para obtener madera y entre las partes más utilizadas desde antiguo se citan la corteza de raíz, donde se conocen tradicionalmente 5 alcaloides (peletierina, pseudopeletierina, isopeletierina, pseudopeletierina y metil peletierina), en cantidades que varían entre el 0,5 y el 0,9%, que se encuentran también en menor cantidad en la corteza del tronco y ramas; posteriormente Tanaka *et al*. (1985) descubrieron un nuevo alcaloide llamado Punicafolin. El uso de la corteza como vermífugo ha estado muy extendido, ya que en ésta además existen taninos mezclados con los alcaloides, que de esta forma reducen la absorción intestinal. Este remedio ya era conocido en Egipto hace más de 2.000 años. Existen otros muchos remedios descritos con diferentes partes de la granada.

Además de los alcaloides, del fruto se pueden obtener diferentes productos de interés alimentario, farmacéutico o cosmético, como son: semillas completas para su consumo en fresco o preparadas de diferentes formas, zumos, jarabes, mermeladas confituras, jaleas, semillas secas, fibra alimentaria, corteza seca para preparar infusiones (como astringente o como vermífugo) y aceite de granada. Tanto las semillas como la corteza contienen diferentes productos de utilidad en la prevención de enfermedades y con propiedades de gran interés para la dieta: ácidos grasos, antocianos, taninos, pinicalaginas, ácido elágico, vitaminas, minerales, fibra bruta, azúcares, ácidos orgánicos, etc.

### 6.1. La granada como alimento funcional

Como definición sencilla de alimentos funcionales está generalizada la siguiente: “Alimentos, que se consumen como parte de una dieta normal y contienen componentes biológicamente activos, que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades”. En ellos destacan los que contienen determinados minerales, vitaminas, ácidos grasos o fibra alimenticia, los alimentos a los que se han añadido sustancias biológicamente activas, como los fitoquímicos u otros antioxidantes, y los probióticos, que tienen cultivos vivos de microorganismos beneficiosos.

Según lo expuesto y los diversos estudios realizados en los últimos 20 años, sobre la composición química de la granada y más recientemente acerca de sus efectos sobre la salud, podemos considerar a la granada como un alimento funcional.

Podemos asegurar que la granada es una baya carnosa que generalmente contiene 8 carpelos en los que se encuentran las semillas (porción comestible), representado éstas un porcentaje comprendido entre el 58 y el 75%, dependiendo de las variedades; las membranas carpelares y la corteza representan el 25-42% del peso del fruto. La porción leñosa de las semillas varía entre el 5 y el 15%. El fruto completo posee aproximadamente un 80% de agua.

Las semillas, de consistencia leñosa con testa carnosa o pulposa, de forma prismática, sin albumen, embrión recto, y cotiledones enrollados el uno con el otro, de color rosa, gra-

*Fotografía 7. Muestras de zumos para análisis.*

nate o blanco, son muy jugosas. El hecho de que habitualmente comamos las semillas completas (con la parte leñosa) constituye un aspecto diferencial importante respecto a otros frutos, en los que no comemos las semillas. Las semillas son ricas en agua, azúcares, fibra bruta, ácidos grasos poliinsaturados (dos de ellos esenciales), vitamina C, potasio y bajo en sodio y en calorías, siendo los elagitaninos y los antocianos los que le confieren propiedades antioxidantes.

A continuación se citarán algunos compuestos de gran interés, que están presentes en la granada.

**Antocianos**

Los antocianos son considerados responsables del color rojo de las granadas y de sus semillas, siendo este un atributo de calidad importante. El color rojo depende de la concentración en antocianos que éstas contengan y del tipo de antociano. En el granado se han identificado 6 antocianos como los responsables del color del zumo de la granada: delfinidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido; cianidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido y pelargonidina 3-glucósido y 3,5-diglucósido (Du *et al*.,1975). La presencia de estos compuestos fenólicos radica en su acción antioxidante (protegen frente a los radicales libres retrasando el proceso de envejecimiento de las células), aspecto muy estudiado durante los últimos años en gran cantidad de frutos, entre los que se incluye la granada. (fotografía 7)

La actividad captadora de radicales libres de estos flavonoides ha sido demostrada (Espín et al., 2000), lo que hace que un 10% de la capacidad antioxidante del zumo de granada se deba a la presencia de estos polifenoles (Gil et al., 2000). La capacidad antioxidante del zumo de granada es tres veces superior a la del vino tinto y a la del té verde (Gil et al., 2000).

Estos compuestos también pueden utilizarse como colorantes naturales, adicionándolos a otros alimentos.

**Ácidos grasos (AG)**

La importancia de los ácidos grasos insaturados en la dieta es de sobra conocida. La granada es un fruto rico en semillas, que contienen entre un 5% y un 15% de porción leño-

**Tabla 1:**
Contenido total en grasa (g/kg materia seca) y su composición en ácidos grasos.

| | ME16 | MA2 | VA1 | PTO8 | BA1 |
|---|---|---|---|---|---|
| Lipidos1 (g/kg) | 80.92±18.2 | 79.97±22.66 | 68.97±11.49 | 130.95±89.3 | 104.9±7.31 |
| (%) Palmitico (C16:0) | 3.83±0.96 | 4.08±1.25 | 3.63±0.33 | 4.30±1.66 | 2.99±0.14 |
| (%) Estearico (C18:0) | 2.38±0.89 | 1.93±0.28 | 1.6±0 | 2.62±1.05 | 1.64±0.16 |
| (%) Oleico (C18:1) (9) | 4.82±1.97 | 5.83±3.56 | 4.39±1.13 | 5.70±2.65 | 4.09±0.10 |
| (%) Oleico ( C18:1)(10) | 1.09±0.53 | 1.02±0.43 | 0.84±0.21 | 0.79±0.19 | 0.61±0.049 |
| (%) Linoléico (C18:2) | 7.74±3.63 | 8.54±5.6 | 7.3±2.07 | 7.48±3.46 | 4.98±0.13 |
| (%) Púnico2 (C18:3) | 66.76±15.4 | 75.28±11.06 | 78.5±1.96 | 75.39±11.39 | 79.29±0.077 |
| Saturados | 6.21 | 6.02 | 5.23 | 6.92 | 4.63 |
| Monoinsaturados | 5.91 | 6.85 | 5.23 | 6.49 | 4.7 |
| Diinsaturados | 7.74 | 8.54 | 7.3 | 7.48 | 4.98 |
| Triinsaturados | 66.76 | 75.28 | 78.5 | 75.39 | 79.29 |
| Insaturados | 80.41 | 90.67 | 91.03 | 89.36 | 88.97 |
| Saturados/insaturados | 0.077 | 0.066 | 0.057 | 0.077 | 0.052 |

*1: Los valores son la media de tres determinaciones durante dos campañas consecutivas (1995 y 1996). El número entre paréntesis que sigue las ácidos grasos monoinsaturados indica la posición del doble enlace.*

*2: Ácido púnico C18:3 (linolénico) con doble enlace en posición 9, 11 y 13, sin determinar la configuración geométrica.*

sa, siendo ésta rica en fibra y grasa. La diferencia entre la granada y otros frutos, respecto a los AG estriba, entre otros, en que en ésta nos comemos las semillas. La parte leñosa de estas semillas contiene grasa en cantidades que varían entre 37 y 143 g/kg de fruto (Melgarejo *et al.* 1995). Este contenido en grasa y su composición en ácidos grasos es un parámetro de calidad para el consumidor, especialmente la ratio *ácidos grasos saturados/ácidos grasos insaturados*. Resulta de gran importancia la composición en ácidos grasos esenciales (linoléico, linolénico y araquidónico) y especialmente por su contenido en ácidos grasos poliinsaturados. Éstos juegan un papel muy importante como preventivos en enfermedades cardiovasculares y en algunos otros problemas de corazón, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados reducen considerablemente los niveles de HDL-colesterol (Grande 1988; De Hoya y Mata 1989). La composición en grasa y ácidos grasos de la semilla, no sólo nos ayuda a establecer relaciones quimiotaxonómicas entre las variedades estudiadas (Sunder Rao *and* Sino, 1992 y Onyencho Hettiarachchy, 1993), sino que también tienen un gran interés alimenticio y para la prevención de algunas enfermedades. El estudio sobre la composición en grasa y en ácidos grasos de 5 variedades españolas de granada (Melgarejo *et al*., 2001), cultivadas en condiciones homogéneas (2 dulces de media estación, ME16 y MA2, una dulce temprana, VA1, una agridulce, PTO8, y una agria, BA1), dio los siguientes resultados (Tabla 1).

El ácido púnico tiene efectos anti-aterogénicos después de 4 semanas de aplicación en pacientes que recibieron 400 mg dos veces por día en comparación con los que recibieron un placebo, reduciéndose de manera estadísticamente significativa, al 95% de confianza, el HDL-C; el colesterol sérico colesterol LDL, las concentraciones de glucosa y las variables de composición corporal se mantuvieron sin cambios (Mirmiran et al., 2010).

**Tabla 2:**
Usos y propiedades del aceite de granada.

| Uso tópico | Uso interno |
|---|---|
| Regeneración epidermis | Efecto quimioprotector |
| Efecto antiinflamatorio | Reducción de tejidos liposos en el cuerpo |
| Propiedades anticancerígenas | Normalizador de metabolismo de lípidos y protección cardiovascular |

*Fuente: Sánchez, 2009.*

El Índice de Yodo de la granada se sitúa entorno a 164.

La extracción del aceite de las semillas se puede realizar mediante varios procedimientos. En la actualidad el prensado en frío en prensas de tornillo no supera más del 50-60% del contenido total, mientras la extracción mediante $CO_2$ supercrítico puede llegar al 98% del aceite de las semillas, por lo que es el método más utilizado (Sánchez, 2009). En la actualidad se comercializan varias marcas de aceite de granada, que tiene una viscosidad de 266,7 cps (la soja tiene 42,4 cps) (Sánchez, 2009), lo que lo hace muy adecuado para cosmética, por ser un aceite espeso, y sus propiedades tanto para uso tópico como interno son las que se indican en la Tabla 2.

**Fibra bruta (FB)**

Las granadas españolas presentan un contenido en FB que varía entre un 5 y un 22%, siendo de pinón blando aquellas cuyo contenido en fibra bruta es inferior al 9%. La porción comestible de esta fruta puede considerarse también como una fuente de fibra natural.

La fibra se encuentra en la porción leñosa de las semillas, por lo que las bebidas o extractos que no contengan esta parte no dispondrán de esta fracción de fibra.

**Taninos**

Son sustancias de origen vegetal y estructura polifenólica, de sabor astringente, solubles en agua, en alcohol y en acetona; por su capacidad de precipitar proteínas se usan para curtir la piel. Farmacológicamente, presentan acciones derivadas de su capacidad de formar complejos y precipitar metales, alcaloides y proteínas (Arango, 2010):

- Son astringentes y antidiarreicos, se unen y precipitan las proteínas presentes en las secreciones.
- Antimicrobianos y antifúngicos.
- Antídotos para el envenenamiento con alcaloides y metales pesados. Su toxicidad en general es baja y deriva de la posible intolerancia gástrica y estreñimiento que pueden causar.

La corteza de la granada contiene taninos hidrolizables llamados **elagitaninos**, que al ser hidrolizados en el cuerpo producen **ácido elágico**. Es una sustancia que promueve la apoptósis (muerte celular natural) de las células cancerosas sin dañar a las células normales. Se trata de un potente antioxidante y anticarcinógeno que protege a las células frente a los daños provocados por los radicales libres e inhibe las mutaciones del ADN. Otras funciones son (Sánchez, 2009): mejora la actividad capilar y fortalece sus membranas, suaviza y mejora la elasticidad de la piel, reduce la retinopatía diabética y mejora la visión, reduce la venas varicosas, ayuda a mejorar la función cerebral y combate la inflamación en la artritis.

*Fotografía 8. IV gama.*

Los **elagitaninos** pueden ser transformados en **urolatinas** (Urolathin-A), que podría ser el compuesto más activo **anti-inflamatorio** derivado de la ingestión de granada en sujetos sanos, mientras que en la inflamación del colon, los efectos podrían deberse a la fracción no metabolizada de **elagitaninos** relacionados (Larrosa *et al*., 2010).

Los taninos se encuentran en el pericarpio del fruto y también de la corteza del granado (Cortex Fructus Granati) y fueron utilizados contra las diarreas.

Actualmente se comercializan diferentes productos que se obtienen de la corteza de la granada; son extractos con propiedades funcionales que poseen punicalaginas y ácido elágico. Algunos de estos extractos se presentan con concentraciones desde el 40 al 90% de ácido elágico.

La **punicalagina** es el polifenol de mayor peso molecular conocido, que se hidroliza en ácido elágico y se metaboliza en el tracto intestinal dando urolitinas. Las punicalaginas son los compuestos que presentan mayor capacidad antioxidante o captadora de radicales libres y son responsables de aproximadamente el 50% de esta actividad en el zumo de granada, seguida de otros taninos hidrolizables (33% de la actividad total), y en menor medida se encuentra el ácido elágico (3%) (Gil *et al.*, 2000; García-Viguera *et al*., 2004)

Las principales propiedades funcionales las punicalaginas son (Sánchez, 2009):

- Poderoso efecto antioxidante.
- Anticancerígeno
- Protector del sistema cardiovascular.

La corteza también se ha usado seca para hacer extractos y como alimento para el ganado en estado fresco, habiéndose demostrado que mejora la ganancia de peso y la tasa de conversión por el efecto funcional de sus componentes activos (Sánchez, 2009).

### 6.2. Productos derivados de la granada

Entre los productos comercializados cabe citar los siguientes:

- Zumos, ampliamente comercializados en EE.UU. y tradicionalmente consumidos en muchos países.

*Fotografía 9. Confitura.*

*Fotografía 10. Cosméticos.*

- Licores.

- Granos en tarrinas (IV gama). Su producción comercial es incipiente pero con un gran futuro.

- Semillas deshidratadas. Ya se fabrican en España y constituyen una opción interesante por sus posibilidades culinarias y facilidad de conservación.

- Mermeladas, confituras y jaleas; se han elaborado en el ámbito familiar y tienen un gran futuro en los mercados.

- Extractos de granada. En este apartado se podrían incluir gran diversidad de extractos utilizados como cosméticos, suplementos alimenticios, suplementos dietéticos y nutracéuticos.

- Otros.

(fotografía 8, 9 y 10)

Las últimas investigaciones científicas y médicas apuntan que el zumo de granada posee sustancias con actividad antibacteriana, antiviral, anticancerígena, antiinflamatoria, para el control del colesterol y prevención de problemas cardiovasculares, etc., auque algunas son muy recientes.

No obstante, todavía es pronto para aceptar algunas aseveraciones sobre las propiedades de los compuestos a base de granada, pues algunos estudios han sido realizados *in vitro* y no con humanos; así, en febrero de 2010 la FDA (Administración de Alimentos y Fármacos de EE.UU) envió una carta de advertencia a una empresa americana por hacer afirmaciones no probadas en la publicidad de sus productos o por utilizar sus productos como medicamentos no autorizados.

## 7. Bibliografía


• Arango, G.J. 2010. Introducción al metabolismo secundario. Compuestos derivados del ácido shikimico. Universidad de Antioquia.

• Carbonell-Barrachina, A. Aprovechamiento integral de la granada: zumos, mermeladas, cuarta gama y suplementos dietéticos. http://tecnoagro.umh.es/caseal.htm.

• Du C.T.; Wang P.L.; Francis, F.J. 1975. Anthocyanins of pomegranate, Punica granatum. J.Food Sci 40 417-418.

• Espín, J.C., Soler-Rivas, C.; Wichers, H.J. and García-Viguera, C. 2000. Antocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodsruff. J. Agric. Food Chem. 48: 1588-92.

• Eurovirtual.net. 2009. Antioxidantes y cáncer. http://www.eurovirtual.net/paciente/saber/dietacancer/

• Font Quer, P. 1979. Plantas medicinales. El Dioscórides renovado. Labor, S.A. 5ª ed. Barcelona. 1.033 pp.

• García-Viguera, C.; Pérez Vicente, A. 2004. La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. Alim., nutri. Salud, vol. 11, nº 4, pp. 113-120.

• Gil, M. ª Isabel; Tomás-Barberán, Francisco Hess-Pierce, B.; Holcroft D. M.; Kade, A. A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and procesing. J. of Agric. Food Chem. 48: 4581-4589.

• ICEX. 2010. http:/datacomex.comercio.es/

• ICEX. 2010. http:/datacomex.comercio.es/

• Larrosa, M., González-Sarrías, A. Yánez-Gascón, M.J., Selma, M.V., Azorín-Ortuño, M., Toti, S., Tomás-Barberán, F., Dolara, P., Espín, J.C. 2010. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolismo. Journal of Nutritional Biochemistry 21 (8), pp. 717-725.

• Lye, C. 2008. Pomegranate. Preliminary assessment of the potencial for an Australian industry. RIRDC Publication Nº 08/153. Australian Government.

• Mars, M. 1998. Pomegranate plant material: genetic resources and breeding (review). I Symposium Internacional sobre el granado. MV-0. Orihuela (Alicante).

• Melgarejo y Salazar. 2003. Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas Vol. II. Mundi-Prensa y AMV, Ediciones. Madrid.

• Melgarejo, P. y Martínez, R. 1992. El granado. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 163 pp.

• Mirmiran, P., Fazeli, M.R., Asghari, G., Shafiee, A., Azizi, F. 2010. Effect of pomegranate seed oil on hyperlipidaemic subjects: A double-blind placebo-controlled clinical trial. British Journal of Nutririon 104 (3), pp. 402-406.



• Mirmiran, P., Fazeli, M.R., Asghari, G., Shafiee, A., Azizi, F. 2010. Effect of pomegranate seed oil on hyperlipidaemic subjects: A double-blind placebo-controlled clinical trial. British Journal of Nutririon 104 (3), pp. 402-406.



• MMARM.2009. Anuario de estadística agroalimentaria. Madrid.

• Mundada, M.; Singh, B. and Maske, S. 2010. Optimisation of processing variables

affecting the osmotic dehydratation of pomegranate arils. LANMAN- The 17th IEEE International Workshop on Local and Metropolitan Area Networks, art. no. 5507162.
• Primo, E. 1987. Química Agrícola III. Alimentos. Alambra. Madrid. 683 pp.
• Quiroz, I. 2009. Granados, perspectivas y oportunidades de un negocio emergente: Antecedentes de mercado. Fundación Chile.
• Quiroz, I. 2009. Granados, perspectivas y oportunidades de un negocio emergente: Antecedentes de mercado. Fundación Chile.
• Sánchez, F. 2009. Granado: Perspectivas y Oportunidades de un Negocio Emergente: Alternativas agroindustriales del granado. Fundación Chile.
• Sánchez-Monge E. 1974. Fitogenética (mejora de plantas). Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias-Ministerio de Agricultura. Madrid. 456 pp.
• Simonian, D. 2007. Análisis del mercado internacional del granado perspectivas para las exportaciones chilenas. Redagrícola Edición Nº 16, Mayo 2007.
• Simonian, D. 2007. Análisis del mercado internacional del granado perspectivas para las exportaciones chilenas. Redagrícola Edición Nº 16, Mayo 2007.
• Stover, E. and Mercure, E.W. 2007. The pomegranate: a new look at the fruit of paradise. HortScience vol.42 (5).
• Westwood, NH. 1982. Fruticultura de Zonas Templadas. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 461 pp.
• Weusthuis, M. 2009. Afghan pomegranates in the Netherlands. University of Applied Sciences. Wageningen.

## 8. Sobre el autor

### Dr. Pablo Melgarejo Moreno

Catedrático de Universidad del Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, en el área de Producción Vegetal en la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH).

Ingeniero Agrónomo por la Universidad Politécnica de Valencia (UPV). Realizó su tesis doctoral sobre la granada, obteniendo el Grado de Doctor Ingeniero Agrónomo por la Universidad Politécnica de Valencia en 1993. Ha dirigido 11 tesis doctorales. Tiene numerosas publicaciones sobre frutales de zonas áridas. Es el responsable del Grupo de Investigación en Fruticultura y Técnicas de Producción y el Director del Departamento de Producción Vegetal y Microbiología de la UMH.

# Índice

**1.** Resumen ..... 29
**2.** Abstract ..... 29
**3.** Material vegetal ..... 29
**4.** Técnicas de cultivo ..... 32
**5.** Bibliografía ..... 39
**6.** Sobre los autores ..... 41

# Material vegetal y técnicas de cultivo

**Martínez, J.J. y Hernández, Fca.**
francisca.hernandez@umh.es
juanjose.martinez@umh.es
Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Universidad Miguel Hernández. Ctra. de Beniel, km 3,2. 03312 Orihuela, Alicante.

## 1. Resumen

El cultivo del granado ha ido adquiriendo cada vez más importancia y es objeto de interés desde diferentes puntos de vista (agrícola, industrial, alimentario, médico, etc.). Por todo ello, esta especie ha dejado de ser, poco menos que marginal, para adquirir en sus lugares tradicionales de cultivo, la consideración que merece. Como consecuencia de todo ello se trabaja e investiga con el material vegetal, para obtener nuevas variedades, así mismo, las técnicas de cultivo empleadas han ido alcanzando un mayor grado de perfeccionamiento, incluso se han introducido nuevas técnicas que hasta hace unos pocos años no se practicaban.

**Palabras clave:** granado, Punica granatum, variedad, albardado, rajado, riego.

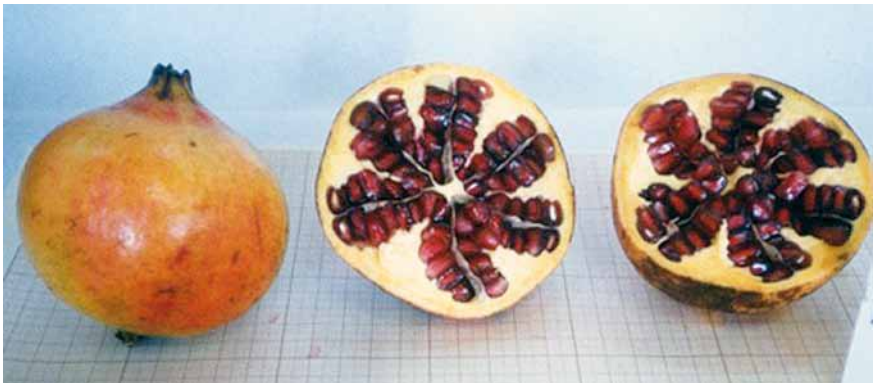
## 2. Abstract

The culture of the pomegranate has been acquiring increasingly importance and is an object of interest from different points of view (agriculturalist, manufacturer, food, medical, etc.). For all this, this species has stopped being, little less than marginal, to acquire in his traditional places of culture, the consideration that deserves. Since consequence of all this is worked and investigates by the vegetable material, to obtain new varieties, likewise, the technologies of culture used they have been reaching a major degree of development, even there have interfered new technologies that until a few years ago were not practised

**Keywords:** pomegranate, Punica granatum, variety, sunburn, cracking, irrigation.

## 3. Material vegetal

El material vegetal es el principal elemento de toda plantación frutal, ya que de la elección de la variedad/es a plantar, va a depender el éxito de la explotación. En cuanto a material vegetal de granado, existe una gran heterogeneidad varietal, siendo por ello necesario



*Fotografía nº1: Accesión "ME15"*

aunar esfuerzos para realizar una selección y caracterización del material vegetal existente y seleccionar aquellos que mejor se adapten a las condiciones edafoclimáticas de cada zona.

Las variedades de granado en España se catalogan, de acuerdo a la clasificación propuesta por Melgarejo (1993) en variedades dulces (0,15-0,48% ácido cítrico), agridulces (0,54-0,91 % ácido cítrico) y variedades agrias (2,34-2,69 % ácido cítrico).

En la Comunidad Valenciana, principal zona productora de granada, junto con la Comunidad Murciana a nivel nacional, y más concretamente en los municipios alicantinos de Elche, Crevillente, Albatera y San Isidro, la variedad más cultivada es la variedad población denominada "Molla de Elche", seguida de la variedad población denominada "Valencianas". Existen en estas zonas otras variedades locales tales como: Blanca, Tendral, Piñonenca, Albar, San Felipe, Cajín, Pulpí, etc.

La variedad población denominada "Mollar de Elche" es originaria de Elche, y se caracteriza por presentar 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. Su contenido en sólidos solubles totales oscila de13, 44-17,68 ºBrix, acidez de 0,24-0,35, con un porcentaje en zumo del orden del 34,42-40% y con un contenido medio en fibra bruta de 3,8-7,9% (Cambayas Coop V., 2010).

La variedad población denominada "valenciana" es una variedad temprana, de forma redondeada, calibre medio, semillas dulces, piñón inapreciable. Color interno rosa claro y color externo rosa intenso. Piel sensible al manipulado. Su contenido en sólidos solubles totales es de13, 90-15,50 ºBrix, acidez de 0,14-0,26, con un porcentaje en zumo del orden del 29,26-53,84% y con un contenido medio en fibra bruta de 8-16% (Cambayas Coop V., 2010).

El primer Banco de germoplasma de granado español, se encuentra ubicado en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela y fue creado en 1992 por el profesor Melgarejo. Actualmente, el banco cuenta con algo más de 104 accesiones, estando todas ellas caracterizadas y tipificadas. En este Banco se encuentran varias accesiones de la variedad población "Mollar", de las que cabe destacar las accesiones tempranas y de media estación.

*Fotografía nº2: Variedad Wonderful*

La accesión "ME15" es de media estación, vigor medio, alta productividad, muy pocas espinas, fruto de color rojo intenso en más del 80% de su superficie, grande dulce y muy agradable de comer tanto por su sabor como por la dureza de las semillas (Fotografía nº 1).

También se encuentran varias accesiones de la variedad población "valencianas", de las que cabe reseñar, entre otras, la accesión "VA1" que se caracteriza por ser temprana, vigor medio y productividad media. Fruto grande, semillas blandas, dulces, rosáceas. Calidad gustativa algo inferior a la variedad población mollar, aunque al ser muy temprana es apreciada por los cultivadores, debido a los altos precios que alcanza en el mercado.

Otras accesiones, muy interesantes para el sector son las variedades agridulces, de las que cabe destacar la accesión "PTO8", la cual se caracteriza por ser de media estación, vigor bajo, productividad media, pocas espinas, fruto ligeramente agridulce, agradable de comer tanto por su sabor como por la dureza de sus semillas, presenta color rojo en más del 50% de su superficie.

Los principales países productores de granada (China, EEUU, Israel, Turquía, Túnez, Marruecos, Irán, India,…) y competidores de España en producción de granada, se caracterizan por producir variedades de granada de sabor ácido. La variedad de granada mundialmente más conocida es la variedad Wonderful, la cual se caracteriza por presentar 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 (Fotografía nº 2).

Wonderful es la variedad más difundida en el mundo, existiendo actualmente mucha variabilidad genética, es decir se conocen muchos "tipos de Wonderful", lo cual está haciendo que los rendimientos, y características sean muy variables. De ahí, que por ejemplo que en algunos países como Israel la base de su programa de mejoramiento genético ha sido mejorar la "vieja Wonderful". Como resultado de su programa de mejora han conseguido obtener

selecciones de Wonderful más productivas. El programa de mejoramiento de Israel ha liberado recientemente 3 variedades de su programa: Emek, Shany, Kamel. Estas variedades son más productivas y presentan diferentes fechas de recolección, además de requerir un pago de royalty por hectárea plantada. Otra selección hecha por Israel de Wonderful y que se caracteriza por presentar mejor color que Wonderful es el clon Wonderful 100-1.

En España, en los últimos años, se están haciendo algunas plantaciones de Wonderful, a pesar de ser una granada de sabor ácido y piñón semiduro, ¿quizá por innovar? ¿Quizá el mercado europeo más acostumbrado al sabor ácido está demando este tipo de variedades? , así en el campo de Elche se cifran algo más de 25 ha., plantadas de Wonderful, en Gibraleón (Huelva) se están cultivando unas 17 ha. en cultivo ecológico de Wonderful y "Mollar".

Como otras innovaciones de material vegetal de granado en España reseñar que el IVIA tiene en estudio 2 nuevas variedades de granada, de las cuales todavía no ha transcendido nada al sector, y la cooperativa Cambayas, en su campo de ensayos está realizando hibridaciones con el objeto de obtener nuevos materiales.

Existen otras novedades en material vegetal de granado obtenidas por empresas privadas que se están ensayando en distintas zonas de cultivo para ver su comportamiento (GM50, MR, MR1, C9, C11, C23, C29, C34, C38, PR10, entre otras) y que se caracterizan por presentar un color externo del fruto rojo intenso, semillas rojas, algunas muy productivas, con espinas en unos casos y con muy pocas en otros, y cuyos nombres comerciales todavía no están registrados.

## 4. Técnicas de cultivo

A continuación, se exponen, las técnicas de cultivo que de forma más o menos habitual, se vienen utilizando en los diferentes periodos de la vida del árbol, aunque no todas ellas de forma generalizada.

### 4.1. Plantación del granado

Cuando se trate de riego tradicional, es preciso nivelar la superficie de la parcela en la que se vaya a efectuar la plantación, esta nivelación no es necesaria si se va a utilizar un sistema de riego localizado. Debe realizarse una labor profunda de desfonde. La apertura de los hoyos puede efectuarse entre 1-2 meses antes de la plantación. Ésta puede realizarse a nivel del suelo o sobre mesetas. Tanto si se cultiva a nivel del suelo, como si se hace sobre mesetas, puede optarse por realizar un acolchado plástico.

Después de la labor de desfonde puede realizarse un abonado de fondo (fosfopotásico), especialmente interesante cuando se vaya a establecer una plantación en sistema de riego tradicional.

Los marcos de plantación deben ser suficientes para garantizar una buena iluminación, que permita a los frutos desarrollar plenamente su coloración, también deben permitir la realización de las labores de cultivo. Por ello, actualmente se utilizan marcos con mayor separación entre filas de árboles que entre árboles dentro de una fila: 6 x 4 m, 6 x 3 m, 5 x 3 m. Los marcos indicados no dejan de ser orientativos, ya que no todas las variedades presentan el mismo porte (Gráfico 1).

*Fotografía nº3: Sistema de riego localizado (goteo)*

La plantación suele realizarse durante los meses de enero y febrero y hasta principios de primavera (depende también si el trasplante es a raíz desnuda o con cepellón), aunque en climas benignos puede efectuarse también durante el mes de diciembre. En la actualidad lo usual es la propagación en maceta o en bolsas con fibra de coco, con lo que la plantación puede realizarse prácticamente en cualquier momento, desde febrero a octubre habitualmente.

Se acota a unos 40-50 cm, y se planta aproximadamente a la misma profundidad que se encontraba en vivero. Una vez realizada la plantación se efectúa el denominado riego de plantación.

### 4.2. Riego

El riego es una técnica obligada en las zonas tradicionales de cultivo del granado en la provincia de Alicante, puesto que es un área donde la pluviometría media de la última década no alcanza los 300 mm, y la evapotranspiración media está entorno a los 1.200 mm anuales, se trata de una zona árida, según diferentes índices climáticos, con un alto riesgo de salinización.

Para una correcta programación del riego es preciso responder a dos cuestiones:

1ª. ¿Cuánta agua hay que aportar?

2ª. ¿Cuándo hay que aportarla, es decir, en qué momento hay que regar?

A continuación intentaremos dar respuesta a estas dos cuestiones

*Fotografía nº4: Fruto de granada albardo*

### 4.2.1. ¿Cuánta agua hay que aportar?

En este apartado se expone de forma resumida el procedimiento a seguir para calcular el volumen de agua que hay que aportar a una plantación de granado. Para poder desarrollar una recomendación de riego adecuada, es necesario disponer de datos fiables sobre el clima de la zona, el sistema de riego utilizado, las características edafológicas de la parcela y la calidad del agua de riego.

Para determinar las necesidades hídricas del granado (ETc) habrá que tener en cuenta dos aspectos principales: la evapotranspiración de un cultivo de referencia (ET0) y los coeficientes de cultivo (Kc) (Tabla 1). Para ello se emplea la siguiente expresión: ETc = ET0 x Kc

Se deberían determinar los coeficientes de cultivo para el caso particular del granado, en las condiciones locales de la provincia de Alicante, mejorando así la eficiencia del agua aplicada.

Para determinar las Necesidades Netas (Nn) de riego deberá tenerse en cuenta la ETc y la precipitación efectiva (Pe). Se emplea la expresión: Nn = ETc – Pe (modelo simplificado)

Finalmente, se determinan las Necesidades Reales o Totales (Nt) de riego: Nt = Nn/Eft.

Donde:

Nt: necesidades totales de agua; Nn: necesidades netas de agua.

Eft: eficiencia total, obtenida de Efu x Efp, o Efu x Efs, eligiendo el producto menor.

Efu: Eficiencia de uniformidad del sistema de riego (0,9 en riego localizado, 0,5 en riego por gravedad) (Keller y Karmeli, 1974).

**Tabla 1:**
Coeficientes de cultivo (Kc) para árboles de hoja caduca, sin cubierta vegetal, vientos débiles a moderados y secos. (Doorembos y Pruitt, 1976).

| Mes | Enero | Febrero | Marzo | Abril | Mayo | Junio | Julio | Agosto | Sept. | Oct. | Nov. | Dic. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kc | | | 0,5 | 0,7 | 0,85 | 0,9 | 0,9 | 0,9 | 0,8 | 0,75 | 0,65 | |

Efp: eficiencia de percolación del suelo (arcilloso = 1, franco = 0,95, arenoso = 0,9) (Hoare et al., 1974).

Efs: Eficiencia de lavado de sales. Efs=1-RL; RL=CEar/2CEmáx; RL: Requerimientos de lixiviación.

CEar: Conductividad eléctrica del agua de riego; CEmáx: Conductividad máxima del extracto saturado para el que la producción es nula (Ayers y Wescot, 1987; Martín de Santa Olalla y De Juan, 1993)

Ejemplo de cálculo de las necesidades de riego en un cultivo de granado en Elche (Alicante):

Utilizamos para este ejemplo datos climáticos obtenidos de la página Web del Servicio de Tecnología del Riego del Instituto Valenciano de Investigación Agraria (Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana). Son valores medios del periodo 1999-2010, tanto de ETo (mm), como de la P (mm) (Precipitación total). Se utilizan los coeficientes de cultivo de la Tabla 1.

- Se considera un cultivo de granado en plena producción. Marco de plantación de 5 x 3 m, en un suelo de textura franca (Efp: 0,95). Se utiliza sistema de riego localizado de alta frecuencia por goteo (Efu: 0,9) (Fotografía 3).

- Se supone un agua de riego de: CEar de 3,00 dS/m; CEmáx: en el caso del granado es de 14 dS/m.

- Se estima la Precipitación Efectiva (Pe) a partir de un método elaborado por la FAO en zonas áridas y subhúmedas. La ecuación desarrollada permite estimar la Pe correspondiente a la precipitación mensual.

Las necesidades totales medias de riego obtenidas para un cultivo de granado, bajo estas hipótesis de trabajo son de 5.271,30 $m^3$/ha.

### 4.2.2. ¿Cuándo hay que regar?

Para responder a esta pregunta debemos tener algún criterio que nos permita tomar una decisión. El método más sencillo es el basado en la experiencia del regante, es decir, decidir "a ojo". Este método ha demostrado ser bastante impreciso. Otros métodos más objetivos son los basados en la medida de diferentes parámetros, ya sea en el suelo, en la planta, o bien parámetros climáticos. A nivel práctico, los más utilizados actualmente son los que miden la tensión matricial del suelo mediante tensiómetros o bloques de yeso (watermark).

La técnica del riego deficitario controlado no se aplica en el cultivo del granado, debido fundamentalmente a la falta de estudios que hay a este respecto, en esta especie.

### 4.3. Fertilización

Son escasas las publicaciones científicas que tratan sobre las necesidades de nutrientes y la fertilización del granado. Blumenfeld et al. (1998) indican que en Israel el granado se fertiliza con unas 200-300 unidades fertilizantes (UF) de N/ha y unas 200-300 UF de $K_2O$/ha, sin concretar las UF que aportan de $P_2O_5$.

Algunas consideraciones de carácter general son:

a) Un exceso de riego y de fertilización nitrogenada en primavera puede producir un desequilibrio, favoreciéndose la vegetación sobre la floración.

b) El exceso de nitrógeno, especialmente si va acompañado de desequilibrios hídricos puede incrementar el rajado de los frutos antes de la época de madurez. También puede influir negativamente en el desarrollo del color.

c) En árboles con poca o nula cosecha un abonado nitrogenado excesivo provoca un incremento del crecimiento vegetativo, llegando incluso a reducir la cosecha del año siguiente.

d) El potasio ejerce un efecto favorable en la disminución del rajado de los frutos.

e) En el área geográfica en la que nos encontramos es habitual que se presenten carencias de Fe, Mn y Zn, por lo que estos microelementos deben ser aportados de forma preventiva a partir del inicio de cada nuevo periodo vegetativo. El Mn y el Zn pueden aportarse vía foliar. El Fe, sin embargo, suele aplicarse al suelo en forma de quelato tipo EDDHA-Fe y EDDHMA-Fe.

Se estima que la fecha adecuada para la toma de muestra es, para la mayor parte de los elementos, la comprendida entre mediados de julio y mediados de agosto.

### 4.4. Control de malas hierbas

Desde hace algunos años el laboreo se practica cada vez menos, además, cada vez es más habitual el riego por goteo, prefiriéndose el sistema de no cultivo, manteniéndose el suelo limpio de malas hierbas durante todo el año, utilizando para ello herbicidas (glifosato, glifosato (18%) + MCPA (18%) y glufosinato amónico (15%).

### 4.5. Control de las sierpes o pollizos

Las sierpes o pollizos son un problema en este cultivo, ya que suponen una importante competencia para el resto de la planta, son refugio de algunas plagas, además de dificultar el acceso al interior del árbol de la luz, tratamientos fitosaniarios y operarios. Por estos motivos, deben ser eliminados, al menos dos veces al año. Pueden hacerse de forma manual durante la poda, lo que resulta tedioso y la encarece. Por ello, el agricultor suele tratarlos a lo largo del periodo de actividad vegetativa con herbicidas, como la mezcla de glifosato (18%) y MCPA (18%), o con glufosinato amónico (15%).

### 4.6. Aclareo de frutos

La finalidad del aclareo de frutos, al igual que en otros frutales, consiste fundamentalmente en:

a) Obtener frutos de mayor tamaño.

b) Eliminar los de forma irregular, deformes, mal situados, pequeños, así como aglome-

raciones de frutos en los que además surgen con frecuencia algunas plagas como cotonet.

c) En los árboles muy jóvenes, los frutos del último tercio de las ramas principales y secundarias, para asegurar el normal desarrollo de las mismas.

d) Junto a otras técnicas de cultivo, como la fertirrigación, puede contribuir a adelantar la recolección.

Hasta la fecha el aclareo de los frutos se viene realizando de forma manual. El momento adecuado para efectuar el aclareo es cuando el fruto tiene un diámetro superior a los 2-3 cm, que suele coincidir con la primera semana de junio. Esta operación debe repetirse a los 20-30 días (finales de junio o primeros de julio) para eliminar la competencia de los frutos procedentes de la floración continuada que presenta esta especie.

### 4.7. Tratamiento para reducir el rajado o agrietado de los frutos

El rajado, agrietado o craking es una fisiopatía que representa un serio problema en el cultivo del granado. Cuando el fruto está en un estado avanzado de su desarrollo la capacidad de crecimiento del interior del fruto es mayor que el de las células de la corteza, por lo que, bajo determinadas circunstancias termina produciéndose el rajado del fruto.

En años normales y en huertos bien cuidados el porcentaje de frutos agrietados no suele ser inferior al 5%, mientras que los peores años puede superar el 50% (Melgarejo y Salazar, 2003), en determinadas circunstancias.

Algunas consideraciones a tener en cuenta son:

a) Las floraciones tardías producen frutos en los que el % de rajado es mayor.

b) El riego con aguas salinas mejora la coloración de los frutos, pero facilita el agrietado.

c) Los desequilibrios hídricos provocan agrietado de los frutos, por lo que resulta de gran importancia manejar correctamente el riego.

d) Algunas prácticas que pueden utilizarse en la actualidad para disminuir el agrietado son:

1) Realizar la recolección de forma escalonada.

2) Utilizar un sistema de riego por goteo, que permite mantener constante la humedad en el suelo.

3) No efectuar abonado nitrogenado excesivo durante la fase de maduración del fruto.

4) El potasio, entre otras muchas funciones, participa en la regulación estomática y confiere elasticidad a la pared celular, lo que puede disminuir el agrietado de los frutos.

5) El uso de antitranspirantes para reducir el agrietado de los frutos fue descrito hace ya 30 años en Egipto (Bacha e Ibrain, 1980) (citados por Melgarejo y Salazar, 2003).

6) Yilmaz and Özgüzen (1998) en Turquía observan que tratamientos con GA3 a concentraciones entre 150-200 mg $l^{-1}$ redujeron el rajado de los frutos, pero producía un retraso de la maduración y abscisión de las hojas

### 4.8. Tratamiento para reducir el albardado

El albardado es una fisiopatía que sufren los frutos en días muy calurosos, ya que transpiran más agua de la que reciben, provocando este desequilibrio quemaduras en la superficie de los frutos. En casos graves la zona afectada presenta color marrón oscuro, incluso negro

y con grietas. En estos casos las semillas bajo la zona de corteza afectada han perdido su color o es de menor intensidad, resultando insípidas (Fotografía 4).

Los primeros síntomas en frutos afectados pueden observarse a partir de finales de junio. El albardado se produce en los frutos desprotegidos, en los que la radiación solar incide directamente, por lo que los frutos más afectados son los de la copa que no están protegidos por las hojas y los que se encuentran en las orientaciones sur y oeste.

No todas las variedades presentan la misma resistencia al albardado, por lo que éste puede ser un criterio importante a tener en cuenta a la hora de elegir una variedad.

Las pérdidas por albardado pueden ser muy importantes, incluso superiores a las ocasionadas por el rajado. Algunas prácticas y técnicas para disminuir el albardado son: correcta nutrición hídrica, buen estado vegetativo de la planta, árboles con porte llorón y/o con hojas más grandes, las variedades tempranas presentan menos daños por albardado que las tardías, protección de los árboles con mallas, aplicación de productos inertes como el kaolín (caolinita). En países como Israel y Chile utilizan diferentes técnicas como son: sistemas de conducción en Y, amarrado de ramas para evitar el doblado de éstas y embolsado de la fruta.

### 4.9. Poda del granado

Algunos aspectos básicos a tener en cuenta para la conducción del granado son:

a) El granado es una especie basítona por lo que tiende a emitir abundantes sierpes en la base del tronco, así como chupones en el tronco y ramas principales.

b) Para formar árboles en tronco único y evitar un crecimiento arbustivo deben eliminarse las sierpes.

c) En nuestras zonas de cultivo la tendencia es a formar árboles con un tronco único.

d) Deben realizarse podas anuales.

e) La época de poda coincide con el periodo de reposo invernal (entre diciembre y febrero).

f) El granado tiene dos brotaciones principales, la de primavera (cosecha del año) y la de verano.

g) Se deben eliminar ramas que se crucen e interfieran el paso de la luz.

Durante la vida del granado se practica poda en verde y poda en seco. Dentro de ésta última se dan tres tipos, que son: poda de formación, poda de fructificación y poda de rejuvenecimiento.

Con la poda de formación se pretende crear una estructura productiva capaz de soportar la cosecha.

La estructura más adecuada, contrastada hasta la fecha, para las variedades españolas cultivadas en esta zona, consiste en formar el árbol en vaso, con tres brazos principales sobre un tronco de 30-50 cm de altura. Este tipo de formación favorece la iluminación de la copa.

La poda de fructificación pretende: aumentar la producción, favoreciendo que el árbol produzca no sólo en la periferia, sino también en el interior, mejorar la calidad de la fruta, reducir otros gastos del cultivo y facilitar la realización de otras técnicas de cultivo (tratamientos fitosanitarios, aclareo y recolección).

El granado produce fundamentalmente en madera del año, en ramos mixtos procedentes de yemas existentes en madera del año anterior, por lo que se tiende a dejar la madera productiva, eliminando la vieja y ramas mal orientadas. Este tipo de poda debe realizarse anualmente, debido a la gran proliferación de brotes que presenta y con ella se suprimen: chupones, sierpes (al menos dos veces al año), ramas o ramos que se entrecruzan o que brotan en el interior del árbol, ramas rotas y madera muerta.

El objetivo de la poda de rejuvenecimiento es rejuvenecer, en el mínimo de años, los árboles de la plantación, recuperando en la medida de lo posible su capacidad productiva. Esta poda debería efectuarse, como máximo en 3 años, de manera que cada año se le quita 1/3 de la madera vieja en peor estado. En paralelo debe incrementarse la fertilización nitrogenada.

La poda en verde resulta conveniente realizarla entre mediados de junio y mediados de julio, con los siguientes objetivos: facilitar una mejor iluminación de los frutos que mejorará su coloración, reducir los costes de la poda de invierno, facilitar la aplicación de tratamientos fitosanitarios, eliminar competencia para el desarrollo de los frutos y facilitar la recolección.

### 4.10. Cultivo ecológico del granado

Como alternativa al cultivo tradicional, en los últimos años se está implantado el cultivo ecológico, dado que existe un sector importante de la población que demanda cada día productos más naturales, más sanos. En algunos frutales como olivo, almendro, viñedo, etc., ya existe una amplia experiencia de cultivo en ecológico, pero son pocas las explotaciones de granado que se están cultivando en agricultura ecológica. El granado es un cultivo que por la forma de cultivarlo a lo largo de los años se adapta muy bien al cultivo ecológico. Existen algunas explotaciones que ya lo han implantado con resultados muy buenos en diferentes provincias, así en Gibraleón (Huelva) la granada cultivada en ecológico se llegó a cotizar a 2,35 €/kg la variedad "Mollar" y a 3,15€/kg la variedad Wonderful. Sería importante que los productores de granada se plantearan como alternativa de técnica de cultivo la agricultura ecológica en sus plantaciones de granado.

## 5. Bibliografía


• Ayers, R. S. y Wescot, D.W. 1987. Calidad del agua para la agricultura. FAO: Riego y drenaje nº 29. Roma.

• Blumenfeld, A.; Shaya, F. and Hillel, R. 1998. Cultivation of pomegranate. I Symposium Internacional sobre el granado. TC-0. Orihuela (Alicante).

• Doorembos y Pruitt. 1976. Necesidades de agua de los cultivos. FAO. Riego y drenaje nº 24. Roma

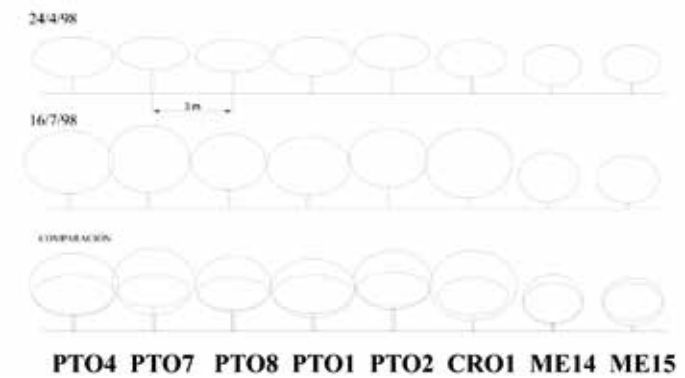
• Giménez, M; Martínez, J.; Oltra, M.A.; Martínez, J.J. y Fernández, J.M. 1998. Análisis foliar en granado (Punica granatum L.). I Symposium Internacional sobre el granado. TC-O6. Orihuela (Alicante).

• Hoare, E.; Garzoli, K. y Blackwell, J. 1974. Plant water requeriments as related trickle irrigation. Proceedings II International Drip Irrigation Congress, 323-328. California.

• Keller, J. y Karmeli, D. 1974. Trickle irrigation design rain bird, Glendora. California.

• Martín de Santa Olalla, F. y De Juan, J.A. 1993. Agronomía del riego. Mundi-Prensa. Madrid.
• Martín de Santa Olalla, F. y De Juan, J.A. 1993. Agronomía del riego. Mundi-Prensa. Madrid.
• Melgarejo, P. 1993. Selección y tipificación varietal de granado. Tesis doctoral. E.T.S.I. Agrónomos de Valencia (Universidad Politécnica de Valencia). 617 pp.
• Melgarejo, P. y Salazar, D. 2003. Tratado de fruticultura.Ed. Mundiprensa.
• P. Melgarejo, J.J. Martínez, Fca Hernández, R. Martínez-Font, P. Barrows, A. Erez (2004). Kaolin treatment to reduce pomegranate sunburn. Scientia Horticulturae 100 (1/4): 349-353
• Pizarro, F.1987. Riegos localizados de alta frecuencia. Ediciones Mundi-Prenda. Madrid.
• Servicio del Tecnología del Riego. IVIA. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana).
• Yazici, K., Akdeniz, B., Kaynak, L. 2009. Effects of kaolin and shading treatments on sunburn on fruit of hicaznar cultivar of pomegranate (Punica granatum L. cv. Hicaznar). Acta Horticulturae. Volume 818, 167-174
• Yilmaz, C., Özgüven, A.I. 2009. The effects of some plant nutrients, gibberellic acid and pinolene treatments on the yield, fruit quality and cracking in pomegranate. Acta Horticulturae. Volume 818, 205-212.

**Gráfico 1:**
Desarrollo, tamaño y porte de los árboles de varios clones.



## 6. Sobre los autores


### Prof. Dra. Francisca Hernández García

Ingeniero Agrónomo (Universidad Politécnica de Valencia, 1990) y Dra. Ingeniero. Agrónomo (Universidad Miguel Hernández de Elche, 1999). Especialista en Auditoria Ambiental (Universidad Politécnica de Madrid, 1997)

Titular de Universidad en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (UMH).

E-mail: francisca.hernandez@umh.es

### Juan José Martínez

Ingeniero Agrónomo (Universidad Politécnica de Valencia, 1992) y Dr. Ingeniero. Agrónomo (Universidad Miguel Hernández de Elche, 1999).

Catedrático de Escuela Universitaria en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (UMH).

E-mail: juanjose.martinez@umh.es

# Fertirrigación del granado

**Miguel Giménez Montesinos**
Profesor Titular de Fertirrigación de la EPSO. Universidad Miguel Hernández. Elche (Alicante)

Hoy en día la FAO propone calcular la Evapo-Transpiración (ETo) de un cultivo de referencia en una zona determinada, con lo que se halla el efecto del clima en las necesidades hídricas de los cultivos, mediante estaciones agrometeorológicas. Posteriormente se ajustan dichas necesidades a las características particulares de cada cultivo mediante un coeficiente de cultivo (Kc), de forma, que dichas necesidades (ETo) vendrán dadas por la siguiente fórmula: ETc = ETo x Kc

Este resultado hay que multiplicarlo por 10 para pasar de mm, a $m^3$/ha. Pero además hay que introducir una serie de coeficientes correctores: como la fracción de lixiviación ($K_{FL}$) cuando utilizamos aguas con alta conductividad, o bien la textura del suelo que influye enormemente en la retención del agua ($K_t$) o bien el porcentaje de sombra ($K_{Ps}$) si el árbol todavía no ha alcanzado su máximo tamaño, con ello la fórmula de cálculo queda como sigue:

$Na\ (m^3/ha) = ETo * 10 * Kc * K_{FL} * K_t * K_{Ps}$

Y que la empleamos también para el cálculo del abonado de los plantones. Si bien cuando los árboles están en plena producción utilizamos esta otra fórmula

$Na\ (m^3/ha) = ETo * 10 * Kc * K_{FL} * K_t * K_{RSm}$

En la que $K_{RSm}$ significa el coeficiente de reducción de superficie mojada. Para lo cual utilizamos nuestras propias ecuaciones que a continuación se detallan:

$K_{Ps} = (2{,}24 + 1{,}36 * D^2) / MP$ (No puede ser superior a 1)

$K_{RSm} = 1 - 0{,}75 * Kc + Sm$ (No puede ser superior a 1)

En cuanto a la fracción de lixiviación utilizamos la fórmula de la FAO $FL = (CE_w/2CE_e max)$, y para las texturas los coeficientes son: Arenosa (A) = 1,10; Franco Arenosa (FA) = 1,05; Franca (F) 1.00; Franco Arcillosa (FAr) = 0,95 y la Arcillosa (A).

Cálculo del abonado:

Para ello utilizamos el siguiente esquema, en el que se tiene en cuenta la fracción de lixiviación, el diámetro de copa del árbol, para saber si está o no en plena producción, el análisis de tierra (textura, en particular la arcilla, para el nitrógeno y el potasio y el carbona-

to cálcico para el fósforo), además del análisis foliar mediante la interpretación del índice de Desviación Stándar (IDS). Por último se descuenta los nutrientes que aporta el agua de riego, que en el caso del granado al utilizarse aguas de escasa calidad aportan siempre cantidades importantes de K y Mg, y en muchos casos fósforo y nitratos, lo que como se ve en el ejemplo que se acompaña hace que la fórmula final de fertilización se vea reducida de forma notoria.

| | N | P2O5 | K2O | MgO |
|---|---|---|---|---|
| Formula de Abonado Inicial / ha | 180 | 60 | 90 | 30 |
| Aumento por lixiviación | | | | |
| Reducción por no Plena Producción | | | | |
| Análisis de tierra | | | | |
| Análisis Foliar | | | | |
| Aportes del agua de riego | | | | |
| Fórmula de Abonado final / ha | XXX | XXX | XXX | XXX |

Lógicamente para realizar estas operaciones utilizamos la hoja de cálculo Excel, tal como se ve en el ejemplo. Si bien hay que referenciar la existencia de un programa informático profesional, FERTPUNICA, realizado por nosotros, que con toda base de datos imaginables hace que el cálculo de la fertirrigación del granado sea extremadamente sencilla, incluyendo los tratamientos especiales que sean necesarios, como quelatos de hierro, herbicidas, insecticidas, fungicidas, etc.

Irrigación (Cálculo de las necesidades de agua del granado)

| Riegos | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (Semana) | L | L,J | L,Mi,V | L,M,J,V | L,M,Mi,J,V | L,M,Mi,JVS |

| | |
|---|---|
| Cabezal Nº = 1 | Sector Nº = 1 |
| Cultivo = Granados | Variedad/Patrón = Mollar/Franco |

| Nº árboles sector | Marco de Plantación (m²) | Superficie (ha) | Diámetro de Copa |
|---|---|---|---|
| 5714 | 5*3,5=17,5 | 9,9995 | 3,5 |

| Agua de Riego CE (dS/m) | CEmax | Disponibilidad | Fracción de Lixiviación (FL) | Aumento por FL |
|---|---|---|---|---|
| 2,60 | 14 | 100 | 0,093 | 1,102 |

| Textura | Fac. Textura | Superficie a Regar por Árbol (m²) | Reducción por Superficie Sombreada |
|---|---|---|---|
| Franco | 1 | 18,900 | 1,080 |

| Diámetro Bulbo Mojado | Superficie Mojada por Bulbo | Superficie Mojada (%) | Reducción Superficie Mojada |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 34,29 | 1,00 |

| Diámetro Bulbo Mojado | Superficie Mojada por Bulbo | Superficie Mojada (%) | Reducción Superficie Mojada |
|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 34,29 | 1,00 |

| Nº Goteros / Árbol | Caudal Gotero L / hora |
|---|---|
| 6 | 4 |

| Reducción aplicada |
|---|
| 1,00 |

| MES | ETo (mm) | Kc | ETc ($m^3$/ha) | $m^3$/sector | nº riegos | nº riegos semana | $m^3$/riego mes | tiempo/ riego | tiempo/ riego hh:mm:ss | litros/ árbol riego | litros/ árbol días del mes |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Enero | 37 | | | | | 0 | 0 | | | | |
| Febrero | 53 | | | | | 0 | 0 | | | | |
| Marzo | 67 | 0,40 | 297 | 2966 | 3 | 13 | 228,17 | 1,66 | 1:39:50 | 40 | 17 |
| Abril | 112 | 0,40 | 496 | 4959 | 4 | 17 | 291,68 | 2,13 | 2:07:37 | 51 | 29 |
| Mayo | 133 | 0,40 | 589 | 5888 | 5 | 22 | 267,65 | 1,95 | 1:57:06 | 47 | 33 |
| Junio | 172 | 0,50 | 952 | 9519 | 6 | 26 | 366,10 | 2,67 | 2:40:11 | 64 | 56 |
| Julio | 193 | 0,50 | 1068 | 10681 | 6 | 26 | 410,80 | 3,00 | 2:59:44 | 72 | 60 |
| Agosto | 180 | 0,50 | 996 | 9961 | 6 | 27 | 368,94 | 2,69 | 2:41:25 | 65 | 56 |
| Septiembre | 102 | 0,50 | 565 | 5645 | 4 | 18 | 313,60 | 2,29 | 2:17:12 | 55 | 33 |
| Octubre | 77 | 0,40 | 341 | 3409 | 3 | 13 | 262,23 | 1,91 | 1:54:44 | 46 | 19 |
| Noviembre | 52 | 0,40 | 230 | 2302 | 2 | 8 | 287,77 | 2,10 | 2:05:54 | 50 | 13 |
| Diciembre | 47 | | | | | 0 | 0 | | | | |
| TOTAL | 1225 | 0,45 | 5533 | 55330 | XXX | 170 | 325,47 | 2,37 | 2:22:24 | 57 | 27 |

Los coeficientes correctores que empleamos, en el cálculo de los nutrientes, según la textura son los siguientes, para el nitrógeno: Arenosa (A) = 1,10; Franco Arenosa (FA) = 1,05; Franca (F) 1.00; Franco Arcillosa (FAr) = 0,95 y la Arcillosa (A) y para el potasio: Arenosa (A) = 1,20; Franco Arenosa (FA) = 1,10; Franca (F) 1.00; Franco Arcillosa (FAr) = 1,10 y la Arcillosa (A). En cuanto al fósforo utilizamos la fórmula: 0,6 + CO3Ca / 100.

## Fertilización (Cálculo de las necesidades de nutrientes)

| | |
|---|---|
| Cabezal Nº = 1 | Sector Nº = 1 |
| Cultivo = Granados | Variedad/Patrón = Mollar/Franco |

| Nº árboles sector | Marco de Plantación ($m^2$) | Superficie (ha) | Diámetro de Copa |
|---|---|---|---|
| 5714 | 5*3,5=17,5 | 9,9995 | 3,5 |

| | N | P2O5 | K2O | MgO | CEa (dS/m) = 2,60 | CEmax = 14,00 | $m^3$/ha = 5533 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Fórmula de abonado | 180 | 60 | 90 | 30 | Fracción de Lixiviación (FL) = 0,09<br>Aumento Abonado por FL = 1,10 | | |
| Fórmula de equilibrio | 3 | 1 | 1,5 | 0,5 | | | |

| Supercie a Fertilizar por Árbol ($m^2$) | Reducción por Supercie Sombreada | CO3Ca (%) | Factor Corrección P2O5 |
|---|---|---|---|
| 18,900 | 1,080 | 50 | 1,1 |

| | | N | K2O | | | N | K2O |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Textura = Franco | Fac. Textura = | 1 | 1 | % Arcilla = 20 | Factor Corrección Arcilla = | 1 | 1 |

| Análisis de hojas | N | P | K | Mg | Análisis de hojas | N | P | K | Mg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Diagnóstico Rango Normalidad | | | | | Diagnóstico (IDS) | 4,00 | 9,00 | -10,00 | 12,00 |
| Coeficiente corrector | | | | | Coeficiente corrector | -0,04 | -0,09 | 0,10 | -0,12 |

*Granado y Bledos o "Salados" (Amaranthus retroflexus) van juntos, lo que da idea de la calidad del agua.*

*Clorosis férrica, característica en los huertos de granados.*

Análisis de agua

| | meq/L | mg/L | UF/ha |
|---|---|---|---|
| NO3 | | 55 | 68,78 |
| P | | | |
| K | 0,50 | 9,775 | 65 |
| Mg | 4,20 | 38,912 | 357 |

| | N | P2O5 | K2O | MgO |
|---|---|---|---|---|
| Formula de Abonado Inicial / ha | 180 | 60 | 90 | 30 |
| Aumento por lixiviación | 18 | 6 | 9 | 3 |
| Reducción por no Plena Producción | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Análisis de tierra | 0 | 6 | 0 | |
| Análisis Foliar | -7 | -5 | 9 | -4 |
| Aportes del agua de riego | -69 | 0 | -65 | -357 |
| Fórmula de Abonado final / ha | 122 | 67 | 43 | -328 |

El Índice de Desviación Estándar (IDS.) es un método estático, propuesto por nosotros con el fin de sustituir al Rango de Normalidad (RN), utilizando para ello los mismos parámetros, es decir la media y la desviación estándar. Y que en el caso del granado son: N=1.55 y 0.21; P=0.13 y0.02; K=0.62 y 0.07; Ca=1.09 y 0.42 y finalmente el Mg=0.33 y 0.04.

Este método se puede calcular mediante una sencilla fórmula y nos permite hacernos una idea del estado nutricional del cultivo (Giménez Montesinos, M. 2006), al tiempo que su comprensión y memorización por parte del técnico que va a interpretar es extremadamente fácil, ya que el rango o índice de normalidad (IDS) se encuentra entre – 10 y +10 para cualquier nutriente y para cualquier cultivo, variedad o combinación variedad/patrón

La fórmula utilizada es:

$$\text{IDS.} = \frac{Valor_{Muestra} - Valor_{Media}}{Desv.Std.} * 10$$

El valor resultante, cambiando su signo, es lo que aumentamos o disminuimos, en la fertilización del nutriente interpretado.

| | N | P2O5 | K2O | MgO |
|---|---|---|---|---|
| Fórmula de Abonado final / ha | 122 | 67 | 43 | -328 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Fertilización Sector (ha) = 9,9995 | 1224 | 667 | 433 | -3279 |

| Mes | % ABONO | N | P2O5 | K2O | Nitrato Amónico 33,5 % | Ácido Fosfórico(75) 54 % | Nitrato Potásico 13-0-46 | N.A. 33,5 % riego | Ácido FOSF. 54% riego | Nitrato Potásico riego |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Enero | | | | | | | | | | |
| Febrero | | | | | | | | | | |
| Marzo | 10 | 122 | 67 | 43 | 329 | 124 | 94 | 25 | 10 | 7 |
| Abril | 15 | 184 | 100 | 65 | 493 | 185 | 141 | 29 | 11 | 8 |
| Mayo | 15 | 184 | 100 | 65 | 493 | 185 | 141 | 22 | 8 | 6 |
| Junio | 15 | 184 | 100 | 65 | 493 | 185 | 141 | 19 | 7 | 5 |
| Julio | 15 | 184 | 100 | 65 | 493 | 185 | 141 | 19 | 7 | 5 |
| Agosto | 15 | 184 | 100 | 65 | 493 | 185 | 141 | 18 | 7 | 5 |
| Septiembre | 10 | 122 | 67 | 43 | 329 | 124 | 94 | 18 | 7 | 5 |
| Octubre | 5 | 61 | 33 | 22 | 164 | 62 | 47 | 13 | 5 | 4 |
| Noviembre | | | | | | | | | | |
| Diciembre | | | | | | | | | | |
| TOTAL | 100 | 1224 | 667 | 433 | 3290 | 1236 | 941 | XX | XXX | XXX |

*Clorosis férrica en grado extremo.*

*Una correcta fertirrigación reduce el agrietado de las granadas.*

## Bibliografía

• Oltra Cámara, M.A., Giménez Montesinos, M. (2004). Manual del Usuario de Fertirrigación 3.0.

• Giménez Montesinos, M. et al. (2006). I Congreso Internacional Uva de Mesa. Novelda. Fundación Rural Caja.

# Índice

**1.** ¿Qué es GlobalGAP (Originariamente EUREP G.A.P)? ..... 51
**2.** ¿Quien exige la certificación GlobalGAP? ..... 52
**3.** ¿Quien realiza las certificaciones? ..... 52
**4.** ¿Quien puede certificarse? ..... 53
**5.** ¿Cada cuanto tiempo hay que certificarse? ..... 54
**6.** ¿Qué incluye la Norma GlobalGAP? ..... 54
**7.** ¿Que es GGN? ..... 56
**8.** Validez del certificado de GLOBALGAP ..... 56

# Certificación GlobalGAP

**María García García**
mariagarcia@anecoop.com
Ingeniero Agrónomo. Responsable Dpto. Calidad y Sistemas Anecoop Murcia.
Anecoop S. Coop

## 1. ¿Qué es GlobalGAP (Originariamente EUREP G.A.P)?

GlobalGap es un organismo privado que establece normas voluntarias a través de las cuales se puede certificar productos agrícolas en todas partes del mundo. El objetivo es establecer una norma UNICA de Buenas Practicas Agrícolas (BPA), aplicable a diferentes productos y capaz de abarcar la globalidad de la producción agrícola.

GlobalGap es una norma a nivel de la explotación, que cubre la certificaciones de todo el proceso de producción del producto, desde antes de que la planta se encuentre en el suelo (origen y puntos de control de semillas) o desde el momento que el animal se incorpora al proceso de producción, hasta el producto final no procesado (no cubre procesamiento, manufacturación o sacrificio).

GlobalGap es un programa y una referencia global para las buenas Prácticas Agrícolas (BPA) que es gestionado por Secretariado de GlobalGAP. La Asociación Global para Buenas Prácticas Agrícolas.

GlobalGap es una asociación paritaria de minoristas y productores agrícolas que desean establecer estándares de certificación y procedimientos para las BPA.

GlobalGap es una herramienta para la relación entre empresas, no es visible directamente por el consumidor final, ya que el uso del logotipo y de la marca registrada de GlobalGAP es restringido.

La norma EurepGAP es relativamente reciente, nace en el año 1997, nace como iniciativa del sector minorista británico junto con cadenas de supermercados de Europa continental, agrupado bajo el nombre EUREPGAP (Euro-Retailer Produce Working Group). Tras el creciente número de productores y minoristas de todas partes del mundo que se han unido a la iniciativa, se decidió el cambio de nombre a GlobalGAP.

GlobalGAP es una norma que está sujeta a revisiones, cada tres años, esto implica un proceso de mejoramiento continuo, incorporando los progresos tecnológicos y las novedades del mercado. En este momento la versión 3.0.

*Foto 1: Logotipo de los miembros de GlobalGAP, Minoristas y distribución.*

Antes de que surgiera GlobalGAP (EUREPGAP) ya había un importante número de sistemas de aseguramiento de explotaciones, que estaban funcionando con éxito, como por ejemplo **NATURANE** (Sistema aseguramiento de procesos de Anecoop y primer sistema homologado por GlobalGAP), por lo se habilitó una vía de homologación de sistemas (benchmarking), los sistemas que superan el análisis comparativo, son totalmente reconocidos como equivalentes a GlobalGAP. Gran parte de cooperativas socias de Anecoop se certifican por sistema NATURANE.

## 2. ¿Quien exige la certificación GlobalGAP?

Todos los clientes /cadenas importantes exigen producto certificado GlogalGAP. Prácticamente no queda hueco para la venta de producto no certificado.

## 3. ¿Quien realiza las certificaciones?

La certificación es realizada por más de 100 organismos de certificación independientes y acreditados, en más de 80 países.

Los OCs aprobados por GLOBALGAP (EUREPGAP) han de estar **acreditados** según EN 45011 o la Guía ISO/IEC 65 por un Organismo de Acreditación (OC) **para el ámbito(s) relevante** o el **ámbito(s) relevante del programa equivalente.** Los OCs aprobados deben atenerse a las reglas de GLOBALGAP (EUREPGAP) y haber firmado un Acuerdo de Certificación y Licencia con GLOBALGAP

Cada OC establece su propia estructura de tarifas que explicará en detalle a los posibles clientes y que debería especificar las tarifas relevantes de GLOBALGAP.

*Foto 2: Logotipo de los miembros de GlobalGAP, Proveedores.*

## 4. ¿Quien puede certificarse?

Cualquier **productor*** de productos agrícolas básicos cubiertos por la norma de Aseguramiento Integrado de Fincas, podrá solicitar la certificación GLOBALGAP (EUREPGAP) a través de un Organismo de Certificación aprobado por GLOBALGAP (EUREPGAP).

** El término "productor" hace referencia tanto a los productores individuales como a los grupos de productores.*

En el marco de la certificación GLOBALGAP (EUREPGAP), el término "productores" se define así:

Una persona (individuo) o sociedad (unipersonal o grupo de productores) que representa a la producción de productos importantes para el ámbito (Cultivos, Animales o Acuicultura) y que tiene la responsabilidad legal de los productos vendidos por esa empresa agropecuaria.

### Versión en Vigor

Actualmente la versión en vigor es V3.1 Nov09.

La versión aplicable a partir de enero 2011 es la V4.0, cuyo primer esbozo se ha presentado en el Congreso celebrado en Londres los días 7 y 8 de Octubre de 2010 (GLOBALGAP SUMMIT 2010). Esta versión es más amplia, ya que ha sido sometida a revisión en todos los continentes donde está implantado el Standard GlobalGAP, el nuevo reglamento ha sido adaptado por los equipos técnicos de trabajo de los distintos países a cada una de las diferentes zonas de actuación, de acuerdo a sus características, bajo el lema " Piensa global, Actúa local".

*Foto 3: Logotipo de los miembros de GlobalGAP, Asociados.*

**Hay varias opciones para certificarse:**

Opción 1: Certificación individual GlobalGap.
Opción 2: Certificación de Grupo GlobalGap
Opción 3: Certificación individual Sistema homologado.
Opción 4: Certificación de Grupo Sistema homologado.

## 5. ¿Cada cuanto tiempo hay que certificarse?

La certificación es anual. Incluye una inspección anual a los productores e inspecciones adicionales no anunciadas.

## 6. ¿Qué incluye la Norma GlobalGAP?

Reglamento General, los puntos de Control Críticos y los Criterios de Cumplimiento GlobalGAP y la Lista de Verificación GlobalGAP.

### 1- Reglamento General:

Se divide en cinco partes, información general, reglas para organismos de certificación, clasificación de grupo de productores (opción 2), análisis comparativo de homologación (benchmarking) (opciones 3 y 4) y reglas para la formación.

### 2- Puntos de Control y Criterios de cumplimiento (PCCC)

Este documento contiene todos los Puntos de Control y Criterios de Cumplimiento (PCCC) que deben ser cumplidos por los productores/ grupo de productores y que deben ser

*Foto 4: Opciones de certificación GlobalGAP.*

auditados para verificar el cumplimiento. El documento se divide en módulos y detalla para cada ámbito y sub-ámbito, los puntos de control, los criterios de cumplimiento y el nivel de cumplimiento requerido para cada punto. El nivel de cumplimiento de los puntos de control puede ser:

- Mayor;
- Menor; o

Recomendación

Ejm: Certificación de una parcela de granado.

Ámbitos (Modulo Base para Cultivos)

Subambito (Frutas y Hortalizas).

### 3- Niveles de cumplimiento

Obligaciones Mayores 100% cumplimiento.

Obligaciones Menores 95% cumplimiento.

Recomendaciones, no existe porcentaje mínimo de cumplimiento.

### 4- Listas de Verificación

Hay tres tipos de listas de verificación:

- Lisita para inspección a los productores.
- Lista de verificación del SGC.
- Lista de verificación para Benchmarking.

## 7. ¿Que es GGN?

Es el Número de GLOBALGAP (GGN), un número único asignado por GLOBALGAP al productor durante su inscripción, que será usado como identificador único para todas las actividades de GLOBALGAP (EUREPGAP).

El Número de GLOBALGAP (GGN) es un número de 13 dígitos que no incluye la Marca Registrada "GLOBALGAP" y es único para cada productor y cualquier otra entidad legal dentro del sistema de GLOBALGAP (EUREPGAP).

Para este número, GLOBALGAP utiliza el Número de Localización Global (GLN) emitido por la organización local de GS1 (www.gs1.org). En su ausencia, GLOBALGAP asigna su propio GLN provisional.

## 8. Validez del certificado de GLOBALGAP

El otorgamiento del certificado está sujeto al cumplimiento por parte del productor de todos los requisitos aplicables establecidos en el Reglamento General.

• El ciclo de la certificación es de 12 meses, sujeto a sanciones y prórrogas según el alcance descrito.

• Un certificado debe ser emitido con un plazo inicial de 12 meses.

• El OC puede acortar el ciclo de la certificación y su validez, y puede prolongarlo, **para un periodo máximo 3 meses para Cultivos**, después de la reaceptación del producto para el cultivo completo siguiente.

# Índice

**1.** Resumen ..... 59
**2.** Abstract ..... 59
**3.** Introdución ..... 60
**4.** Material y métodos ..... 61
**5.** Medidas ..... 62
**6.** Resultados y discusión ..... 62
**7.** Conclusiones ..... 63
**8.** Agradecimientos ..... 64
**9.** Bibliografía ..... 64
**10.** Sobre el autor ..... 64

# Equipamiento y automatización de la programación del riego localizado

**[1,2]Domingo, R., [1]Puerto, P., [1]García, M., [1]De la Rosa, J.Mª., [3]Torres, R., [1,2]Pérez-Pastor, A.**

rafael.domingo@upct.es

[1] Departamento de Producción Vegetal. ETSIA. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Paseo Alfonso XIII 48. 30203 Cartagena.

[2] Unidad Asociada al CSIC de "Horticultura Sostenible en Zonas Áridas" (UPCT-CEBAS), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena, España.

[3] Departamento de Tecnología Electrónica. ETSII, UPCT, Campus de la Muralla s/n 30202 Cartagena

## 1. Resumen

Se describe un sistema de control del estado hídrico de plantaciones frutales, basado en una plataforma informática capaz de realizar en tiempo real el seguimiento del funcionamiento hídrico del árbol, a partir de la lectura continua de las fluctuaciones del diámetro de tronco mediante sensores de desplazamiento lineal (LVDT). El objetivo es establecer el calendario de riegos de forma autónoma a partir de la máxima contracción diaria del diámetro de tronco (MCD). Igualmente, se muestran los primeros resultados agronómicos y fisiológicos derivados del ajuste remoto de las dosis de riego de acuerdo con la intensidad de señal de MCD ($IS_{MCD}$). Nuestros resultados indican que es posible automatizar la programación del riego en base a $IS_{MCD}$, aunque para ello será necesario mejorar el sistema de control, principalmente a nivel de software.

**Palabras clave:** máxima contracción diaria de tronco, programación y automatización, riego deficitario, sensores.

## 2. Abstract

A control system of the water status of the fruit orchards is described based on a computer platform able to do in real time the monitoring of the tree water status from the continuous measurements of the trunk diameter fluctuations by LVDT (Linear Voltage Displacement Transducer) sensors. The aim is to establish an autonomous irrigation schedule from

the maximum daily trunk shrinkage (MDS). In the same way, the first agronomic and physiological results derived from the irrigation amounts adjustment remotely, according to the MDS signal intensity ($SI_{MDS}$) are shown. Our results indicate that it is possible to automate the irrigation schedule based on $SI_{MDS}$. Even though for this it will be necessary to improve mainly the software level.

**Key words:** automatic irrigation scheduling, maximum daily trunk shrinkage, deficit irrigation, LVDT sensors.

## 3. Introducción

La racionalización en el uso del agua es un objetivo cada día más importante para muchos sectores de nuestra sociedad y en particular para el sector agrario, principal demandante de los recursos hídricos disponibles. Una de las técnicas fundamentales para que el agua de riego sea manejada eficientemente es la programación de los riegos, lo que implica disponer de un procedimiento preciso para determinar la frecuencia y dosis de riego. Generalmente, el proceso requiere del registro de variables climáticas y/o de la medida del estado hídrico del suelo y/o de la planta. Ahora bien, independientemente del procedimiento que se elija, la programación va a depender del fin perseguido. Así podrá llevarse a cabo con fines puramente técnicos o de máxima producción por unidad de superficie, lo que implica la satisfacción de la evapotranspiración máxima del cultivo (ETc); económicos o de máxima eficiencia en el uso del agua, de interés en zonas áridas y semiáridas donde el agua es un recurso escaso; y técnicos-económicos cuyo propósito será obtener el máximo beneficio en la aplicación del agua, objetivo de todo empresario agrícola. El gráfico 1 resume las tres estrategias citadas de optimización de los riegos a partir de la curva ($\beta$), que traduce en términos económicos la respuesta de un cultivo al aporte hídrico, y de la relación coste riego-dotación hídrica.

Independientemente del método y criterio de programación elegido, la automatización del sistema de riego va a facilitar la aplicación eficiente del recurso. En los riegos localizados, la automatización por tiempos y por volúmenes ha sido y sigue siendo ampliamente utilizada. En la primera la duración del riego se determina en función de la dosis necesaria, caudal de los emisores y número de emisores planta y está basada en 2 elementos: electroválvulas y programador eléctrico. En la segunda el sistema va midiendo el agua aplicada en cada sector de riego y cuando se alcanza el volumen programado en cada riego se interrumpe automáticamente el paso del agua. En ésta los elementos clave son: contadores de agua dotados de sistema de transmisión de datos, programador de riego y electroválvulas. Un paso adicional en la automatización de la programación lo constituyen los sistemas autónomos. En este caso el usuario define una estrategia general de control en base a una o más variables de clima, suelo y/o planta y el sistema elabora y ejecuta las decisiones: momento y cantidad de agua a aportar en cada riego. El sistema debe mantener una comunicación permanente de los sensores con el controlador y del controlador con los actuadores. De modo que los sensores adquieren los datos del estado del sistema monitorizado (p. ej. tensión del agua en el suelo), son o no tratados y a continuación comparados con estado de referencia (valores consigna absolutos o normalizados) tras lo cual se elabora una decisión y, en su

caso, una actuación. Existen diversos tipos de controladores de acuerdo con las decisiones en las qué se basan. Estas pueden derivar de: i) medidas directas a partir de sensores (de contenido o potencial matricial del agua en el suelo, diámetro de tronco o fruto, flujo de savia, temperatura foliar o de copa por infrarrojos, evaporación en tanque evaporimétrico, etc) que indican directamente la necesidad o no de regar, ii) medidas indirectas, calculando las necesidades hídricas de las plantas a partir de parámetros climáticos medidos en estaciones meteorológicas automatizadas y considerando la capacidad de almacenamiento de agua del suelo y nivel de agotamiento permisible, y iii) una combinación de los anteriores. En los sistemas automatizados que emplean ordenador una componente fundamental son los programas utilizados para la toma de decisiones, lo que precisa investigación (Tarjuelo et al., 1995).

De los registros realizados por sensores del tipo LVDT colocados en tronco se puede obtener fácilmente MCD (Ortuño et al., 2010), indicador de estrés hídrico de la planta de gran interés, ya que integra las condiciones del entorno de la planta, clima y suelo. Goldhamer y Fereres (2001) fueron los primeros en indicar la gran sensibilidad de MCD a la disponibilidad de agua en el suelo y en utilizarla en la programación del riego por goteo como $IS_{MCD}$ ($MCD_{Actual}/MCD_{Referencia}$). Posteriormente, otros autores han comprobado la utilidad de su empleo en diversas especies leñosas (Ortuño et al., 2010). $MCD_{Referencia}$, es el valor MCD de árboles bajo condiciones no limitantes de agua en el suelo y refleja los efectos de la demanda climática en la magnitud de la contracción de tronco, de ahí que no sea práctico utilizar valores absolutos MCD bajo demanda cambiante. $IS_{MCD}$, por tanto, supone un ajuste o normalización de los valores MCD a las condiciones climáticas reinantes. El criterio de programación es mantener $IS_{MCD}$ lo más próximo posible a un valor establecido para cada fase fenológica, el que va a depende del criterio de programación elegido. Valores $IS_{MCD}$ superiores a 1 indican estrés, iguales a 1 ausencia de estrés e inferiores a 1 pueden indicar déficit hídrico severo por agotamiento de las capacitancias hídricas del tronco.

El objetivo principal de este trabajo es presentar un protocolo para la programación remota del riego localizado en base a la intensidad de señal de la máxima contracción diaria del diámetro de tronco ($IS_{MCD}$) como paso previo a la programación autónoma a partir de sensores LVDT.

## 4. Material y métodos

Condiciones experimentales. El ensayo se realizó durante el periodo 2009-2010 en una plantación de almendros (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb) 'Guara' sobre GF 677, situada en el término de Mazarrón (Murcia). Los árboles de 15 años de edad y marco de plantación de 6 m x 6 m se regaron por goteo a partir de único lateral por hilera de árboles y 6 goteros de 8 L $h^{-1}$ árbol$^{-1}$. El agua de riego procedente de desaladora mantuvo una conductividad eléctrica de 1,24 dS $m^{-1}$ y pH de 7,8. El suelo es franco-arcillo-arenoso, profundo y presenta un contenido de agua útil de 150 mm $m^{-1}$ y una densidad aparente de 1,47 g $cm^{-3}$. El clima de la zona es tipo mediterráneo semiárido con una evapotranspiración de referencia ($ET_0$) y lluvias anuales en torno a 1300 mm y 250 mm, respectivamente (Servicio de Información Agraria de Murcia; http://siam.imida.es).

Se ensayaron dos tratamientos de riego de acuerdo a un diseño experimental de bloques al azar, con 3 repeticiones por tratamiento de 3 filas de 11 árboles cada una. Estos fueron: i) Control (CTL), regado al 120% ETc al objeto de satisfacer las necesidades máximas de agua del cultivo durante todo el periodo de riego, y ii) Riego deficitario controlado (RDC), programado para satisfacer una $IS_{MCD}$ de 1,0 – 3,2 – 1,0 durante las fases II+III – IV –V, respectivamente. Las dosis de riego se ajustaron cada 2-3 días, de modo que cuando la intensidad de señal era superior a la deseada durante al menos dos días consecutivos se incrementaban la dosis de riego en un 5-10% y se reducían de forma análoga cuando $IS_{MCD}$ disminuía respecto al valor deseado (Goldhamer y Fereres, 2001). Para el ajuste remoto de las dosis de riego se utilizó una plataforma informática consistente en: i) unidad de almacenamiento de datos compuesta por un datalogger Campbell CR1000 con multiplexor AM25T, ii) unidad de tratamiento y comunicación sustentada en un computador específico para ambientes agresivos, comunicado al datalogger mediante un puerto de comunicaciones con booster y, a su vez, con un sistema inalámbrico de comunicación ADSL basado en una red de puntos de acceso y iii) unidad de riego compuesta por un programa para el manejo de los componentes del cabezal de riego: bomba de impulsión, bomba de abonado y electroválvulas, además de dispositivos auxiliares (un mayor detalle de la arquitectura del sistema se encuentra en Torres *et al*., 2010).

## 5. Medidas

Se controló en tiempo real el potencial matricial del agua en el suelo ($\Psi_m$) a partir de 6 sensores por tratamiento de matriz granular (mod. 253, Watermark 200, Campbell Scientific, INC), situados en la proyección de la copa, a 33 cm del gotero y a 35 cm de profundidad. El potencial de tallo a mediodía ($\Psi_t$) se midió semanalmente con cámara de presión (SAM. Precis 2000, Francia), en 6 hojas por tratamiento, cubiertas con bolsa de aluminio 2 horas antes de la medida. En idéntico número de hojas se midió la conductancia estomática al vapor de agua (gs, mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) a saturación de luz, con un medidor portátil de intercambio gaseoso CIRAS 2 (PP Systems, Hitchin, Hertfordshire, UK). Las fluctuaciones del diámetro de tronco se obtuvieron a partir de 6 sensores LVDT (Solartron Metrology, Bognor Regis, UK - con una resolución de ± 2500 mV) por tratamiento, colocados en la cara norte del tronco y a 40 cm del suelo mediante portasensores de material invar. Los sensores LVDT conectados a un CR1000 con multiplexor AM25T, Campbell Scientific, UK tomaban medidas cada 10 s y almacenaba su valor medio cada 15 min. A partir de estos valores se obtuvo MCD como diferencia entre el máximo y mínimo diámetro de tronco diario. La producción de almendra se determinó a finales de julio – principios de agosto, de forma individual, a partir de 3 árboles por repetición (n = 9).

## 6. Resultados y Discusión

El gráfico 2 muestra la evolución de $\Psi_m$ a 35cm de profundidad durante 2009 y refleja la influencia del régimen de riego en el estado energético del agua en el suelo. Mientras que el tratamiento CTL mantuvo valores propios de capacidad de campo (≈-20 kPa) durante todo el periodo de riegos, RDC alcanzó valores inferiores a -100 kPa en la fase de aplicación del

déficit hídrico. Estos bajos valores unidos a un porcentaje de suelo mojado inferior al 30% indujeron, en ambos años de estudio, estrés hídrico a nivel de planta (Gráfico 3), con diferencias máximas de $\Psi_t$ respecto de CTL de 1,5 MPa. Al igual que para $\Psi_m$, CTL presentó valores $\Psi_t$ característicos de árboles bien regados y significativamente diferentes a los de RDC durante la fase IV, respuesta esperable si se tiene en cuenta el manejo de riego realizado. La gradual y ligera disminución de $\Psi_t$ al principio de la fase IV tras el cambio de $IS_{MCD}$ a 3.2 pudo deberse a la reserva inicial de agua en el suelo y a la posterior regulación estomática. Así en el gráfico 4, se puede observar como los valores $g_s$ fueron similares en ambos tratamientos durante las fases II+III e incluso al inicio de la fase IV, y como a la tercera semana de programación a $IS_{MCD}$ = 3.2 se produce un aumento pronunciado y constante en la regulación estomática en RDC, hasta alcanzar niveles de $g_s$ indicativos de árboles con estrés hídrico severo (Egea, 2008). Estos valores de $g_s$ están en consonancia con los de $\Psi_t$ (Figura 3), los que igualmente alcanzan a mediados de la fase IV niveles de estrés severo (Shakel et al., 1997).

El gráfico 5 recoge la evolución de $IS_{MCD}$ a lo largo de la campaña de riegos, volumen de riego acumulado en ambos tratamientos y distribución de lluvias. De ella se desprende que los mejores ajustes a $IS_{MCD}$ deseada se obtuvieron cuando se programo para satisfacer $IS_{MCD}$ =1. Similares niveles de coincidencia fueron informados por Ortuño *et al.* (2010) en limonero. Sin embargo, no fue tan sencillo satisfacer una $IS_{MCD}$ = 3.2. Inicialmente por la contribución de las reservas de agua existentes en el suelo al proceso de evapotranspiración, ya que el suelo viene de una programación $IS_{MCD}$ = 1, y posteriormente por averías y cortes de suministro hídrico, en ocasiones frecuentes en fincas comerciales y en época de alta demanda de agua. En el periodo de supresión del riego (NR), la caída de $IS_{MCD}$ a valores próximos a 1fue posiblemente debida al agotamiento de las capacitancias hídricas del tronco tras un periodo déficit hídrico. El periodo NR vino impuesto por el agricultor-colaborador al objeto de hacer coincidir la recolección de la parcela experimental, más retrasada como consecuencia del mayor volumen de riego aplicado, con el resto de la finca y para evitar daños de descortezado durante la recolección mecánica.

Reducciones en los aportes hídricos del orden del 40% no afectaron durante los dos primeros años a la producción (1630 y 1680 kg grano ha-1 CTL y RDC, respectivamente). Sin embargo, se observo un menor peso unitario del grano y aumento de almendras pelonas en RDC, lo que disminuye ligeramente la calidad de la almendra.

## 7. Conclusiones

Nuestros resultados indican que es posible programar y automatizar el riego del almendro en base a ISMCD. Sin embargo, en el estado actual de la técnica se requiere un chequeo frecuente del funcionamiento de los sensores LVDT y formación para analizar e interpretar la intensidad de señal MCD. Sería conveniente poder contar con sensores más robustos y mejorar el sistema de control a nivel de software, de modo que pudiera ayudar al técnico a mantener la intensidad de señal deseada de forma prácticamente autónoma.

## 8. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, MICINN, (AGL2007-66279-C03-03/AGR) y Fundación Séneca, Murcia (08845/PI/08). Pablo Puerto recibió una ayuda del subprograma FPI del MICINN.

## 9. Bibliografía


- Egea, G., 2008. Tesis Doctoral. UPCT, 136pp
- Goldhamer, D.A. y Fereres, E. 2001. Irrigation Science, 20 (3): 115-125.
- Ortuño, M. F. et al., 2010. Agricultural Water Management 97: 1-11.
- Shackel, K.A. et al. 1997. HortTechnology (7):23-29. 1998).
- Tarjuelo, J.M. 1995. El riego por aspersión y su tecnología. Mundi-Prensa, Madrid.
- Torres et al., 2010. Automática e instrumentación. Nº 419: 78-83.

## 10. Sobre el autor

**Rafael Domingo**

Departamento de Producción Vegetal. ETSIA. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Paseo Alfonso XIII 48. 30203 Cartagena.

rafael.domingo@upct.es

**Gráfico 1:**

Curva ingresos brutos-dotación hídrica. El punto **A** representa la máxima producción por ha; **B** la máxima producción por m³ de agua y **C** el máximo beneficio en la aplicación del agua.

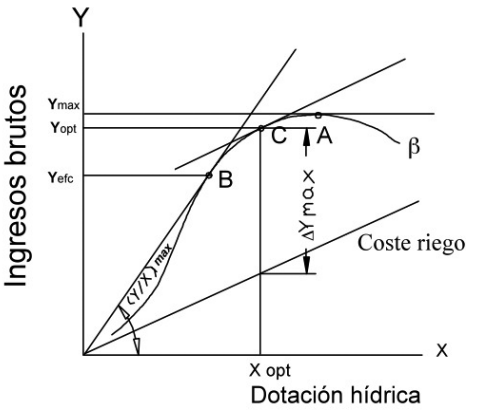


**Gráfico 2:**

Evolución del potencial matricial del agua en el suelo a 35 cm de profundidad durante 2009. Cada punto es la media de 6 sensores. Las líneas verticales de puntos delimitan el periodo de supresión del riego y las discontinuas separan las fases del ciclo del almendro. Los asteriscos indican diferencias significativas según el test de Rango Múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

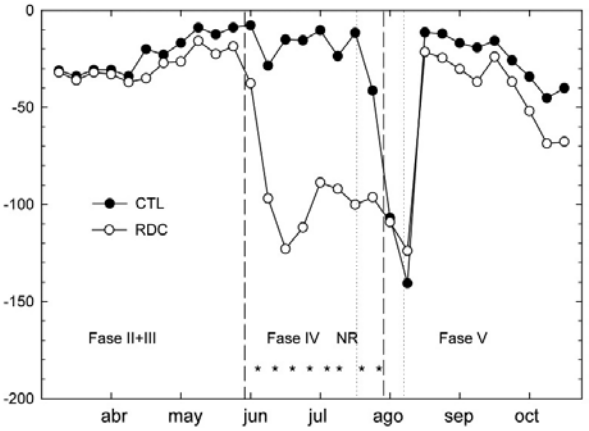
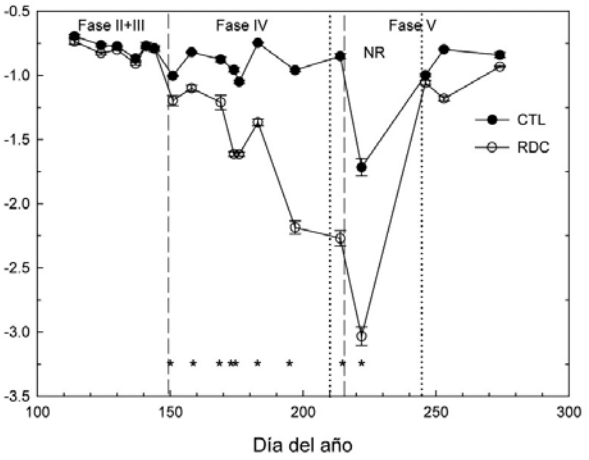


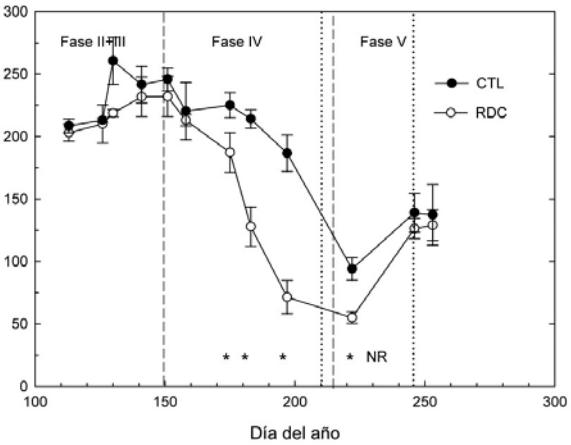

**Gráfico 3:**

Evolución del potencial de tallo a mediodía en 2010. Las barras verticales representan el error estándar de la media. Las líneas verticales de puntos delimitan el periodo de supresión del riego y las discontinuas separan las fases del ciclo del almendro. Los asteriscos indican diferencias significativas según el test de Rango Múltiple de Duncan ($p < 0,05$).



## Gráfico 4:

Evolución de la conductancia estomática en 2010. Las barras verticales representan el error estándar de la media. Las líneas verticales de puntos delimitan el periodo de supresión del riego y las discontinuas separan las fases del ciclo del almendro. Los asteriscos indican diferencias significativas según el test de Rango Múltiple de Duncan ($p < 0,05$).




## Gráfico 5:

Evolución diaria de la $IS_{MCD}$ durante la estación de riegos de 2010. Las líneas horizontales de trazo discontinuo indican el valor de $IS_{MCD}$ deseado para cada fase (1.0-3.2-1.0). Las curvas de trazo continuo (CTL) y de puntos (RDC) representan el volumen de riego acumulado. Líneas verticales discontinuas delimitan el periodo de supresión del riego (NR).

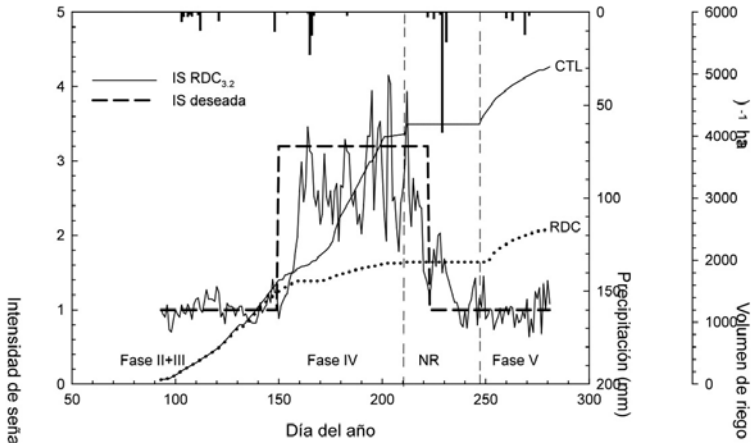
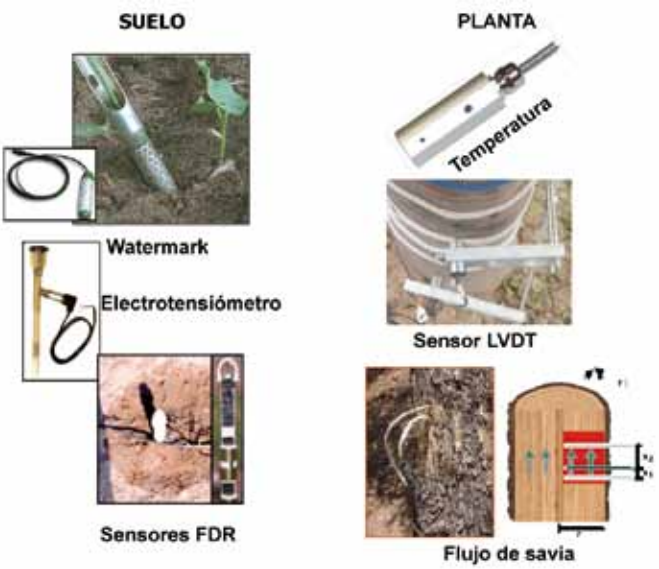


*Ilustración representativa del sistema de comunicación permanente entre sensores -controlador – actuadores.*




*Conjunto de sensores de suelo y planta de interés en la programación de los riegos.*

# Índice

**1.** Resumen ..... 69
**2.** Abstract ..... 69
**3.** Introducción ..... 70
**4.** Objetivos ..... 71
**5.** Materiales y métodos ..... 72
**6.** Resultados ..... 73
**7.** Conclusiones ..... 74
**8.** Referencias Bibliografícas ..... 75

# Proyecto integral del granado: resultados en fertirrigación

**J. Bartual[1], F. Pomares[2], L. Bonet[3], E. Nicolás[4], P. Ferrer[3], J.J. Alarcón[4], B. Perez[5], L. Palou[5] y D.S. Intrigliolo[2]**

[1] Estación Experimental Agraria de Elche (IVIA)
[2] Centro para el Desarrollo de Agricultura Sostenible (IVIA)
[3] Servicio de Tecnología del Riego (IVIA)
[4] Departamento de Riego (CEBAS-CSIC)
[5] Centro de Tecnología Postcosecha (IVIA)

## 1. Resumen

Este artículo muestra las actividades que se desarrollan dentro del Proyecto Integral del Granado financiado por la Consellería de Agricultura de la Generalitat Valenciana en materia de fertirrigación. El objetivo principal es optimizar el uso de agua y fertilizantes en este cultivo. Se pretende pues determinar los balances hídricos y nutricionales óptimos a fin de realizar una recomendación de riego y abonado basada en criterios de sostenibilidad. Se está evaluando además la eficacia del riego deficitario controlado como técnica a emplear en caso de escasez de recursos hídricos. La efectividad de las recomendaciones de riego y abonado se fundamentan, no sólo sobre la respuesta productiva del cultivo, sino también sobre aspectos relacionados con la calidad de la granada tanto en el momento de la recolección como después de un periodo de almacenamiento en frío.

## 2. Abstract

This paper reports some of the on-going activities funded by the "Proyecto Integral Granado" from the Consellería de Agricultura. Special emphasis is given to the experiments in course related with the nutritional and water balances of pomegranate orchards. The aim is to provide growers with fertigation programs that will optimise the use of water and fertilizers. In addition, the usefulness of the regulated deficit irrigation technique as a tool for scheduling irrigation in case of water scarcity will be also assessed. Both, yield components and fruit composition parameters at harvest and post-harvest, are taken into account for designing optimum irrigation and fertilization programs.

## 3. Introducción

En el marco del Proyecto Integral del Granado (2009-2011) financiado por la Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación se ha planteado avanzar en el conocimiento de los principales factores productivos del granado en pre y posrecolección como la selección y mejora del material vegetal, el control de plagas, el manejo de la fertirrigación, la conservación durante la poscosecha o la industrialización. En este trabajo se presentan los objetivos y primeros resultados de este proyecto sobre las necesidades hídricas y nutricionales del granado.

El cultivo del granado es localmente importante en el Sureste español, especialmente en la provincia de Alicante, donde se obtiene el 80% de la producción española. Las inversiones realizadas en infraestructuras hídricas en la Comunitat Valenciana facilitarán en el cultivo de granado la sustitución del riego por inundación por el riego localizado casi en su totalidad. Sin duda alguna, estas obras permitirán un uso más racional del agua de riego y de los fertilizantes. Sin embargo, el empleo del riego por goteo por sí solo no garantiza al agricultor un uso eficiente de estos inputs. Para ello, se deben además ajustar la dosis de riego y fertilizantes a emplear a las necesidades reales del cultivo. Es obvio además que en los climas semiáridos donde se localiza el cultivo del granado, un buen manejo en particular del riego es el factor que más puede influir sobre la productividad de los árboles y también sobre la calidad y su relación con el rajado de la fruta, uno de los principales problemas de este cultivo.

El granado (*Punica granatum* L.) está incluido dentro de las especies tolerantes a la sequía, bien adaptado a las condiciones de las regiones áridas y semiáridas, donde el uso de agua de baja calidad es habitual en la agricultura. En el caso del granado, es escasa la investigación llevada a cabo sobre las necesidades de riego y la respuesta fisiológica y productiva del árbol ante el estrés hídrico o aspectos nutricionales. En Israel en condiciones normales se aplican anualmente entre 5.000 y 6000 $m^3$ $ha^{-1}$, aunque puede llegar a los 12.000 $m^3$ $ha^{-1}$ en zonas desérticas; y se realizan aportaciones anuales por ha de 200 Kg de N, 60 Kg de $P_2O5$ y 250 Kg de $K_2O$ (Holland et al, 2009).

### Riego

En estos momentos en la Comunidad Valenciana, por lo que respecta al granado, lo usual es realizar el riego basados exclusivamente en la experiencia del agricultor. En general, no se recurre a las distintas herramientas disponibles y fácilmente accesibles para aplicar un mínimo criterio técnico al cálculo de las dosis y frecuencia de los riegos, como por ejemplo los relacionados con las condiciones meteorológicas de la zona y las características del cultivo en cada momento. El sistema basado en el coeficiente de cultivo (Kc) y en la evapotranspiración está condicionado por el clima, variedad, o estadio fisiológico de la planta. Las mediciones del estado hídrico de la planta mediante la cámara de presión o los dendrómetros y del agua disponible en el suelo mediante sondas capacitivas multisensor pueden aportar una información complementaria a fin de ajustar la dosis de riego a las necesidades hídricas de los cultivos. Por otro lado, las medidas de intercambio de gases en hojas permite determinar la fotosíntesis neta y la conductancia estomática. El cociente entre éstos define la eficiencia intrínseca en el uso de agua a escala foliar.

Adicionalmente, es importante conocer la respuesta del cultivo a las restricciones del riego. En este sentido el riego deficitario controlado (RDC) es una estrategia de manejo del riego que permite puede aumentar la eficiencia en el uso del agua y que se ha ensayado y utilizado en un gran número de especies frutales (Naor et al. 2006). Se basa en la reducción de los aportes hídricos en determinados momentos del ciclo de cultivo, en los que una disminución del agua aportada no afecta sensiblemente a la producción, cubriendo plenamente la demanda durante el resto del ciclo de cultivo. Además, es esperable que en función del periodo fenológico en el que se lleven a cabo las restricciones, el riego deficitario pueda mejorar la calidad de la fruta, aumentando los sólidos solubles totales y la concentración de antocianos de los frutos. Dada la tradicional escasez de los recursos de agua de la zona, podría ser ésta una estrategia de riego de gran utilidad para optimizar el agua disponible para riego. Sin embargo, en el cultivo del granado no se han realizado hasta la fecha ensayos de RDC y por tanto se desconoce totalmente cuál puede ser el periodo más adecuado para restringir los aportes hídricos, ni los niveles de restricción hídrica que pueden aplicarse.

### Fertilización

Existen escasas referencias sobre las necesidades nutritivas del granado, aunque en la zona de cultivo de la provincia de Alicante se considera que tiene necesidades similares a los cítricos. Las prácticas habituales que realiza el productor en árboles adultos son aportaciones medias en elementos fertilizantes en equilibrio de 1,5 - 1 - 2,5 en abonos tradicionales, ya que hasta hace unos diez años el 80% del cultivo se regaba por inundación. Por otro lado, se suelen realizar aportaciones de quelatos de hierro dos veces al año en el caso de tener suelos con elevado contenido en caliza activa y salinidad. Debe considerarse que un exceso de abonado nitrogenado puede tener una relación directa con el rajado de frutos antes de la época de madurez. Asimismo, las excesivas o tardías aplicaciones de N pueden demorar la época de madurez del fruto, causar un incremento del crecimiento vegetativo reduciendo al año siguiente la producción, así como disminuir el color del mismo. El potasio parece que ejerce un efecto favorable sobre el rajado de los frutos, quizás debido a que este elemento influye tanto en el mecanismo de apertura y cierre de estomas como por dar una mayor flexibilidad a la piel del fruto. La fertirrigación tiene una considerable repercusión tanto en el rendimiento cuantitativo como en la calidad organoléptica y nutricional de los frutos, aunque no debemos olvidar que presenta un potencial importante de riesgo de contaminación de los acuíferos por nitratos, sin olvidar su importante contribución en los costes de cultivo.

## 4. Objetivos

Los objetivos abordados en este proyecto son cuantificar las necesidades hídricas y nutricionales del granado a lo largo de todo su ciclo fenológico, con el fin de proporcionar a los agricultores una información precisa sobre el riego y fertilizantes a aplicar en el cultivo en función de cada periodo fenológico. En una primera fase se consideran por separado los aspectos hídricos y nutricionales de modo que el proyecto inicialmente se divide en dos subproyectos:

**1) <u>Optimizacion del manejo del riego en granado</u>**

Los objetivos perseguidos en este apartado son:

**1.1) Estimar las necesidades hídricas** de la especie y desarrollar una programación del riego basada en la evapotranspiración de referencia (ETo) y el coeficiente de cultivo (Kc).

**1.2) Evaluar la posibilidad de aplicar la técnica del riego deficitario controlado.** Para ello es necesario determinar el periodo fenológico y el grado de estrés hídrico a imponer a la planta, con el fin de aumentar la eficiencia del uso del agua (producción de fruta/agua de riego empleada).

**1.3) Evaluar los efectos del riego sobre la producción, calidad de la fruta, composición y fisiopatías.**

**2) <u>Influencia de la fertilización sobre la producción y calidad de la granada</u>**

Los objetivos que se pretende alcanzar son los siguientes:

**2.1) Evaluar el estado de fertilidad de los suelos** del granado sobre la base de observaciones *in situ* y muestreos sistemáticos con las subsiguientes determinaciones de los parámetros químicos, físico-químicos y biológicos determinantes de su calidad agronómica

**2.2) Determinar las pautas racionales de fertilización nitrogenada, fosforada y potásica**, que permita una nutrición equilibrada, capaz de lograr un rendimiento adecuado de frutos de calidad óptima, tanto desde el punto de vista organoléptico y nutricional como para su conservación.

**2.3) Evaluar la necesidad y eficacia de posibles correctores nutricionales**, aplicados vía foliar o a través del sistema de riego, con vistas a la mejora nutricional y/o la conservación de los frutos.

## 5. Materiales y métodos

### Riego

Los ensayos sobre riego se realizan en una parcela comercial de árboles adultos a un marco de plantación de 5x4 m de la variedad Mollar en Elche. La parcela permite ensayar 5 dosis de riego en un diseño estadístico de 4 repeticiones al azar, con un total de 20 parcelas experimentales. Los tratamientos de riego son: **T1 (Testigo):** que pretende cubrir con el riego el 100% de las necesidades hídricas del cultivo (ETc) durante todo el periodo; **T2:** 50% ETc durante todo el año; **T3:** 100% ETc todo el año, excepto durante la fase de floración y cuajado (Fase I); **T4:** 100% ETc todo el año, excepto durante la primera fase lineal de crecimiento del fruto, (Fase II) y **T5:** 100% ETc todo el año, excepto durante la última fase del crecimiento y maduración del fruto (Fase III). Inicialmente se aplicarán los coeficientes de cultivo obtenidos por Banthana y Lazarovittch (2010) que se están ajustando sobre las bases de las determinaciones del estado hídrico del suelo y de la planta que se realizan en la misma parcela. Las condiciones meteorológicas son registradas por una estación meteorológica automatizada. Semanalmente se determina el estado hídrico de los árboles (medida de potencial de tallo medido con la cámara a presión) y el crecimiento de los frutos. Además, durante esta campaña 2010 se dispone de sondas capacitivas multisensor para la medida de la humedad del suelo. Mensualmente se realizan medidas de intercambio gaseoso en el mediodía solar.

**Efectos del riego sobre la producción, calidad de la fruta, composición y fisiopatías.** En todos los casos la conveniencia de cada una de las estrategias de riego se basará en la respuesta productiva de los árboles al riego deficitario, y además se hará especial hincapié en la calidad de la fruta así como en el posible efecto del riego deficitario sobre la acumulación de compuestos químicos con propiedades antioxidantes (antocianos). Se ha realizado durante el primer año una evaluación con fruta de la primera cosecha (primera calidad) que se pone en frío (5ºC y 90% HR) durante distintos períodos de conservación.

### Fertilización

En primer lugar se pretende obtener información sobre las prácticas agronómicas habituales a través de encuestas a los agricultores sobre el manejo realizado del cultivo (abonado, aplicaciones fitosanitarias, herbicidas, etc.) en las campañas objeto de estudio.

**- Estudio de la fertilidad de los suelos y del estado nutritivo del cultivo.** Se han seleccionado parcelas de granado en las que se realiza, durante al menos dos años análisis de agua, muestreo de suelo y muestreo foliar en el mes de julio. En ocho parcelas se realiza un muestreo foliar mensual, con el fin de ver la evolución de los nutrientes.

**- Estudio de las extracciones de nutrientes.** Se han seleccionado 8 parcelas en las que se lleva a cabo el conteo del número total de hojas, flores (plena floración) y frutos en 8 árboles por parcela, muestreo de flores, muestreo de frutos caídos, seguimiento del desarrollo de las hojas, midiendo mensualmente en 60 hojas su peso, longitud y anchura, pesado, secado y muestreo de la poda en verde, marcado de 32 frutos por parcela (4 por árbol) y seguimiento del desarrollo del fruto mediante la determinación mensual del diámetro del fruto, muestreo mensual de frutos, muestreo de frutos en la recolección, muestreo de hojas del suelo para su análisis, pesado, secado y muestreo, para análisis, de la madera de poda separando tres grupos: madera de un año, dos años y tres o más años.

**- Comprobación de los resultados obtenidos.** Ensayos de fertilización. Se plantean ensayos de fertilización diferencial, sobre diferentes elementos fertilizantes, para comprobación-corrección de los resultados obtenidos relacionarlos con el tipo de suelo y sus valores, el abonado y el contenido foliar. En parcelas representativas del cultivo del granado se implantan ensayos comparativos de varias dosis de fertilización nitrogenada, fosforada y potásica, incluyendo un amplio rango de suministro de nutrientes.

## 6. Resultados

### Riego

Se dispone en la actualidad de los resultados de la campaña 2009 ya que la fruta de la campaña 2010 no ha sido aun cosechada. Los resultados obtenidos hasta la fecha han permitido obtener una primera pauta preliminar sobre el manejo óptimo del riego en el cultivo del granado basado en la ETo y Kc. Entre Abril y Junio, coincidiendo con el desarrollo vegetativo del árbol, se aconseja utilizar unos Kc de 0.25 y 0.60. Los valores máximos del Kc, cercanos 0.75, se deberían aplicar en septiembre y octubre. En las campañas 2010 y 2011 se pretende ajustar y validar dichos Kc propuestos mediante la información procedente de las

sondas de capacitancia (Gráfico 1) y los datos de potencial de tallo para ajustar la dosis de riego a las necesidades reales.

En cuanto a la respuesta al RDC, antes de poder realizar recomendaciones, es necesario disponer de varios años de estudio. Sin embargo, se puede adelantar que los resultados preliminares han mostrado que las restricciones severas del riego durante las fases I y II (floración-cuajado) y (fase lineal del crecimiento del fruto) han permitido reducciones en los aportes del riego entorno a un 18% sin repercutir negativamente sobre la producción ni el tamaño final de la fruta (Tabla 1). Así pues, el fruto de los tratamientos T3 y T4 fueron capaces de experimentar un crecimiento compensatorio tras la finalización de las restricciones hídricas (Gráfico 2). Es importante destacar que los resultamos mostrados en la Gráfico 2 aportan información fundamental acerca de la pauta del crecimiento del fruto en condiciones de no restricción hídrica. Así pues, los resultados que se espera obtener en este ensayo permitirán también profundizar sobre el comportamiento general del cultivo (floración, cuajado, caída de frutos) en condiciones de manejo optimo, hecho muy importante para un cultivo en el cual se desconocen muchos de estos aspectos. Tras una conservación de 8 semanas a 5ºC y 90% HR no se encontraron diferencias significativas de pérdida de peso entre los distintos tratamientos (medias del 10-11%). No obstante, cuando la frigoconservación se prolongó hasta 15 semanas, los frutos de los tratamientos T2 y T5 perdieron menos peso que los del resto de tratamientos.

### Fertilización

Se ha caracterizado una muestra representativa de los suelos en los que se cultiva el granado en Alicante, obteniéndose valores de pH entre 8.1 y 9.3 y valores medios de caliza activa según zonas entre 10.1% y 11.2 %. Se ha realizado las prospección y evolución mensual de los principales macro y oligoelementos en hojas a lo largo del cultivo, encontrándose niveles foliares que difieren significativamente entre plantaciones, principalmente en Zn, Fe y Cu (datos no mostrados). De aplicación práctica para el abonado debe considerase la evolución mensual en macronutrientes en hojas, donde por ejemplo entre julio y agosto los niveles foliares en potasio (Gráfico 3) disminuyen un 22% de media.

## 7. Conclusiones

A través de la página web del IVIA, se pondrá a disposición de agricultores y técnicos los resultados procedentes de las experiencias de riego llevadas a cabo en el marco del Proyecto Integral de Granado. Mediante el programa gratuito PARLoc (Programa de Asesoramiento en Riego Localizado) se facilitará a los usuarios el cálculo de las necesidades de riego semanales del granado acordes con las características del cultivo y la influencia atmosférica de cada momento.

Como resultado del estudio nutricional en granado se ofrecerá al agricultor un patrón de fertilización en las condiciones de clima y suelo de la zona que proporcione un fruto de calidad óptima. El proyecto una vez finalizado, definirá un programa de fertirrigación en función de las necesidades hídricas, análisis de hojas y frutos que se suministrará en soporte informático.

## 8. Referencias bibliográficas


• Bhantana, N., Lazarovitch, N., 2010. Evapotranspiration, crop coefficient and growth of two young pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties under salt stress. Agr. Wat Manag. 97, 715-722.

• Holland, D., Hatib, K., Bar-Yàakov, I., 2009. Pomegrante: botany, horticulture and breeding. Hort. Rev 35, 127-191.

• Naor, A., 2006. Irrigation scheduling and evaluation of tree water status in deciduous orchards. Hort Rev 32:111-166.


**Tabla 1:**

Resumen de los resultados de producción y comportamiento en poscosecha del ensayo de riego deficitario. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos a P<0.05 tras test de Duncan.

| Tratamientos | Riego aplicado (mm) | Cosecha (kg/árbol)[a] | # frutos recolectados | P. medio fruto (g) | Pérdida de peso (%)[b] |
|---|---|---|---|---|---|
| T1 (Control) | 425 | 41.0a | 109b | 352a | 18.2a |
| T2 | 223 | 39.0a | 142a | 295b | 15.3c |
| T3 | 350 | 38.7a | 120ab | 323ab | 17.7ab |
| T4 | 351 | 37.5a | 118ab | 334ab | 16.1bc |
| T5 | 357 | 28.5b | 79c | 361a | 15.2c |

[a] *Producción comercial, no incluye frutos rajados o pequeños*

[b] *Tras 15 semanas de conservación frigorífica a 5ºC y 90% HR*

**Gráfico 1:**

Evolución del contenido de humedad en el suelo obtenido por la sondas capacitivas desde el 13/08/10 al 9/9/10 en el tratamiento control (T1). La línea amarilla corresponde a los sensores localizados en la zona de concentración de raíces (10+30+50 cm), la línea roja corresponde al contenido de humedad en la zona de drenaje (70 cm).

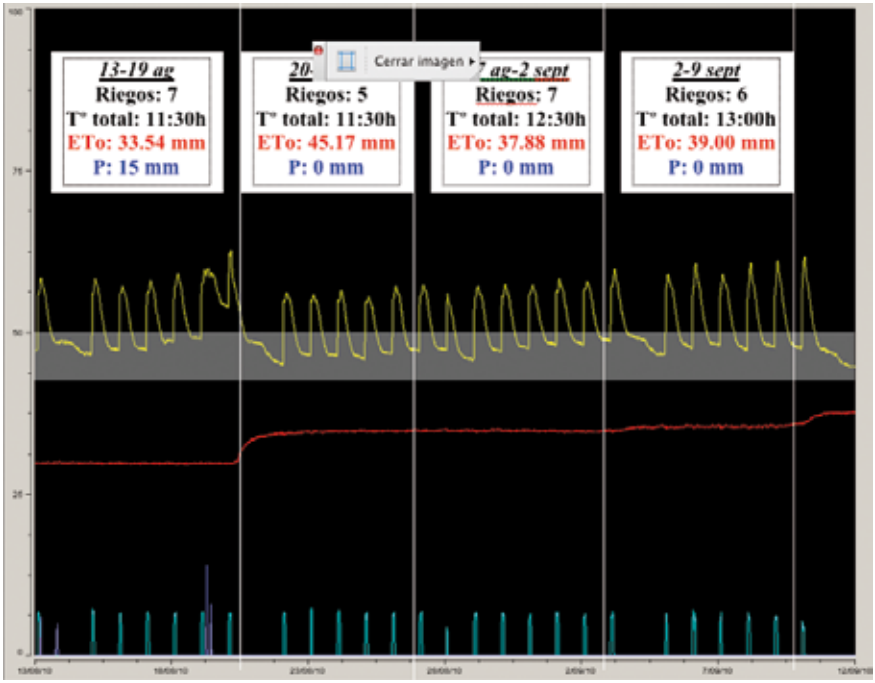


**Gráfico 2:**

Pauta estacional del diámetro del fruto en los distintos tratamientos de riego. Los valores mostrados son media de 80 frutos por tratamiento. Las líneas verticales encierran los periodos en los que se aplicaron las restricciones a los distintos tratamientos de RDC.

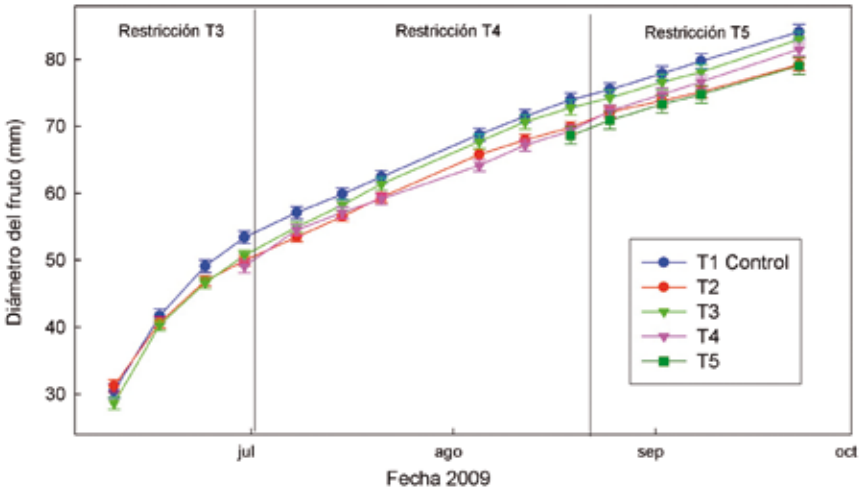
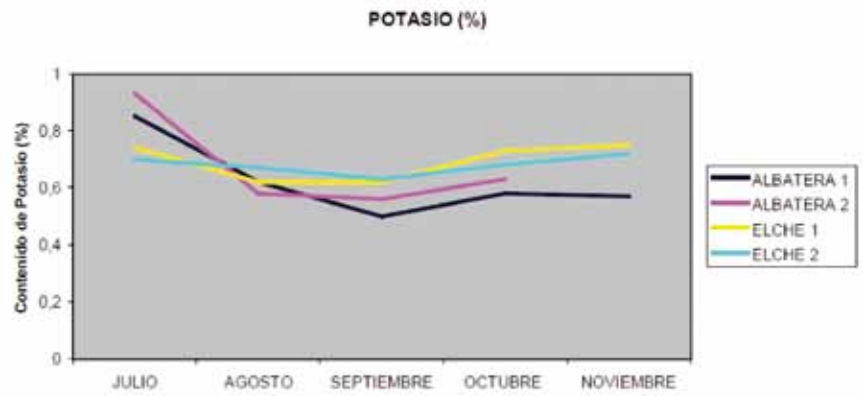



**Gráfico 3:**

Evolución del contenido de potasio en hojas de granado (variedad Mollar de Elche) en cuatro parcelas comerciales (dos en la zona de Elche y otras dos en la zona de Albatera) durante el ciclo de cultivo.



# Compatibilidad floral de cuatro clones de granado

**J.J. Martínez, P. Melgarejo, Fca. Hernández, R. Martínez-Font y P. Legua**
Departamento de Producción Vegetal y Microbiología
Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández)
Ctra. de Beniel, km 3,2. Orihuela (Alicante). España

## 1. Resumen

En el presente estudio se profundiza en las relaciones de compatibilidad polen-pistilo de los clones de granado PTO1, PTO7, CRO1 y ME15. Estos clones proceden de áreas geográficas diferentes, los tres primeros de la provincia de Murcia (España) y el ME15 de la provincia de Alicante (España).

Se han realizado diferentes ensayos con el objeto de determinar las formas dominantes de polinización. Además también se pretende estudiar si dichos clones son o no autocompatibles y en qué medida.

En este trabajo se presentan resultados sobre las relaciones de compatibilidad polen-pistilo, nivel de autopolinización y de polinización cruzada; dentro de esta última se distingue entre polinización entomófila y anemófila.

En los resultados obtenidos es necesario precisar que hay importantes diferencias entre los clones, así como entre el número de flores cuajadas y el número de frutos jóvenes dentro de cada clon. De forma global se obtiene que el porcentaje de autopolinización representa un 82.65% y la polinización cruzada un 17.56% (7.09% de polinización entomófila y un 10.47% de polinización anemófila), estando este resultado de acuerdo con algunos trabajos publicados en los últimos años en granado.

**Palabras clave:** autopolinización, compatibilidad, flores, granado, pistilo, polen, *Punica granatum*.

# Uso del kaolin para disminuir el albardado en granadas

**P. Melgarejo, Fca. Hernández, J.J. Martínez, R. Martínez-Font y P. Legua**
Departamento de Producción Vegetal y Microbiología
Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández)
Ctra. de Beniel, km 3,2. Orihuela (Alicante). España

## 1. Resumen

La aplicación del Kaolin sobre algunos frutales puede resultar de gran interés para conseguir distintos efectos como reducir los tratamientos con funguicidas e insecticidas y para reducir los daños por el golpe de sol.

Con este trabajo se pretende estudiar la posibilidad de reducir o eliminar los daños por el golpe de sol en granadas, fisiopatía conocida en este fruto con el nombre de albardado y que en ocasiones puede producir pérdidas de cosecha de hasta el 40%.

El producto fue aplicado a las dosis de 5 y 2,5%, cubriendo totalmente el árbol y los frutos. El tratamiento consistió en pulverizar las partes indicadas, realizándose 4 aplicaciones durante el desarrollo de los frutos. El producto forma una fina película sobre las hojas y los frutos, dejando sin embargo pasar el $CO_2$ y el $H_2O$, reflejando la luz y reduciendo la temperatura de los frutos tratados y de las hojas.

Como resultado se ha obtenido una reducción de la temperatura en las horas centrales del día en los frutos tratados (momento en el que se producen las quemaduras en los frutos desprotegidos de algún tipo de sombra), así como en el número de frutos albardados, ya que la película de Kaolin reduce el efecto negativo de las altas temperaturas.

**Palabtas clave:** *Punica granatum*, Kaolin, albardado.

# Producción y caracterización morfológica de los frutos de tres clones de granado

**J.J. Martínez, P. Melgarejo, R. Martínez-Font, P. Legua y Fca. Hernández**
Departamento de Producción Vegetal y Microbiología
Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández)
Ctra. de Beniel, km 3,2. Orihuela (Alicante). España

## 1. Resumen

En este trabajo se ha realizado una caracterización morfológica de los frutos de tres clones de granado ME15, PTO4 y PTO7. También se ha estudiado la producción de cada uno de los clones citados. Los pesos medios de los frutos del clon PTO7 son los mayores, seguidos por los de los clones PTO4 y ME15. Se ha encontrado una correlación clara entre la producción de estos árboles y el peso y tamaños medios de sus frutos, de forma que el clon más productivo, con 46.7 Kg/árbol es el ME15 y el menos productivo el PTO4 con sólo 15.41 Kg/árbol.

El clon ME15 presenta frutos de calibre menor que los otros dos, sin embargo esto se debe a que es más productivo, por lo que desde ese punto de vista es el más recomendable. Además, presenta una forma más esférica, lo que puede resultar interesente en cuanto al atractivo visual que puede tener para el consumidor. También presenta un índice de espesor de corteza significativamente mayor que los otros dos clones, lo que puede ser una ventaja para tolerar mejor el proceso de manipulación.

**Palabras clave:** caracterización morfológica, frutos, semillas, granado, *Punica granatum.*

# Índice

**1.** Presentación Bonnysa ..... 85
**2.** Presentación Mercadona ..... 86
**3.** Desarrollo proyecto IV gama ..... 87
**4.** Comercialización de la granada pelada envasada ..... 88
**5.** Recomendaciones en el proceso ..... 88
**6.** Conclusión ..... 90
**7.** Sobre el autor ..... 91

# Comercialización de granos refrigerados en envases

**Rafael Alberola Robles**
BONNYSA AGROALIMENTARIA.
rafaelalberloa@bonnysa.es

## 1. Presentación Bonnysa

• 1956: D. Antonio Bonny crea en Tenerife BONNY, S.A.

• 1964: fallece D. Antonio Bonny, dejando como heredera a su esposa Dña. Sebastiana Manrique de Lara, quien delega la dirección en Nicasio Brotóns.

• 1970: se crea la Fundación benéfico-docente Antonio Bonny-S. Manrique de Lara, a la que la Sra. Bonny cede todo su patrimonio empresarial.

• 1970 - 1990: Al amparo de la FUNDACIÓN se desarrollan empresas agrícolas en las provincias de Alicante, Murcia, Almería y Tenerife; dedicando su actividad a diversos productos hortofrutícolas.

• 1990 - 1998: Se inicia un proceso de especialización en TOMATE, abandonando progresivamente el resto de cultivos.

• 1999: Se transforman en Tenerife varias fincas para adaptarlas al cultivo de plátano y la construcción de un almacén de acondicionado.

• 2003: Inauguración de los nuevos centros de selección y envasado de Tomate y Plátano en Muchamiel (Alicante).

• 2006: Puesta en marcha del proyecto de producción y comercialización del frutas y verduras de IV Gama.

• 2009: Se crea Bonnysa Agroalimentaria con el fin de agrupar bajo una misma filosofía todas las empresas comercializadoras y productoras, logrando así unificar la presencia del Grupo Bonnysa dentro de la cadena de valor agroalimentaria.

BONNYSA agroalimentaria

## 2. Presentación Mercadona

Es una compañía de distribución, integrada dentro del segmento de supermercados, de capital 100% español. Está presente en 46 provincias de 15 Comunidades Autónomas con 1.289 supermercados (29/09/2010) que, con una media de entre 1.300 y 1.500 metros cuadrados de sala de ventas, representan una cuota de mercado sobre la superficie total de alimentación en España del 12,8% y un 22,9% sobre el total de ventas (frente a un 20,9% el año anterior), respondiendo a un modelo de comercio urbano de proximidad. Actualmente más de 62.000 personas, todas ellas con contratos fijos, desarrollan su vida profesional en la compañía con un mismo objetivo: satisfacer las necesidades en alimentación, limpieza del

MERCADONA
SUPERMERCADOS DE CONFIANZA

hogar, higiene y comida para animales domésticos, de los más de 4,3 millones de hogares que realizan diariamente su compra en Mercadona.

Durante el año pasado facturó 15.505 millones de euros (un 1% más que el año anterior) con un beneficio neto de 270 millones de euros (un 16% menos que en 2008). Las unidades de venta aumentaron un 8% respecto a 2008. Se ha incrementado el número de clientes y el volumen de kilos y litros vendidos potenciando la venta y reduciendo los precios a través de la rentabilidad.

El objetivo para 2010 pasa por seguir reduciendo los precios y eliminar lo que "El Jefe" no está dispuesto a pagar e implantar lo que si está dispuesto.

## 3. Desarrollo proyecto IV gama

A comienzos de 2004 Mercadona solicita a BONNYSA AGROALIMENTARIA que desarrolle una serie de frutas IV gama entre las que se encuentra la granada pelada y envasada.

Se firma un contrato de colaboración con el CEBAS-CSIC (Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura del Consejo Superior de Investigaciones Científicas) que incluye un proyecto de investigación que finaliza a mediados de 2006. En el mismo se recomienda emplear las variedades Mollar de Elche, Bhagwa (India) y Wonderful (Israel y Perú-Chile).

Se crea una línea piloto donde se produce el producto y se comienza a vender en las tiendas de prueba fijadas por Mercadona en diciembre de 2005.

Se adquiere una línea industrial completa que lava la granada, separa el grano de la piel, lo seca, lo pesa y lo envasa.

Aparte de la granada se desarrollan los siguientes productos en diferentes formatos:

tomate natural fresco rallado, zumo de tomate, coco natural cortado, agua de coco, granada pelada, zumo de granada, mango pelado, piña entera pelada, yuca y calabaza pelada y cortada envasadas al vacío, ensaladas frutas, tomate deshidratado, tomate semideshidratado en aceite.

## 4. Comercialización de la granada pelada envasada

En noviembre de 2007 se incorporan todas las plataformas logísticas situadas en la península ibérica. Se comienza trabajando con la variedad Mollar de Elche y a partir de mediados de diciembre aparecen algunos problemas de pardeamiento en los granos envasados. En febrero de 2008 se sustituye esta variedad por Bhagwa procedente de la India y se llega hasta agosto de 2008. En octubre de 2008 se vuelve a trabajar con Mollar y a mediados de noviembre vuelven a aparecer los problemas de pardeamiento mencionados anteriormente. Se toma la decisión de trabajar con la variedad Wonderful, quedando el calendario, a partir de entonces, como sigue:

Comienzo octubre – comienzo febrero: Wonderful Israel y Albatera, Elche

Comienzo mayo – mediados agosto: Wonderful Perú y Chile.

## 5. Recomendaciones en el proceso

### 5.1. Material vegetal

El material vegetal de partida debe ser de una calidad organoléptica y microbiológica excelente. Se debe garantizar la ausencia de defectos y podredumbres y una coloración adecuada de las semillas. Además debe tener un sabor aceptable proporcionado por un cociente azúcares/acidez adecuada. Se deben evitar los frutos insípidos y sin color. Como mínimo el contenido en sólidos solubles debe ser 14 ºBrix y 0,4 g/kg de acidez máxima.

Se deben fijar las especificaciones de producto y acordarlas con el productor, firmando un documento que debe servir de base para realizar un control en la recepción de cada contenedor.

### 5.2. Recepción y enfriamiento

Es necesario bajar rápidamente la temperatura del producto hasta alcanzar 5 ºC, con el fin de frenar su metabolismo.

### 5.3. Lavado exterior

Se realizará un lavado exterior del producto durante al menos 1 min. con agua clorada a 100 ppm, con agitación.

### 5.4. Desgranado-selección

Se debe evitar el daño de las semillas y garantizar su integridad, eliminando las membranas y tegumentos de adhesión a las semillas. Se eliminarán todos los granos dañados y con falta de color.

### 5.5. Lavado de semillas

Con el fin de eliminar restos de zumo de granos rotos, así como, la suciedad y contaminación que pueda pasar de la corteza a las semillas.

Se recomienda el uso de 2 L de agua potable por kg de producto, sin reutilización de la misma durante 1 minuto.

### 5.6. Secado

Se les debe eliminar los restos del agua de lavado.

### 5.7. Envasado

Dosificación, termosellado, control de metales y control de peso. Paletizado.

### 5.8. Conservación

Tras el envasado el producto se llevará a refrigeración inmediatamente. La temperatura óptima de conservación y distribución hasta consumo es de 1ºC, siendo el intervalo de temperatura admisible el situado entre 1 y 4ºC durante toda la vida útil.

## 6. Conclusión

BONNYSA AGROALIMENTARIA mediante la elaboración de granada natural pelada IV gama, orienta su producción de acuerdo con las tendencias del mercado, desarrollando la apertura de nuevas salidas para productos agrícolas. Además, mejora el acondicionamiento y la presentación de los productos agrícolas, fomentando un mejor uso de los subproductos o residuos, aplica nuevas tecnologías, fomenta inversiones innovadoras, controla la calidad del proceso, controla sus condiciones sanitarias y protege el medio ambiente, elaborando un nuevo alimento que satisface las demandas de los consumidores actuales.

Por otra parte, se mejora y racionaliza la actividad productora de los cosecheros de granada, aumentando la competitividad y el valor añadido de su producto.

## 7. Sobre el autor

### Rafael Alberola Robles

**Formación:**

• Ingeniero Agrónomo por la Universidad Politécnica de Valencia.

**Logros laborales**:

• Director de la División IV y V gama de BONNYSA AGROALIMENTARIA.

• Creación de esta división dentro de BONNYSA AGROALIMENTARIA y desarrollo de los siguientes productos: tomate natural fresco rallado, zumo de tomate, coco natural cortado, agua de coco, granada pelada, zumo de granada, mango pelado, piña entera pelada, yuca y calabaza pelada y cortada envasadas al vacío, tomate deshidratado, tomate semideshidratado en aceite.

**Formación complementaria:**

• Curso Internacional de Tecnología Postcosecha y Procesado Mínimo Hortofrutícola. Universidad Politécnica de Cartagena.

• Gestión de la seguridad alimentaria en centrales hortofrutícolas.

• European short course on quality & safety of fresh-cut produce. Bary – Italy.

• Seminario: "Tecnologías para la destrucción de microorganismos en alimentos. Presente y futuro" organizado por AINIA. Valencia.

• Formación en Mejora Continua: Excelencia en las Operaciones y Gestión de Proyectos.

# Índice

**1.** Resumen ..... 93

**2.** Los productos y sus derivados un aumento significativo de su consumo en el mundo ..... 93

**3.** Como promocionar la granada para que el consumidor conozca las bondades de este producto ..... 94

**4.** Como llegar a ese sector ..... 94

**5.** Notas de prensas publicadas ..... 95

**6.** Edición del libro blanco de la granada ..... 97

**7.** Periódico digital sobre la granada en castellano, inglés, francés, aleman e italiano ..... 97

**8.** La granada la pescadilla que se muerde la cola ..... 98

**9.** Sobre el autor ..... 98

# Problemática en la comercialización de productos derivados de la granada

**Eduardo Vidal**
Antioxidantes Naturales del Mediterráneo, S.L. Director del proyecto Granatum Europa. Institución: Proyecto Granatum Europa

## 1. Resumen

Las Granadas y sus derivados son productos de alto consumo en el mundo anglosajón, sin embargo en España es una verdadera desconocida.

**Palabras Clave**: Granadas, zumo, extracto, néctar, comercialización, problemática.

## 2. Los productos y sus derivados un aumento significativo de su consumo en el mundo

Los productos derivados de las granadas como son los zumos, néctares, extractos, mermeladas aumentan significativamente su comercialización y cuota de mercado fuera de nuestras fronteras.

La inmensa mayoría de los productos comercializados en el mercado no indican el origen ni la variedad de la granada con la cual se realizan.

Esto es debido principalmente las empresas que envasan y comercializan estos productos se basan en la oferta y precio de los concentrados que se ofertan desde los diferentes países del mundo el volumen de producción de granadas en España hace inviable poder competir con los zumos de granada concentrados a granel desde los diferentes países productores.

La India con 1.200.000 toneladas y Irán con 1.000.000 de toneladas son los que marcan el precio del concentrado de granada en el mundo algo que queda muy lejos de la producción Española que oscila entre las 30.000 a 50.000 toneladas.

El 99% de los zumos de granada que se comercializan en Europa son zumos a base de concentrados, aunque los de mayor consumo son aquellos que no llegan a ser zumos, néctares o cocteles de fruta utilizándose la foto de la granada en los envases como un reclamo publicitario y todos ellos realizados a base de concentrado.

El volumen de producción en España hace inviable el competir con estos productos por precio.

La apuesta de Granatum Europa es la calidad y el origen de su cultivo. Hemos elegido la variedad Mollar precisamente porque su calidad organoléptica la hace ideal para el envasado de productos con un contenido 100%.

Desde el proyecto Granatum Europa y después de consultar a números investigadores en España y en el mundo, hemos apostado por la calidad y no por la cantidad de producción

Creemos decididamente que la granada no es un producto de moda y que en los próximos años sus productos elaborados formaran parte de la dieta diaria de millones de consumidores en el mundo.

Por eso nuestro proyecto está planteado para que comience a dar frutos positivos en un plazo no inferior a 5 años. La granada formara parte de la dieta diaria de millones de consumidores en el mundo, por lo tanto existirán algunos miles de consumidores que demanden productos de calidad, cultivado dentro de las fronteras de la Unión Europea y esta es la cuota de mercado que pretende alcanzar el proyecto Granatum Europa "Solo granada y nada más que granada cultivada en España" es lo que marca nuestro estilo.

## 3. Como promocionar la granada para que el consumidor conozca las bondades de este producto

Una campaña publicitaria a nivel nacional: Algo inviable debido principalmente al alto coste que esto supondría para nuestro proyecto según el estudio de diferentes empresas publicitarias de prestigio una campaña publicitaria de impacto y supondría un costo no inferior a 3 millones de Euros, suponiendo que tuviera un éxito importante la capacidad de producción de granada para industria de zumos en una campaña normal sin climatologías adversas no supera los 2.500 toneladas repartidas en más de 20 asentadores y cooperativas. Quiere decir que la granada española solo puede aspirar a un mercado de calidad y un sector del consumidor que lo demande.

## 4. Como llegar a ese sector

Hay cosas que resultan relativamente fáciles en la granada y es la emisión de notas de prensa periódicas sobre los resultados de las investigaciones, pero existe un riesgo el 99,9

de estas investigaciones se realizan en centros de investigación fuera de España y con granadas cultivadas en otros países.

## 5. Notas de prensas publicadas

El pasado mes de Junio Granatum Plus lanzo su primer producto al mercado las capsulas de extracto en polvo con un porcentaje muy alto en Punicalaginas un antioxidante que solo contiene la granada y según diversos estudios es el culpable de gran parte de sus propiedades beneficiosas.

Granatum Plus opto por enviar a todos los medios nacionales los resultados de las investigaciones o publicaciones importantes que se realizaban de la granada en todo el mundo, estos son algunos de los titulares de estas notas de prensa.

Un zumo de granada español seleccionado por la Universidad Estatal de Kansas para un estudio mundial entre consumidores.

El infarto de miocardio podría ser atenuado con el consumo de extracto de granada por sus fitoquímicos.

Según el libro “Compuestos Bioactivos y Cáncer” las sustancias bioactivas de la granada son útiles en la prevención de las formas comunes de cáncer.

La variedad de granada Mollar Elche contiene en su piel 10 veces más capacidad antioxidante que la parte comestible.

El cáncer pancreático podría tener un aliado en el extracto de zumo de granada por sus fitoquímicos.

El zumo de granada ha demostrado en estudios realizados por investigadores españoles y extranjeros ser el zumo con mayor capacidad antioxidante.

La ingesta de zumo de granada exprimido puede mejorar la función endotelial en adolescentes con síndrome metabólico.

Según un estudio de la Universidad de California, el zumo de granada puede ayudar a solucionar los problemas de disfunción eréctil.

El extracto de semilla de granada podría ser un estimulante natural de las contracciones uterinas durante el parto.

Un estudio publicado en el número de junio de "Cardiovascular Toxicology" demuestra las propiedades del zumo de granada para reducir las enfermedades cardiovasculares y la hipertensión.

El extracto de piel de granada (Púnica Granatum) puede ser beneficioso en el tratamiento de la malaria cerebral por su actividad anti- parasitaria y la inhibición de los mecanismos pro-inflamatorios.

Los elagitaninos del zumo de granada exprimido atenúan la debilidad, mejoran la recuperación de fuerza y reducen el dolor múscular, las populares agujetas, en deportistas.

Un estudio realizado en mujeres con menopausia demostró que el extracto de piel granada reduce los efectos de síntomas como sofocos o sudoración excesiva.

Granatum Europa aúna esfuerzos de Cataluña, Canarias, Comunidad Valenciana y Región de Murcia, en colaboración con empresas agroalimentarias alemanas y holandesas, para liderar el mercado europeo de zumos, néctares y extractos de granada.

La gran mayoría de estas notas de prensa han sido divulgadas por las principales agencias de noticias en España EFE y Europa Press. Con ellas hemos divulgado las propiedades de las granadas y sus derivados a la opinión pública pero también algo más importante estamos hablando de un producto cultivado en España, el gran enemigo de la granada en España no es otro que la importación de producto envasado o realizado con fruta fuera de nuestras fronteras.

## 6. Edición del libro blanco de la granada

Actualmente no existe ningún libro actualizado editado en castellano que haga un exhaustivo recorrido por las investigaciones y resultados que se vienen produciendo en los últimos años sobre la granada.

En Estados Unidos ya hay varios publicados en lengua inglesa destacando "La fruta Granada raíces antiguas de la medicina moderna" es un libro en el cual han participado más de 30 centros de investigación en todo el mundo y aporta una bibliografía de estudios muy importante.

Desde el proyecto Granatum Europa estamos terminando de realizar en el libro Blanco de la Granada y que distribuiremos Gratuitamente, en todos los colegios médicos, farmacéuticos, bibliotecas, Bibliotecas de Hospitales. Además se podrá adquirir en librerías.

## 7. Periódico digital sobre la granada en castellano, inglés, francés, aleman e italiano

Se trata de las web www.zumodegranada.com y www.pomegrantejuicenews.com

En estas webs gracias a la Universidad Miguel Hernández recopilamos y traducimos los más de 1000 artículos nuevos que aparecen diariamente en internet en lengua inglesa y los publicamos en los diferentes idiomas. Además contamos con la colaboración de diferentes expertos que interpretan estas investigaciones y hacen la valoración sobre estos artículos. En estas webs se publica información que sea entendible por el consumidor y también aspectos técnicos adjuntando los ficheros de la mayoría de investigaciones para que expertos realicen sus valoraciones.

## 8. La granada la pescadilla que se muerde la cola

Un aspecto para el crecimiento del sector agroalimentario de la granada es el aumento de su producción, pero para que exista este aumento se necesitan un mayor consumo y para que esto se produzca se necesita más financiación en investigación para certificar las propiedades de las variedades de granadas cultivadas en España y una mayor capacidad divulgativa.

Por eso el sector de la granada necesita personas que crean en ella y apuesten por ella decididamente, creemos que la granada no es una flor de primavera su consumo perdurara y crecerá si se cree en ella y hasta el consumidor llegan productos de calidad que aporte beneficios a su consumo diario.

El sector de la granada no es un terreno abonado para los caza oportunidades, ni buscadores de subvenciones es un sector que tiene que encontrar personas y capital riesgo que apueste por un proyecto a largo plazo y auné al sector en una única marca de producto comercializado, algo prácticamente impensable en la economía del sector, cualquier proyecto industrialización de productos derivados de la granada exclusivo para esta fruta que no cuente con el beneplácito de todo el sector agricultores, asentadores y cooperativas. Es fracaso seguro.

La salida no está en hacer una fábrica de zumo ya existen varias, ni extracción de extracto o aceites ya hay muchas, lo importante es conseguir cuota de mercado y volumen de facturación y una marca para el desarrollo de productos comercializados que auné a gran parte del sector.

Por último decirles que todas estas impresiones son fruto de 5 años trabajando en el sector y analizando el crecimiento paulatino del consumo de esta fruta en el mundo.

## 9. Sobre el autor

**Eduardo Vidal**

Antioxidantes Naturales del Mediterráneo, S.L. Director del proyecto Granatum Europa

Institución: Proyecto Granatum Europa

Semblanza: Gerente de la empresa Antioxidantes Naturales del Mediterráneo S.L. comercializadora de los productos Granatum Plus. Director del Proyecto Granatum Plus, Anteriores trabajos en la granada director de producto y marketing de la empresa Granadas de Elche S.L.

# Índice

**1.** Resumen ..... 101
**2.** Abstract ..... 102
**3.** Sobre el autor ..... 107

# Marcas de calidad. El proyecto Granatium Center

**D. Manuel Esclapez Román**
presidente@carrizales.es
Institución: Parc Natural Agrari els Carrissals, Soc. Coop. Valenciana.

## 1. Resumen

El proyecto Granatium Center es uno de los proyectos que forman parte del Parc Natural Agrari els Carrissals impulsado por la Comunidad de Regantes de Carrizales en el ámbito de los parques naturales del Hondo de Elche y las Salinas de Santa Pola y sus entornos socioeconómicos.

Entre otras iniciativas, este ambicioso proyecto pretende poner en marcha marcas de calidad junto a la conservación de todos los ecosistemas que abarca els Carrissals, corredor verde o nexo de unión entre los dos parques naturales, siendo considerada zona de gran valor ecológico. En els Carrissals se cultiva entre otros, granada, melón, brócoli, habas, etc., siendo el *melón dels Carrisals* su producto estrella debido a que las características especiales del suelo le imprimen un dulzor y tersura única.

El Granatium Center se crea con el fin de aprovechar íntegramente las numerosas propiedades de la granada, favoreciendo su aprovechamiento a la economía agrícola de la comarca y ofreciendo oportunidades de empleo, desde un concepto innovador. Este edificio bioclimático, gran centro temático de la granada consistirá en un edificio industrial principal, laboratorio I+D+i, administración, tienda, museo temático, restaurante y hotel -Spa.

Sus líneas de producción serán básicamente: Vitalgrana, con una amplia línea de productos agroalimentarios -bebidas, mermeladas, salsas, etc- obtenidas del zumo de granada; Granadaterapia, línea de cosmética basada en la granada, con especial atención en la línea *wellnes, spa*, y tratamientos exclusivos a través de la granadaterapia. Nutracéuticos, productos naturales con acción terapéutica, en este caso extractos de la granada.

**Palabras clave**: granada, Carrissals, granadaterapia, Vitalgrana, spa, granatium

## 2. Abstract

The Granatium Center is one of the projects that are part of the *Parc Natural Agrari els Carrissals* driven by *Carrizales* Irrigation Community in the area of natural parks of el Hondo in Elche and Salinas in Santa Pola, and their socioeconomic backgrounds.

Among other initiatives, this ambitious proyect aims to implement quality brands and the conservation of all ecosystems comprising *els Carrissals,* green corridor or link between the two parks, and being considered an area of great ecological value. In *els Carrissals* are grown, among others, pomegranate, melon, broccoli, beans, etc., being *melón dels Carrissals* its flagship product because the special characteristics of the soil gives it a unique sweetness and smoothness.

The Granatium Center is created in order to fully exploit the many properties of pomegranate, promoting its use to improve the agricultural economy of the region and providing employment opportunities, from an innovative concept. This great pomegranate thematic center consists of a main industrial building, laboratory, administration, shop, thematic museum, restaurant and hotel-spa.

Its production lines are basically: Vitalgrana, with a wide range of food products – beverages, jams, sauces, etc- obtained from pomegranate juice; Granadaterapia, cosmetic line based on the grenade, focused specially to wellness, spa and exclusive beauty treatments through grenadetherapy. Nutraceuticals, natural products with therapeutic action, in this case extracts of pomegranate.

**Key words:** grenade, Carrissals, grenadetherapy, Vitalgrana, spa, granatium.

El proyecto Granatium Center forma parte de la estrategia global que hace tres años diseñó la Comunidad de Regantes de Carrizales y que ha conllevado la creación de un parque agrario en el ámbito de Carrizales. El objetivo de este proyecto global es la puesta en valor de los diversos cultivos de los parques naturales del Hondo de Elche y las Salinas de Santa Pola, y sus entornos socioeconómicos.

Forman parte del proyecto global, otras iniciativas tales como la puesta en marcha de marcas de calidad, y la conservación de todos los ecosistemas que abarcan la zona denominada els Carrissals; zona reconocida como el corredor verde o nexo de unión entre los dos parques naturales, y siendo considerada zona de gran valor ecológico. La zona de els Carrissals comprende 1.600 ha., de las cuales 1.100 ha. corresponden a regadío y el resto a charcas cinegéticas dedicadas a la caza, y a la pesca del múgol y de la anguila.

En els Carrissals se cultiva fundamentalmente granada, melón, brócoli, habas, etc., siendo el *melón dels Carrisals* su producto estrella debido a que las características especiales del suelo le imprimen un dulzor y tersura única. Un objetivo prioritario es, entonces, conseguir para este producto en concreto una marca de calidad diferenciada. Es de destacar también las palabras que en nuestra última asamblea general nos dirigió el máximo responsable de la Cooperativa Cambayas, D. Andrés Irles, en cuanto a las enormes posibilidades que tienen los terrenos de els Carrissals para el cultivo de granada ecológica.

Como experiencia directa podemos afirmar, que en nuestro caso en particular y en relación con el *melón dels Carrisals* estamos teniendo un éxito comercial importante y sin pre-

*Foto 1: Anagrama del Parc Natural Agrari Els Carrissals.*

cedentes, que nos hace afirmar que el camino a seguir no es otro que diferenciarnos de nuestros competidores a través de marcas de calidad.

En cuanto al proyecto Granatium Center es una iniciativa que se crea con el fin de aprovechar íntegramente las numerosas propiedades que son atribuidas a la granada. Todos conocemos ya la abundante bibliografía y el cúmulo de datos que existen en la red, sobre las muchas propiedades y componentes de esta super fruta, tanto en el zumo como la piel y las semillas.

Se trata, pues, de poner a disposición del publico en general todas estas propiedades beneficiosas, a través de productos que resulten atractivos y que lleguen a formar parte de nuestro consumo habitual.

Así conseguimos un aprovechamiento integral de la granada, que favorecerá la economía agrícola de la comarca, y por lo tanto el mantenimiento y progresión de la misma, constituyendo además una oportunidad de empleo en la economía actual. Y todo ello desde un concepto innovador.

El proyecto se asentará en un terreno cercano a Elche, sobre una superficie de aproximadamente 14.000.-$m^2$ y constará básicamente de las siguientes dependencias:

Se trata de un edificio bioclimático dividido de la siguiente forma:

- Edificio industrial principal
- Laboratorio I+D+i.
- Administración
- Tienda
- Museo temático de la granada, con una superficie aproximada de 500 $m^2$
- Restaurante
- Hotel -Spa

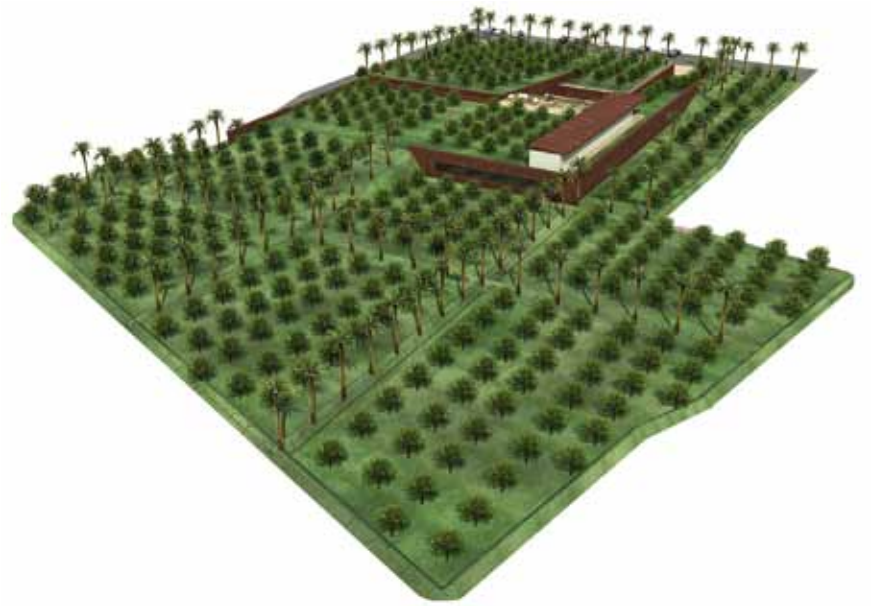


*Foto nº 2 : perspectiva exterior del Granatium Center.*

Siendo el objetivo que todo el conjunto forme un gran centro temático relacionado con la granada.

Para la ejecución del proyecto se cuenta con diversos colaboradores, algunos de ellos con 35 años de experiencia en la industria agroalimentaria, en cargos, directivos, técnicos y de gestión.

Otros colaboradores externos:

Instituto de Biología Molecular y Celular de la Universidad Miguel Hernández..

Dirección General de Investigaciones Agrarias, Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Inversores del proyecto:

Granatium Center, S.L.

Parc Natural Agrari Els Carrissals, Soc. Coop. Valenciana.

Grupo inversor italiano

Es de reseñar que este proyecto nace con el objetivo de ser replicado a nivel internacional.

Líneas de producción que se llevaran a cabo en el Granatium Center.

**• Vitalgrana:**

Amplia línea de bebidas, mermeladas y salsas, obtenidas a partir del zumo de granada.

**• Granadaterapia:**

Línea de cosmética basada en la granada, con especial atención en la línea *wellnes, spa*. En este apartado es de destacar que dentro del grupo de empresas que lideran el proyecto, la

*Foto nº 3: Laboratorio.*

mercantil Lormar Hotels pondrá en marcha el proyecto Granatium Wellnes Spa, un complejo formado por hotel, restaurante y spa en la Comunidad Valenciana, y en el que se realizarán tratamientos exclusivos con derivados de la granada. Teniendo como objetivo crear una red de franquicias tanto a nivel nacional como internacional, a través de la granadaterapia.

• **Nutraceúticos:**

Como se sabe son productos naturales con acción terapéutica, en este caso concreto extractos de granada, y en este apartado añadiremos que también tenemos en estudio la ampliación a otro cultivo muy importante en Els Carrissals como es el brócoli.

*Foto nº 4 : productos basados en la granada.*

La oferta de productos derivados de la granada cada año se multiplica exponencialmente, junto con el consumo de la granada en fresco y de derivados, los cuales también están aumentando. Como también aumenta el cultivo de una forma importante en otras latitudes y países, pot lo que no nos queda más remedio que unir sinergias y diferenciarnos del resto de la competencia.

Granatium Center es una apuesta por la diferenciación, la innovación y la calidad.

Por último queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a las siguientes personas y entidades por su colaboración en nuestro proyecto:

- Excmo. Sr. D. Alejandro Soler, alcalde del Excmo. Ayto. de Elche.
- Ilmo. Sr. D. Manuel Láinez, Director General de Investigación y Tecnología Alimentaria de la Generalitat Valenciana
- D. Domingo Saura y Dª Nuria Marti, Departamento de Tecnología Agroalimentaria de la Universidad Miguel Hernández de Elche
- D. Santiago Mira.
- D. Andrés Irles, gerente de la cooperativa Cambayas.
- D. José Lorente y colaboradores de la firma JBT Foot Tech.
- Dª Mª del Carmen Bolarin, CEBAS-CSIC, Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

- D. Mariano Tarí, Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación de la Universidad Miguel Hernández.
- Dª Marga Guilló, presidenta de la Asociación para el Desarrollo Rural del Campo de Elche, ADR.
- D. José Manuel Valero y Dª Cristina Pacheco, Servicio de Gestión de la Investigación y Transferencia de Tecnología de la Universidad de Alicante.
- D. Sergio Rizzo, especialista en patentes y marcas.

## 3. Sobre los autores

### D. Manuel Esclapez Román

Presidente del Parc Natural Agrari els Carrissals, Soc. Coop. Valenciana y Promotor del proyecto Granatium Center.

# Necesidad de creación de una calidad diferenciada para la granada

**Jose Vicente Guillem Ruiz**
Area_calidad@gva.es
Dr Ing. Agrónomo
Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación.
Dirección General de Comercialización.

En un mercado único, internacionalizado, globalizado, liberalizado, comunicado y sensibilizado la palabra CALIDAD posee varias acepciones:

*C. Comercialización.* Sujeta a normas de obligado cumplimiento. (Seguridad, etiquetado, higiene, lote, etc) hacen referencia al marco legal necesario para que un producto agrario y /o alimentario pueda ser comercializado.

*D. Diferenciada.* De carácter voluntario que representa acepciones de empresas e instituciones para diferenciar su producción y ofrecer al consumidor un producto más especifico (DOP / IGP, ETG, AE, CV, etc) atienden a reglamentos protegidos por gobiernos que atienden a pliegos de condiciones y modelos de gestión.

En materia de calidad diferenciada se establecen varios estatus:

- C.D, de carácter privado… Implantación de normas IFS, BRC, ISO, etc. Normas de producto y funcionamiento de empresa que permiten verificar las condiciones de elaboración y manejo.

- C.D. de carácter público… Aplicación de medidas de protección DOP, IGP, AE, etc. Marco legal que permite la protección de los pliego de condiciones y los ámbitos de su defensa.

- Nuevos procesos / protección de calidad diferenciada… Huella de carbono, agricultura de montaña, calidad ética, etc. Modelos de certificación que pueden empezar a ser solicitados para acreditar actuaciones corporativa / empresarial.

El largo camino hacia la notoriedad y reputación, para identificarse en un mercado, supone no solo resolver de forma eficaz y excelente los problemas técnicos y comerciales, si no, además:

- superar resistencias a trabajar en común
- aceptar toma de decisiones que aproximen la toma de decisiones
- consensuar las políticas productivas, transformadoras, comerciales, etc.
- promocionar de forma genérica y marquista

• En ese marco general, se encuentra la *GRANADA*, producida en una zona determinada, apoyada por organizaciones que tienen la vocación de mercado y que transforman un producto agrario en valor alimentario, a la vez que son capaces de:

1- Incorporar valores y atributos a su concepto de producto en un mercado cambiante, exigente y con precios volátiles en origen.

2- Alcanzar notoriedad y reputación en los mercados y en la sociedad en base a la calidad de su producto, empresa / cooperativa y servicios.

3- Destacar un modelo de organización cualitativa capaz de rentabilizar y competitivizar el concepto de granada en el mercado.

4- Incorporar valor añadido, de forma coherente, a todos los eslabones de la cadena alimentaria: producción, transformación, comercialización y consumo.

5- Enlazar, con aplicación de I+D+i+F y Transferencia de tecnología con los gustos de los consumidores facilitando usos y costumbres. Utilidad practica a las exigencias de consumo.

6- Potenciar valores nutricionales, terapéuticos y funcionales que permitan a los graneles y sus derivados ampliar opciones de consumo.

• Una figura de calidad para un tipo de producto: granada en fresco, IV y V gama, zumos y extractos, confituras y jaleas, cockteles y combinados, etc. y todo aquello que la ciencia, la técnica y el conocimiento aporte, es una apuesta por el trabajo en común bien hecho, por las actuaciones y sinergías tendentes a incorporar economías de escala a las dinámicas sectoriales y por la imagen de un colectivo en una sociedad.

El libro verde de la calidad agroalimentaria permitirá que bajo el titulo Granada de Elche, se referencien productos comercializados no en fresco, por ej. Zumo elaborado con Granada de Elche.

• Bajo todo lo indicado y en función del marco legal disponible, tras un primer paso de organización –CV, hay que plantear un modelo de protección para la producción de granada que implique: - nombre de producto, que con carácter general se corresponde con el tipo de producto y la zona de producción, origen, mecanismo de elaboración, etc.

- Descripción del producto agrícola y alimentario, aportando detalles del producto (fruta fresca, transformados,) características (físicas, químicas, sensoriales) y valoraciones alimentarias.

- Delimitación de la zona geográfica, con relación de pueblos y entornos que están incluidos en el proyecto de calidad.

- Demostración que el producto agrícola es originario de la zona y su verificación como elemento de desarrollo.

- Descripción de las técnicas de producción, transformación, etc., donde se incluyan todas las fases del proceso desde el campo a la mesa y aquellos elementos que ayudan a dimensionar el producto como valor alimentario.

- Justificar el vinculo de la calidad con las características, la reputación y la zona, es importante definir las condiciones que marcan las diferencias de un producto.

- Definir la autoridad de control que garantice a nivel de producción y de consumo el grado de cumplimiento del reglamento.

- Normas de etiquetado, presentación e información, además de las oficiales para ayudar a revalorizar el producto ante el consumidor.

- Estas condiciones coinciden con las exigencias previstas en el art. 4 del RCE nº 510 / 06 y que se ajustan al concepto de DOP, que puede ser el objetivo más inmediato para el sector productor de granadas en el campo de Elche.

• El valor añadido de una marca de calidad se centra en la expresa realización de acciones tendentes a:

- Vertebrar al sector en un marco de estrategias de calidad, facilitando las relaciones sectoriales e intersectoriales al objeto de establecer políticas de calidad y toma de decisiones.

- Implementar la cadena de valor en todos sus niveles y de forma especial a la producción haciendo posible que el valor añadido se distribuya mejor a lo largo de la cadena desde el campo a la mesa.

- Sistemas de control y certificación homologados que permitan el reconocimiento cualitativo en los mercados y ante consumidores exigentes.

- Protección del nombre, cultivo, producto, etc. frente a la competencia de otras regiones, al ser imagen e icono de un lugar con nombre propio.

- Promoción genérica y márquista que permiten divulgar concepto, valores y atributos de un producto agrario con vocación internacional de mercado.

- Beneficios sociales, económicos como consecuencia del desarrollo del programa que permita la diferenciación en un mercado único.

- Centro de decisiones del territorio, al permitir relacionar un territorio con una actividad cualitativa y un conjunto de estrategias capaces de modernizar la zona.

• Puede decirse que todo lo expuesto, no es una panacea ni utopía, son un conjunto de estrategias y actividades tendentes a cumplir unos objetivos, desarrollar una misión y dotar al sector de una visión propia y con su nombre.

# Índice

**1.** Resumen ..... 113
**2.** Abstract ..... 113
**3.** Introducción ..... 114
**4.** Maduración en el árbol ..... 115
**5.** Cambios en post-recolección ..... 116
**6.** Bibliografía ..... 118
**7.** Sobre el autor ..... 123

# La Granada: maduración y post-recolección

**María Serrano**
m.serrano@umh.es
Departamento de Biología Aplicada, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

## 1. Resumen

En la granada (*Punica granatum*, L.) se produce una serie de cambios bioquímicos durante su maduración en el árbol que conducen a que el fruto alcance una elevada calidad cuando llega a su plena madurez. Estos cambios suponen un aumento en la concentración de azúcares (glucosa y fructosa), una disminución en la acidez (cítrico y málico) y un aumento en la concentración de antocianinas. Además, se produce un incremento en la actividad antioxidante, alcanzando valores muy superiores a los de otros frutos muy consumidos en la dieta mediterránea. No obstante, la granada es un fruto muy perecedero, con unas posibilidades de conservación limitadas, debido a una serie de alteraciones que conllevan a su pérdida de calidad, entre las que se encuentran deshidratación, sobre-maduración (con alteraciones en el sabor y pérdida de sus propiedades antioxidantes), alteraciones debidas a daños mecánicos, aparición de podredumbres y sobre todo, la incidencia de los daños por frío. Estos daños por frío o "chilling injury" aparecen cuando las granadas se colocan a 20 °C después del almacenaje a temperaturas inferiores a 5 °C y se manifiestan como depresiones de color morado, desecación y pardeamiento en la piel, llegando este último a afectar a las membranas carpelares y a los arilos en los casos más severos.

## 2. Abstract

Pomegranate fruit undergoes several biochemical changes during development leading to the fruit to reach an optimal quality at full ripening stage. These changes are increase in sugar concentration (glucose and fructose), diminution in total acidity (citric and malic acids) and increase in anthocyanin concentration. In addition an increase occurs in antioxidant activity which reaches values higher than those found in others fruit of the Mediterranean diet. However, pomegranate is a perishable fruit having limited storage possibilities, due to the occurrence of several alterations, such as dehydration, over-ripening (leading to

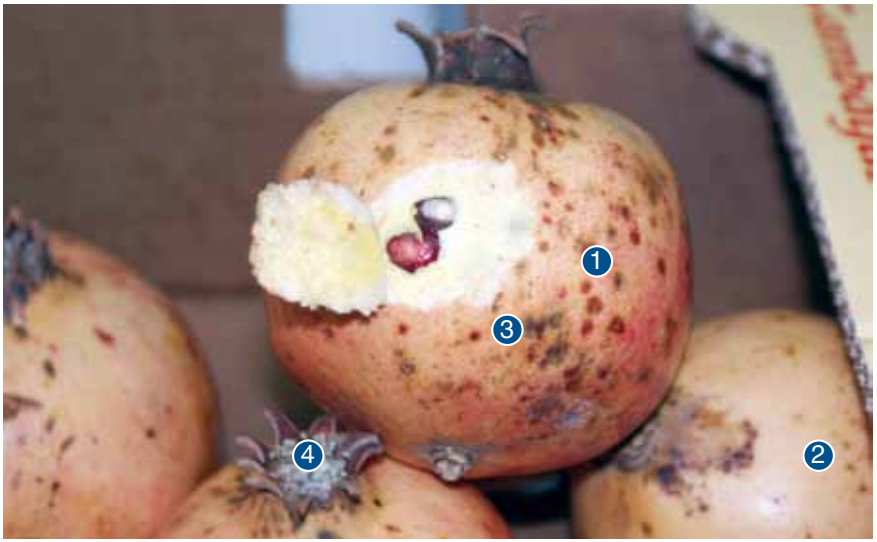
flavor alterations and decreases of antioxidant properties), alterations due to mechanical damage, decay incidence and chilling injury (CI). CI damage appears when fruits are transferred to 20 °C after storage at temperatures lower than 5 °C and are manifested as pitting, with purple color, desiccation and skinbrowning, which can reach the carpelar membranes and arils.

## 3. Introducción

La granada (*Punica granatum*, L.) es uno de los frutos comestibles más antiguos que se conocen. Es originario del norte de Turquía y actualmente se cultiva en todos los países mediterráneos, incluida España (Ward, 2003). El fruto se origina a partir del desarrollo ovario ínfero tras la fecundación de la flor y contiene en su interior las semillas o arilos, que es la parte comestible del fruto y supone del 55-60 % del mismo, mientras que la piel o corteza supone el 40-45 %. Los arilos contienen un 75-85 % de zumo, procedente de la cubierta externa de la semilla y un 15-25 % que sería la semilla propiamente dicha y que puede ser más o menos dura, dependiendo de la variedad. El color de la piel puede variar desde crema hasta rojo intenso o granate, al igual que el color de los arilos, dependiendo de la variedad, aunque, en general, no existe correlación entre el color de la piel y el de los arilos (Kader, 2006).

La recolección se realiza normalmente cuando el fruto alcanza el estado de plena madurez, en el que también posee su máxima calidad. Dado que la composición química se modifica durante la maduración en el árbol, es importante determinar el momento óptimo de recolección, que en la granada varía entre 4,5 y 6 meses, dependiendo de la variedad y de las condiciones climáticas. Si la recolección se realiza demasiado pronto los frutos son de baja calidad porque aún no han desarrollado su color, aroma y sabor característicos y si se realiza demasiado tarde se obtienen frutos de elevada calidad, aunque su deterioro después de la recolección es más rápido y disminuyen sus posibilidades de conservación.

La calidad es un término subjetivo que engloba las características de un fruto más apreciadas por los consumidores, las cuales pueden desglosarse en tres bloques: organoléptica, nutritiva y funcional. La calidad sensorial u organoléptica es la apreciada por los sentidos e incluye color, sabor, aroma, firmeza y apariencia (ausencia de defectos o daños y tamaño y coloración homogéneos). La calidad nutritiva está determinada por los componentes del fruto que nos sirven de nutrientes, como carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos orgánicos y minerales. Finalmente, la calidad funcional se debe al aporte de compuestos bioactivos con efectos beneficiosos para la salud, como fenoles, carotenoides y vitaminas. En este sentido, las propiedades medicinales de la granada se conocen desde muy antiguo en la medicina popular de muchas culturas, aunque recientemente, estudios científicos han demostrado sus propiedades antioxidantes y efectos beneficiosos para la salud, disminuyendo el riesgo de padecer ciertas enfermedades degenerativas como arteriosclerosis y algunos tipos de cáncer (Gil et al., 2000; Mertens-Talcott et al., 2006; Lansky y Newman, 2007; Aviram et al., 2008).




*Fotografía 1: Aparición de daños por frío ("pitting" (1), pardeamiento (2) y desecación (3)) y de podredumbres en la zona calicinal (4) en granadas "Mollar de Elche" después de 80 días de conservación a 2 °C y 3 días a 20 °C.*

## 4. Maduración en el árbol

Durante la maduración de la granada se produce en los arilos una acumulación de azúcares y una disminución en la acidez total (Kulkarni y Aradhya, 2005). Los azúcares mayoritarios son fructosa y glucosa, cuyas concentraciones en el momento de la recolección varían dependiendo de la variedad entre el 3 y el 8 %, con unas concentraciones de sólidos solubles del 10 al 18 % (Melgarejo et al., 2000; Poyrazoglu et al., 2002; Fadavi et al., 2005; Ozgen et al., 2008; Mirdehghan et al., 2006). La composición en ácidos orgánicos es diferente dependiendo del tipo de granada. Así, en el grupo de variedades ácidas, que poseen un valor de acidez total del 2-2,5 %, el ácido mayoritario es el cítrico, mientras que en las variedades dulces, con un contenido de acidez del 0,2-0,4 %, se encuentran cantidades similares de ácido cítrico y málico o incluso es mayor la concentración de este último (Hernández et al., 1999; Melgarejo et el., 2000; Poyrazoglu et al., 2002; Mirdehghan et al., 2006; Ozgen et al., 2008). Especial atención merece el ácido ascórbico, por su papel como vitamina C y sus propiedades antioxidantes, cuya concentración disminuye durante las primeras fases del desarrollo del fruto y se mantiene en valores más o menos estables en las últimas fases de la maduración, con unos valores entre 10 y 36 mg/100 g, dependiendo de la variedad (Kulkarni y Aradhya, 2005; Sayyari et al., 2010).

El color de los arilos aumenta durante la maduración debido a la acumulación de antocianinas, los pigmentos responsables de su color rosado-rojo-granate. Las antocianina mayoritaria en las variedades ácidas es cianidín 3,5-diglucósido, seguida de cianidín 3-glucósido y delfinidín 3,5-diglucósido, mientras que en las variedades dulces la mayoritaria es cia-

nidín 3-glucósido y le siguen en importancia cuantitativa delfinidín 3-glucósido y pelargonidín 3-glucósido (Miguel et al., 2004; Kulkarni y Aradhya, 2005; D'Aqquino et al., 2010). No obstante, la concentración de antocianinas en el fruto maduro, al igual que el color, depende de la variedad, con valores entre 10 y 220 mg/100 g (Mirdehghan et al., 2006; Ozgen et al., 2008; Sayyari et al., 2010; 2011).

Durante el desarrollo en el fruto también se producen cambios en la concentración de fenoles totales, ya que disminuye bruscamente en la etapas iniciales y después el descenso es muy pequeño, siendo las concentraciones en el fruto maduro también diferentes dependiendo de la variedad, oscilando en el rango de 90 a 210 mg/100 g (Kulkarni y Aradhya, 2005; Mirdehghan et al., 2006; Ozgen et al., 2008; Sayyari et al., 2010; 2011) y siendo los fenoles mayoritarios los ácidos gálico, clorogénico, caféico, ferúlico y los *o*- y *p*-cumárico, así como catequina y quercitina (Poyrazoglu et la., 2002). Además, es interesante destacar que en la piel el contenido en fenoles es muy superior que en los arilos, por lo que podría considerarse una fuente importante de antioxidantes (Li et al., 2006).

La actividad antioxidante también disminuye durante las primeras fases del desarrollo del fruto, aunque después vuelve a aumentar, alcanzando los niveles más altos en el estado de maduración comercial (Kulkarni y Aradhya, 2005). En un estudio realizado con diferentes variedades de granado del Banco de Germoplasma de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, se ha comprobado que el zumo de granada posee una elevada actividad antioxidante, superior a la de otros frutos característicos de la dieta mediterránea (Hernández, F., Legua, P., Melgarejo, P., Valero, D. y Serrano, M., datos no publicados). En el Gráfico 1 se muestran los valores correspondientes a la actividad antioxidante de los compuestos hidrofílicos (AAT-H) en estas variedades, pudiéndose comprobar que además, existen diferencias importantes entre ellas (Gráfico 1). La AAT de la fracción liposoluble (AAT-L) fue en todas las variedades mucho más baja que la AAT-H (datos no mostrados), lo que indica que la capacidad antioxidante de estos frutos se debe fundamentalmente a compuestos hidrófilicos, concretamente a los fenoles, con los cuales se encontró una elevada correlación, aunque en otros trabajos se ha encontrado que el ácido ascórbico es un compuesto hidrosoluble que también contribuye significativamente a la capacidad antioxidante de este fruto (Mirdehghan et al., 2006; 2007b). Por su parte, la AAT-L se correlacionó con el contenido en carotenoides.

En los arilos también existen algunos minerales importantes, destacando el K y seguido en importancia cuantitativa por Na, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu y Mn (Al-Maiman y Ahmad, 2002; Fadavi et al., 2005). La concentración de proteínas oscila entre 0.2 y 2 %, dependiendo de la variedad (Fadavi et al., 2005).

## 5. Cambios en post-recolección

La granada es un órgano vegetal vivo, que continúa su actividad metabólica después de la recolección, produciéndose una serie de alteraciones que determinan su pérdida de calidad en un período de tiempo relativamente corto. Entre estas alteraciones destacan: deshidratación, aumento de la respiración, daños por frío, sobre-maduración (que incluye pérdida de compuestos bioactivos) y podredumbres. Estas alteraciones pueden inducirse también

por los daños mecánicos que pueda sufrir el fruto durante la recolección y manipulación posterior, ya que aunque la piel de la granada es bastante gruesa y parece resistente, la realidad es que se daña fácilmente con pequeños golpes o abrasiones, que ocasionan micro-roturas y fisuras en sus tejidos, lo que provoca aumento de la deshidratación y pardeamiento y supone un foco de entrada para los microorganismos (Kader, 2006).

La deshidratación se debe al proceso de transpiración, que se define como las pérdidas de agua en estado vapor a favor de gradiente de potencial hídrico, por la superficie de cualquier órgano vegetal y que depende de la estructura de la epidermis y del espesor y composición de la cutícula y que es proporcional a la temperatura e inversamente proporcional a la humedad relativa (HR) del aire. Así pues, para disminuir la transpiración será necesario disminuir la temperatura y aumentar la HR en las cámaras de almacenaje. También la temperatura afecta al metabolismo general del fruto, que se puede estimar mediante la tasa de respiración, la cual disminuye de 2 a 3 veces en los tejidos vegetales por cada 10 ºC de reducción de la temperatura. Sin embargo, la granada es sensible a los daños por frío o "Chiling injury", que se manifiestan como "pitting" o punteado (depresiones de color morado) y pardeamiento de la piel (Fotografía 1) y de los segmentos internos, e incluso de los arilos, cuando los frutos se colocan a 20 ºC después del almacenaje a temperaturas inferiores a los 5-7 ºC.

En el Gráfico 2 se muestra la evolución de la aparición de daños por frío, determinados como porcentaje de la superficie del fruto con síntomas de pardeamiento y como fuga de electrolitos, que indica el daño sufrido en las membranas celulares que conlleva pérdidas en su permeabilidad selectiva (Mirdehghan et al., 2007b). Además, se ha comprobado que la composición de lípidos de las membranas cambia durante la conservación en frío, con pérdidas significativas de la concentración de los ácidos grasos que los componen, tanto de los saturados como de los insaturados, como se muestra en el Gráfico 3. Estas modificaciones conducen a una disminución de la relación ácidos grasos insaturados/saturados, que se ha correlacionado con el incremento en la fuga de electrolitos, lo que indica que son los determinantes de las alteraciones en la permeabilidad de la membrana (Mirdehghan et al., 2007b).

También durante la conservación post-recolección se producen cambios que afectan al sabor, ya que disminuye significativamente el contenido de acidez (Mirdehghan et al., 2007a), debido fundamentalmente a disminución en los ácidos mayoritarios, como se observa en el Gráfico 4 para la variedad dulce "Mollar de Elche", para los ácidos málico, cítrico y succínico. Además se producen pérdidas de firmeza y evolución del color, así como aumento en el índice de madurez, expresado como relación sólidos solubles/acidez, lo que indica la evolución del proceso de maduración después de la recolección. Estos cambios confieren a los arilos un sabor y una textura de fruto sobremaduro, que pierde su atractivo para el consumo.

Por otra parte, hay que prestar atención a los cambios que se producen en los compuestos bioactivos y en la capacidad antioxidante de los arilos, ya que como se ha comentado anteriormente son unos atributos cada vez más apreciados por los consumidores, debido a su relación con la salud. En este sentido, se ha comprobado que tras períodos largos de almacenaje a 2 ºC de granadas "Mollar de Elche" reolectadas en estado de maduración avan-

zado (Sayyari et al., 2010; 2011) se produce una pérdida significativa de la concentración de fenoles totales, aunque la concentración de antocianinas aumenta, y una disminución, aunque más pequeña, del contenido en ácido ascórbico. Estos cambios se reflejan en una disminución de la AAT-H y también disminuye la AAT-L (Gráfico 5). Por tanto, en general, disminuyen las propiedades funcionales durante un período de conservación prolongado. Sin embargo, en otros trabajos realizados con la misma variedad recolectada en estado de maduración temprano se han encontrado aumentos en las concentraciones de antocianinas y fenoles y en la actividad antioxidante (Mirdehghan et al., 2006; 2007c) y en la variedad "Primosole" estos parámetros no se modifican durante la conservación (D'Aquino et al., 2010). Así pues, con las investigaciones realizadas hasta el momento parece que la variedad, el estado de maduración y el tiempo de conservación son factores que influyen en la evolución de los compuestos bioactivos.

Finalmente, la paración de podredumbres también es una causa importante de deterioro y pérdida de calidad comercial durante la conservación. En la mayoría de los casos estas podredumbres están causadas por *Botrytis cinerea*, que se desarrolla en la zona calicinal a partir de esporas procedentes del campo, aunque también puede afectar a otras zonas de la superficie de la piel que hayan sufrido daños mecánicos o por frío, como se muestra en la Fotografía 1. Además, *Penicillium spp* también puede causar infecciones externas, mientras que *Aspergillus spp* y *Alternaria spp* son los principales responsables de la infecciones internas (Kader, 2006; D'Aquino et al., 2010).

Por tanto, se puede concluir que la granada posee un elevado potencial de comercialización y de conquistar nuevos mercados, ya que es un fruto con un aspecto atractivo, tanto el fruto entero como los arilos y que posee una elevada calidad organoléptica, nutritiva y funcional. Sin embargo, se debe recolectar en el momento óptimo de maduración y realizar la manipulación y conservación en las condiciones más adecuadas para evitar la aparición de podredumbres, daños por frío y otras alteraciones que deprecian su calidad, las cuales se presentan por otros investigadores en estas jornadas.

## 6. Bibliografía


- Al-Maiman, S. A., & Ahmad, D. 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (Punica granatum L.) fruit maturation. Food Chemistry, 76: 437-441.
- Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Dreher, M., Reddy, M. K., Ferreira, D., & Rosenblat, M. 2008. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: Studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 1148-1157.
- D'Aquino, S., Palma, A., Schirra, M., Continella, A., Tribulato, E. & La Malfa, S. 2010. Influence of film wrapping and fludioxonil application on quality of pomegranate fruit. Postharvest Biology and Technology, 55: 121-128.
- Fadavi, A., Barzegar, M., Azizi, M. H. & Bayat, M. 2005. Physicochemical composition of ten pomegranate cultivars (Punica granatum L.) grown in Iran. Food Science and Techology International, 11: 113-119.

• 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.
• Hernández, F., Melgarejo, P., Tomás-Barberán, F.A. & Artés, F. 1999. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (Punica granatum) clones. European Food Research and Technology, 210: 39-42.
• Kader, A.A. 2006). Postharvest biology and technology of pomegranates. In Pomegranates. Ancient roots to modern medicine (pp 211-218). Seeram, N.P., Schulman, R.N., & Heber. D., Eds.: Boca Raton: CRC Press-Taylor & Francis.
• Kulkarni, A. P. & Aradhya, S. M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. Food Chemistry, 93, 319-324.
• Lansky, E.P. & Newman, R.A. 2007. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology, 109: 177-206.
• Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. & Cheng, S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chemistry, 96: 254-260.
• Melgarejo, P., Salazar, D. M. & Artés, F. 2000. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. European Food Reearch and Technology, 211: 185-190.
• Mertens-Talcott, S. U., Jilma-Stohlawetz, P., Ríos, J., Hingorani, L., & Derendorf, H. 2006. Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (Punica granatum L.) polyphenols after ingestion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 5: 8956-8961.
• Miguel, G., Fontes, C., Antunes, D., Neves, A. Martins, D. 2004. Anthocyanin concentration of 'Assaria' pomegranate fruits during different cold storage conditions. Journal of Biomedice and Biotechnology, 5: 338-342.
• Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M., & Valero, D. 2007a. Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. Postharvest Biology and Technology, 44: 26-33.
• Mirdehghan, S .H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Serrano, M., & Valero, D. 2007b. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: role of polyamines. Postharvest Biology and Technology, 44: 19-25.
• Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., & Valero, D. 2007c. The application of polyamines by pressure or immersion as a tool to maintain functional properties in stored pomegranate arils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 755-760Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., & Valero, D. 2006. Prestorage heat treatment to maintain nutritive and functional properties during postharvest cold storage of pomegranate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 8495-8500.

• Ozgen M., Durgaç, C., Serçe, S. & Kaya, C. 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. Food Chemistry, 111: 703-706.
• Poyrazoglu, E., Gökmen, V. & Artik, N. 2002. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (Punica granatum L.) grown in Turkey. Journal of Food Composition and Analysis, 15: 567-575.
• Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M. & Valero, D. 2011. Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharves storage of pomegranates. Food Chemistry, 124: 964-970.
• Sayyari, M., Valero, D., Babalar, M., Kalantari, S., Zapata, P.J. & Serrano, M. 2010. Prestorage Oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2 °C. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 6804-6808.
• Serrano, M., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M. & Valero, D. 2009. Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 3240-32-46.
• Ward, C. 2003. Pomegranates in eastern Mediterranean contexts during the Late Bronze age. World Archaeology, 34: 529-541.

**Gráfico 1:**

Actividad antioxidante hidrosoluble (AAT-H) en diferentes variedades de granadas y en otros frutos característicos de la dieta mediterránea. Los datos son la media ± ES de las determinaciones realizadas en 5 frutos, según el procedimiento que se indica en Serrano et al., 2009.

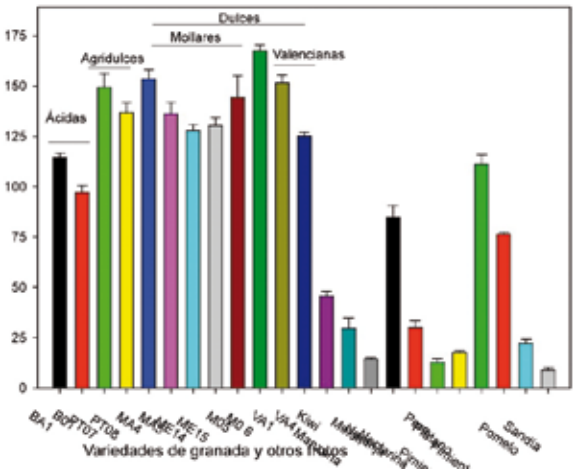


**Gráfico 2:**

Evolución del pardeamiento y de la fuga de electrolitos en los tejidos de la corteza durante la conservación de la granada a 2 °C más un período de 3 días a 20 °C. Los datos son la media ± ES de las determinaciones realizadas según se indica en Mirdehghan et al., 2007b.

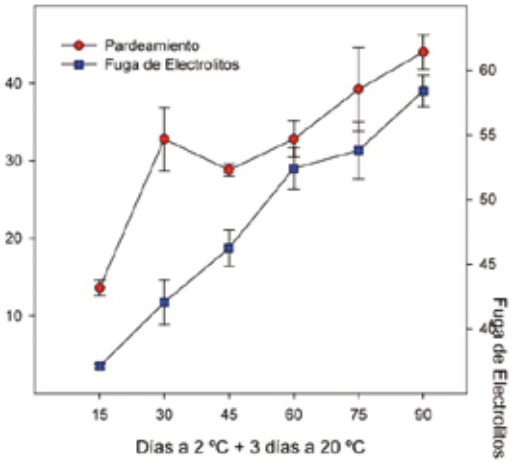
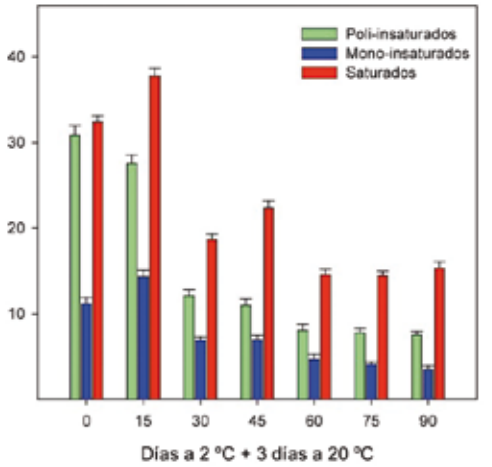


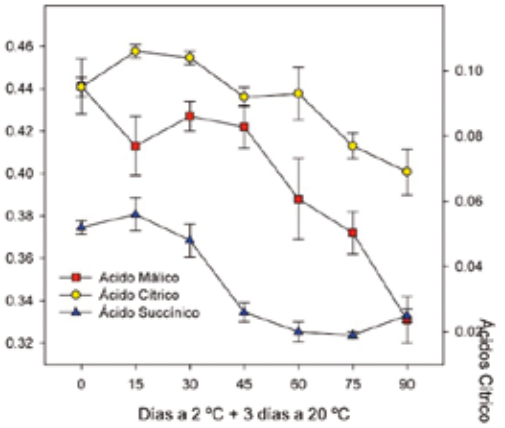

**Gráfico 3:**

Evolución del contenido en ácidos grasos en la piel de la granada variedad "Mollar de Elche" durante su conservación a 2 °C más un período de 3 días a 20 °C. Los datos son la media ± ES de las determinaciones realizadas según se indica en Mirdehghan et al., 2007b.



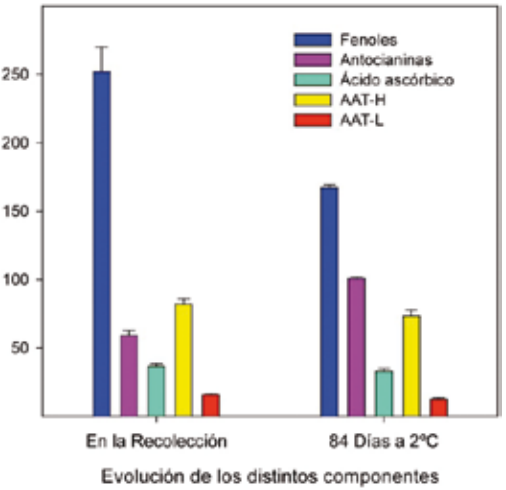
## Gráfico 4:

Evolución del contenido en ácidos orgánicos en los arilos de la granada variedad "Mollar de Elche" durante su conservación a 2 °C más un período de 3 días a 20 °C. Los datos son la media ± ES de las determinaciones realizadas según se indica en Mirdehghan et al., 2007b.




## Gráfico 5:

Evolución del contenido en fenoles totales, antocinainas, ácido ascórbico y actividad antioxidante hidrosoluble (AAT-H) y liposoluble (AAT-L) desde la recolección hasta después de conservación a 2 °C durante 84 días. Los datos son la media ± ES de las determinaciones realizadas según se indica en Sayyari et al., 2010.



## 7. Sobre el autor

### María Serrano

María Serrano es Catedrática de Universidad en el Departamento de Biología Aplicada, Área de Fisiología Vegetal en la Universidad Miguel Hernández (UMH). Obtuvo el Título de Licenciada en Ciencias Biológicas en 1986 y el de Doctor en Biología en 1990, ambos por la Universidad de Murcia. Es Licenciada en Biología por la Universidad de Murcia. Realizó la Tesis de Licenciatura en el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de Murcia en 1987 y la Tesis Doctoral en el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC). Desde 1991 ha impartido diferentes asignaturas de Botánica y Fisiología Vegetal en las titulaciones de Ingeniero Técnico Agrícola, Ingeniero Agrónomo y Ciencias Ambientales. La Dra. Serrano posee una amplia experiencia investigadora, con más de 100 trabajos publicados en revistas científicas incluidas en el JCR-SCI sobre temas relacionados con la fisiología del desarrollo, maduración y post-recolección de frutos, hortalizas y flores cortadas. Es partícipe en dos patentes y autor de varios capítulos de libro de editoriales internacionales y co-autor junto con el Dr. Daniel Valero del libro "Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality" publicado en 2010, CRC Press-Taylor and Francis. Realiza tareas de revisor de proyectos de investigación tanto para agencias nacionales (ANEP) como de las diferentes comunidades autónomas y de trabajos para más de 20 revistas científicas internacionales en las áreas de Biología Vegetal, Agricultura y Tecnología de Alimentos.

# Índice

**1.** Resumen ..... 125
**2**. Abstract ..... 126
**3.** Introducción y antecedentes ..... 126
**4.** Materiales y métodos ..... 127
**5.** Resultados y discusión ..... 127
**6.** Conclusiones ..... 128
**7.** Bibliografía ..... 128
**8.** Sobre el autor ..... 131

# Conservación frigorífica prolongada de dos variedades de granada recolectadas muy tardíamente

**Artés, F. [1], Melgarejo, P. [2] y Caballer, J.**
fr.artes@upct.es
pablo.melgarejo@umh.es
[1] Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48. 30203 Cartagena, Murcia.
[2] Departamento de Producción Vegetal. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Universidad Miguel Hernández. Carretera Beniel Km 2,3. 03312 Orihuela, Alicante.

## 1. Resumen

Granadas Mollar de Elche-14 (ME-14) y Mollar de Orihuela-4 (MO-4), cultivadas en condiciones homogéneas y recolectadas en la cuarta semana de noviembre, se conservaron 2 y 3 meses a 0 ó 5ºC y 90-95% HR, más 8 días a 15ºC y 65-70% de comercialización. No hubo diferencias notables en la calidad de ambos clones tras conservar y comercializar. La pérdida total de peso no llegó al 10% y hubo un 12,5% de podredumbres. El picado y escaldadura fueron mayores a 0 que a 5ºC con el clon MO-4 algo más sensible que el ME-14. Ha sido factible recolectar tardíamente y almacenar ambos clones 2 meses a 0 ó a 5ºC, pero las pérdidas totales a 0ºC podrán ser excesivas. Solo ME-14 podría conservarse comercialmente 3 meses a 5ºC y 90-95% HR. Por primera vez se ofrecen datos de conservación refrigerada prolongada de granada MO.

**Palabras clave:** *Punica granatum,* Mollar, calidad, deshidratación, podredumbres, daños por frío.

## 2. Abstract

The storage for 2 and 3 months at 0 or 5ºC and 90- 95% RH followed by a shelf life of 8 days at 15ºC and 65-70% RH of Mollar de Elche-14 (ME-14) and Mollar de Orihuela-4 (MO-4) pomegranates, cultivated under homogeneous conditions and picked in the fourth week of November, has been studied. No noticeable differences in quality of both clones after storage and shelf life periods were found. Global weight losses were lower than 10% in any treatment, and decay was 12.5% throughout both chilling storage and shelf life periods. Scald and pitting were higher at 0 than at 5ºC being MO-4 more sensitive to injuries tan ME-14. It was found that both clones could be lately picked and stored for 2 months at 0 or 5ºC, but global losses may possibly be excessive at 0ºC. Only ME-14 could be commercially stored up to 3 months at 5ºC and 90-95% RH.

Results on prolonged chilling storage of MO pomegranate are firstly reported here.

**Key words:** Punica granatum, Mollar, quality, weight loss, decay, chilling injuries.

## 3. Introducción y antecedentes

El creciente interés por la granada en todo el mundo exige conocerla mejor para optimizar su comercialización. La granada española debe mantenerse más tiempo y con mayor calidad en los mercados para lo que se requieren clones o variedades dulces más precoces y más tardías, con piñón blando (Artés, 1992; Melgarejo, 1993). Se ha progresado mucho en la tipificación, selección y diversificación varietal y un gran avance fue la plantación y cultivo en condiciones homogéneas en la Universidad Miguel Hernández (Melgarejo, 1993). La variedad más cultivada en España es Mollar de Elche (ME) y un clon seleccionado es el ME-14, tardío (de media estación), de fruto grande, dulce y algo ácido, rojo intenso en más del 80% de la epidermis y en las semillas, con piñón blando. En la variedad Mollar de Orihuela (MO) el clon MO-4, también selecto, es menos tardío (tercera semana de octubre), con fruto grande y dulce, de epidermis amarilla cremosa, color rojo suave en la zona de la insolación y rojo intenso en los arilos y piñón blando (Melgarejo, 1993). En la cosecha MO-4 mostró más antocianos totales (249 µg/mL) que ME-14 (105 µg/ml) y en ésta el contenido de diglucósidos (43%) fue superior a la de MO-4, mientras que el de monoglucósidos (57%) fue inferior. En ambos cianidina fue el más abundante y pelargonidina 3,5, el que menos (Artés *et al.,* 1998a).

La granada es muy sensible al daño mecánico en el árbol y al manipularla (que facilita los ataques fúngicos), a la deshidratación y a los daños por frío (DF) como escaldadura, picado y pardeamientos si permanece 2 meses o más a temperatura inferior a 5ºC (Elyatem y Kader, 1984; Artés, 1992). Por ello recomendamos 5ºC y 90-95% HR para conservar 2 a 3 meses la ME, lo que suele ser rentable para atender el aumento de la demanda y del precio a final de año y a partir de enero en Europa (Artés *et al*., 1996; Artés, 2007). También se recurre a la frigoconservación para exportar a países asiáticos, cuya duración suele superar un mes, incluida la distribución (Artés *et al.,* 1996, 1998b). Por todo ello, el objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la refrigeración prolongada de granadas ME-14 y MO-4, de gran interés por su calidad y ser de recolección potencial muy tardía.

## 4. Materiales y métodos

Las granadas procedían de la plantación experimental de la EPSO-UMH, cultivada en condiciones homogéneas. La cosecha fue muy tardía, el 23 de noviembre, tras una primera recolección tres semanas antes. Se transportaron 45 Km hasta la planta piloto donde se seleccionaron las sanas, con buena apariencia y homogéneas. Sus características respectivas para ME-14 y MO-4 fueron (media ± desviación estándar; n=8): peso 257,3 ± 18,6 y 313,6 ± 13,4 g y diámetros ecuatorial 7,8 ± 0,3 y 8,4 ± 0,3 cm y longitudinal 7,4 ± 0,4 y 6,6 ± 0,4 cm.

Los frutos, sin tratamientos post-recolección, se distribuyeron al azar en lotes de 8 por clon, temperatura, tiempo de almacenamiento y supervivencia comercial. Se dispusieron en una capa en cajas de plástico, introducidas en celdas metálicas de 150 L, con tapa de metacrilato y cierre estanco. Por las celdas alojadas en cámaras a 0 ó 5 ºC circuló 60 L/h de aire humidificado para mantener 90-95% HR. La temperatura de 0 ºC se seleccionó para inducir DF y 5ºC como mínima para evitarlos en 2 a 3 meses (Artés, 1992; Artés *et al.,* 1996). La conservación se prologó 81 días, seguidos de 8 días a 15 ºC y 65-70% HR para simular la distribución y venta.

El peso se determinó con una balanza (Mettler PC-4400, Madrid). Se extrajeron manualmente los arilos y se licuaron (Moulinex, Francia). Los sólidos solubles totales (SST) del zumo se determinaron con un refractómetro (Atago N1, Japón) y lecturas a 20ºC, en ºBrix. La acidez titulable (AT) se determinó por valoración de 5 mL con NaOH 0,1 N hasta pH = 8,1 y se expresó en g de ácido cítrico en 100 mL. El pH se determinó con un pH-metro (Crison, Barcelona). Se consideró DF moderado algún área picada en la epidermis de menos de 5 mm de diámetro y poco numerosa, algo sombreada. Se consideró severo cuando el fruto mostraba numerosos picados pardos, de más de 5 mm de diámetro, con un tono sombrío de la epidermis y era inaceptable para su venta.

## 5. Resultados y discusión

Los valores iniciales de SST, de AT y de la ratio SST/AT (índice de madurez), fueron algo inferiores en ME-14 que en MO-4, aunque en rangos descritos (Melgarejo, 1993). En ME-14, durante la conservación a 0 y 5ºC y su comercialización se detectaron valores algo superiores a los iniciales en SST e inferiores en AT y más marcados al prolongar la conservación, que pudo deberse a la heterogeneidad de la muestra. No se encontraron diferencias en los atributos químicos entre el final de conservación a ambas temperaturas y tras su comercialización (Tabla 1). En MO-4, durante los periodos a 0 y 5ºC y tras su comercialización los SST fueron algo inferiores a los iniciales y en la AT inferiores, no siempre significativos y más marcados al prolongar la conservación (Tabla 2). Ello es acorde con el metabolismo no climatérico de este fruto, en el que azúcares y ácidos orgánicos son los sustratos respiratorios más disponibles. El ligero aumento del índice de madurez es habitual al conservar la granada Mollar por refrigeración (Artés, 1992; Artés *et al*., 1996; Gil *et al.*, 1996).

En ambos clones y periodos de refrigeración no se apreciaron cambios notables en el color de la corteza y arilos (datos no mostrados), en línea con lo obtenido tras 6 semanas de conservación a 5ºC de granada Mollar (Gil *et al.*, 1996). Las pérdidas de peso fueron muy escasas en el almacenamiento de ambos clones con poca diferencia entre temperaturas (algo

mayores a 5ºC). Aumentaron tras la comercialización, aunque sin llegar en ningún tratamiento al 10%, ni observarse excesivo ablandamiento (Tablas 3 y 4). Ello se debió a la gran calidad de las granadas y a la baja temperatura y elevada HR de conservación y comercialización. Estos niveles fueron superiores a los obtenidos en granada ME de cosecha normal tras 80 ó 90 días a 2 y 5ºC y 95% HR más 6 días a 15ºC y 75% HR (Artés *et al*., 1998c, 2000). No existen datos que conozcamos sobre refrigeración de MO.

En ME-14, tras 61 días a 0ºC se desarrolló *Penicillium sp*. en 1 solo fruto de los 8 del lote (12,5%) y tras 8 días más a 15ºC creció *Botrytis sp*. también en 1 fruto (12,5%), mientras que tras 89 días a 5ºC creció *Penicillium sp*. en 1 fruto (12,5%). En MO-4 solo tras 89 días a 5ºC se desarrolló *Penicillium sp*. y en 1 fruto (12,5%). Ello se debió a la buena calidad de los frutos, su cuidadosa manipulación a disponerlos para almacenar en una capa y a la baja temperatura de conservación,. Las escasas pérdidas y géneros fúngicos son similares a lo sucedido en conservaciones análogas de ME (Artés *et al*., 1998c, 2000). Los DF en ambos clones fueron mayores a 0 que a 5ºC y aumentaron tras comercializar (Tablas 3 y 4). El MO-4 fue algo más sensible que el ME-14 a escaldadura y picado (no hubo otros DF), sin lograr 89 días a 0 ni a 5ºC (por el riesgo en la comercialización). Las pérdidas en ME-14 indican su posible conservación hasta 3 meses a 5ºC (incluso a 0ºC pero con graves riesgos) y fueron algo inferiores a los obtenidos en ME menos tardío en experiencias similares (Artés *et al*., 1998c, 2000).

## 6. Conclusiones

Del comportamiento expuesto se puede concluir que, a pesar de haber sido recolectados muy tardíos, ambos clones soportaron bien 2 meses a 0 y a 5ºC, aunque las pérdidas globales, incluida la fase de comercialización, fueron muy superiores a 0ºC. Solo el clon ME-14 podría conservarse hasta 3 meses a 5ºC y 90-95% HR. Por primera vez se ofrecen datos sobre la conservación refrigerada prolongada de granada MO.

## 7. Bibliografía


- Artés, 1992. Factores de calidad y conservación frigorífica de la granada. Jornadas Nacionales del Granado. Univ. Politécnica Valencia. Valencia.
- Artés, F. 2007. Optimización de la conservación de la granada entera y mínimamente procesada en Cuarta Gama. III Jorn. Nac. Granado. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Elche (Alicante).
- Artés, F., Marín, J.G. y Martínez, J.A. 1996. Controlled atmosphere storage of pomegranate. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 203: 33-37.
- Artés, F., Melgarejo, P. y Caballer, J. 1998a. Antocianos en granadas de recolección tardía. Symp. Intern. sobre el Granado. PRP3/4. Orihuela (Alicante).
- Artés, F., Tudela, J.A. y Gil, M.I. 1998b. Keeping quality of pomegranate fruit by intermittent warming. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 207: 316-321.
- Artés, F. Tudela J.A. y Gil, M.I. 1998c. Efectos de las atmósferas modificadas con elevadas concentraciones de $CO_2$ y reducidas de $O_2$ en la conservación de la granada. Symp. Inter. sobre el Granado. PRP5/9. Orihuela. Alicante. Octubre.

• Artés, F., Tudela, J.A. y Villaescusa, R. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. Postharvest Biol. Technol. 18 (3): 245-251.
• Elyatem, M.S. y A.A. Kader. 1984. Post-harvest physiology and storage behavior of pomegranate fruits. Scientia Hort. 24: 287-298.
• Gil, M.I., Sánchez, R., Marín, J.G. y Artés, F. 1996. Quality changes in pomegranate during ripening and cold storage. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 202: 481-485.
• Melgarejo, P. 1993. Selección y tipificación varietal del granado *(Punica granatum* L.*)*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia.

## Tabla 1:

Evolución del contenido en sólidos solubles, pH, acidez titulable e índice de madurez del zumo de granada ME-14 al recolectar, tras 61 y 89 días a 0 y 5ºC y 90-95% HR más 8 días a 15ºC y 75% HR.

| Tratamientos | SST (ºB) | pH | AT (%) | SST/AT |
|---|---|---|---|---|
| Inicial | 15,1 ± 0,6 * | 4,0 ± 0,1 | 0,22 ± 0,03 | 68,6 ± 6,7 |
| Fin 61 días de conservación | | | | |
| 0 ºC | 16,1 ± 0,3 | 4,0 ± 0,1 | 0,23 ± 0,03 | 70,0 ± 5,4 |
| 5 ºC | 16,2 ± 0,4 | 3,9 ± 0,1 | 0,22 ± 0,02 | 73,6 ± 6,2 |
| Fin 61 días + 8 días 15ºC | | | | |
| 0 ºC | 15,7 ± 0,5 | 4,1 ± 0,1 | 0,18 ± 0,03 | 87,2 ± 7,5 |
| 5 ºC | 15,6 ± 0,3 | 4,2 ± 0,1 | 0,17 ± 0,02 | 91,7 ± 7,8 |
| Fin 89 días de conservación | | | | |
| 0 ºC | 16,0 ± 0,4 | 4,1 ± 0,0 | 0,21 ± 0,02 | 76,2 ± 7,3 |
| 5 ºC | 15,5 ± 0,3 | 4,2 ± 0,1 | 0,19 ± 0,03 | 81,6 ± 6,1 |
| Fin 89 días + 8 días 15ºC | | | | |
| 0 ºC | 16,1 ± 0,3 | 4,3 ± 0,1 | 0,17 ± 0,03 | 94,7 ± 7,1 |
| 5 ºC | 15,7 ± 0,4 | 4,3 ± 0,1 | 0,17 ± 0,02 | 92,4 ± 5,9 |

** Los valores son medias (n = 8) ± desviación estándar*

## Tabla 2:

Evolución del contenido en sólidos solubles, pH acidez titulable e índice de madurez del zumo de granada MO-4 en la recolección tras 61 y 89 días a 0 y 5ºC y 90-95% HR y 8 días más a 15ºC y 75% HR.

| Tratamientos | SST (ºB) | pH | AT (%) | SST/AT |
|---|---|---|---|---|
| Inicial | 16,7 ± 0,4 * | 3,8 ± 0,1 | 0,24 ± 0,02 | 69,6 ± 4,5 |
| Fin 61 días de conservación | | | | |
| 0 ºC | 16,8 ± 0,2 | 4,0 ± 0,1 | 0,20 ± 0,02 | 84,0 ± 6,4 |
| 5 ºC | 17,2 ± 0,4 | 3,9 ± 0,1 | 0,21 ± 0,03 | 81,9 ± 5,4 |
| Fin 61 días + 8 días 15ºC | | | | |
| 0 ºC | 16,2 ± 0,3 | 4,0 ± 0,0 | 0,19 ± 0,03 | 85,2 ± 7,3 |
| 5 ºC | 15,7 ± 0,5 | 4,0 ± 0,1 | 0,19 ± 0,02 | 82,6 ± 7,9 |
| Fin 89 días de conservación | | | | |
| 0 ºC | 16,1 ± 0,3 | 4,1 ± 0,1 | 0,20 ± 0,03 | 80,5 ± 6,7 |
| 5 ºC | 15,9 ± 0,2 | 4,2 ± 0,1 | 0,17 ± 0,02 | 93,5 ± 5,2 |
| Fin 89 días + 8 días 15ºC | | | | |
| 0 ºC | 15,8 ± 0,5 | 4,2 ± 0,1 | 0,18 ± 0,03 | 87,7 ± 7,5 |
| 5 ºC | 16,1 ± 0,2 | 4,2 ± 0,1 | 0,17 ± 0,02 | 94,7 ± 5,2 |

** Los valores son medias (n = 8) ± desviación estándar*

## Tabla 3:

Deshidratación (% en peso) y alteraciones fisiológicas (% en número) en ME-14 tras 61 y 89 días a 0 y 5ºC y 90-95% HR y tras 8 días más a 15ºC y 75% HR.

| Tratamientos ME-14 | Pérdida de peso (%) | Alteraciones fisiológicas (%) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | leves | moderadas | graves |
| Almacenamiento | | | | |
| 61 días a 0ºC | 1,4 c * | 25,0 a | 12,5 b | - |
| 61 días a 5ºC | 1,8 b | 12,5 b | 12,5 b | - |
| 89 días a 0ºC | 2,0 a | 12,5 b | 25,0 a | 12,5 a |
| 89 días a 5ºC | 2,1 a | 12,5 b | 12,5 b | - |
| Comercialización | | | | |
| 61 d 0ºC + 8 d 15ºC | 8,8 b | 25,0 a | 12,5 b | - |
| 61 d 5ºC + 8 d 15ºC | 9,7 a | 12,5 b | 2,5 b | - |
| 89 d 0ºC + 8 d 15ºC | 9,2 ab | 25,0 a | 25,0 a | 12,5 a |
| 89 d 5ºC + 8 d 15ºC | 9,9 a | 12,5 b | 12,5 b | 12,5 a |

** Cada valor representa la media de 8 frutos. Los valores en cada columna y periodo seguidos de distinta letra, son distintos según el Test de Duncan ($p < 0,05$).*

## Tabla 4:

Deshidratación (% en peso) y alteraciones fisiológicas (% en número) en MO-4 tras 61 y 89 días a 0 y 5ºC y 90-95% HR y 8 días más a 15ºC y 75% HR.

| Tratamientos MO-4 | Pérdida de peso (%) | Alteraciones fisiológicas (%) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | leves | moderadas | graves |
| Almacenamiento | | | | |
| 61 d 0ºC | 1,3 c * | 25,0 a | 25,0 a | - |
| 61 d 5ºC | 1,7 ab | 12,5 b | 12,5 b | - |
| 89 d 0ºC | 1,7 ab | 12,5 b | 25,0 a | 25,0 a |
| 89 d 5ºC | 1,9 a | 12,5 b | 12,5 b | - |
| Comercialización | | | | |
| 61 d 0ºC + 8 d 15ºC | 9,1 b | 37,5 a | 12,5 b | - |
| 61 d 5ºC + 8 d 15ºC | 9,8 ab | 12,5 c | 12,5 b | - |
| 89 d 0ºC + 8 d 15ºC | 9,3 b | 25,0 b | 25,0 a | 25,0 a |
| 89 d 5ºC + 8 d 15ºC | 9,9 a | 25,0 b | 25,0 b | 12,5 b |

** Cada valor representa la media de 8 frutos. Los valores en cada columna y periodo seguidos de distinta letra, son distintos según el Test de Duncan ($p < 0,05$).*

## 8. Sobre el autor

### Prof. Dr. Francisco Artés Calero

Ingeniero Agrónomo y Dr. Ing. Agrónomo (Universidad Politécnica de Valencia, 1971, 1976) e Ingénieur Frigoriste (IFFI-CNAM, Université de Paris, 1972).

Catedrático de Universidad de Tecnología de Alimentos e Investigador Científico del CSIC. Especializado en Tecnología Postcosecha en el CNRS Bellevue-París y en la University of California, Davis, y en Tecnología de Productos Alimentarios en la Université de París y en la Universidad de Murcia.

Responsable del Grupo Postrecolección y Refrigeración y Director del Instituto de Biotecnología Vegetal de la Universidad Politécnica de Cartagena. Fue Director del Centro de Biología Aplicada del Segura (CSIC-Murcia), Vice-Presidente y Presidente de la Food Science and Engineering Comission del International Institute of Refrigeration -IIR- y Presidente de la Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha.

Miembro de la Académie d'Agriculture de France. Premio y Honorary Member del IIR. Premio Isaac Peral, en Equipo, del Consejo Social de la UPCT.

Ha publicado más de 300 trabajos de investigación.

# Índice

**1.** Resumen ..... 133
**2.** Abstract ..... 134
**3.** Introducción ..... 134
**4.** Materiales y métodos ..... 135
**5.** Resultados ..... 137
**6.** Discusión ..... 139
**7.** Agradecimientos ..... 141
**8.** Bibliografía ..... 141
**9.** Sobre el autor ..... 141

# Enfermedades de poscosecha de la granada en la zona de Elche

**Lluís Palou**
palou_llu@gva.es
Laboratori de Patologia, Centre de Tecnologia Postcollita, Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA), Apartat Oficial, 46113 Montcada, València

## 1. Resumen

España es el primer productor y exportador de granadas de la Unión Europea. Más del 90% de las plantaciones comerciales de este frutal están situadas en la zona de Elche (Alicante). La industria de la granada está actualmente interesada en prolongar el período de almacenamiento de los frutos para alcanzar el mercado más allá del período actual de comercialización. Las pérdidas de peso, los daños por frío y las enfermedades de poscosecha son los principales problemas que limitan la frigoconservación de la granada. En este trabajo se determinaron la etiología y la incidencia de estas enfermedades en nuestras condiciones ambientales. Se utilizaron granadas cv. 'Mollar de Elche' de dos parcelas distintas para determinar la incidencia tanto de patógenos de herida (infecciones en poscosecha) como de patógenos latentes (infecciones en campo). Para ello, frutos sanos se hirieron en la piel o se desinfectaron con hipoclorito sódico y se colocaron en cámaras húmedas a 20ºC durante 2 meses. Se determinaron también las enfermedades en granadas conservadas a 5ºC durante 6 meses. Los hongos causantes de enfermedad se incubaron en medio patata dextrosa agar (PDA) a 25ºC para su aislamiento y posterior identificación. Los principales agentes causales de infecciones de herida y latentes fueron respectivamente *Penicillium* spp. (podredumbre azul) y *Botrytis cinerea* (podredumbre gris). *P. expansum*, *P. sclerotiorum* y *P. glabrum* fueron especies patogénicas de *Penicillium* identificadas. Las podredumbres azul y gris fueron también las más frecuentes en granadas conservadas en frío. Otros patógenos relativamente frecuentes en frutos almacenados a 20 y 5ºC fueron respectivamnete *Aspergillus niger* y *Pilidiella granati*.

**Palabras clave:** granada, poscosecha, 'Mollar de Elche', *Penicillium*, *Botrytis*

## 2. Abstract

Spain is the first European Union producer and exporter of pomegranates (Punica granatum L.). More than 90% of the Spanish commercial acreage is located in the Southeast area of the country (Alicante province, Elche area). Currently, there is a clear interest in prolonging the whole fruit storage period to reach off-season markets. Weight loss, chilling injury, and decay are the most important problems limiting storability of pomegranate. The etiology and incidence of postharvest diseases in our local environmental conditions were determined. Commercially grown pomegranates cv. 'Mollar de Elche' from two different orchards were used to assess both wound pathogens (postharvest infections) and latent pathogens (field infections). Healthy pomegranates were either artificially wounded in the rind or surface-disinfected with sodium hypochlorite and placed in humid chambers at 20ºC for up to 2 months. Additionally, decay was periodically assessed on intact pomegranates stored at 5ºC for up to 6 months. Isolates of pathogens causing fruit decay were plated in potato dextrose agar (PDA) Petri dishes and incubated at 25ºC for further macroscopic and/or microscopic identification. The main causal agents of wound and latent infections were Penicillium spp. (blue mold), and Botrytis cinerea (gray mold), respectively. Pathogenic Penicillium species were identified as P. expansum, P. sclerotiorum, and P. glabrum. Blue and gray molds were also the most frequent diseases observed on cold-stored fruit. Other relatively frequent pathogens on fruit stored at 20 and 5ºC were Aspergillus niger and Pilidiella granati, respectively.

**Key words:** pomegranate, postharvest, 'Mollar de Elche', Penicillium, Botrytis

## 3. Introducción

España es el primer productor y exportador de granadas de la Unión Europea. Más del 90% de las plantaciones comerciales de este frutal están situadas en el Sudeste del país, principalmente en la zona de Elche, provincia de Alicante. La importancia de este cultivo a nivel mundial está aumentando debido a la creciente demanda por parte del consumidor de alimentos de alto nivel nutricional y terapéutico.

La granada es un fruto no climatérico que no madura fuera del árbol ni siquiera mediante tratamientos con etileno y se debería recolectar cuando está totalmente maduro para asegurar un sabor óptimo. Actualmente, la industria de la granada en España está claramente interesada en prolongar el período de almacenamiento de los frutos para alcanzar el mercado más allá del período actual de comercialización. Algunos estudios indican que la variedad 'Mollar de Elche', el cultivar de granada más extendido en España, debería almacenarse a temperaturas de 5ºC y humedades relativas (HR) del 90% o mayores para evitar pérdidas de peso y el desarrollo de daños por frío (escaldado o decoloración marrón de la piel y/o picado superficial), que son los principales problemas que limitan la frigoconservación de la granada (Artés et al., 2000). Sin embargo, el almacenamiento en estas condiciones puede favorecer el desarrollo de enfermedades de poscosecha si se compara con una conservación a temperaturas más bajas (0-1ºC).

Según el tipo y el momento de la infección, existen dos tipos de enfermedades de poscosecha, las causadas por patógenos de herida, que infectan el fruto en el campo o en posco-

secha exclusivamente a través de microheridas o heridas visibles en la piel del fruto, y las causadas por patógenos latentes, que infectan las flores, los frutos jóvenes o los frutos maduros en el campo pero que permanecen inactivos o latentes hasta que, debido a cambios físicos o fisiológicos en el fruto huésped o a cambios en las condiciones ambientales, se desarrollan en la fase de poscosecha. El patógeno de este tipo más importante es el hongo *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., que causa la enfermedad conocida como podredumbre gris. Además de *B. cinerea*, se han citado otros hongos causantes de podredumbres en poscosecha de granada en distintas zonas productoras, entre ellos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp., *Nematospora* spp., *Coniella* spp., *Colletotrichum gloeosporioides* o *Pestalotiopsis versicolor*. La incidencia de enfermedades de poscosecha depende tanto de factores de precosecha (cultivar, clima, condiciones de crecimiento, etc.), como de la propia cosecha y de factores posteriores a la recolección (manejo, condiciones de almacenamiento, etc.). Por tanto, esta incidencia potencial debería determinarse específicamente para cada zona de cultivo pues muchos de estos factores presentan un marcado carácter local.

## 4. Materiales y métodos

### Frutos

Granadas (*Punica granatum* L.) cv. 'Mollar de Elche' (sinónimo: 'Mollar') producidas comercialmente en dos parcelas diferentes de la zona de Elche (Alicante) se recolectaron en su madurez comercial y se transportaron a una cooperativa frutícola local. Posteriormente, la fruta se llevó al IVIA donde se seleccionaron frutos sanos de un calibre medio y uniforme, se redistribuyeron aleatoriamente, y se utilizaron en los experimentos ese mismo día.

### Determinación de patógenos de herida

Granadas intactas de las cajas de campo se hirieron mediante un punzón en cuatro puntos equidistantes de la zona ecuatorial. Cada fruto se colocó sobre una placa petri numerada y los frutos se introdujeron en cámaras húmedas. Estas cámaras consistían en cajas de plástico de 5 L con tapa que habían sido previamente desinfectadas superficialmente pulverizándolas con etanol al 98%. Para permitir el intercambio de aire, las cajas se perforaron en dos paredes opuestas dejando unos orificios de 0,5 cm de diámetro. Antes de colocar los frutos, en el fondo de las cajas se habían colocado papeles absorbentes impregnados de agua. Las cámaras húmedas se taparon y se incubaron a 20ºC. Con la fruta de cada campo se utilizaron ocho cámaras húmedas (repeticiones) conteniendo cada una cuatro frutos (16 heridas) (total de 32 frutos y 128 heridas por parcela).

El número de heridas infectadas en cada cámara se controló semanalmente durante 7 semanas. Los patógenos causantes de infecciones se reconocieron bien mediante inspección visual directa o después de ser sembrados en placas petri con medio patata dextrosa agar (PDA) e incubados a 25ºC para su aislamiento y posterior identificación por sus caracteres macro y/o microscópicos. Salvo algunas excepciones, los hongos patógenos se identificaron a nivel de género.

*Foto 1. Granadas infectadas por Penicillium expansum (A), P. sclerotiorum (B) y P. glabrum (C).*

### Determinación de patógenos latentes

Granadas intactas procedentes de cajas de campo se desinfectaron superficialmente mediante inmersión en lejía diluida (0.5% hipoclorito sódico) durante 1 min, se aclararon intensamente con agua y se secaron con papel. Para evitar que el baño afectase a posibles patógenos latentes establecidos dentro de la corona del fruto, ésta se cubrió con cinta adhesiva antes de la desinfección de la fruta. Los frutos desinfectados se colocaron en placas petri estériles y se dispusieron dentro de cámaras húmedas tal y como se ha descrito anteriormente. Las cámaras húmedas se taparon y se incubaron a 20ºC. Con la fruta de cada campo se utilizaron ocho cámaras húmedas (repeticiones) conteniendo cada una cuatro frutos (total de 32 frutos por parcela). Se anotó semanalmente el número de frutos infectados en cada cámara durante 7 semanas. Los patógenos causantes de las podredumbres se identificaron como se ha descrito anteriormente.

*Foto 2. Granada infectada por Botrytis cinerea.*

*Foto 3. Granada infectada por Aspergillus niger.*

**Determinación de podredumbres durante el almacenamiento en frío**

Granadas que habían sido procesadas comercialmente en la central frutícola se llevaron al IVIA y se almacenaron a 5ºC y 90% HR durante 7 meses. La manipulación en la central frutícola consistió en la selección manual de la fruta y el envasado en cajas de cartón de 50x30x10 cm con alveolos plásticos que impidieron el contacto entre frutos. No se aplicó ningún tratamiento de poscosecha de ningún tipo. Para cada campo se utilizaron 4 cajas comerciales (repeticiones), cada una con 12 granadas (total de 48 frutos por campo). Cada dos semanas se controló el número de frutos infectados en cada caja, identificándose los patógenos causantes de podrido tal y como ya se ha descrito.

## 5. Resultados

Después de 7 semanas de incubación a 20ºC, la incidencia total de infecciones de herida (podridos causados por cualquier patógeno) fue de un 30 y 60% en granadas 'Mollar de Elche' de las parcelas 1 y 2, respectivamente. Diferentes especies del género *Penicillium* fueron los agentes causantes de infecciones de herida más importantes, siendo su frecuencia relativa del 70-75% en frutos de ambos campos (**Fig. 1A**). Especies de este género aisladas en estos ensayos se han identificado como *P. expansum, P. sclerotiorum, P. glabrum* y *P. minioluteum.* Ensayos de patogenicidad con estos hongos han indicado que mientras las especies *P. expansum, P. sclerotiorum* y *P. glabrum* son efectivamente patógenos de la granada (**Foto 1**), la especie *P. minioluteum* no causa enfermedad. *B. cinerea* (**Foto 2**) y *Aspergillus niger* van Tiegh (**Foto 3**) fueron otros patógenos causantes de podredumbre identificados.

*Foto 4. Granada infectada por Pilidiella granati.*

La incidencia total de infecciones latentes (podridos causados por cualquier patógeno) se incrementó continuamente durante las 7 semanas de incubación a 20ºC y alcanzó un 65-75% de las granadas de los dos campos al final del período de incubación. Esta pauta fue básicamente debida a la seguida por las infecciones causadas por *B. cinerea*, que en general fue el principal patógeno causante de podredumbres. También se observó un número creciente de infecciones de *Penicillium* spp. Además, en los frutos de la parcela 1 la incidencia de podridos por *A. niger* también fue alta. En los frutos de este campo, la frecuencia relativa de este hongo al final del período de incubación fue tan alta como la de *B. cinerea* (**Fig. 1B**).

La incidencia total de podridos en las granadas almacenadas en frío fue del 10% o menor durante las primeras 17 semanas de almacenamiento a 5ºC (4 meses aproximadamente), pero aumentó a un 60-75% tras 27 semanas. De nuevo, *B. cinerea* y *Penicillium* spp. fueron los patógenos más frecuentes durante todo el período de almacenamiento, pero en este caso la frecuencia relativa de otros patógenos fue más alta que en la fruta incubada a 20ºC (**Fig. 1C**). Entre ellos destacó *Pilidiella granati* (sinónimo: *Coniella granati*; **Foto 4**).

Otros patógenos causantes de podredumbre, aunque con una incidencia sensiblemente menor, fueron *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. o *Alternaria* sp. Se observaron infecciones de *Penicillium* spp. en los estambres de muchos frutos, especialmente de aquellos incubados a 20ºC.

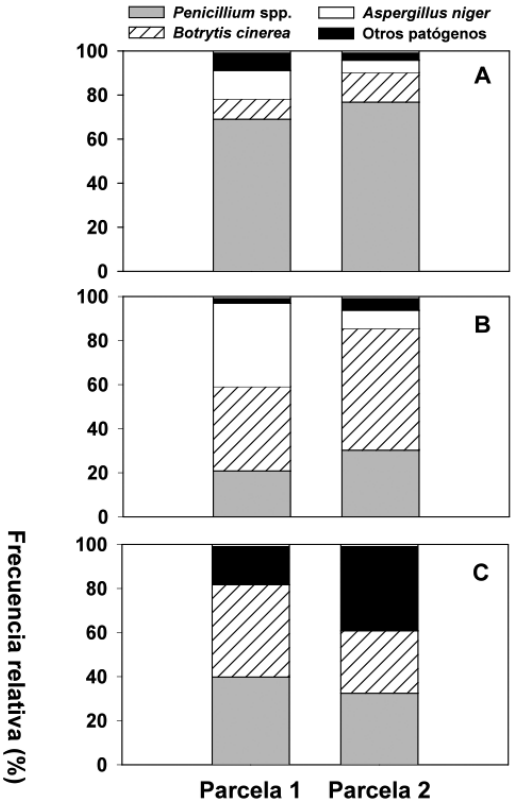
## 6. Discusión

Aunque en algunos estudios se ha citado a especies de *Penicillium* no identificadas como la causa de podrido en granada (Kanwar and Thakur, 1972; Artés et al., 2000), en otros casos el patógeno fue identificado como *P. expansum* (Kanwar y Thakur, 1972), *P. digitatum* (Salunkhe y Desai, 1984) o *P. implicatum* (Labuda et al., 2004). Estos autores también encontraron cepas de *P. glabrum, P. minioluteum, P. implicatum* y *P. erythromellis* en estambres visiblemente llenos de moho en la corona de granadas obtenidas de un mercado en Eslovaquia y procedentes de España. Los autores argumentaron que los estambres podrían ser una fuente de infección que se extendería al resto del fruto en caso de haber vías de entrada como heridas, golpes o rozaduras. Teniendo en cuenta que *Penicillium* spp. son patógenos de herida estrictos, este tipo de infección podría explicar parcialmente la elevada incidencia de *Penicillium* que observamos en los ensayos de patógenos latentes. No obstante, creemos que la causa principal fue la contaminación por parte de *Penicillium* spp. de infecciones primarias causadas por otros hongos.

La patogenicidad del hongo *B. cinerea* en granadas, causando la enfermedad conocida como podredumbre gris, se ha descrito en muchas zonas productoras de todo el mundo. Como se muestra en este trabajo, la enfermedad puede originarse tanto por infecciones latentes como de herida. Las esporas y fragmentos de micelio que contaminan la superficie del fruto pueden infectarlo a través de grietas o heridas en la piel, pero los podridos originados por infecciones latentes establecidas en la fruta antes de su recolección son normalmente más frecuentes. En estos casos, el patógeno infecta las flores o la corona de frutos jóvenes, permanece latente y, una vez el fruto ha sido recolectado, se extiende desde la corona al resto del mismo. Se ha propuesto denominar a esta forma particular de podredumbre gris de poscosecha como podredumbre de corona por botrytis (Palou et al., 2007). Además, *B. cinerea* puede producir 'nidos' de podredumbre en granadas almacenadas por contacto miceliar entre frutos adyacentes. Estos 'nidos' pueden aparecer incluso en frutos almacenados en frío porque el patógeno es capaz de crecer, aunque lentamente, a temperaturas tan bajas como 0ºC. En este estudio, la podredumbre de corona por botrytis fue la enfermedad más frecuente en granadas almacenadas a 5ºC, aunque su incidencia durante los 4 primeros meses de almacenamiento en frío fue más baja que la encontrada en las granadas 'Wonderful' en California (Palou et al., 2007). Esto puede deberse a diferencias varietales en la susceptibilidad y/o a condiciones medioambientales distintas. Las infecciones primarias y secundarias de *Penicillium* llegaron a ser especialmente significativas hacia el final del período de almacenamiento en frío, cuando la mayor parte de los frutos estaban sobremaduros, deshidratados, y presentaban obvias y frecuentes grietas en la piel.

Se han observado varias especies del género *Aspergillus* como causantes de podredumbre de poscosecha en granadas. Concretamente, *A. nidulans*, *A. clavatus* y *A. niger* han sido citados en trabajos realizados en la India como causantes de las enfermedades denominadas podredumbre por aspergillus, podredumbre interna y podredumbre negra, respectivamente (Kanwar and Thakur, 1972). *A. niger* se ha descrito como un patógeno de herida asociado al agrietado de la piel que también suele causar infecciones secundarias en fruta no almacenada en frío y además puede encontrarse infectando los estambres de la granada (Labuda et

**Gráfico 1:**
Frecuencia relativa de patógenos causantes de enfermedades de poscosecha en granadas 'Mollar de Elche' heridas artificialmente (A) o desinfectadas superficialmente (B) e incubadas a 20ºC durante 7 semanas, o almacenadas a 5ºC durante 27 semanas (C).




al., 2004). Dado que se sabe que la desinfección superficial con cloro no es efectiva contra patógenos situados dentro de heridas de la corteza, la inesperada alta incidencia de *A. niger* en granadas de la parcela 1 desinfectadas superficialmente podría deberse a la presencia de cantidades importantes de conidios del hongo en el ambiente de ese campo, que colonizaron microheridas de la piel de los frutos imposibles de ver a simple vista. Este trabajo constituye un primer paso para determinar las enfermedades de poscosecha de granada más importantes en España. Esta información puede resultar muy útil para nuestra industria de la granada porque si se logra prolongar el almacenamiento de los frutos y se alarga así el período de comercialización, presumiblemente aumentará de forma significativa la incidencia de podredumbres de poscosecha. En ese caso, se requerirá la adopción de métodos de control para mini-

mizar las pérdidas económicas potenciales. A diferencia de lo que ocurre en otras zonas productoras como California, actualmente no se permite en España el uso en poscosecha de granadas de fungicidas químicos de síntesis. Por tanto, debería enfatizarse la evaluación de tratamientos antifúngicos alternativos en el contexto de un control integrado de enfermedades.

## 7. Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC; proyecto AGL2004-05271/AGR) y la Unión Europea (Programa FEDER). Agradecemos la colaboración de la cooperativa Cambayas Coop. V. (Elche, Alicante).

## 8. Bibliografía

• Artés, F., Tudela, J.A., Villaescusa, R. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. Postharvest Biol. Technol. 18: 245-251.

• Kanwar, Z.S., Thakur, D.P. 1972. Post-harvest fungal diseases of pomegranate in Haryana. Indian J. Mycol. Plant Pathol. 2: 189- 191.

• Labuda, R., Hudec, K., Piecková, E., Mezey, J., Bohovic, R., Mátéová, S., Lukác, S.S. 2004. *Penicillium implicatum* causes a destructive rot of pomegranate fruits. Mycopathologia 157: 217-223.

• Palou, L, Crisosto, C.H., Garner, D. 2007. Combination of postharvest antifungal chemical treatments and controlled atmosphere storage to control gray mold and improve storability of 'Wonderful' pomegranates. Postharvest Biol. Technol. 43: 133-142.

• Salunkhe, D.K., Desai, B.B. 1984. Postharvest Biotechnology of Fruits, Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

## 9. Sobre el autor

### Lluís Palou

Patólogo de poscosecha

Ingeniero Técnico Agrícola (Universitat Politècnica de Catalunya, 1990), Ingeniero Agrónomo (Universitat de Lleida, 1995), Dr. Ingeniero Agrónomo (Universitat de Lleida, 2002)

1999-2002. Investigador visitante. Department of Pomology, University of California, Davis. Kearney Agricultural Center, Parlier, California, EE UU.

2002-2003. Postdoc. Unitat de Patologia, Àrea de Postcollita, Centre UdL-IRTA, Lleida.

2003-presente: Investigador. Centre de Tecnologia Postcollita, IVIA, Montcada, València

Intereses principales: Investigación aplicada y extensión sobre patología de poscosecha de fruta fresca de interés económico en el área productora de Valencia: cítricos, fruta de hueso, uva de mesa, frutos mediterráneos minoritarios (granada, caqui, níspero, dátil). Evaluación de métodos físicos, químicos y biológicos para el control integrado de enfermedades de poscosecha sin la utilización de fungicidas químicos sintéticos. Efecto de tratamientos seleccionados en la calidad y potencial de conservación de los frutos.

# Índice

**1.** Resumen ..... 143

**2.** Abstract ..... 143

**3.** Efecto de los tratamientos sobre la reducción de los daños por frío ..... 144

**4.** Efecto de los tratamientos sobre la calidad organoléptica ..... 145

**5**. Efecto de los tratamientos sobre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante ..... 146

**6.** Conclusiones ..... 147

**7.** Bibliografía ..... 147

**8.** Sobre el autor ..... 151

# Innovaciones en los tratamientos postrecolección de granada

**Daniel Valero**
daniel.valero@umh.es
Depto. Tecnología Agroalimentaria. EPSO-Universidad Miguel Hernández. Ctra. Beniel km. 3,2. 03312, Orihuela, Alicante.

## 1. Resumen

La granada se considera uno de los frutos comestibles más antiguos usados por el hombre debido a que los arilos contienen un 80% de zumo, el cual es rico en azúcares, ácidos orgánicos, vitaminas y nutrientes minerales. Además, a pesar de usarse en la medicina popular durante siglos, en los últimos años se está prestando especial interés a los compuestos antioxidantes con propiedades beneficiosas para la salud que contienen tales como compuestos fenólicos y antocianinas. No obstante, la granada presenta serios problemas de calidad durante el almacenamiento postrecolección tales como desecación por pérdida de peso, podredumbres y pardeamiento, que se ven agravados cuando se almacenan a temperaturas de refrigeración apareciendo los denominados síntomas de daños por frío (DPF). En esta comunicación se exponen diferentes estrategias postrecolección consideradas no contaminantes, como son la aplicación de choques térmicos suaves, y el uso de de compuestos naturales tales como poliaminas, ácido salicílico (AS), ácido acetil salicílico (AAS), ácido oxálico (AO), salicilato de metilo (SaMe) y jasmonato de metilo (JaMe) y su influencia en la reducción de DPF y mantenimiento de la calidad organoléptica, nutritiva y funcional.

## 2. Abstract

Pomegranate is considered one of the oldest known edible fruit due to the arils contain around 80% of juice which is rich in sugars, organic acids, vitamins, and essential minerals. In addition, although pomegranates have been used broadly in the folk medicine by humans, in recent years the antioxidant compounds with health-beneficial properties have been claimed, such as phenolic compounds and anthocyanins. However, pomegranate exhibits important quality loss which occurs during postharvest storage, such as desiccation by water loss,

fungal decay and browning, which are enhanced when fruit is stored at low temperature and occurred the well-known chilling injury (CI) symptoms. In this paper several postharvest strategies considered as non-contaminants are addressed such as the application of mild heat treatments, and the use of natural compounds like polyamines, salicylic acid (SA), acetyl salicylic acid (ASA), oxalic acid (OA), methyl salicylate (MeSa) and methyl jasmonate (MeJa) and their influence on reducing the CI and maintaining organoleptic, nutritive and functional quality.

## 3. Efecto de los tratamientos sobre la reducción de los daños por frío

Para minimizar la incidencia de los DPF se han utilizado diferentes estrategias, todas ellas consideradas como no contaminantes por tratarse de compuestos naturales. Se han aplicado choques térmicos suaves (45°C durante 4 minutos), dos poliaminas: putrescina (Put) y spermidina (Spd) 1 mM, ácido salicílico (AS) a 0.7, 1,4 y 2 mM, ácido acetil salicílico (AAS) a 0,1, 0,5 y 1 mM, ácido oxálico (AO) a 2, 4 y 6 mM, salicilato de metilo (SaMe) y jasmonato de metilo (JaMe) 0.01 y 0.1 mM. El almacenamiento prolongado bajo temperaturas de refrigeración (2°C) de granadas conllevó a un aumento de los daños por frío en los frutos control, como se muestra en el gráfico 1. Estos daños se evaluaron sobre una escala hedónica de 4 puntos basados en el porcentaje de superficie de piel afectada por síntomas de DPF, de tal forma que después de 3 meses de almacenamiento más del 50% de la superficie de los frutos control (valor 0,4) presentaban síntomas de daños por frío, entre los que se incluyen deshidratación, picado y pardeamiento. Por el contrario, la aplicación de los diferentes tratamientos conllevó a una reducción significativa de los daños por frío con valores inferiores a 0,2. De las concentraciones ensayadas los mejores resultados se obtuvieron con AS 2 mM, AAS 1 mM, AO 6 mM, SaMe y JaMe 0.1 mM, que son las que se presenta en el gráfico 1. Estos daños por frío estuvieron acompañados por otras alteraciones fisiológicas como salida de electrolitos, cuyo valor en los frutos control fue entre 65-70% según los experimentos, mientras que en las granadas tratadas este porcentaje se redujo de forma significativa, adquiriendo valores del 40-50%. Esta diferencia permite confirmar que la aplicación de los tratamientos inducía un mantenimiento de la integridad de la membrana, ya que las bajas temperaturas en productos sensibles al daño por frío induce cambios en los lípidos de la membrana pasando del estado líquido-cristalino al estado gel-sólido, lo que conlleva a un incremento de la permeabilidad de la membrana y a una salida de electrolitos. Además, hemos podido comprobar que algunos de los tratamientos que mejoran los daños por frío presentan una mayor proporción de ácidos grasos insaturados/saturados, y que este mayor grado de insaturación puede ser un mecanismo de adaptación de la granada a las bajas temperaturas, como es el caso de los tratamientos térmicos suaves (Mirdehghan et al., 2007b), la aplicación de las poliaminas Put y Spd (Mirdehghan et al., 2007a), el ácido salicílico (Sayyari et al., 2009), el ácido oxálico (Sayyari et al., 2010), o la aplicación de vapores de SaMe y JaMe (Sayyari et al., 2011). Estos tratamientos también presentaron un efecto positivo en cuanto a las pérdidas de peso durante el almacenamiento post-recolección.

*Granadas almacenadas en condiciones de daños por frío en cámara.*

## 4. Efecto de los tratamientos sobre la calidad organoléptica

Durante al almacenamiento de las granadas durante periodos prolongados se producen una serie de cambios que afectan a la calidad organoléptica del fruto, entre los que destacan los cambios de color de la piel (que vienen influenciados por los síntomas de daños por frío), la pérdida de peso por deshidratación, el ablandamiento, la pérdida de acidez y la acumulación de azúcares. Todos estos parámetros están relacionados con el proceso de maduración, en el cual influye también la tasa de respiración. Por tanto, con el objetivo de retrasar estos cambios y alargar la vida útil post-recolección, se ha realizado diferentes tratamientos y estrategias postcosecha. Como puede verse en el gráfico 2, los frutos control exhiben un proceso acelerado de ablandamiento con una pérdida de firmeza gradual a medida que va transcurriendo el almacenamiento. El tratamiento mediante baños con AS, ASA o AO así como con los compuestos volátiles SaMe y JaMe conllevó a un retraso en la pérdida de firmeza de los frutos (Sayyari et al., 2009; 2010; 2011), si bien el mecanismo por el cual estos compuestos retrasan los procesos de ablandamiento no se conoce aún, y por tanto se necesitan investigaciones más profundas. En frutos se ha comprobado que durante el almacenamiento post-recolección viene acompañado por una pérdida en la integridad de la pared celular debido a la ruptura de las sustancias pécticas y un incremento de las pectinas solubles, que son las responsables de la pérdida de firmeza (Valero y Serrano, 2010). Así mismo, se ha comprobado como durante el almacenamiento se origina una pérdida de la lámina media provocando una disminución de la adhesión intercelular y al mismo tiempo la activación de una serie de enzimas como poligalacturonasa (PG), pectin metilesterasa (PME), ß-galactosidasa (ß-Gal) y pectato liasa (PL). Por tanto, ya que estos compuestos (AS, ASA, AO, SaMe y JaMe) han sido descritos como moduladores de la fisiología de los frutos, la inhibición de estos enzimas podría explicar la mayor firmeza encontrada en las granadas tratadas. La apli-

cación de poliaminas Put y Spd también conllevó a un mantenimiento de la firmeza a lo largo de la conservación post-recolección. En este caso se tienen mayores evidencias del mecanismo de acción de estas aminas, ya que en los frutos se encuentran cargadas positivamente y se unen a los restos carboxilo (-COO-) de las sustancias pécticas resultando en una rigidificación de la pared celular (Valero et al., 2002). Esta unión también bloquea el acceso de los enzimas hidrolíticos PME, PG, ß-Gal y PL y por tanto reduce el proceso de ablandamiento. Otra tecnología que ha mostrado ser efectiva en el mantenimiento de la firmeza de las granadas es la aplicación de choques térmicos suaves (45°C durante 4 minutos) previa al almacenamiento, y se ha postulado que el calor podría facilitar la unión de los iones Ca2+ a los ácidos pécticos procedentes de pectinas de bajo metoxilo para formar pectato-Ca y por tanto retrasar la acción de los enzimas hidrolíticos.

Los tratamientos anteriormente comentados también fueron efectivos en retrasar las pérdidas de acidez total de los arilos, mientras que tuvieron un efecto menos aparente sobre los cambios en los azúcares, lo que indican que son tratamientos efectivos en provocar un retraso del proceso de maduración postrecolección de la granada y un beneficio en cuanto a extender la vida útil de estos frutos.

## 5. Efecto de los tratamientos sobre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante

El consumo de frutas en general, y de granada en particular, proporciona efectos beneficiosos debido a que contienen u amplio rango de compuestos con actividad antioxidante incluyendo ácido ascórbico (vitamina C), flavonoides, y compuestos fenólicos como antocininas, punicalagina y ácido elágico (Valero y Serrano, 2010). En granada se ha comprobado que la punicalagina es el principal compuesto que contribuye a la actividad antioxidante total (AAT) seguido del ácido elágico y las antocianinas (Kulkarni et al., 2004). Sin embargo, se ha podido comprobar que durante el almacenamiento prolongado de la granada se produce pérdida de ácido ascórbico, tanto en refrigeración como a temperatura ambiente, y una degradación de las antocianinas (Pérez-Vicente et al., 2002).

Como se puede observar en el gráfico 3, la granada de la variedad 'Mollar de Elche' es muy rica en estos compuestos bioactivos, ya que sus concentraciones son mayores que las publicadas para otras variedades como 'Taifi', 'Wonderful' o 'Ganesh' (Mirdehghan et al., 2006). No obstante, la aplicación de tratamientos térmicos suaves o el uso de compuestos naturales conllevaron a un incremento significativo en el contenido de fenoles totales, antocianinas totales y la actividad antioxidante total (se muestran los datos después de 3 meses de almacenamiento). El efecto del tratamiento térmico incrementando los compuestos bioactivos y la AAT podría deberse a la estimulación de enzimas protectoras frente a moléculas oxidantes como son los radicales libres (Mirdehghan et al., 2006). La aplicación de Put y Spd también provocó una mayor concentración de fenoles y antocianinas totales, si bien no se conoce el mecanismo de acción. Lo que sí se conoce es que durante las últimas fases del desarrollo y maduración se produce una disminución del contenido endógeno de Put y Spd en su forma libre, que se ha asociado con la aceleración de los cambios relacionados con la maduración y pérdida de calidad (Valero et al., 2002), por lo que la aplicación de poliaminas conllevaría a

un retraso de la maduración por el carácter antisenescente atribuido a ellas, pero también a su capacidad como potentes atrapadores de radicales libres a través de una mejor regulación del ciclo superoxido dismutasa/ascorbato-gluatation (Mirdehghan et al., 2007c).

La aplicación de los compuestos volátiles SaMe y JaMe, y AS, AO y ASA también mantuvieron mayor concentración de compuestos bioactivos y ATT tras el almacenamiento de la granada. Estos compuestos han sido descritos como sustancias antioxidantes a través de la suprimir la peroxidación lipídica y la reducción de la oxidación del ácido ascórbico (Sayyari et al., 2010). Así mismo, el incremento de antocianinas y compuestos fenólicos se ha atribuido a una mayor actividad del enzima fenilalanina amonioliasa (PAL), que es el enzima clave en el primer paso de la ruta fenilpropanoide implicada directamente en la biosíntesis de los compuestos fenólicos (Sayyari et al., 2011).

## 6. Conclusiones

En esta comunicación se aportan evidencias acerca de nuevas tecnologías post-recolección para mantener la calidad organoléptica, nutritiva y funcional de la granada cuando se almacena en condiciones de refrigeración a temperaturas de daños por frío (Figura 4). Todos estos tratamientos se han utilizado por primera vez en granada, y dado el carácter natural de todos los compuestos utilizados se pueden considerar como tecnologías no contaminantes ni para el consumidor ni el medio ambiente.

## 7. Bibliografía


- Kulkarni, A.P., Aradhya, S.M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. Food Chemistry, 2005, 93, 319-324.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M. & Valero, D. (2007a). Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. Postharvest Biology and Technology, 44, 26-33.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Zapata, P., Serrano, M. & Valero, D. (2007b). Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatments: Role of polyamines. Postharvest Biology and Technology, 44, 19-25.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D. & Valero, D. (2006). Prestorage heat treatment to maintain nutritive and functional properties during postharvest cold storage of pomegranate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 8495-8500.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D. & Valero, D. (2007c). The application of polyamines by pressure or immersion as a tool to maintain functional properties in stored pomegranates arils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 755-760.
- Pérez-Vicente, A., Gil-Izquierdo, A., García-Viguera, C. (2002). In vitro gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 2308-2312.

• Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., Valero, D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. Postharvest Biology and Technology, 53, 152-154.
• Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., Valero, D. (2009). Prestorage oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 6804-6808.
• Sayyari, M., Valero, D., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M. (2011). Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage. Food Chemistry, 124, 964-970.
• Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. (2002). The role of polyamines in the improvement of shelf life of fruit. Trends in Food Science and Technology, 13, 228-234.
• Valero, D., Serrano, M. (2010). Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. CRC Press-Taylor and Francis, Boca Raton, Florida, USA.

**Gráfico 1:**

Índice de daños por frío en granadas control y tratadas con ácido ácido salicílico (AS), ácido acetil salicílico (AAS), ácido oxálico (AO), salicilato de metilo (SaMe) y jasmonato de metilo (JaMe), putrescina (Put) y espermidina (Spd) y calor (45°C 4 minutos) tras 1, 2 y 3 meses de almacenamiento.

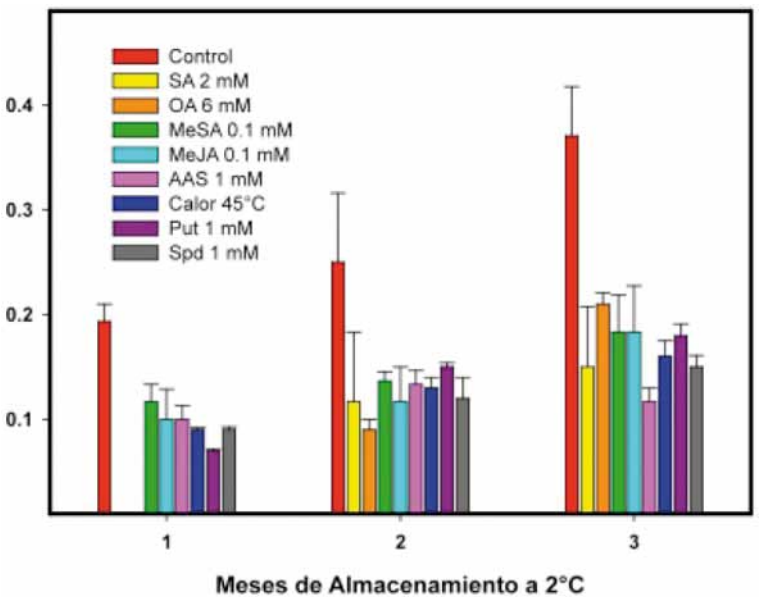


**Gráfico 2:**

Valores de Firmeza en granadas control y tratadas con ácido ácido salicílico (AS), ácido acetil salicílico (AAS), ácido oxálico (AO), salicilato de metilo (SaMe) y jasmonato de metilo (JaMe), putrescina (Put) y espermidina (Spd) y calor (45°C 4 minutos) tras 1, 2 y 3 meses de almacenamiento.

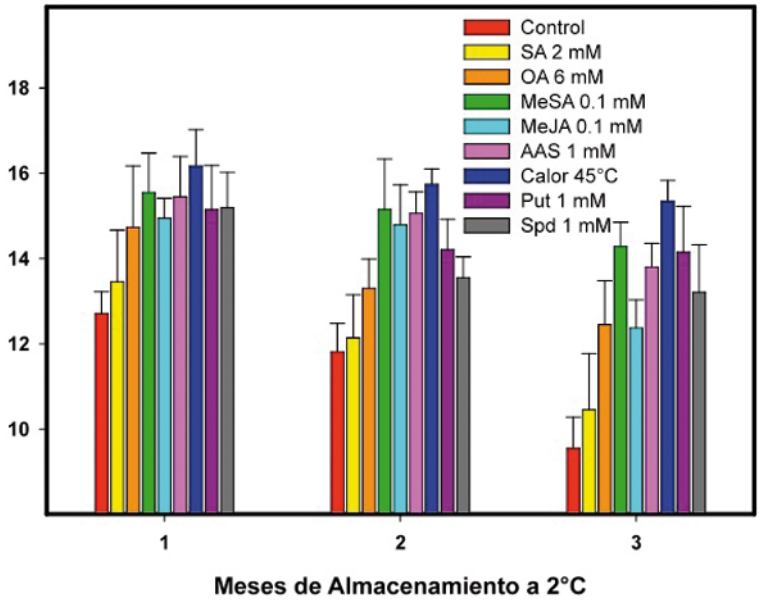
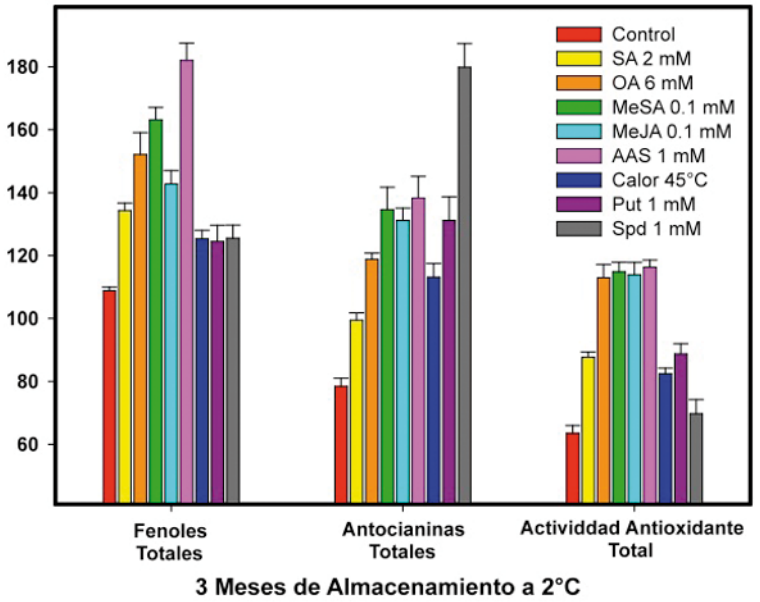


**Gráfico 3:**

Concentración de compuestos bioactivos (fenoles y antocianinas totales) y actividad antioxidante total en granadas control y tratadas con ácido ácido salicílico (AS), ácido acetil salicílico (AAS), ácido oxálico (AO), salicilato de metilo (SaMe) y jasmonato de metilo (JaMe), putrescina (Put) y espermidina (Spd) y calor (45°C 4 minutos) tras 3 meses de almacenamiento.



## 8. Sobre el autor

### Daniel Valero

Daniel Valero es Catedrático de Universidad en el Departamento de Tecnología Agroalimentaria, área de Tecnología de Alimentos en la Universidad Miguel Hernández (UMH). Es Licenciado en Farmacia por la Universidad de Granada obteniendo el Grado en la modalidad Tesina. Realizó la tesis Doctoral en el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC) y obtuvo el título de Dr. en Farmacia por la Universidad de Granada en el año 1993. Durante los años 1994-1995 realizó una estancia en Long Ashton Research Station (University of Bristol), tras la cual se incorporó a la UMH. En la actualidad es Profesor de Tecnología Post-recolección en las titulaciones de Ingeniero Agrónomo e Ingeniero Técnico Agrícola y Director del Máster de Investigación "Ciencia, Tecnología y Control de los Alimentos". Es el director del Grupo de Investigación "Post-Recolección de Frutas y Hortalizas" de la UMH, y durante su trayectoria investigadora ha publicado más de 70 artículos del JCR-SCI y es co-autor de más de 100 capítulos de libro. Realiza tareas de revisor de proyectos de investigación tanto para agencias nacionales (ANEP) como internacionales (Suecia, Argentina, Israel y Estados Unidos) y de trabajos para más de 35 revistas internacionales y miembro del Comité Editorial de la revista Postharvest Biology and Technology (Elsevier) y del Spanish Journal of Agricultural Research. Es coautor junto con la Dra. María Serrano del libro "Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality". 2010, CRC Press-Taylor and Francis.

# Índice

**1.** Resumen ..... 153
**2.** Abstract ..... 153
**3.** Introducción ..... 154
**4.** Máquina de selección ..... 154
**5.** Software de adquisición de imágenes y análisis ..... 156
**6.** Resultados ..... 157
**7.** Conclusiones ..... 159
**8.** Agradecimientos ..... 159
**9.** Bibliografía ..... 159

# Uso de la visión artificial en la estimación automática de la calidad de los arilos de granada

**José Blasco y Sergio Cubero**
Centro de Agroingeniería. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA),
Ctra. Moncada-Náquera km 5, 46113 Moncada (Valencia). e-mail:blasco_josiva@gva.es

## 1. Resumen

La visión artificial es una técnica que, desde hace unos años, se viene empleando habitualmente para la inspección automática de frutas y hortalizas. La programación previa de unos parámetros de calidad permite objetivar la inspección e independizarla de factores que afectan a la tradicional inspección manual como son el cansancio o la disparidad de criterios entre operadores. A la hora de diseñar un equipo para la inspección de fruta procesada empleando esta técnica, la fruta procesada presenta una serie de particularidades respecto de la fruta fresca debido a su difícil manejo, a la mayor fragilidad de producto, a que habitualmente está mojado o húmedo, o a la elevada cantidad de producto que se requiere analizar. El centro de Agroingeniería del IVIA ha desarrollado en colaboración con una empresa del sector un prototipo para la inspección automática de arilos de granada mediante visión artificial. El prototipo incluye sistemas para la individualización y transporte del producto, inspección y separación de un producto. Los algoritmos de procesamiento de imágenes de arilos permiten determinar su posición y color en tiempo real para después clasificarlo hasta en cuatro categorías diferentes con un porcentaje de acierto cercano al 90%.

## 2. Abstract

Machine vision is being used for automatic inspection of fruits and vegetables. The setting up of previous quality parameters leads to an objective inspection, independent of factors affecting the traditional manual inspection, such as fatigue or difference of criteria

among operators. When designing a machine for inspection of processed using this technique, there is has a number of peculiarities because of its difficult handling, the fragility of the product, which is usually wet, or the high amount of product to be analysed. The Centro de Agroingeniería of IVIA developed in collaboration with a company a prototype for the automatic inspection of pomegranate arils using machine vision. The prototype includes systems for the singularisation, inspection and separation of the arils. The image processing algorithms allow to determine the position and colour of the arils in real time, and then to classify them into four different categories with a success rate close to 90%.

## 3. Introducción

El consumidor se siente inclinado a la compra de un producto en base a una serie de atributos que los hacen más o menos atractivos, como, por ejemplo, madurez, tamaño, peso, forma, color, presencia de manchas o enfermedades, presencia de irregularidades o de semillas, etc. En resumen, son características que influyen en la apariencia del producto, en sus cualidades nutricionales y organolépticas o en su aptitud para la conservación. La mayoría de estos factores se han evaluado tradicionalmente mediante inspección visual realizada por personal cualificado. Sin embargo, en determinados casos como el de los arilos de granada, una inspección manual adecuada es difícil de conseguir debido al pequeño tamaño del producto y a la gran cantidad de producto a inspeccionar por unidad de tiempo. Una posible alternativa para automatizar el proceso es el desarrollo de sistemas de inspección basados en visión artificial (Blasco et al., 2009a, Cubero et al., 2010) adaptados a la particularidad de este tipo de productos (Blasco et al., 2008, 2009b, 2009c). El Centro de Agroingeniería del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), lleva diseñando, desde hace 20 años, sistemas de visión artificial para automatizar tareas agrícolas (Blasco et al., 2010) y ha trabajado junto con una empresa del sector en el desarrollo de un sistema capaz de inspeccionar de forma automática los arilos de granada. Fruto de estos trabajos se ha creado un prototipo capaz de analizar y separar por su color los arilos en cuatro categorías diferentes.

## 4. Máquina de selección

Uno de los elementos más problemáticos y claves para el buen funcionamiento del sistema es el de separación del producto. Es muy importante que los grandes viajen separados para que los algoritmos implementados puedan estimar la calidad de cada uno de forma individual. En el caso de que se toquen, el algoritmo necesitaría de características especiales que le permitieran detectar y separar las uniones, de otra forma los datos obtenidos corresponderían al conjunto de arilos en contacto y no a cada uno de forma individual. Por otra parte, si van demasiado juntos, es posible que por el efecto de arrastre el sistema cometa errores durante la fase de separación del producto en calidades. para que el producto entre en las cintas transportadoras separado, se ha usado un vibrador con una inclinación y una frecuencia determinada.

Para tomar las imágenes se utilizan cámaras de muestreo progresivo que adquieren imágenes en color. La escena se ilumina por tubos fluorescentes (tipo luz de día) colocados en la parte superior de unas cintas transportadoras por las que viaja el producto. Estos tubos se

alimentan por medio de balastos electrónicos de alta frecuencia para evitar el efecto de parpadeo. La influencia de brillos en la escena, que podría alterar la percepción del color por el sistema de inspección, se resuelve empleando la técnica de polarización cruzada en las lámparas y en las ópticas de las cámaras. La escena capturada por las cámaras tiene un tamaño de aproximadamente 300 mm a lo largo del movimiento de las cintas transportadoras. Todo el sistema se aloja dentro de una campana de inspección que lo protege del ambiente.

Una vez que los arilos se han inspeccionado pasan por la zona de expulsión, donde se sitúan las salidas del producto. Enfrente de cada salida se ubica un eyector de aire que expele aire a presión al paso del arilo, desviándolo hasta la salida correspondiente. El flujo de aire se regula a través de unas electroválvulas controladas directamente por el ordenador a través de una tarjeta de entradas y salidas digitales. Tras analizar una imagen, el ordenador determina la calidad de cada arilo individualmente, almacena su posición y estima la distancia hasta la salida correspondiente a esa calidad determinada. A través de un sistema de sincronización, el ordenador es capaz de seguir el movimiento de cada arilo, cuando estima que un arilo va a pasar por la salida elegida, activa la electroválvula y expele un chorro de aire se desplaza el arilo hasta la salida.

**Gráfico 1:**
Interfaz del prototipo.

*Foto 1: Arilos escogidos al azar de las diferentes salidas del prototipo. Categorías de izquierda a derecha excelente, buena, rechazo 1 y rechazo 2.*

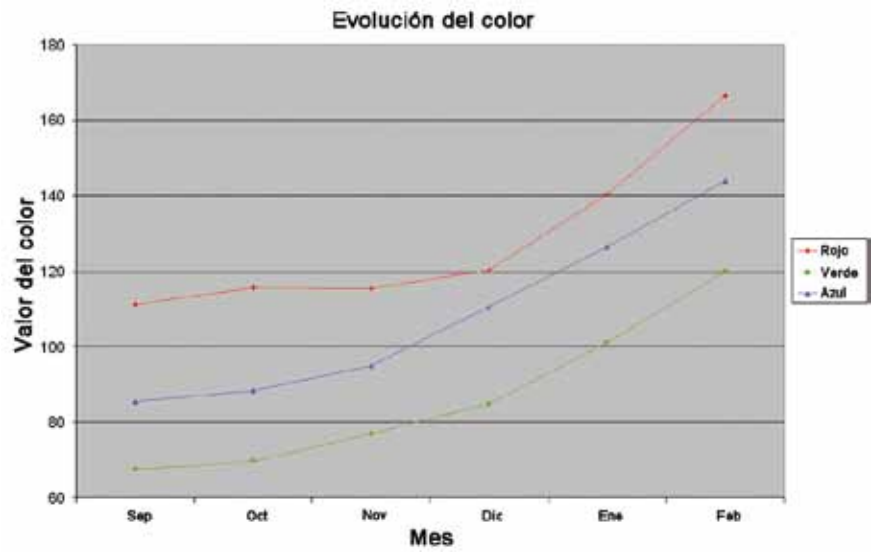
## 5. Software de adquisición de imágenes y análisis

El prototipo se maneja mediante un interfaz amigable que permite seleccionar los parámetros de inspección (gráfico 1). El color de los arilos varía entre blanco-rosa (predominante en el comienzo de la temporada) a rojo-marrón (más frecuente al final de la campaña). Para la realización de las pruebas, el producto se dividió en cinco clases: arilo blanco, arilo rosado, arilo rojo, arilo marrón (podrido) y material no deseado. Esta última categoría incluye principalmente a membranas internas desprendidas durante el proceso de pelado, que son en su mayoría de color blanco y más grande que un arilo. Para comprobar si la clasificación de la máquina se ajustaba a la exigida, se realizaron dos experimentos, el primero de ellos cuantitativo, de forma que la maquina clasificó arilos previamente clasificados por personal cualificado, y el segundo de ellos cualitativo, en el que la máquina proceso varios kilos de fruta que fue después supervisada por el mismo personal.

Para el primer experimento se seleccionaron arilos de diferentes colores que se asignaron manualmente a las distintas categorías predefinidas. En el conjunto de entrenamiento, cada lote de cada categoría se componía de 100 arilos y, además, su emplearon 50 membranas (550 objetos). El conjunto de validación consistió en muestras independientes de 400 arilos de cada categoría y 100 membranas (1700 objetos). Cada lote se inspeccionó por el prototipo simulando una operación estándar en línea. El color y la categoría de cada objeto se almacenaron en el ordenador para su posterior análisis. Se utilizaron diferentes métodos para estimar el color de los objetos. Estos métodos se basaron en el cálculo de estadísticos básicos como la media y la varianza de los valores RGB y HSI de los arilos o combinaciones de ellos como la razón R/G promedio. Estos ensayos se realizaron a principio y final de la campaña (octubre y enero) para observar las diferencias debidas a la evolución natural de la fruta.

Para el segundo experimento, el prototipo se probó en condiciones comerciales durante un período de 6 meses, entre septiembre y febrero de 2007/2008 y durante dos meses en enero y febrero de 2009, que corresponde con la campaña de recolección de la variedad Mollar de Elche. Durante las pruebas, el prototipo inspecciono más de 9 toneladas de objetos (arilos mas pieles). Es inviable evaluar los resultados de la clasificación individual de cada objeto por lo que la evaluación se realizó a través de la inspección global del producto reco-

**Gráfico 2:**
Evolución del color promedio mostrado por los arilos a lo largo de la campaña de experimentación.




gido en cada salida de la máquina. Un panel de expertos analizó muestras aleatorias obtenidas de las diferentes salidas de la máquina, cada uno de los cuales valoró de forma subjetiva el resultado de la inspección para cada categoría (foto 1).

## 6. Resultados

El principal resultado es la aplicación de una solución de ingeniería para la clasificación automática de un producto de alto valor añadido como los arilos de la granada en condiciones comerciales.

Los resultados de clasificación fueron aceptables tanto al comienzo como al final de la campaña. Se observó que el color evoluciona con el tiempo, tal y como muestra el gráfico 2. Al principio de la campaña presentan valores relativamente bajo que van aumentando a lo largo del tiempo. Las tablas 1 y 2 muestran la matriz de confusión para la clasificación del conjunto de validación. Estas tablas también muestran que el material no deseado fue la clase en la que se obtuvo una mayor tasa de clasificación correcta (98%). Esto se explica fácilmente por el hecho de que el color y el tamaño de material extraño (pieles, membranas) son muy diferentes de los de los arilos. Las clases más problemáticas correspondieron a los arilos de color rojo y marrón, con un porcentaje de éxito del 90% al comienzo de la temporada y del 85% al final. Mejores resultados se obtuvieron para las clases de color blanco y rosa. Cabe señalar, a partir de la experiencia, que los arilos se oscurecen (evolucionan hacia rojo oscuro) a lo largo de la temporada conforme las frutas maduran, aunque este hecho no se ha

**Tabla 1:**

Matriz de confusión de la clasificación realizada al comienzo de la campaña.

| Real \ Clasificado | Blanco (rechazo 1) | Rosa (bueno) | Rojo (excelente) | Marrón (rechazo 2) | Membranas (rechazo 2) |
|---|---|---|---|---|---|
| Arilo blanco | 92.0 % | 4.0 % | 0.0 % | 2.7 % | 1.3 % |
| Arilo rosa | 1.5 % | 91.4 % | 1.5 % | 5.6 % | 0.0 % |
| Arilo rojo | 0.0 % | 2.3 % | 89.2 % | 8.5 % | 0.0 % |
| Arilo marrón | 0.8 % | 4.7 % | 5.5 % | 89.0 % | 0.0 % |
| Membranas | 1.7 % | 0.0 % | 0.0 % | 0.0 % | 98.3 % |

**Tabla 2:**

Matriz de confusión al final de la campaña.

| Real \ Clasificado | Blanco (rechazo 1) | Rosa (bueno) | Rojo (excelente) | Marrón (rechazo 2) | Membranas (rechazo 2) |
|---|---|---|---|---|---|
| Arilo blanco | 89.4 % | 7.3 % | 0.0 % | 2.0 % | 1.3 % |
| Arilo rosa | 4.0 % | 88.0 % | 1.7 % | 6.3 % | 0.0 % |
| Arilo rojo | 0.7 % | 3.0 % | 85.7 % | 10.3 % | 0.0 % |
| Arilo marrón | 2.0 % | 5.3 % | 11.3 % | 81.3 % | 0.0 % |
| Membranas | 1.7 % | 0.0 % | 0.0 % | 0.0 % | 98.3 % |

demostrado cuantitativamente en este trabajo. Esto podría explicar el aumento de la confusión entre las distintas clases al principio y al final de la campaña. El prototipo únicamente dispone de cuatro salidas por lo que se programó para que tanto los arilos marrones y las membranas (rechazo 2), se expulsaran por la misma salida si bien se ha considerado importante conocer las estadísticas de clasificación por separado.

El tiempo consumido por los algoritmos de visión para un procesar cada imagen es de unos 15 ms, lo que permite alcanzar la cifra teórica de 65 imágenes/s. Esta cifra está restringida por la capacidad de adquisición de las cámaras (25 imágenes/s), pero se ha limitado a un máximo de 12 imágenes/s debido a limitaciones mecánicas y de manejo del producto.

En cuanto al experimento de prueba en condiciones comerciales, la inspección se consideró como buena durante toda la campaña para las categorías de material no deseado, arilo blanco y arilo rosa. Sin embargo, la clasificación de arilo rojo y marrón se consideró válida únicamente durante los primeros meses debido a la evolución del color del arilo y al a necesidad de frecuentes ajustes y puestas a punto del prototipo. Al final de la temporada, el rendimiento de la clasificación de disminuyo debido al aumento de la confusión entre el arilo rojo y el marrón. El rendimiento del prototipo durante las últimas pruebas realizadas en enero de 2009 fue de unos 220 kg de arilo por hora en condiciones de puesta a punto, pero posteriormente disminuía con el uso hasta unos 150 kg/h.

## 6. Conclusiones

La visión artificial es una técnica que permite la detección y eliminación de objetos no deseados en líneas de confección de fruta mínimamente procesada como son los arilos de granada. Esta técnica se ha empleado con éxito el desarrollo de un prototipo capaz de inspeccionar, clasificar y separar este delicado producto en cuatro categorías atendiendo a su color.

## 8. Agradecimientos

Nuestro agradecimiento al Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) a través del proyecto TRT2006-00046-00-00 y a Frutas Mira Hermanos, S.L. por haber financiado parcialmente este proyecto.

## 9. Bibliografía

• Blasco, J., S. Cubero-García, S. Alegre-Sosa, J. Gómez-Sanchís, V. López-Rubira, E. Moltó (2008). Short communication. Automatic inspection of the pomegranate (Punica granatum L.) arils quality by means of computer vision. Spanish Journal of Agricultural Engineering, 6 (1), 12-16.

• Blasco J, Aleixos N, Gómez-Sanchís J, Moltó E (2009a) Recognition and classification of external skin damages in citrus fruits using multispectral data and morphological features. Biosystems Engineering, 103(2), 137-145.

• Blasco, J., Cubero, S., Gómez-Sanchís, J., Mira, P., Moltó E., (2009b). Development of a machine for the automatic sorting of pomegranate (Punica granatum) arils based on computer vision. Journal of Food Engineering 90(1), 27-34.

• Blasco J., N. Aleixos, S. Cubero, J. Gómez-Sanchís, E. Moltó. (2009c). Automatic sorting of satsuma (Citrus unshiu) segments using computer vision and morphological features. Computers and electronics in agriculture 66, 1–8.

• Blasco J., Cubero S., Gómez-Sanchis J., Moltó E. (2010) Avances en visión artificial para la inspección automática de productos hortofrutícolas. Horticultura Global 288, 48-51.

• Cubero, S., Aleixos, N., Moltó, E., Gómez-Sanchis, J., and Blasco, J. (2010). Advances in machine vision applications for automatic inspection and quality evaluation of fruits and vegetables. Food and Bioprocess Technology. DOI 10.1007/s11947-010-0411-8: In press.

# El tratamiento con ácido oxálico mantiene la calidad visual y el potencial antioxidante durante la conservación de la granada

**[1]Zapata, P.J., [1]Guillén, F., [2]Sayyari, M., [3]Díaz-Mula, H.M., [1]Valero, D. y [3]Serrano, M.**

[1] Departamento de Tecnología Agroalimentaria, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).
[2] Department of Horticulture Science, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
[3] Departamento de Biología Aplicada, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

Las granadas del cultivar Mollar de Elche se trataron con ácido oxálico, un compuesto natural de las plantas que desempeña diferentes funciones en los tejidos vegetales. Los tratamientos se realizaron mediante inmersión durante 10 minutos en ácido oxálico a diferentes concentraciones, 2, 4 y 6 mM y como control se usaron granadas bañadas en agua destilada. Después de los tratamientos los frutos se conservaron a 2 ºC y 90 % de humedad relativa durante 84 días. Las granadas manifestaron síntomas de daños por frío que fueron acompañados de un aumento en la tasa de respiración, el deterioro de las membranas y la deshidratación, los cuales fueron significativamente reducidos por los tratamientos con ácido oxálico, especialmente por la dosis de 6 mM. Además, en los arilos de las granadas control se produjo una reducción en la concentración de fenoles totales y de ácido ascórbico así como en la actividad antioxidante durante el período de conservación, mientras que en los arilos de las granadas tratadas con las diferentes dosis de ácido oxálico estas pérdidas fueron más bajas. Así pues, el ácido oxálico podría ser un compuesto natural con potencial aplicación como tratamiento post-recolección para disminuir la severidad de los daños por frío y mantener mayores niveles de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes durante la conservación de la granada, con un claro efecto en mantener la calidad general del fruto durante largos períodos de conservación.

# Los tratamientos térmicos reducen la severidad de los daños por frío durante la conservación de la granada

**[1]Martínez-Romero, D., [2]Mirdehghan, S.H., [1]Valverde, J.M., [1]Zapata, P.J., [3]Serrano, M. y [1]Valero, D.**

[1] Departamento de Tecnología Agroalimentaria, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

[2] Departamento de Horticultural Science, College of Agriculture, Vali-Asr University of Rafsanjan, Kerman, Iran.

[3] Departamento de Biología Aplicada, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

En este trabajo se evaluó el efecto de los tratamientos térmicos, realizados mediante inmersión durante 4 minutos en un baño de agua a 45 ºC, sobre la aparición de daños por frío en granada durante su conservación a baja temperatura. Así, después de los tratamientos térmicos las granadas se conservaron a 2 ºC y cada 15 días se tomaba una muestra de 25 frutos de cada tratamiento y se colocaban a 20 ºC durante un periodo adicional de 3 días. Los resultados pusieron de manifiesto la aparición de daños por frío que se manifestaron como pardeamiento de la piel y aumento de la fuga de electrolitos, los cuales fueron más severos cuanto mayor era el tiempo de almacenaje en frío, aunque siempre más bajos en los frutos tratados que en los controles. El tratamiento térmico indujo un aumento en la concentración de Putrescina y Espermidina, lo que podría determinar la menor tasa de ablandamiento y la disminución de los daños por frío en los frutos tratados. Además, el contenido en ácidos grasos saturados, mono-insaturados y poli-insaturados disminuyó durante la conservación en frío, siendo este descenso mucho menor en los frutos tratados con calor, en los cuales la relación ácidos grasos insaturados/saturados se mantuvo más elevada que en los controles, lo que indica un mecanismo de aclimatación a las bajas temperaturas inducido por el tratamiento térmico.

# Efecto de los tratamientos com metil salicilato y metil jasmonato en la incidencia de los daños por frío y en el contenido de compuestos antioxidantes de la granada

**[1]Guillén, F., [1]Castillo, S., [2]Sayyari, M., [2]Serrano, M. y [1]Valero, D.**
[1] Departamento de Tecnología Agroalimentaria, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).
[2] Department of Horticulture Science, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
[3] Departamento de Biología Aplicada, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

En este trabajo se evaluó el efecto de los tratamientos con metil-salicilato (MeSa) y metil-jasmonato (MeJa) a concentraciones de 0.01 y 0.1 mM, previos al almacenaje en frío, sobre la aparición de daños por frío y la evolución del contenido en compuestos antioxidantes en la granada de la variedad Mollar de Elche. Después de los tratamientos las granadas se almacenaron a 2 ºC durante 14, 28, 42, 56, 70 y 84 días más un periodo adicional de 4 días a 20 ºC. Los frutos control no tratados, presentaron síntomas de daños por frío, como pardeamiento y "pitting" de la piel, los cuales se correlacionaban con daños en las membranas celulares e incrementaban al aumentar el tiempo de almacenaje en frío. Estos síntomas de daños por frío fueron significativamente reducidos por los dos tratamientos aplicados y con ambas concentraciones. Además, con estos tratamientos se observó un incremento en el contenido de fenoles totales y de antocianinas, los cuales aumentaron ligeramente durante el almacenaje en los arilos de los frutos control y de forma más acusada en los arilos de las granadas tratadas. Asimismo, la actividad antioxidante de los arilos, tanto la debida a compuestos hidrofílicos como la debida a compuestos lipofílicos fue más elevada en los arilos de los frutos tratados que en los de los controles durante todo el período de conservación. Así pues, los tratamientos tanto con MeSa como con MeJa pueden resultar útiles para reducir la incidencia de los daños por frío durante la conservación de la granada, manteniendo su calidad y mejorando su capacidad antioxidante y en consecuencia, sus propiedades beneficiosas para la salud.

# La aplicación de poliaminas mantiene la calidad durante la conservación a temperaturas que causan daños por frío

**[1]Castillo, S., [1]Martínez-Romero, D., [2]Mirdehghan, S.H., [1]Valero, D. y [3]Serrano, M.**

[1] Departamento de Tecnología Agroalimentaria, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

[2] Departamento de Horticultural Science, College of Agriculture, Vali-Asr University of Rafsanjan, Kerman, Iran.

[3] Departamento de Biología Aplicada, UMH, Ctra. Beniel km 3,2. 03312, Orihuela (Alicante).

En este trabajo se analizó el efecto de las poliaminas en la reducción de los daños por frío de las granadas. Las granadas se trataron con putrescina (Put) o espermidina (Epd), a concentración 1 mM, mediante inmersión o infiltración a vacío y después se conservaron a 2 ºC durante 15, 30, 45 y 60 días, más un período adicional de 3 días a 20 ºC. En los frutos control se evidenciaron síntomas de daños por frío, como pardeamiento de la piel, deshidratación y alteraciones en las membranas celulares, a los pocos días de almacenaje, los cuales se acentuaron al aumentar el tiempo de conservación. Por el contrario, en los frutos tratados, tanto mediante inmersión como mediante infiltración, la aparición de estos síntomas se retrasó significativamente. Esta disminución de los daños por frío se correlacionó con el aumento en la concentración endógena de Put y Epd en la piel. Así, los resultados permiten concluir que el aumento en la concentración de poliaminas, inducido por los tratamientos con poliaminas exógenas, podría reflejar un mecanismo de aclimatación a las bajas temperaturas que conduciría a un mantenimiento de la calidad de estos frutos durante su conservación a temperaturas que normalmente ocasionan daños por frío.

# Índice

**1.** Introducción ..... 169
**2.** Tipos de pruebas sensoriales ..... 169
**3.** Estudios descriptivos sobre granada ..... 171
**4.** Estudios afectivos sobre granada ..... 173
**5.** Estudios instrumentales sobre el aroma de la granada ..... 174
**6.** Bibliografía ..... 174

# Calidad sensorial de la granada y los productos derivados

**Á.A. Carbonell-Barrachina[1], A. Calín-Sánchez[1], F. Burló[1], K. Koppel[2], L. Vázquez-Araújo[2] y E. Chambers IV[2]**

[1] Grupo Calidad y Seguridad Alimentaria. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. 03312-Orihuela, Alicante

[2] The Sensory Analysis Center. Kansas State University. Justin Hall. Manhattan, KS 66506-1407.

## 1. Introducción

Pese al enorme interés que la granada ha despertado en la comunidad científica, tanto española como internacional, son muy escasos los artículos que abordan el estudio sensorial detallado, científico y riguroso de las propiedades organolépticas de esta fruta y sus productos derivados. A continuación describiremos algunos de estos trabajos. Singh y Sethi (2003) estudiaron algunas propiedades o atributos organolépticos, tales como color, sabor/flavor e impresiones somatosensoriales (por ejemplo, astringencia) en un producto conocido en India como "*anardana*" y que no es más que arilos de granada desecados. López-Rubira *et al.* (2005) durante un estudio de vida útil de arilos de granada mínimamente procesados evaluaron atributos tales como aroma, gusto, firmeza, apariencia, color, pardeamiento y deshidratación. Martínez *et al.* (2006) describieron cinco nuevas variedades de granada empleando términos tales como dureza de la semilla, color, gusto y apreciación de la calidad global. Vardin y Fenercioglu (2003) estudiaron el proceso de clarificación de zumos de granada y estudiaron los siguientes atributos: color, turbidez, apariencia global, amargor y calidad global. Finalmente, el parámetro más estudiado (Hayaloglu y Vardin, 2001; Riaz y Elahi, 1992) es la aceptación de los consumidores.

## 2. Tipos de pruebas sensoriales

Los sentidos humanos se han empleado durante siglos para evaluar la calidad de los alimentos. Todos nosotros hacemos juicios cuando comemos o bebemos un producto. Sin embargo, este hecho no convierte a todos los juicios u opiniones en útiles o nos convierte en jueces aptos para participar en pruebas sensoriales "útiles". La producción de alimentos de

calidad se ha debido en muchas ocasiones a la existencia de un único experto que estaba al cargo de la producción. Sin embargo, en la actualidad el "moderno" Análisis Sensorial ha sustituido estas autoridades individuales por grupos de jueces que participan en experimentos debidamente programados. Esta sustitución se debe a varios factores. En primer lugar, se considera que es más conveniente confiar en un grupo de personas debidamente entrenadas que en una única, ya que esta puede retirarse, estar enfermo o no localizable en el momento de tomar una decisión importante. En segundo lugar, el "experto" puede o no representar la opinión del segmento de consumidores habituales o potenciales del producto en cuestión. Por tanto, para temas de calidad o "atracción" del producto, parece más seguro (aunque también más caro y trabajoso) ir y consultar directamente a la población objetivo (Lawless y Heymann, 1999).

En la actualidad, el moderno Análisis Sensorial de Alimentos dispone de una serie de técnicas o pruebas con unos antecedentes en la industria agroalimentaria e investigación abundantes y de fácil acceso. La primera preocupación para un especialista en Análisis Sensorial es asegurarse de que la prueba seleccionada va a *responder correctamente* a las preguntas para las que la empresa busca respuestas. Por lo tanto, las pruebas sensoriales suelen agruparse en 3 grupos atendiendo fundamentalmente al tipo de información que proporcionan: a) discriminativas, b) descriptivas, y c) afectivas (**Tabla 1**). Estos tres tipos de pruebas tienen objetivos diferentes y, por tanto, involucran en su realización diferentes tipos de jueces y condiciones.

Las **pruebas** más simples son las **discriminativas** que únicamente tratan de establecer si existen *diferencias entre dos o más muestras*; no indican la magnitud ni el sentido de la diferencia, sólo si ésta existe. Básicamente, consisten en comparar dos muestras, A y B, y decir si son o no diferentes; difieren entre sí en el número de unidades de cada muestra que se presenta simultáneamente y en la existencia o no de una muestra de referencia (Costell y Durán, 1981). Un ejemplo clásico de este tipo de técnicas es la "prueba triangular" (Lawless y Heymann, 1999).

El segundo tipo de **pruebas** sensoriales son aquellas que permiten establecer, no sólo si hay diferencia entre dos o más muestras, sino también el *sentido o magnitud* de la misma y se denominan **descriptivas**. Su utilidad en el control de calidad descansa en el hecho de que, muchas veces no es suficiente saber que dos muestras son diferentes, sino que interesa conocer en qué difieren y/o cuál es la magnitud de esta diferencia para conociendo la causa que la origina, poder mantenerla o modificarla según interese (Costell y Durán, 1981).

Las pruebas descriptivas tienen un carácter típicamente analítico y deben ser realizadas por *jueces seleccionados y adiestrados* aunque, como es lógico el grado de adiestramiento necesario varía en función de la prueba que se utilice y del objetivo del análisis. El primer evento que encaja con la definición anterior de prueba descriptiva fue el desarrollo del método del "**Perfil de *Flavor*" por el grupo de consultores Arthur D. Little** (Lawless y Heymann, 1999).

El tercer y último grupo de técnicas sensoriales son las utilizadas para investigar la *opinión del consumidor* y reciben el nombre de **pruebas afectivas o hedónicas**. El método más directo de afrontar este problema es ofrecer a la gente diversos productos y establecer si

existe una preferencia significativa por un determinado producto por parte de la mayoría de jueces. Este tipo de pruebas afectivas se denomina prueba de **preferencia** y sirve para determinar qué muestra es la preferida. Sin embargo, esta metodología no es muy informativa acerca de la magnitud de la aceptación o rechazo de los sujetos. Un hecho histórico para este tipo de pruebas fue el desarrollo de la primera escala hedónica por parte del *U.S. Army Food and Container Institute* a finales de los años 40. Se trataba de una escala de 9 puntos para expresar el **grado de satisfacción** ante los alimentos, con una categoría central neutra y puntos superiores e inferiores que trataban de crear una escala numérica equidistante con adverbios que representaban una escala hedónica (Lawless y Heymann, 1999). Finalmente las **pruebas de aceptación**, nos indican el grado de aceptación de un producto por sus potenciales consumidores, es decir, si estarían dispuestos a adquirirlo teniendo en cuenta factores tales como su relación "calidad / precio", etc. El principal ámbito de aplicación de estas pruebas es el estudio de mercados y deben ser realizadas por grupos muy grandes de *jueces no entrenados* y que representen al estamento o clase social sobre la que se quiere obtener información (Costell y Durán, 1981).

## 3. Estudios descriptivos sobre granada

Koppel y Chambers IV (2010) han desarrollado un vocabulario o léxico específico para describir el sabor/flavor del zumo de granada. Los objetivos de esta investigación fueron: i) identificar y definir los atributos del sabor/flavor que caracterizan al zumo de granada y ii) describir y agrupar los diferentes perfiles de sabor/flavor de los zumos de granada comercializados en los Estados Unidos de América (USA). Esta información (desarrollo de un léxico específico) será de gran utilidad para los investigadores y los tecnólogos y les permitirá comprender las características del sabor del zumo de granada de tal modo que empleando esos atributos podrán fácilmente crear/desarrollar nuevos productos, optimizar los ya disponibles, y estudiar aspectos relativos a la vida útil y el control de calidad.

Estos autores (Koppel y Chambers IV, 2010) seleccionaron 33 zumos exclusivamente de granada aunque con diferente procesado (zumos concentrados, zumos reconstituidos a partir de concentrados, zumos recién exprimidos y zumos pasterizados) y procedentes de distintos países (Turquía, Azerbaiyán, España, Estonia, Tailandia y USA), si bien todos ellos pueden adquirirse en los mercados norteamericanos. El léxico fue desarrollado por un panel de catadores altamente entrenado y perteneciente al Centro de Análisis Sensorial de la Universidad Estatal de Kansas (USA). Inicialmente se desarrollo un vocabulario inicial empleando únicamente 7 zumos de granada seleccionados como modelos y se trabajó durante 5 sesiones de 90 minutos. Posteriormente, se emplearon 21 sesiones de 90 min para evaluar la totalidad de zumos de granada bajo estudio. Si se estimaba necesario se añadían términos nuevos al léxico inicialmente disponible. Para la cuantificación de las intensidades de los atributos de estos zumos se realizó empleando una escala de 15 puntos con intervalos de 0,5 unidades (donde 0 indica "no intensidad" y 15 indica "extremadamente intenso"). Los resultados obtenidos de estas sesiones se sometieron a análisis de clusters, análisis de correlaciones (Pearson) y análisis de componentes principales (PCA).

Inicialmente el vocabulario desarrollado únicamente estaba formado por 15 términos;

para ser lo más fieles posibles al documento original y evitar problemas de traducción, se muestran (entre paréntesis) los términos originales, que pueden dar lugar a confusión, en inglés:

1. Dulce.
2. Ácido.
3. Amargo.
4. Astrigencia.
5. *Umami.*
6. Astringencia en dientes (*toothetch*).
7. Afrutado.
8. *Tomate.*
9. Arándano.
10. Uva.
11. Remolacha.
12. Frutos rojos maduros.
13. Verde-vid (*green-viney*).
14. Tierra húmeda.
15. Fermentado.

Posteriormente, los términos tomate y umami se eliminaron del listado definitivo ya que no fueron empleados en la valoración de los zumos comerciales. Sin embargo, fueron muchos los atributos que fue necesario añadir a este listado inicial:

1. Manzana.
2. Baya.
3. Especia dulce.
4. Aromas dulces/caramelizados (*brown sweet*).
5. Zanahoria.
6. Caramelo.
7. Cereza.
8. Floral.
9. Melazas.
10. Aromas dulces globales (*sweet overall*).
11. Vinagre.
12. Vino.
13. Amaderado.
14. Gusto metálico.
15. Sensación metálica en boca (*metallic mouthfeel*).
16. Sensación terrosa en boca (*chalky mouthfeel*).
17. Irritante.
18. Hormigueo en lengua (*tongue tingle*).
19. Adormecimiento en lengua (*tongue numb*).
20. Irritación de garganta.

Por tanto, el principal resultado de este estudio fue el establecimiento de un listado compuesto por un total de 33 atributos que pueden ser empleados para describir el sabor/flavor de los zumos de granada comerciales. Este léxico no sólo está constituido por los nombres de los atributos sino por una definición y referencias que mejoran el uso de las escalas empleadas para la cuantificación de intensidades. A modo de ejemplo, se incluyen las definiciones de los atributos manzana y vino:

Atributo: **Manzana**

Definición: Nota aromática dulce, ligera, afrutada y en cierta medida floral comúnmente asociada al zumo de manzana y a las manzanas cocidas.

Referencia: La salsa de manzana Gerber es un 6,0 en sabor/flavor (durante el proceso de masticación).

Atributo: **Vino.**

Definición: Nota aromática afrutada e intensa asociada al vino tinto.

Referencia: Vino para cocina Regina es un 10,0 en aroma (sin introducirlo en la boca).

Finalmente, los zumos de granada se agruparon en 5 categorías:

• Categoría 1: caracterizada por elevadas intensidades de dulzor y de notas aromáticas a bayas y frutos rojos maduros. En esta categoría se incluyen tanto el zumo GranaVida como el Granatum (Foto 1).

• Categoría 2: caracterizada por notas aromáticas a uva y arándanos y de color rojo o púrpura. En este grupo se incluye probablemente el zumo de mayor éxito comercial a nivel mundial, POM Wonderful.

• Categoría 3: caracterizada por notas a fermentado y elevada astringencia.

• Categoría 4: caracterizada por color marrón y baja intensidad del atributo tierra húmeda. La mayoría de las muestras incluidas en esta categoría provienen de la reconstitución de zumos concentrados.

• Categoría 5: caracterizada por muy dulces y que se asemejan a golosinas.

## 4. Estudios afectivos sobre granada

En la actualidad hay en marcha un estudio coordinado entre la *Kansas State University* (USA), la *Tallinn University of Technology* (Estonia) y la Universidad Miguel Hernández (España) en el que se está estudiando la aceptación por parte de los consumidores norteamericanos, estonios y españoles de distintos tipos de zumo de granada, incluyendo un zumo español (Granatum). Se trabajará con 5 zumos modelo, uno por cada uno de las 5 categorías anteriormente mencionadas. Los estudios permitirán determinar qué atributos o características del zumo de granada son las que más influyen sobre la aceptación y el grado de satisfacción de los consumidores, en mercados tan distintos como el norteamericano, el estonio (modelo de consumidor del norte de Europa) y el español (modelo de consumidor del sur de Europa). Se prevé disponer de resultados a principios del año 2011.

De forma previa a este estudio con consumidores a nivel mundial, ya se han sondeado las preferencias de los consumidores norteamericanos (si bien con zumos de granada mezclados con otros tipos de bayas o frutas del bosque) y los resultados están disponibles en el artículo Vázquez-Araújo et al. (2010a).

## 5. Estudios instrumentales sobre el aroma de la granada

En muchos casos, las empresas agroalimentarias no disponen de un panel de catadores debidamente entrenado, ya que para esta tarea se requiere de personal especializado, elevada inversión monetaria y una gran dedicación en tiempo, sin embargo, sí que disponen de laboratorios dotados de cromatógrafos de gases que les permiten aislar e identificar compuestos volátiles. Por ello, el grupo de Calidad y Seguridad Alimentaria del Departamento de Tecnología Agroalimentaria de la UMH está trabajando en estrecha colaboración con el Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, se está estudiando el perfil aromático y sensorial de frutos de multitud de cultivares procedentes de la colección que el Prof. Pablo Melgarejo posee en la finca de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Foto 2). Se está estudiando el potencial de estos cultivares (dulces, agri-dulces y ágrios) para el desarrollo de productos derivados de la granada, por ejemplo zumos (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2010; Melgarejo *et al.*, 2010), mermeladas, licores, etc. También se está estudiando el perfil aromático de zumos procedentes de USA (Vázquez-Araújo *et al.*, 2010b ) y el efecto del procesado (tipo de exprimido , presencia de piel y membranas carpelares, pasterización, etc.). Son varias las técnicas extractivas de aromas utilizadas por el grupo de Calidad y Seguridad Alimentaria en el zumo de granada, como por ejemplo: hidrodestilación, destilación a vacío o microextracción en fase sólida (Foto 3).

## 6. Bibliografía


• Calín-Sánchez A., Martínez J.J., Vázquez-Araújo L., Burló F., Melgarejo P., Carbonell-Barrachina A.A. 2010. Volatile composition and sensory quality of Spanish pomegranates (*Punica granatum* L.). *J. Sci. Food Agric.* en revision.

• Carbonell-Barrachina A.A., Calín-Sánchez A., Bagatar B., Hernández F., Legua P., Martínez-Font R., Melgarejo P. 2010. Potential of Spanish sour-sweet pomegranates for juice manufacturing. *Food Sci. Technol. Int.* en revision.

• Costell E., Durán L. 1981**.** El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. I. Introducción. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 21: 1-10.

• Hayaloglu I., Vardin H. 2001. Sensory evaluation of fruit punch including watermelon and pomegranate juices at varios levels. *Gida*. 26: 267-270.

• Koppel K., Chambers IV E. 2010. Development and application of a lexicon to describe the flavor of pomegranate juice. *J. Sensory Studies.* en prensa (doi: 10.1111/j.1745-459X.2010.00307.x).

• Lawless H.T., Heymann H. 1999. *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices.* Gaithersburg, Maryland (USA): Aspen Publishers, Inc.

• López-Rubira V., Conesa A., Allende A., Artés F. 2005. Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biol. Technol.* 37: 174–185.

• Martínez JJ., Melgarejo P., Hernández F., Salazar D.M., Martínez R. 2006. Seed characterisation of five new pomegranate (Punica granatum L.) varieties. Sci. Hort. 110: 241–246.

• 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.
• Riaz R.A., Elahi M. 1992. Studies on the preparation and storage stability of carbonated pomegranate drink. Pak. J. Sci. Ind. Res. 35: 467-470.
• Singh D., Sethi V. 2003. Screening of pomegranate genotypes for the preparation of quality grade Anardana. J. Food Sci. Technol. 40: 236–238.
• Vardin H., Fenercioglu H. 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: Clarification of pomegranate juice. Nahrung/Food. 47: 300-303.
• Vázquez-Araújo L., Chambers IV E., Adhikari K., Carbonell-Barrachina A.A. 2010a. Sensory and physicochemical characterization of juices made with pomegranate and blueberries, blackberries, or raspberries. J. Food Sci. en prensa (doi: 10.1111/j.1750-384.2010.01779.x).
• Vázquez-Araújo L., Koppel K., Chambers IV E., Adhikari K, Carbonell-Barrachina A.A. 2010b. Instrumental and sensory aroma profile of pomegranate juices from the US: differences between fresh juice and commercial juice. Flavour Fragr. J. en revision.

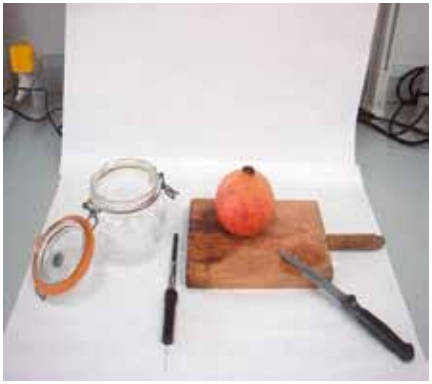
**Tabla 1:**

Clasificación de las Pruebas en el Análisis Sensorial de Alimentos (Lawless y Heymann, 1999).

| Tipo | Pregunta tipo | Tipo de Prueba | Características de los Jueces |
|---|---|---|---|
| Discriminativa | ¿Difieren estos productos de algún modo? | Analítica | Seleccionados por sensibilidad; con cierta idea de análisis sensorial; entrenados |
| Descriptiva | ¿Cómo difieren estos productos respecto a una característica sensorial específica? | Analítica | Seleccionados por sensibilidad y motivación; altamente entrenados |
| Afectiva | ¿Cuánto te gusta este producto? o ¿Qué producto prefieres? | Hedónica | Seleccionados por ser consumidores del producto; sin entrenamiento |

*Foto 1: Zumos españoles elaborados a partir de granada Mollar de Elche y empleados en estudios sensoriales realizados en los Estados Unidos de América.*

*Foto 2: Elaboración de zumo y vista parcial de la finca de la Universidad Miguel Hernández (Orihuela).*



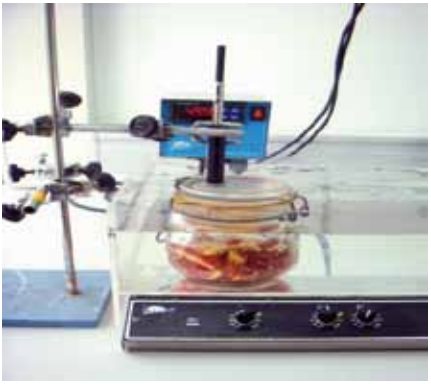


*Foto 3: Microextracción en fase sólida (SPME) de los aromas de la granada.*

# Índice

**1.** Resumen ..... 179
**2.** Abstract ..... 180
**3.** Introducción ..... 180
**4.** Materiales y métodos ..... 181
**5.** Resultados y discusión ..... 181
**6.** Conclusiones ..... 184
**7.** Bibliografía ..... 185
**8.** Sobre los autores ..... 187

# Efecto de distintos tipos de ciclodextrinas en la vitamina C, capacidad antioxidante y análisis sensoriales en una nueva bebida de mandarina, granada y zumo de goyi

**Patricia Navarro[1], Tamara San Nicolás[1], María T. Mercader-Ros[1], Ángel A. Carbonell-Barrachina[2] y Antonio José Pérez-López[1*]**

ajperez@pdi.ucam.edu

[1] Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of San Antonio. Campus de los Jerónimos, s/n. 30107-Guadalupe, Murcia (Spain).

[2] Department of AgroFood Technology, Miguel Hernandez University. Carretera de Beniel, km 3,2. 03312-Orihuela, Alicante (Spain).

## 1. Resumen

Se estudio como afecta la adición de distintos tipos de ciclodextrinas, β-CDs y hp-β-CDs (1%), en la protección de compuestos antioxidantes en zumos elaborados a partir de extracto de granada, zumo de mandarina y bayas de goyi, tras su tratamiento térmico (98ºC 30s) y almacenamiento a temperaturas de refrigeración (4ºC) durante 75 días de almacenamiento. Se determinó el contenido en vitamina C, color CIElab*,capacidad antioxidante, equivalentes de retinol y análisis sensorial. Las pérdidas de vitamina C en los zumos con β-ciclodextrinas fueron mayores que en los zumos con hp- β-ciclodextrinas (6%). La degradación de los equivalentes de retinol fue menor en los zumos con hp- β-ciclodextrinas que en los que contenían β-ciclodextrinas (3.4% menos). Se observaron unas menores pérdidas de color instrumental y sensorialmente en los zumos a los que se les adicionó hp-β-ciclodextrinas (ΔE= 2.6). Finalmente la capacidad antioxidante fue mayor en los zumos a los que se les adicionó hp- β-ciclodextrinas. Se demostró el efecto beneficioso de hp-

β-ciclodextrinas sobre el zumo en todos los parámetros medidos. La adición de β-ciclodextrinas no provocó ninguna mejora respecto a los zumos elaborados sin ciclodextrinas.

**Palabras clave**: ciclodextrinas; color; cítricos; capacidad antioxidante; zumo de mandarina.

## 2. Abstract

We study how it affects the addition of different types of cyclodextrins, β-CDs and hp-β-CDs (1%) in the protection of antioxidant compounds in juices made from extract pomegranate, juice mandarin and berry Goyi, after heat treatment (98 °C 30s) and storage at refrigeration temperatures (4 ºC) for 75 days of storage. We determined the vitamin C content, color CIELAB *, activity antioxidant, retinol equivalents and sensory analysis. Losses of vitamin C in fruit juices with β-cyclodextrins were higher than in fruit with hp-β-cyclodextrin (6%). The degradation of retinol equivalents was lower in fruit with hp-β-cyclodextrins in those containing β-cyclodextrin (3.4% less). Observed a minor loss in instrumental color and sensory juice to which was added hp-β-cyclodextrin (ΔE = 2.6). Finally the antioxidant capacity was higher in the juice to which was added hp-β-cyclodextrins. Demonstrated the beneficial effect of hp-β-cyclodextrins on the juice in all measured parameters. The addition of β-cyclodextrin did not cause any improvement over the juices produced without cyclodextrins.

**Key Words**: cyclodextrin; color; citrus; antioxidant activity, mandarin juice.

## 3. Introducción

Los efectos beneficiosos de alimentos vegetales han sido atribuidos a las vitaminas antioxidantes, los carotenoides y a los compuestos fenólicos presentes en estos alimentos.[1] Por esta razón, muchos alimentos funcionales son diseñados con el objetivo de proporcionar una ingesta elevada de antioxidantes y reducir el riesgo de enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Entre las fuentes habituales de antioxidantes de la dieta están las bayas, frutas rojas y cítricos, entre las que se encuentran, las granadas, mandarinas y bayas de Goyi. Además, estos compuestos permanecen en productos procesados como zumos y mermeladas. Por esta razón, el uso de estas frutas como ingredientes podría ser una buena estrategia para la obtención de alimentos funcionales ricos en compuestos antioxidantes y capaces de aportar beneficios a la salud del consumidor. Durante el tratamiento térmico de los zumos, constituyentes deseables como nutrientes, color, aroma y textura se destruyen en distintos porcentajes que redundan en una pérdida de la calidad del producto.[2] Para solucionar este problema y favorecer la biodisponibilidad de determinados compuestos se están utilizando unas moléculas naturales llamadas ciclodextrinas (CDs).[3] Las aplicaciones de las CDs en la industria alimentaria son muchas, entre otras la elaboración de alimentos funcionales enriqueciendo alimentos de naturaleza hidrofílica como son zumos y néctares con nutrientes hidrofóbicos. Las CDs están consideradas desde 1998 como GRAS (ingredientes alimentarios que los expertos reconocen como seguros sobre la base de sus amplios antecedentes de su uso en los alimentos) a un nivel máximo del 2% en numerosos productos alimentarios. En aplicaciones

farmacéuticas, β-CDs y sus derivados son ampliamente utilizadas, en particular las 2-hidroxipropil- β –CDs. Estas últimas presentan una elevada solubilidad acuosa, una toxicidad inferior así como una cavidad más hidrofóbica comparado al compuesto origen.[4] El objetivo principal del estudio fue evaluar la eficacia de distintos tipos de CDs para encapsular compuestos antioxidantes en zumos de mandarina enriquecidos con granada y goji , con la finalidad de incrementar el aporte de antioxidantes naturales en la dieta del consumidor.

## 4. Materiales y Métodos

### Descripción de los productos

Se elaboró un producto rico en compuestos bioactivos y con una alta actividad antioxidante, empleando en su formulación zumo de mandarina recién exprimido (98%), zumo de bayas de Goyi (2%), extracto de granada (60mg) y Cds (1%).

### Material

Las mandarinas utilizadas para el estudio fueron Citrus reticulata var. Ortanique. Las bayas Goyi fueron adicionadas en forma de zumo, suministrado por la empresa "Ransom".[5] La granada en forma de extracto en polvo, fue suministrado por la empresa Probelte Pharma.[6] hp-β-CDs and β-CDs fueron de TCI (Europa).

### Preparación de las muestras

Se prepararon 3 tipos de zumos, zumo sin CDs, zumo con b-CDs (8.8 mM) y zumo con hp-b-CDs (6.5mM). El zumo de mandarina se mezcló con el resto de ingredientes, adicionando un 1 % de cada tipo de CDs. Todas las muestras se sometieron a pasteurización alta (98 ºC 30s) y se mantuvieron a temperatura de refrigeración (4ºC) durante el periodo de almacenamiento (75 dias). Las muestras se analizaron antes de tratamiento térmico (ATT), después de tratamiento térmico (DTT) y a los 7, 30, 46, 60 y 75 dias, respectivamente. En cada medida se determinó los grados Brix, acidez, pH, vitamina C, color, equivalentes de retinol, capacidad antioxidante y análisis sensorial de las muestras.

## 5. Resultados y Discusión

### Vitamina C

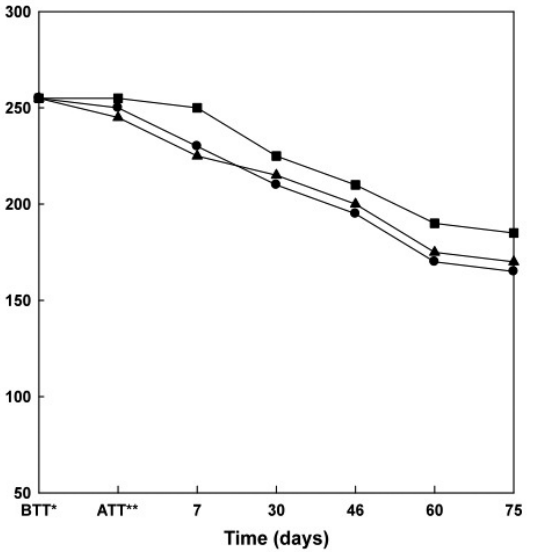
Las muestras que contenían hp-β-CDs mantuvieron unas concentraciones de ácido ascórbico del 98% tras el tratamiento térmico y, tras el tiempo de almacenamiento, retuvieron un 8% más de ácido ascórbico que las muestras sin CDs y con β-CDs (**gráfico 1**).[7]

### Coordenadas de color CIELAB*

Las coordenadas iniciales de color CIELAB*antes del tratamiento térmico fueron: L *= 39.91 ± 1.31, a *= 28.28 ± 2.01, b *= 44.16 ± 1.56 para todas las muestras, indicativo de un color anaranjado intenso. Las pérdidas producidas por el tratamiento térmico fue de 2 puntos, para los zumos sin CDs y con β-Cds, y de sólo 1 punto para los zumos con hp-β-CDs, sin embargo, tras el tiempo de almacenamiento las pérdidas llegaron a 4 puntos para las

**Gráfico 1:**

Contenido en vitamina C en las muestras de zumo enriquecido (●), zumo enriquecido con adición de β-CDs (▲) y zumo enriquecido con adición de hp- β-CDs (■) a lo largo de 75 días de almacenamiento.
BTT*: Antes del tratamiento térmico (98 ºC 30s).
ATT**: Después del tratamiento térmico (98 ºC 30s).




muestras sin CDs y con β-CDs y de 2 puntos para los zumos que contenían hp-β-CDs. Estos resultados indican que el color de los zumos se vio más afectado por el tiempo de almacenamiento que por el tratamiento termico (98 ºC 30s)[8] Como podemos observar en el **gráfico 2**, las diferencias de color fueron menores en aquellas muestras que contenían hp-β-CDs respecto a las contenian β-CDs.

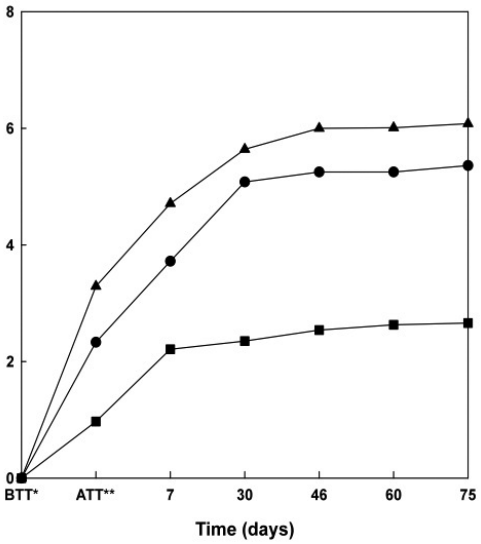
Inicialmente los equivalents de Retinol (ER) fue de 30.29 ER $L^{-1}$ (**gráfico 3**). Después del tratamiento térmico, las pérdidas de ER fueron mínimas (entorno al 1-3%) en todas las muestras. Las pérdidas tras el periodo de almacenamiento fue alrededor de 5-6% en el zumo sin CDs y con β-CDs y de 3.4% en zumo con hp-β-CDs, debido a la degradación de carotenoides totales y vitamina A (como equivalentes de retinol).[9]

### Actividad Antioxidante

El **gráfico 4** muestra la capacidad antioxidante de los zumos y su evolución durante su almacenamiento a 4ºC expresado como equivalentes de Trolox por 100mL de zumo. La capacidad antioxidante inicial de las muestras frescos fue de 25.94±0.8 mMT / 100 mL (gráfico 5). Tras el tratamiento térmico las pérdidas fueron de 8.6 a 7.2% para zumos sin CDs y

**Gráfico 2:**

Evolución de la diferencia total de color en las muestras de zumo enriquecido (●), zumo enriquecido con adición de β-CDs (▲) y zumo enriquecido con adición de hp- β-CDs (■) a lo largo de 75 días de almacenamiento.
BTT*: Antes de tratamiento térmico (98 ºC 30s).
ATT**: Después de tratamiento térmico (98 ºC 30s).



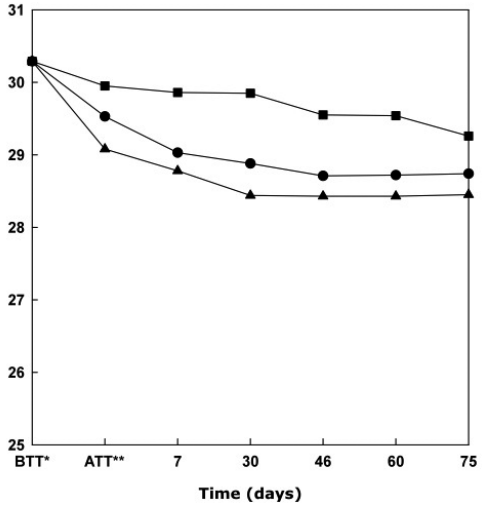

con β-CDs y de 4.5% para zumos con hp-β-CDs. Después del periodo de almacenamiento (75 días), la capacidad antioxidante fue de 17.75±0.9 mMT 100 $mL^{-1}$ para zumos sin CDs y con β-CDs y 23.41±0.5 mMT 100 $mL^{-1}$ en zumos con hp-β-CDs. Las pérdidas totales (pasteurización y almacenamiento) fue de 31.5 y 9.75%, respectivamente. Se observaron claras diferencias entre zumos sin CDs y con β-CDs y zumos con hp-β-CDs.[10]

### Evaluación Sensorial

No hubo variciones sensoriales detectadas por el panel de catadores a lo largo del estudio para los parámetros dulce, ácido y sin sabor. Inicialmente, antes de tratamiento térmico (98 ºC 20s), la adición de β-CDs y hp-β-CDs en las muestras de zumo no provocó ninguna variación significativa para los parámetros sensoriales analizados. La variación de color fue detectada significativamente, al final del ensayo, por el panel de catadores. Los zumos con hp-β-CDs fueron los mejores valorados.[11] Para los parámetros sensoriales, aroma a mandarina fresca and sabor, se detectó diferencias significativas tanto después del tratamiento térmico como a lo largo del periodo de almacenamiento El zumo mejor valorado por el panel de catadores fue el que no tenia ningún tipo de CD, seguido del zumo con β-CDs y, finalmente,

**Gráfico 3:**

Evolución de los equivalentes de retinol (RE*) en las muestras de zumo enriquecido (●), zumo enriquecido con adición de β-CDs (▲) y zumo enriquecido con adición de hp- β-CDs (■) a lo largo de 75 días de almacenamiento.
BTT*: Antes de tratamiento térmico (98 ºC 30s).
ATT**: Después de tratamiento térmico (98 ºC 30s).



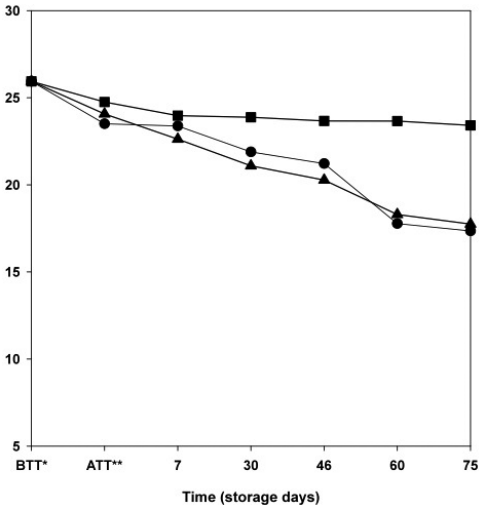

los zumos con hp-β-CDs. La unión entre las CDs y los compuestos aromáticos dependen tanto de la hidrofobicidad de la molécula huésped como de la geometria de la cavidad de las CDs. Algunos investigadores han demostrado que las β-CDs son las CDs más adecuadas para la inclusión de los compuestos aromáticos.[12] Las CDs no son selectivas y complejan cualquier tipo de aroma tanto agradable como indeseable.[11]

## 6. Conclusiones

La adición tanto de β-CDs como hp-β-CDs provocó tanto efectos positivos como negativos en las muestras de zumos analizadas. Las β-CDs fueron, sensorialmente, mejor valoradas respecto al perfil aromático que las hp-β-CDs aunque las muestras sin CDs fueron las que mas aceptación tuvieron por el panel de catadores al no complejar ningun tipo de aroma y mantenerse estas muestras lo mas parecidas al original. Sin embargo las hp-β-CDs fueron mejor valoradas respecto al color, actividad antioxidante y vitamina C y equivalentes de retinol. El color de los zumos mejoro tanto instrumentalmente como sensorialmente con la adicion de este tipo de ciclodextrinas respecto a las muestras sin CDs y con β-CDs. Las hp-β-CDs generalmente complejan más que las β-CDs porque aumenta su solubilidad y los grupos hidroxipropilos pueden favorecer la complejación o la entrada de la molécula en la cavidad hidrofóbica.[10]

**Gráfico 4:**

Evolución de la capacidad antioxidante en zumo enriquecido (●), zumo enriquecido con adición de β-CDs (▲) y zumo enriquecido con adición de hp-β-CDs (■) durante 75 días de almacenamiento.
BTT*: Antes de tratamiento térmico (98 ºC 30s).
ATT**: Después de tratamiento térmico (98 ºC 30s).




## 7. Bibliografía


• [1] Prior RL, Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr 78:570-578 (2003).

• [2] Lee HS and Coates GA, Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 36:153–156. (2003).

• [3] Szejtli J, Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. Chem Rev 98:1743-1753 (1998).

• [4] Boudad H, Legrand P, Lebas G, Cheron M, Duchêne D and Punchel G, Combined hidroxypropyl- β–cyclodextrin and poly (alkilicyanocrylate) nanoparticles intended for oral administration of saquinavir, Int J Pharm 218(1-2):113 (2001).

• [5] Ransom. http:// www.willianransom.com [July 2010].

• [6] Probelte Pharma. http://www.probelte.es/ [July 2010].

• [7] Nuñez-Delicado E, Sánchez-Ferrer A and Garcia-Carmona F, Cyclodextrins as Secondary Antioxidants: Synergism with Ascorbic. J Agric Food Chem 45 (8):2830–2835 (1997).

• [8] García-Viguera C, Zafrilla P, Romero F, Abellán P, Artés F and Tomás-Barberán FA, Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. J Food Sci 64:243-247 (1999).

• [9] Mercader-Ros MT, Lucas-Abellán C, Gabaldón JA, Fortea MI, Martínez-Cachá A and Núñez-Delicado E, Kaempferol complexation in cyclodextrins at basic pH. J Agric Food Chem 58:4675-4680 (2010).
• [10] Lucas-Abellán C, Fortea I, Gabaldón JA and Núñez-Delicado E, Complexation of resveratrol by native modified cyclodextrins: Determination of complexation constant by enzymatic, solubility and fluorimetric assays. Food Chem 111:262-267 (2008).
• [11] López-Nicolás JM, Andreu-Sevilla AJ, Carbonell-Barrachina A and García-Carmona F, Effects of Addition of α-Cyclodextrin on the Sensory Quality, Volatile Compounds, and Color Parameters of Fresh Pear Juice. J Agric Food Chem 57 (20):9668-9675 (2009).
• [12] Reineccius TA, Reineccius GA and Peppard TL, Encapsulation of Flavors using Cyclodextrins: Comparison of Flavor Retention in Alpha, Beta, and Gamma Types. J Food Sci 67(9):3271 – 3279 (2006).

## 8. Sobre los autores

**Patricia Navarro Martinez**

Becaria de investigación con beca predoctoral 2007-2011
Titulo investigación:

**Prof. Dr. Antonio J. Pérez-López**

Dpto. Tecnología Alimentos y Nutrición.
UCAM

# Índice

**1.** Resumen ..... 189
**2.** Abstract ..... 189
**3.** Introducción ..... 189
**4.** Materiales y métodos ..... 190
**5.** Resultados y discusión ..... 192
**6.** Agradecimientos ..... 194
**7.** Bibliografía ..... 194
**8.** Sobre los autores ..... 195

# Fabricación de confituras de granada

**Melgarejo, P. y Legua, P.**
pablo.melgarejo@umn.es
Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Universidad Miguel Hernández. Carretera Beniel Km 3,2. 03312 Orihuela, Alicante.

## 1. Resumen

Uno de los parámetros más importantes para la elección de confituras por los consumidores es el color. En este trabajo se estudió durante cinco meses la evolución del color y el contenido en antocianos de confituras de granada realizadas con la variedad 'Mollar'. Durante el almacenamiento se probaron dos temperaturas, 5ºC y 25ºC, y exposiciones a la luz/oscuridad, así como la influencia del tipo de pectina. Las confituras con pectinas de alto metoxilo tuvieron mejor color debido a los altos valores del parámetro a* (34% superior a las confituras con bajo metoxilo). Los mejores resultadoa de almacenamiento se obtuvieron a 5ºC y en oscuridad.

**Palabras clave**: granada, confituras, antocianos, color, almacenamiento

## 2. Abstract

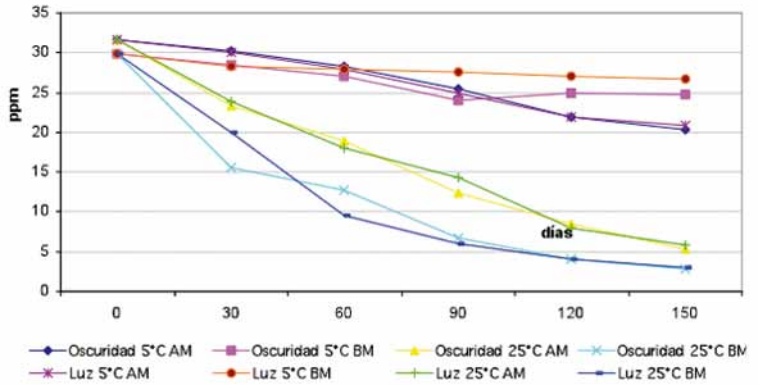
One of the most important parameters to which consumers are sensitive when selecting jams is the color. Anthocyanin and colour development of pomegranate jams made from the Mollar group were analysed during five months. Two temperatures (5ºC and 25ºC) and two light exposures (daylight and darkness) were tested during storage. Also the influence of pectin on jam preparation was evaluated. The results concluded that high methoxy pectins yielded better pomegranate jams because of their high a* values (34% higher than low methoxy ones). Optimal storage conditions were achieved at 5ºC and no light exposure at all.

**Keywords:** pomegranate, jams, anthocyanins, color, storage

## 3. Introducción

La granada es un fruto rico antocianos, que son los responsables tanto del color externo del fruto como de sus semillas, siendo éste un importante atributo de calidad que determina

**Gráfico 1:**
Evolución del contenido total en antocianos en las confituras de granada.




*AM: Pectina de alto metoxilo; BM: Pectina de bajo metoxilo.*

la aceptación del producto por parte del consumidor. Las semillas se pueden utilizar para el consumo en fresco o bien para la obtención de productos elaborados, siendo de gran interés el zumo, las mermeladas y las confituras. Los antocianos son los responsables del color rojo de las semillas y del zumo debido a la concentración relativa de dichos compuestos (Harborne, 1982; Melgarejo y Martínez-Valero, 1991; Gil *et al*., 1995). En la granada se han identificado seis antocianos: delfinidina 3 glucósido y 3-5 diglucósido, cianidina 3 glucósido y 3-5 diglucósido y pelargonidina 3 glucósido y 3-5 diglucósido (Du *et al*., 1975, Gil *et al.,* 1995).

El objetivo de este trabajo es estudiar la evolución de los pigmentos antociánicos y del color en la confitura de granada a distintas temperaturas de conservación, en presencia y ausencia de luz y con dos tipos comerciales de pectina.

## 4. Material y métodos

El material vegetal utilizado fue un clon de Mollar ya que es la variedad población más ampliamente cultivada en España (Melgarejo y Martínez, 1991; Melgarejo y Salazar, 2003). Los frutos fueron obtenidos del Banco de Germoplasma de granado existente en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández). Los frutos se recolectaron en plena madurez, durante la primera quincena de octubre y fueron almacenados durante un día a 5ºC, procediéndose a realizar la elaboración de confitura al día siguiente.

### Preparación de la confitura

La confitura fue preparada según el procedimiento comercial típico, utilizando pectinas de bajo y alto metoxilo, fabricadas por Danisco Cultor España, S.A., Grindsted® Pectin LA 210 y Grindsted® Pectin RS 400, respectivamente, como se indica a continuación.

Para la elaboración de confitura con pectina de alto metoxilo se utilizaron 350 g fruta $kg^{-1}$, 1.6525 g pectina $kg^{-1}$, 3 g de ácido cítrico $kg^{-1}$, 0.5 g ácido ascórbico $kg^{-1}$ y 1 g ácido

**Gráfico 2:**
Evolución del contenido en Cy 3,5.

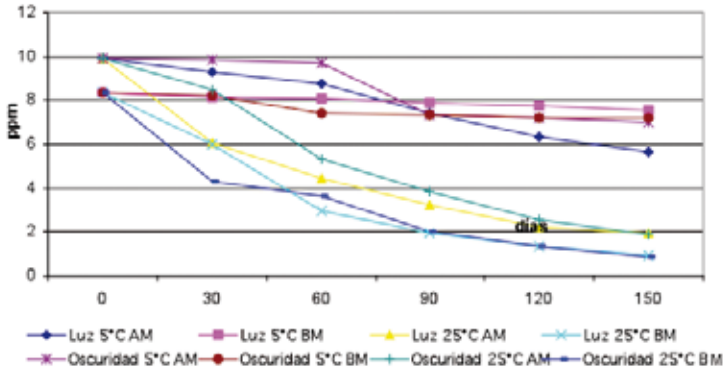
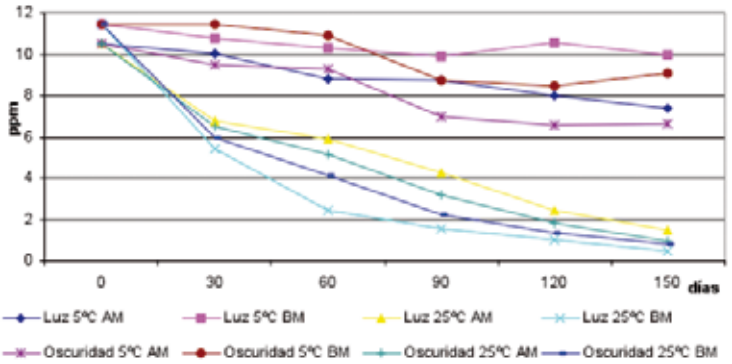



**Gráfico 3:**
Evolución del contenido en Cy 3.




sórbico $kg^{-1}$ y una concentración final de 65ºBrix. En el caso de la confitura preparada con pectina de bajo metoxilo: 350 g fruta $kg^{-1}$, 7 g pectina $kg^{-1}$, 4.5 g ácido cítrico $kg^{-1}$, 0.5 g ácido ascórbico $kg^{-1}$ y 1 g ácido sórbico $kg^{-1}$ y una concentración final de 65ºBrix.

**Extracción y análisis de antocianos y medida del color**

La extracción de antocianos de la confitura se realizó sobre 5g de acuerdo al procedimiento descrito por García-Viguera *et al*. (1997). Para la identificación y cuantificación de los antocianos se utilizó un cromatógrafo HP modelo 1100, con una columna C-18 (12,5 x 0,4 cm, particle size 5 μm) usando como fase móvil 5% ácido fórmico (solvente A) y metanol (solvente B). La inyección se realizó a 1 mL $min^{-1}$ y la detección a 520 nm.

Para medir el color se utilizó un colorímetro triestímulo Minolta CR-300. El ángulo Hue (H) fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula H= arctan b*/a*.

**Tabla 1:**
Influencia de la temperatura, iluminación y pectina en el valor a* de la confitura de granada.

| | 5ºC | | 25ºC | |
|---|---|---|---|---|
| Tiempo | a* | | a* | |
| 0 | 24.25 | a | 22.71 | a |
| 30 | 21.09 | b | 19.47 | ab |
| 60 | 17.95 | c | 16.38 | bc |
| 90 | 16.82 | cd | 14.52 | cd |
| 120 | 14.56 | de | 13.87 | cd |
| 150 | 12.93 | e | 11.60 | d |

| | Luz | | Oscuridad | |
|---|---|---|---|---|
| Tiempo | a* | | a* | |
| 0 | 22.83 | a | 25.14 | a |
| 30 | 19.53 | ab | 21.23 | b |
| 60 | 18.29 | bc | 16.58 | c |
| 90 | 16.09 | bc | 14.35 | cd |
| 120 | 14.76 | cd | 13.46 | cd |
| 150 | 12.38 | d | 12.18 | d |

| | BM | | AM | |
|---|---|---|---|---|
| Tiempo | a* | | a* | |
| 0 | 18.92 | a | 29.05 | a |
| 30 | 17.47 | a | 21.38 | b |
| 60 | 14.65 | b | 19.82 | c |
| 90 | 12.48 | c | 18.05 | cd |
| 120 | 11.66 | c | 16.62 | de |
| 150 | 9.33 | d | 14.73 | e |

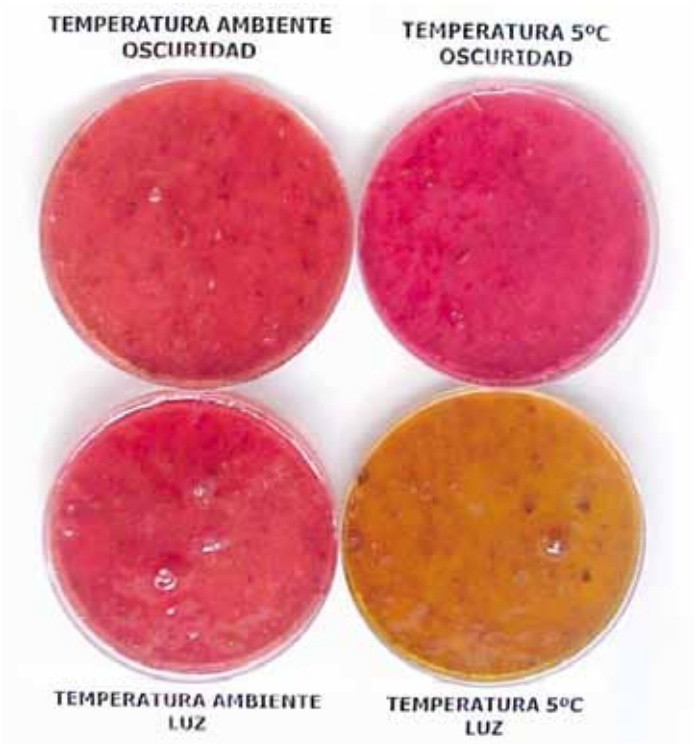
**Tabla 2:**
Valores medios del parámetro a* en función de la temperatura, iluminación y tipo de pectina.

| | Temperatura | | | Iluminación | | | Pectina | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | a* | | | a* | | | a* | |
| 5ºC | 18.73 | a | Luz | 17.86 | a | BM | 14.09 | a |
| 25ºC | 16.24 | b | Oscuridad | 17.33 | a | AM | 20.09 | b |

## 5. Resultados y discusión

La evolución del contenido de antocianos en la confitura de granada con el transcurso del tiempo es la que se representa en el gráfico 1. El contenido total de antocianos disminuye muy rápidamente cuando la conservación se realiza a 25ºC, ya sea confitura elaborada con pectina de alto o bajo metoxilo frente a las confituras conservadas a 5ºC cuya degradación es de un 32% en un periodo de 150 días para confituras elaboradas con pectinas de alto metoxilo y de tan sólo un 14% cuando la elaboración es con pectina de bajo metoxilo. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por García-Viguera (1999) en confitura de fresa donde la degradación del contenido total en antocianos a 5ºC durante 180 días fue más lenta que a temperaturas más altas (24ºC/18ºC).

El contenido en antocianos puede verse afectado negativamente por efecto de la luz (Markakis, 1982; Francis, 1989). La confitura de granada conservada en presencia de luz frente a las conservadas en oscuridad no presentó diferencias significativas. Resultados similares fueron obtenidos para confitura de fresa por García-Viguera (1999). Estos resultados pueden ser explicados por el efecto protector de altas concentraciones de azúcar (Wrolstad *et al*., 1990).




*Fotografía 1. Confituras conservadas en presencia y ausencia de luz a 5ºC y 25ºC durante 5 meses.*

Todos los pigmentos antociánicos presentan una disminución a lo largo del proceso de conservación de la confitura. Esto está en consonancia con los resultados obtenidos para la mermelada de granada por Zafrilla (1998). Los pigmentos predominantes en la confitura de granada fueron en todas las condiciones de conservación y elaboración la cianidina tanto en su forma mono como diglucósido. La degradación de la Cy 3 y 3,5 se produjo con mayor rapidez en las confituras conservadas a 25ºC que las conservadas a 5ºC (Gráfico 2 y 3). En cuanto a la influencia de la temperatura en el color de la confitura (Tabla 1) se puede ver cómo se produce una disminución progresiva del valor de a* tanto a 5ºC como a 25ºC siendo la misma más acusada a 25ºC.

La conservación de la confitura de granada en presencia o ausencia de luz no presentó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la variación del valor de a* (Tabla 2). Sin embargo, sí se observa la evolución de este parámetro a lo largo del proceso de conservación (Tabla 1) apreciándose una disminución durante los 150 días de almacenamiento de un 47% en presencia de luz y de un 51% en oscuridad.

Las confituras de granada elaboradas con pectina de alto metoxilo presentan un mayor valor del parámetro a* (del orden de un 34%) frente a las elaboradas con pectina de bajo

metoxilo mostrando el análisis estadístico diferencias significativas (Tabla 2). A pesar de que las confituras elaboradas con pectina de alto metoxilo partían de un 34% más de color que las elaboradas con las de bajo metoxilo, al final del período de 5 meses de conservación la disminución del valor de a* fue del 50% en ambos casos.

Por tanto, se puede concluir que para la elaboración de confituras de granada es mejor emplear pectinas de alto metoxilo y para una conservación óptima debería realizarse a bajas temperaturas (5ºC) y preferiblemente en ausencia de luz.

## 6. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado durante el desarrollo del proyecto de investigación de referencia 1FD1997-1337-C02-0 titulado "Desarrollo de nuevos elaborados a partir de la granada (*Punica granatum* L.)". financiado por el Ministerio de Educación y Cultura de España.

## 7. Bibliografía

• Du, C.T.; Wang, D.L. y Francis, F.J. 1975. Anthocyanins of pomegranate (*Punica granatum* L.). Journal of Food Science 40: 417-418.

• Francis, F.J. 1989. Food Colorants: Anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 28: 273-341.

• García-Viguera, C.; Zafrilla, P. y Tomás-Barberán, F.A. 1997. Determination of authenticity of fruit jams by HPLC análisis of anthocyanins. Journal of Science Food and Agriculture 73: 207-213.

• García-Viguera, C.; Zafrilla, P.; Romero, F.; Abellán, P; Artés, F. y Tomás-Barberán, F.A. 1999. Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. Journal of Food Science 64(2): 243-247.

• Gil, M.I.; García-Viguera, C.; Artés, F. y Tomás-Barberán, F.A. 1995. Changes in pomegranate juice pigmentation during ripening. J. Sci. Food Agric. 68: 77-81.

• Harborne, J.B. 1982. Introduction to to ecological biochemistry. Academic Press. London.

• Markakis, P. 1982. Stability of anthocyanins in foods. In: Markakis P. (ed.). Anthocyanins as Food Colours. New York: Academic Press.

• McLaren, K. 1980. Food colorimetry. In developments in food colours-I. Ed. J. Walford. 27-45. Applied Science Publishers Ltd. London. UK.

• Melgarejo, P. y Martínez-Valero, R. 1991. El granado. Mundi-Prensa. Madrid.

• Melgarejo, P.; Hernández, F.; Martínez, J.J. Tomás-Barberán, F.A. y Artés, F. 1998. Evolution of pomegranate juice anthocyanins during the ripening of fruit of three clones: ME16, VA1 and BA1. Options méditerranéesnnes 42: 123-127.

• Melgarejo, P. y Salazar, D. 2003. Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Vol II. AMV Ediciones y Mundi-Prensa. Madrid.

• Wrolstad, R.E.; Skrrede, G.; Lea, P. y Enersen, G. 1990. Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. Journal of Food Science 55: 1064-1072.

## 8. Sobre los autores

### Dr. Pablo Melgarejo Moreno

Catedrático de Universidad del Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, en el área de Producción Vegetal en la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH).

Ingeniero Agrónomo por la Universidad Politécnica de Valencia (UPV). Realizó su tesis doctoral sobre la granada, obteniendo el Grado de Doctor Ingeniero Agrónomo por la Universidad Politécnica de Valencia en 1993. Ha dirigido 11 tesis doctorales. Tiene numerosas publicaciones sobre frutales de zonas áridas. Es el responsable del Grupo de Investigación en Fruticultura y Técnicas de Producción y el Director del Departamento de Producción Vegetal y Microbiología de la UMH.

### Dra. Pilar Legua Murcia

Ingeniero Agrónomo (Universidad Miguel Hernández, 1999) y Dra. Ingeniero Agrónomo (Universidad Miguel Hernández, 2002). Especialista en cítricos (Master de Citricultura, Universidad Politécnica de Valencia, 1999).

Profesora en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela desde 2001.

# El grupo de calidad y seguridad alimentaria y la granada

**A. Calín, A. Ramírez, P. Jurado, F. Burló, M.J. Frutos, F. Martínez-Sánchez y Á.A. Carbonell-Barrachina**
Grupo Calidad y Seguridad Alimentaria. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. 03312-Orihuela, Alicante

El presente trabajo muestra brevemente el trabajo que el grupo de investigación "Calidad y Seguridad Alimentaria, CSA" de la Universidad Miguel Hernández ha realizado con la granada y básicamente con el zumo de granada. Nuestro primer contacto con el tema viene de la mano de la empresa Granadas de Elche S.L.U. El grupo CSA analizó y respaldo la calidad del zumo GranaVida desde su lanzamiento al mercado; los análisis y resultados de los estudios realizados pueden localizarse en http://www.campodeelche.com. Posteriormente y con la ayuda del Centro de Análisis Sensorial de la Universidad Estatal de Kansas (USA) se está estudiando la aceptación por parte de los consumidores norteamericanos de distintos tipos de zumo de granada. Los estudios con consumidores se están ampliando en la actualidad a España (modelo de los países europeos del sur) y Estonia (modelo de los países europeos del norte). Además, se ha desarrollado un léxico específico para facilitar el análisis descriptivo del flavor del zumo de granada en cualquier parte del mundo. De forma simultánea y en estrecha colaboración con el Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, se está estudiando el perfil aromático y sensorial de frutos de multitud de cultivares procedentes de la colección que el Prof. Pablo Melgarejo posee en la finca de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Se está estudiando el potencial de estos cultivares (dulces, agri-dulces y ágrios) para el desarrollo de productos derivados de la granada, por ejemplo zumos, mermeladas, licores, etc. En colaboración con la Universidad de Medio Ambiente y Ciencias de la Vida de Wroclaw (Polonia) se está evaluando la viabilidad económica y calidad de productos desecados (arilos, corteza, etc.) empleando diferentes tecnologías (por ejemplo, secado convectivo, secado por microondas a vacío, liofilización, etc.). Finalmente, se está colaborando también de forma muy activa con los productos derivados de la granada (cápsulas de extracto de piel, jarabe de granada, zumo de granada, néctar de granada, etc.) que la empresa Antioxidantes Naturales del Mediterráneo S.L. está lanzando al mercado. Los resultados de los análisis realizados pueden consultarse en la página web http://www.granatumplus.com y demuestran la elevada capacidad antioxidante del extracto de piel de granada Granatum Plus.

# Perfil aromático de zumos de granada procedentes de los Estados Unidos: diferencias entre zumo recién exprimido y zumos comerciales

**L. Vázquez-Araújo[1], K. Koppel[2,3], E. Chambers IV[1], K. Adhikari[1] y A.A. Carbonell-Barrachina[4]**

[1] The Sensory Analysis Center. Department of Human Nutrition. Kansas State University. Manhattan 66506-1407 KS (USA).

[2] Tallinn University of Technology. Department of Food Processing. Tallinn, Estonia.

[3] Competence Center of Food and Fermentation Technologies. Tallinn (Estonia).

[4] Grupo Calidad y Seguridad Alimentaria. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. 03312-Orihuela, Alicante (Spain).

Se analizaron 14 zumos de granada (uno procedente de arilos recién exprimidos y 13 zumos comerciales) con el fin de determinar el perfil aromático del "zumo de granada". Los compuestos aromáticos se estudiaron empleando: i) la micro-extracción en fase solida del espacio de cabeza (HS-SPME) y 2) el análisis del perfil de flavor (evaluación sensorial). Se encontraron hasta 83 compuestos aromáticos diferentes en los zumos, incluyendo: terpenos, derivados del benceno, furanos, ésteres, ácidos, cetonas, alcoholes y aldehídos. Los zumos comerciales presentaron perfiles sensoriales muy diferentes entre sí, y también bastante diferentes al perfil del zumo recién exprimido. Las únicas características sensoriales comunes a todos los zumos fueron notas aromáticas dulces, húmedo-terrosas y a uva. Este estudio muestra la gran heterogeneidad existente entre los zumos de granada comerciales encontrados en el mercado estadounidense. Esta heterogeneidad podría estar relacionada con el hecho de que las diferentes empresas productoras aún se encuentran en la búsqueda de un producto exitoso, empleando diferentes tipos de procesado, materias primas e incluso mezclas con otros productos vegetales. En la actualidad, se están realizando nuevos estudios para determinar qué es lo que los consumidores están buscando en el zumo de granada y cuál es el perfil aromático más apropiado para mejorar la aceptación de este producto tan saludable y con tanto futuro.

# Características físico-químicas y sensoriales de zumos de granada con diferentes porcentajes de extracto de corteza

**L. Vázquez-Araújo[1], E. Chambers IV[1], K. Adhikari[1] y Á.A. Carbonell-Barrachina[2]**

[1] The Sensory Analysis Center. Department of Human Nutrition. Kansas State University. Manhattan 66506-1407 KS, USA

[2] Grupo Calidad y Seguridad Alimentaria. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. 03312-Orihuela, Alicante

Para el presente estudio se escogieron 5 zumos de granada: un zumo recién exprimido de arilos, dos zumos con extracto de albedo de corteza de granada añadida en concentraciones del 2 y 5 % (zumos con pulpa), y otros dos zumos con los mismos porcentajes de extracto de albedo, pero filtrados 48 horas después de añadirles el extracto (zumos sin pulpa). Para evaluar las diferencias físico-químicas entre las muestras bajo estudio se procedió a determinar varios parámetros: i) sólidos solubles totales, ii) pH, iii) acidez valorable, iv) compuestos fenólicos totales, v) compuestos volátiles, y vi) análisis sensorial del perfil de flavor. Las muestras con un 5 % de corteza añadida (filtradas o no) tuvieron un contenido de compuestos fenólicos totales significantemente superior al del resto de las muestras. Únicamente se encontraron mínimas diferencias en los parámetros físico-químicos y sensoriales y estas diferencias es más probable que sean debidas a la heterogeneidad de los frutos que a la adición de extracto de piel. Los grupos químicos que predominaron en la composición de volátiles fueron aldehídos, alcoholes y terpenos; estos compuestos proporcionan aromas frescos y afrutados. La adición de extracto de albedo de granada, y posterior filtrado, puede ser una buena herramienta para incrementar el contenido fenólico del zumo sin incrementar el contenido en pulpa; gracias a esta adición, las propiedades saludables del producto se verían potenciadas. Finalmente se debe mencionar que esta adición no causó ningún efecto significativo sobre ninguna de las demás propiedades organolépticas del zumo, por lo que no afectará negativamente a la aceptación del zumo entre los consumidores.

# Gran&Go!

**Domingo Saura, Nuria Martí, Patricia Melgarejo, Pablo Melgarejo y Miguel A. Sánchez**
dsaura@umh.es,nmarti@umh.es, patricia.melgarejo@graduado.umh.es, pablo.melgarejo@alu.umh.es, miguel.sanchez09@graduado.umh.es
Institución: Laboratorio y Planta Piloto de extracción de Zumos de la Universidad Miguel Hernández de Elche (Escuela Politécnica Superior de Orihuela)

## 1. Resumen

La relación entre el alimento que ingerimos y el efecto que produce sobre nuestra salud, ha sido ampliamente estudiado en las últimas décadas. El concepto actual de alimento funcional resulta del reconocimiento gradual del papel de la dieta en la prevención y tratamiento de enfermedades y de la identificación de los mecanismos por los cuales los alimentos modulan el metabolismo y la salud.

La concepción de este producto surge de la combinación de varios desarrollos tecnológicos innovadores; producción de zumo clarificado de granada (Punica granatum (L.)) de diversos cultivares, desarrollo de un zumo industrial clarificado de caqui (Diospyros kaki) no astringente, la utilización como acidulante de un zumo de limón (Citrus limon (L.) Burm.) clarificado por filtración tangencial y el empleo de vesículas frescas de naranja sanguina (obtenidas por pelado enzimático) para compensar la sensación dulce, astringente y ligeramente amarga de los primeros zumos. Además se han empleado nanopartículas de Flavonoides cítricos para evitar el deterioro de la vitamina C (últimas tecnologías en experimentación para aumentar la solubilidad de los extractos vegetales).La combinación de estos zumos de frutas típicas mediterráneas esta justificada por la gran cantidad de toneladas de destrío procedentes del mercado en fresco, que en ocasiones merman la rentabilidad del proceso de transformación. El aprovechamiento integral de estos frutos, así como su transformación en zumo y otros productos aportan una solución a unos cultivos de gran importancia económica para las zonas de producción. Es por ello que, las frutas que contiene el combinado (Granada, limón y caqui) son una fuente natural de compuestos bioactivos con propie-

dades beneficiosas para la salud. Siendo la filosofía de Gran&Go, obtener una mezcla de zumos de gran capacidad antioxidante y una gran calidad sensorial tomando como base el zumo de caqui y utilizando frutas mediterráneas.

Utilizar el zumo clarificado de granada por sus propiedades funcionales y su gran capacidad antioxidante producido de forma que limite su deterioro sensorial. Emplear el zumo de limón clarificado por filtración tangencial como acidulante para rebajar el pH de la mezcla anterior y por tener un aporte aromático muy limitado, contribuyendo asimismo a limitar los efectos del pardeamiento enzimático. Añadir las vesículas de naranja sanguina para equilibrar sensorialmente el zumo mediante un aporte de un zumo cítrico con un importante aporte de antocianos, y hacerlo en su propio envase natural. Adicionar flavonoides cítricos de la corteza de limón para limitar el deterioro de la vitamina C, y nano-encapsularlos que consiste en una microencapsulación de pectinas y bioflavonoides, principalmente hesperidina, con el que se consigue aportar a la bebida funcional un contenido en hesperidina hasta 10 veces superior al que posee un zumo cítrico, pudiendo así incrementar la cantidad de hesperidina absorbida.

El resultado incide en los 5 sentidos: visual, gustativo, olfativo, auditivo y táctil; y en su calidad como alimento funcional, demostrando que estos productos pueden superar sensorialmente los productos tradicionales del mercado mediante la mejora de los procesos de producción.

# Índice

**1.** Resumen ..... 205

**2.** Abstract ..... 205

**3.** Introducción ..... 206

**4.** La granada tiene una reconocida reputación por sus usos medicinales y etnobotánicos ..... 206

**5.** La Granada también tiene grandes aplicaciones como alimento ..... 207

**6.** ¿Qué contiene la granada que pueda ser responsable de sus propiedades medicinales? ..... 207

**7.** Diferentes estudios and demostrado que la Granada posee importantes efectos frente al cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las neurodegenerativas ..... 208

**8.** La granada también ha demostrado una gran actividad frente al desarrollo de enfermedades cardiovasculares ..... 209

**9.** En relación con las enfermedades neurodegenerativas ..... 210

**10.** ¿Cuáles son los Mecanismos de acción de los constituyentes de la granada? ..... 210

**11.** En Conclusión ..... 211

**12.** Bibliografía seleccionada ..... 212

**13.** Sobre el autor ..... 213

# Granada y salud: aspectos farmacológicos y terapéuticos de la granada

**Francisco A. Tomás-Barberán**
fatomas@cebas.csic.es
CEBAS-CSIC, Murcia

## 1. Resumen

Las granadas han sido objeto de una intensa investigación durante los últimos diez años. Mucho de este trabajo ha ido dirigido a conocer las propiedades de la granada en la salud. Las granadas son ricas en diferentes sustancias fitoquímicas como los elagitaninos (punicalaginas), antocianinas, y glicósidos de ácido elágico, y también una menor cantidad de proantocianidinas. Las semillas contienen lípidos de estructuras interesantes, y el fruto muestra una composición de carbohidratos y ácidos orgánicos característica. Diferentes actividades biológicas se han asociado al consumo de granadas, incluyendo beneficios en la salud vascular, salud intestinal, cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Los constituyentes de la granada responsables de los beneficios sobre la salud observados en animales y en estudios de intervención en humanos permanecen sin ser descubiertos. La alta actividad antioxidante in vitro de los elagitaninos hizo pensar que estas sustancias pudieran ser responsables al menos en parte. Estudios de biodisponibilidad, sin embargo, indican que éstos no son absorbidos, y que son metabolizados por la microflora del colon para dar urolitinas, habiendo sugerido que estos metabolitos, que son biodisponibles, pudieran ser los responsables de los efectos beneficiosos observados.

## 2. Abstract

Pomegranates have been the focus of many research studies during the last ten years. Many of these are related to the health properties of this fruit and derived products and extracts. Pomegranates are rich in different phytochemicals that include phenolic compounds such as ellagitannins (punicalagins), anthocyanins, ellagic acid glycosides, and a small

amount of proanthocyanidins. The seeds also contain interesting lipids, and the carbohydrate and organic acid composition of the fruit is also characteristic. Different biological activities have been associated to pomegranate consumption, including benefits in vascular health, gut health, cancer, and neurodegenerative diseases. The pomegranate compounds responsible for the health benefits observed in animal and in human intervention studies remain to be identified. The highly antioxidant phytochemicals known as Ellagitannins were thought to be responsible for these activities at least in part. Bioavailability studies, however, indicate that these are not absorbed, and are metabolized by the gut microbiota to urolithins, and it has been suggested that these metabolites might be responsible for the beneficial effects observed.

## 3. Introducción

La actual explosión de interés científico por la granada como producto nutricional y medicinal, se puede poner de manifiesto efectuando una búsqueda en las bases de datos. Una búsqueda en ISI Web of Knowledge desde el 2000 hasta la actualidad revela que se han publicado casi 1500 nuevos trabajos científicos relacionados con la granada y muchos de ellos sobre sus efectos en la salud. En el periodo que cubría desde 1950 hasta 1999 tan solo se habían registrado 25 publicaciones sobre este tema. Este interés ha sido alentado por los estudios llevados a cabo alrededor del año 2000 en los que se demostró la extraordinaria actividad antioxidante del zumo de este fruto, y por el desarrollo paralelo de una industria floreciente de elaboración de zumo de granada en Estados Unidos, y de semillas de granada listas para su consumo en Estados Unidos, Europa, y también en España. Igualmente se han establecido diferentes empresas en varios países dedicadas a la preparación de extractos de granada, aprovechando los resultados de las investigaciones que apoyan las propiedades terapéuticas de la misma. En España, los frutos de granada se han comercializado principalmente en fresco, para la exportación a diferentes países europeos aunque también hay iniciativas para elaboración de zumos y semillas de granada, encontrándose algunos de ellos ya en el mercado. Las empresas de preparación de extractos también han proliferado en nuestro país y se encuentran en el mercado diferentes extractos.

## 4. La granada tiene una reconocida reputación por sus usos medicinales y etnobotánicos

Plinio el viejo (23-79 DC) conocía a la granada como *Malum punicum* (la manzana de Cartago) y escribió sobre ella y sus propiedades medicinales en su Historia Naturalis.

En la medicina Ayurvédica, la granada es considerada en si misma una farmacia.

Preparaciones de diferentes partes de la planta, hojas, zumo del fruto, corteza de fruto y corteza y madera del tallo, han sido utilizadas para numerosos propósitos, entre los que los remedios gastroenterológicos son los más importantes. Dioscorides describe algunos de éstos: indicando que el zumo de las semillas prensadas, fermentado y mezclado con miel, es bueno para las úlceras de la boca y los genitales. La decocción de las raíces sirve para expulsar las tenias. La decocción de las flores se emplea para evitar las dolencias de las encías. Para la diarrea se emplean las decocciones de la raíz y su corteza.

Hipócrates prescribía las semillas y la corteza de la granada para prevenir la concepción. Textos médicos de aquella época indican que también eran utilizadas como pesario.

La cáscara de la granada contiene un gran porcentaje de taninos que hace que se emplee tanto en medicina como en la industria del curtido de pieles, particularmente para hacer pieles en Marruecos. También se emplea en Túnez la corteza de la granada para teñir de amarillo tejidos y otras fibras. El zumo se emplea como antiséptico cuando se aplica a las heridas.

## 5. La Granada también tiene grandes aplicaciones como alimento

El zumo de granada es una bebida muy popular en Oriente Medio y es muy utilizado en la cocina Siria, Iraní e Hindú.

El jarabe de granadina es un zumo concentrado y azucarado que se emplea para hacer cocktails. Antes de que llegara el tomate a Oriente Medio, la granadina era utilizada en muchos platos Persas y puede encontrase todavía en recetas tradicionales.

Las semillas desecadas se emplean como especia, en la cocina Hindú y Pakistaní recibiendo el nombre de anardana.

El zumo comienza a comercializarse ampliamente en los EEUU a partir de 2004. Allí ha constituido un tremendo éxito comercial que ha hecho que se haya multiplicado por 40 la superficie de cultivo dedicada a este fruto en California (unas 18.000 hectáreas). El zumo se comercializa refrigerado y como un producto de gran calidad. También se ha multiplicado la producción y comercialización de las semillas de granada listas para su consumo, un té de granada elaborado con el marco que queda tras la extracción del zumo, y diferentes extractos dirigidos al mercado nutracéutico.

## 6. ¿Qué contiene la granada que pueda ser responsable de sus propiedades medicinales?

La granada es una buena fuente de vitamina C y ácido fólico. Pero lo más característico de la misma es su alto contenido en polifenoles. Los más abundantes son los taninos hidrolizables, particularmente las punicalaginas, cuyo contenido se han correlacionado con el alto poder antioxidante de la granada.

El zumo obtenido de los arilos de la Granada contiene además antocianinas, ácido elágico, gálico y cafeico, y taninos hodrolizables, tanto elagitaninos como galotaninos. Las membranas del fruto, pero no el zumo, contienen catequina y epigalocatequina, unos de los principales antioxidantes del té verde y del cacao. También contiene una gran cantidad de minerales, particularmente hierro, y aminoácidos.

El aceite obtenido de las semillas contiene un 95% de ácido punícico, además de otros ácidos grasos, elágico y esteroles.

La mayoría de los estudios parecen indicar que los constituyentes responsables de las principales actividades de la granada son el ácido elágico y los elagitaninos como la punicalagina, y el ácido punícico.

El objetivo de muchos estudios ha sido identificar los constituyentes terapéuticos de la granada. El ácido elágico, también presente en muchas plantas leñosas y en alimentos como las fresas, frambuesas y nueces, muestra potentes actividades anticarcinogénicas y antioxi-

dantes, lo que ha hecho que se haya encontrado al frente de los estudios de la actividad biológica de las granadas.

## 7. Diferentes estudios and demostrado que la Granada posee importantes efectos frente al cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las neurodegenerativas

### Respecto al cáncer la granada ha mostrado efectos prometedores frente al cáncer de próstata, el de mama, el de pulmón y el de colon

Los extractos de granada tienen un efecto antiproliferativo frente a células agresivas de **carcinoma de próstata** con una inhibición del crecimiento celular dependiente de la dosis. También el suministro oral de extractos de polifenoles de granada disminuyó significativamente la progresión de células tumorales de próstata humano implantadas en ratones. Además, esta inhibición del crecimiento se acompañó de una disminución de los niveles plasmáticos de PSA, el conocido marcador sérico de diagnóstico de la enfermedad, que se asocia a la presencia y progresión de células de cáncer de próstata en humanos. El elágico y el punícico, dos constituyentes de la granada, inhiben *in vitro* el desarrollo de células de cáncer de próstata cuando se ensayan de manera individual, incrementándose la actividad de forma sinérgica cuando se ensayan mezclas de los mismos. Un estudio clínico de Fase II recientemente concluido ha demostrado que pacientes con cáncer de próstata recurrente fueron tratados con zumo de granada diariamente y el tiempo de duplicación de los niveles de PSA se retrasó de forma significativa.

A pesar de los avances recientes en quimioterapia y radioterapia, la severa morbilidad del **cáncer de pulmón** y la baja supervivencia tras cinco años del diagnóstico no han mejorado. La quimioprevención es por tanto una estrategia lógica y obvia para ayudar a disminuir la incidencia y los efectos de la enfermedad. Se ha observado que los extractos de granada disminuyen la viabilidad de las células de cáncer de pulmón sin tener ningún efecto en células bronquiales normales. Basados en estos estudios *in vitro* se ha llevado a cabo un estudio en un modelo murino de cáncer de pulmón en el que se implantaban células de cáncer de pulmón humanas en ratones, observándose un efecto significativo de disminución de la progresión del crecimiento del tumor. También se estudió el efecto del consumo oral de extractos de granada sobre el desarrollo de tumores de pulmón en ratones. El tratamiento con granada resultó ser efectivo reduciendo los marcadores de angiogénesis asociados a tumores en los pulmones. Estos estudios han demostrado que los extractos de granada inhiben la tumorigénesis pulmonar afectando a muchas rutas de señalización en el modelo murino y merecerían ser considerados para el desarrollo de un agente potencialmente quimiopreventivo frente a cáncer de pulmón humano.

En la lucha contra el **cáncer de mama** la inhibición de la angiogénesis incide en la disminución de la formación de nuevos haces vasculares que irriguen el tumor. El potencial anti-angiogénico de la granada se ha estudiado en varias ocasiones. Se ha evaluado *in vitro* en diferentes líneas celulares de cáncer de mama humano mostrando en todos los casos un potencial significativo para la represión de la angiogénesis.

Los constituyentes fitoquímicos de la granada han mostrado también efectos inhibidores de la proliferación de células de **cáncer de colon** induciendo además apoptosis a través de la modulación de factores de transcripción y proteínas de señalización. El efecto del zumo de granada fue superior al mostrado por constituyentes aislados sugiriendo un efecto sinérgico y de acción múltiple. Además la apoptosis producida por los extractos de granada en células de cáncer de colon no se observó en células de colon normales.

## 8. La granada también ha demostrado una gran actividad frente al desarrollo de enfermedades cardiovasculares

El Profesor Aviram y su grupo en Israel han demostrado que el zumo de granada muestra protección frente a enfermedades cardiovasculares disminuyendo factores de riesgo como son la hipertensión, la agregación plaquetaria, y mejorando los perfiles lipídicos plasmáticos y el estrés oxidativo. La ingesta de un suplemento de zumo de granada durante tres años a pacientes con estenosis de la arteria carótida, condujo a una disminución del tamaño de la lesión, y los autores atribuyeron estos efectos al potente carácter antioxidante del zumo de granada. También redujo la presión sanguínea sistólica de pacientes con estenosis arterial tras un año de ingesta. En contraste, no se observó ningún efecto en la presión diastólica. Los niveles séricos del enzima convertidor de la angiotensina, que se asocian a una mayor presión arterial, se disminuyeron significativamente tras la ingesta de zumo de granada. Los autores de este estudio sugirieron que este efecto podía deberse a los antioxidantes del zumo de granada, tales como los taninos complejos, ya que éstos son capaces de inhibir el enzima convertidor de la angiotensina. Sin embargo, estos resultados hay que tomarlos con precaución, pues una publicación reciente ha asociado el desarrollo de rabdomiolisis con el consumo de granada en pacientes tratados con estatinas debido a un efecto colateral sobre Citocromo P-450. Un paciente tratado con estatinas leyó un artículo sobre las propiedades antioxidantes del zumo de granada y sus beneficios para la salud y decidió empezar a consumirlo. Tras tres semanas, el paciente fue hospitalizado con dolores musculares, malestar general orina oscurecida, y niveles séricos de creatinina kinasa elevados. Cuando se suprimieron las estatinas y el zumo de granada, los niveles de creatinina kinasa disminuyeron paulatinamente hasta alcanzar niveles normales tras diez días. Este informe sugiere que el zumo de granada inhibe los enzimas citocromo P-450 intestinales, y por tanto interfieren con el metabolismo de la estatinas, aumentando su absorción.

Las plaquetas circulantes juegan un papel muy importante en el desarrollo de la arteriosclerosis, y una agregación plaquetaria elevada se asocia a una mayor aterogenicidad. Además, la activación plaquetaria se ha asociado con el estrés oxidativo. Tras dos semanas de ingesta de zumo de granada se observó una reducción significativa de la agregación plaquetaria inducida por colágeno. Los autores de este estudio asociaron los efectos observados a la interacción de los constituyentes del zumo de granada con los receptores del colágeno de la superficie de las plaquetas, y por tanto la capacidad del zumo de granada para reducir la agregación plaquetaria en humanos se asoció a un efecto directo del zumo, aunque también pudiera ser debido a las propiedades antioxidantes del zumo de granada que pueden atenuar la agregación plaquetaria inducida por el estrés oxidativo.

También se ha propuesto que los polifenoles del zumo de granada pueden proteger el LDL frente a la oxidación mediada por las células, mediante interacción directa de los polifenoles con la lipoproteína o mediante efectos indirectos a través de la acumulación de polifenoles en los macrófagos arteriales.

## 9. En relación con las enfermedades neurodegenerativas

Un estudio con ratones ha demostrado que el suministro de zumo de granada como suplemento dietético en madres gestantes, es neuroprotector en un modelo de isquemia hipóxica neonatal de daño cerebral. Igualmente han mostrado resultados muy esperanzadores en modelos de enfermedad de Alzheimer habiéndose asociado estos efectos al alto contenido en polifenoles.

Para comprender la actividad biológica de los principios activos de la granada es necesario conocer su Biodisponibilidad y Farmacocinética.

Estudios llevados a cabo en la Universidad de California Los Angeles, han detectado la presencia de ácido elágico en plasma tras una hora de la ingesta de zumo de granada. Nuestro grupo del CEBAS-CSIC fue pionero en demostrar en humanos la transformación de los elagitaninos de la granada en elágico y éste, que es pobremente absorbido, es transformado por la microbiota del colon en urolitinas, unos metabolitos de degradación del elágico. Estas urolitinas son relativamente mucho más absorbibles que sus precursores y persisten en orina hasta 4 días después de la ingesta sugiriendo una importante circulación entero-hepática, lo que las hace unos buenos candidatos para explicar los efectos sobre la salud asociados al consumo de granada.

## 10. ¿Cuáles son los Mecanismos de acción de los constituyentes de la granada?

Aunque las granadas tienen un amplio rango de efectos terapéuticos atribuibles a varios mecanismos, la mayor parte de las investigaciones se han dirigido a sus propiedades antioxidantes, anticarcinogénicas y anti-inflamatorias.

### Los primeros son los Mecanismos Antioxidantes

Nuestro estudio llevado a cabo en la Universidad de California Davis, con el profesor Adel Kader, demostró que utilizando diferentes metodologías de evaluación de la actividad antioxidante ‘in vitro’, el zumo de granada tenía una actividad entre dos y tres veces superior a la que mostraban el vino tinto y el té verde. Los extractos de granada también se han mostrado eficaces neutralizando los radicales libres y disminuyendo el estrés oxidativo en macrófagos y en modelos de oxidación lipídica en animales de experimentación mostrando también un aumento en la capacidad antioxidante del plasma en ancianos. Estudios en ratas y ratones han confirmado las propiedades antioxidantes de diferentes extractos de granada, mostrando reducciones significativas del estrés oxidativo en macrófagos peritoneales de ratón, y del contenido celular de peróxidos lipídicos y un aumento en los niveles de glutatión reducido.

Algunas investigaciones en humamos han demostrado que el zumo de granada tiene una

capacidad antioxidante *in vivo* superior a la del zumo de manzana, observándose un incremento de la capacidad antioxidante del plasma en voluntarios seniles. Sin embargo, existen otros muchos estudios en los que el consumo del zumo de granada no producía ningún efecto en la capacidad antioxidante del plasma ni en el estrés oxidativo de pacientes con enfermedades que cursan con un elevado estrés oxidativo. De entre ellos queremos destacar el que hemos llevado a cabo en colaboración con el Servicio de Análisis y el Servicio de Neumología del Hospital Virgen de la Arrixaca en el que se evaluó el efecto del zumo de granada sobre pacientes de Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, sin observar ningún efecto sobre la capacidad antioxidante de los voluntarios, ni sobre la sintomatología del estrés oxidativo. Esto se podría asociar a la escasa biodisponibilidad de los antioxidantes de la granada.

### En relación con los Mecanismos anticarcinogénicos

Estudios con diferentes tipos de líneas celulares de carcinomas humanos han demostrado que los extractos de granada inhiben la proliferación y el carácter invasor de las células, y causan la disrupción celular y apoptosis inhibiendo el desarrollo del tumor. Muchos de estos estudios, sin embargo, no han tenido en cuenta la biodisponibilidad y el metabolismo de los principios activos contenidos en los diferentes extractos de granada, lo que hace que mantengamos serias dudas sobre su utilidad real 'in vivo' salvo en aquellos tumores asociados al tracto gastrointestinal.

Otros estudios también indican que los constituyentes de la granada inhiben la angiogénesis mediante una represión del factor de crecimiento vascular endotelial en células de cáncer de mama MCF-7 y en líneas celulares de endotelio de la vena umbilical.

### En relación con los Mecanismos anti-inflamatorios

Algunos extractos de granada, particularmente el de las semillas prensadas en frío, inhiben la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa in vitro. La ciclooxigenasa es un enzima muy importante en la conversión de ácido araquinónico en prostaglandinas, unos importantes mediadores de la inflamación, y fue inhibida significativamente por los extractos de la granada. La lipooxigenasa media en la transformación del aráquidónico en leucotrienos, otros mediadores de la inflamación, y también se inhiben por los extractos de semillas de granada.

## 11. En Conclusión

La granada es un fruto muy antiguo con un historial médico muy ilustre. Sin embargo hasta hace muy poco no se ha reconocido la importancia de la fase lipídica de la semilla. Estudios recientes han comenzado a sugerir posibles interacciones sinérgicas entre las fases acuosa y lipídica del fruto, y entre los diferentes constituyentes químicos particularmente los polifenoles. Aunque es necesario profundizar en el conocimiento de los constituyentes químicos y las actividades terapéuticas de la granada, todo parece indicar que estemos en los comienzos del reconocimiento de éste fruto en la quimioprevención y quimioterapia del cáncer, principalmente derivados de sus propiedades anti-inflamatorias. Estudios clínicos del papel de la granada en la inflamación son todavía inexistentes. Una gran parte de las in-

vestigaciones llevadas a cabo desde el año 2000 se ha dirigido a la actividad antioxidante de diferentes partes del granado. Sin embargo, la relación de esta actividad con la salud no ha podido establecerse, de forma que una extrapolación directa de estos resultados con recomendaciones médicas es todavía prematura.

En resumen, se podría decir que los estudios mencionados, aunque son interesantes y abren expectativas, dejan muchos puntos sin resolver. Aunque de forma no concluyente, estos estudios sugieren la necesidad de estudios posteriores, incluyendo ensayos clínicos de productos farmacéuticos diseñados apropiadamente. Las interacciones entre la granada y los principios activos de los medicamentos es también in tema de gran interés. Es muy probable que mucha más investigación sobre la granada continúe durante los próximos años, ya que la comunidad médica y los consumidores siguen mostrando un interés renovado en la granada como un agente terapéutico.

## 12. Bibliografía seleccionada


• Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D., Fuhrman, B.,. 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*. **2000**, *71*, 1062-1076.

• Cerdá, B.; Llorach, R.; Cerón, J.J.; Espín, J.C.; Tomás-Barberán, F.A. "Evaluation of the bioavailability and metabolism in the rat of punicalagin, and antioxidant polyphenol of pomegranate juice", *Eur. J. Nutrition*., **2003**, *42*: 18-28.

• Cerdá, B.; Espín, J.C.; Parra, S.; Martínez, P.; Tomás-Barberán, F.A. 'The potent in vitro antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolized into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora in healthy humans', *Eur. J. Nutr*. **2004**, *43*: 205-220.

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

• Larrosa, M.; García-Conesa, M.T.; Espín, J.C.; Tomás-Barberán, F.A. Ellagitannins, Ellagic acid and Vacular Health. *J. Mol. Asp. Med*. **2010**, en prensa.

• Pantuck, A.J.; Leppert, J.T.; Zomoridian, N.; Aronson, W.; Hong, J.; Barnard, R.J.; Seeram, N.P.; Liker, H.; Wang, H.J.; Elashoff, R.; Heber, D.; Aviram, M.; Ignarro, L., Belldegrun, A. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin. Cancer Res*. **2006**, 12, 4018-4026.

## 13. Sobre el autor

### Francisco A. Tomás-Barberán

Dr. en Farmacia por la Universidad de Valencia. Profesor de Investigación del CSIC en el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura de Murcia. Ha sido Coordinador Científico Técnico del Área de Ciencia y Tecnología de Alimentos del CSIC entre los años 2001 y 2005 y desde marzo de 2006 hasta principio de 2010 gestor del Programa de Tecnología de Alimentos del Plan Nacional de I+D del MEC.

Es autor de más de 250 artículos científicos en revistas, y ha participado en el desarrollo de más de ochenta proyectos y contratos de investigación. Su temática de investigación se ha centrado en el papel de los metabolitos secundarios polifenólicos en la calidad de los alimentos de origen vegetal y en sus propiedades protectoras de la salud. Las investigaciones actuales tienen como objetivo identificar aquellos constituyentes de los alimentos que les proporcionan propiedades beneficiosas para la salud, los mecanismos por los cuales actúan y el efecto de factores agronómicos, genéticos y de procesado y conservación de los alimentos sobre estas sustancias y sobre la seguridad de los alimentos. Ha codirigido más de una veintena de Tesis doctorales. Ha efectuado investigaciones en laboratorios extranjeros de Inglaterra, Suiza, Francia y Estados Unidos. Recibió el Premio Rhone Pulenc Rorer Award otorgado por la Phytochemical Society of Europe en 1997, por sus investigaciones sobre las sustancias polifenólicas de los alimentos, el Premio Ramón Frial de Investigación en Alimentación y Salud en el 2004 y el Premio Carles Martin Henneberg del Instituto Danone por la Trayectoria en Investigación en Alimentación y Salud en el 2007.

# Índice

**1.** Resumen ..... 215

**2.** Abstract ..... 215

**3.** El sistema nervioso y sus patologías ..... 216

**4.** Influencia de la granada en el sistema nervioso ..... 216

**5.** ¿Pueden los antocianos y los derivados del ácido elágico cruzar la barrera hematoencefálica? ..... 217

**6.** Estrés oxidativo y neuroprotección ..... 218

**7.** Papel de la granada en la neuromodulación del sistema nervioso ..... 220

**8.** Bibliografía ..... 223

**9.** Sobre el autor ..... 225

# La granada y el sistema nervioso

**Pedro Mena Parreño y Cristina García Viguera**
pmena@cebas.csic.es
cgviguera@cebas.csic.es
Institución: Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS-CSIC)

## 1. Resumen

Las enfermedades neurológicas son un gran problema de salud a nivel mundial que se van acrecentando cada año a la vez que aumenta la esperanza de vida. Por ello, es necesario proveer cuidados neurológicos a todos los niveles, empezando por la neuroprotección. En este aspecto, la granada presenta un magnífico potencial gracias a su alto contenido en compuestos fenólicos. Los antocianos han demostrado que pueden tener dianas funcionales en el encéfalo tras traspasar la barrera hematoencefálica, exhibiendo en éste una gran cantidad de funciones encaminadas a la neuroprotección, ya sea regulando procesos relacionados con estrés oxidativo o afectando los procesos de neurotransmisión. Por su parte, los derivados del ácido elágico también han mostrado actividad en el sistema nervioso; sin embargo, su presencia a nivel cerebral es discutida. Las propiedades beneficiosas de la granada sobre patologías neurológicas parecen tener fundamento, no obstante, se requieren estudios más detallados para establecer las posibilidades reales de la granada y sus compuestos fenólicos en cuanto a neuroprotección.

**Palabras clave:** antocianos, ácido elágico, patologías neurológicas, estrés oxidativo, neurotransmisor, barrera hematoencefálica

## 2. Abstract

Neurological disorders are a serious health problem that is increasing resulting from the global extension of life expectancy. Because of that it is necessary to provide neurological care at all levels, including neuroprotection. In this way, pomegranate seems promising with possibilities of applications due to its high polyphenols content. Anthocyanins have shown to reach the brain tissue after crossing the blood-brain barrier and these compounds have

displayed a vast amount of neuroprotective effects, modulating oxidative stress-related processes as well as affecting neurtotransmitters. On the other hand, ellagic acid derivatives have also shown activity against neuropathologies, however, their presence in the central nervous system is discussed. Despite that beneficial properties of pomegranate on neurological disorders would be logically expected, further research is required in order to establish the role of pomegranate compounds as neuroprotective agents.

**Key words:** anthocyanins, ellagic acid, neurological disorders, oxidative stress, blood-brain barrier, neurotransmitter.

## 3. El sistema nervioso y sus patologías

El sistema nervioso es una parte fundamental del organismo. Recoge señales y las procesa para enviar órdenes al resto de órganos del cuerpo humano a velocidades casi instantáneas.

Además de constituir una importante causa de muerte en el mundo, la prevalencia de las enfermedades neurológicas es muy superior a las de otras enfermedades con mayor tasa de incidencia o mortalidad; tal es así que los desórdenes neurológicos y algunas otras condiciones con discapacidades nerviosas representan el 6% de la carga de enfermedades a nivel global y, por ejemplo, 50 millones de personas sufren epilepsia y se espera que los afectados por distintos tipos de demencia se dupliquen cada 20 años. Entre los problemas neurológicos más comunes se hallan la epilepsia, los dolores de cabeza o cefaleas, la esclerosis múltiple, los desórdenes asociados a malnutrición, las demencias como el Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, el ictus o ataque cerebral y los traumatismos craneoencefálicos (1).

Ante esta perspectiva, la OMS ha lanzado un amplio número de proyectos cuyo objetivo es concienciar acerca de la frecuencia, severidad y costos de las enfermedades neurológicas, así como enfatizar la necesidad de proveer cuidados neurológicos a todos los niveles. Es en este marco donde la granada, conocida por sus propiedades antioxidantes, podría jugar un rol importante como neuroprotector.

## 4. Influencia de la granada en el sistema nervioso

La granada (Punica granatum L.) es una interesante fuente de compuestos fenólicos cuyos zumos han demostrado una actividad antioxidante in vitro tres veces superior a la del vino tinto y el te verde. Es una fruta muy rica en compuestos derivados del ácido elágico, isómeros de punicalagina y otros taninos hidrolizables, flavanoles (catequinas y galocatequinas) y antocianos (2-4). Estos compuestos fenólicos han demostrado poseer actividad antiinflamatoria y hepatoprotectora y efectos preventivos en enfermedades cardiovasculares y cáncer, además de cierto efecto neuroprotector (5-8).

El efecto de la granada sobre el sistema nervioso ha sido poco estudiado y hasta el momento se ha limitado a modelos animales. Uno de los primeros estudios se llevó a cabo con extracto etanólico de corteza de granado, el cual demostró la capacidad de modular la actividad enzimática del sistema nervioso de algunas especies animales, como el caracol Lymnaea acuminata (9). Si bien, este hecho no puede extrapolarse directamente al humano dadas las particulares características de la barrera hematoencefálica.

Otros estudios acerca de cómo la granada puede afectar al sistema nervioso sí se han realizado en modelos animales con unas características hematoencefálicas más similares al humano. Tal es el caso del trabajo de Kumar et al. (10), donde se estudió el comportamiento de ratones de distintas edades expuestos ante diferentes estímulos tras la administración de dosis agudas de extracto etanólico de arilos de granada. Este ensayo reveló cómo los compuestos de la granada pueden actuar sobre el sistema nervioso central (SNC) a diferentes niveles: mostrando efecto antinociceptivo, efecto antidepresivo y ansiolítico.

Así pues, parece claro que la granada puede modular o actuar de algún modo sobre el sistema nervioso central y que muy posiblemente una parte de esta actuación se deba a procesos de neuromodulación. Sin embargo, ¿qué compuestos de la granada podrían mediar dichas actividades? Para ello es necesario saber en primer lugar que compuestos son capaces de alcanzar el sistema nervioso.

## 5. ¿Pueden los antocianos y los derivados del ácido elágico cruzar la barrera hematoencefálica?

Cuando cualquier compuesto es ingerido por vía oral, el primer paso para que éste pueda acceder al resto del cuerpo es el transporte del mismo desde el intestino, a través del epitelio intestinal, hacia el torrente sanguíneo. En este paso, solo un porcentaje del compuesto (pequeño y variable según el tipo de compuesto, la matriz alimentaria en la que se presente y el tipo de flora microbiana existente en el individuo) pasará al plasma. Además, es muy probable que el compuesto sufra modificaciones que permitan el transporte desde la cavidad intestinal hasta el sistema circulatorio. Así, centrándonos en uno de los tipos de compuestos mayoritarios de la granada, los antocianos, se puede señalar que éstos presentan una baja absorción en el intestino, si se compara con otros flavonoides. En plasma se han encontrado principalmente antocianos que se metabolizan generando derivados de tipo glucurónido, sulfato y metilo. Si bien, también se han encontrado en forma glicosilada, como agliconas y como metabolitos producto de las interacciones de estos compuestos con la microflora colónica (11). Una vez que los antocianos han sido modificados y han alcanzado el sistema circulatorio son distribuidos y almacenados temporalmente en diferentes órganos a concentraciones variables, llegando incluso a aquellas recogidas en plasma (12). Es aquí donde entra en juego el restrictivo transporte a través de la barrera hematoencefálica para saber si los antocianos ingeridos son capaces de alcanzar el órgano diana, en este caso, el encéfalo.

La presencia de antocianos en el encéfalo ha sido controvertidamente discutida durante el pasado. Ciertos trabajos realizados con modelos animales indicaban la presencia de antocianos en el encéfalo, mientras que otros postulaban lo contrario (12-16). Si bien, en la mayoría de estos trabajos solo se identificaban antocianos en sus formas glicosiladas, no determinando los metabolitos conjugados resultantes del proceso de absorción o los derivados del catabolismo de antocianos. Finalmente, parece que se acepta que los antocianos o sus metabolitos son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica y llegar al encéfalo ya que, si bien no hay un hallazgo contundente que lo confirme, existen evidencias de la capacidad de los antocianos para reducir el stress oxidativo a nivel cerebral y para mejorar las funciones cognitivas, hechos solo factibles por la presencia en el SNC de estos flavonoides. Por otro

lado, conocer cómo se distribuyen los compuestos en las distintas regiones del encéfalo se revela como una parte fundamental en la comprensión de la capacidad de los antocianos frente a las distintas patologías neurológicas; sin embargo, hasta ahora, solo se sabe que algunos metabolitos derivados de los antocianos se han encontrado distribuidos en distintas regiones de encéfalos de ratas (13), mas se desconocen las concentraciones de los mismos en dichas regiones.

Con respecto al otro gran grupo de compuestos bioactivos de la granada, el ácido elágico y los elagitaninos, cabe destacar que presentan una absorción más compleja que la de los antocianos. Los elagitaninos (principalmente punicalaginas) son degradados a ácido elágico tanto en el yeyuno como en el estómago; luego, el ácido elágico es metabolizado por la flora intestinal para obtener secuencialmente tetrahidroxi- (urilitina D), trihidroxi- (urolitina C), dihidroxi- (urolitina A) y monohidroxi- (urolitina B) dibenzopiran-6-ona. Se han identificado más de una treintena de moléculas derivadas del ácido elágico, siendo la más abundante de todas éstas la urolitina A. Estos compuestos se hallan presentes tanto en el plasma como en los órganos de los aparatos digestivo y excretor, hacia donde pasan desde el lumen intestinal conjugados como glucurónidos. Mas existe una gran variabilidad entre individuos a la hora de metabolizar los derivados del ácido elágico, dependiente del tipo de flora microbiana existente, pudiéndose clasificar los individuos como grandes o pequeños excretores de metabolitos (17).

Una vez que los metabolitos conjugados de las urolitinas y el ácido elágico pasan al torrente sanguíneo, al contrario de lo que ocurre con otros polifenoles, no pasan a otros órganos, o al menos no en cantidades cuantificables, tal y como indican varios estudios realizados en ratas y cerdos donde no se encontraron restos de estos compuestos en hígado, pulmón, corazón, riñón, músculo, tejido adiposo y encéfalo (17, 18). Este hecho indicaría que los productos resultantes del metabolismo de elagitaninos y ácido elágico son incapaces de cruzar la barrera hematoencefálica, lo que sin duda dificultaría cualquier efecto de estos compuestos a nivel neurológico. Sin embargo, aunque no es abundante, existe literatura que recoge el papel protector de dicho grupo de compuestos sobre el sistema nervioso, en concreto en lo referente al ácido elágico (19, 20).

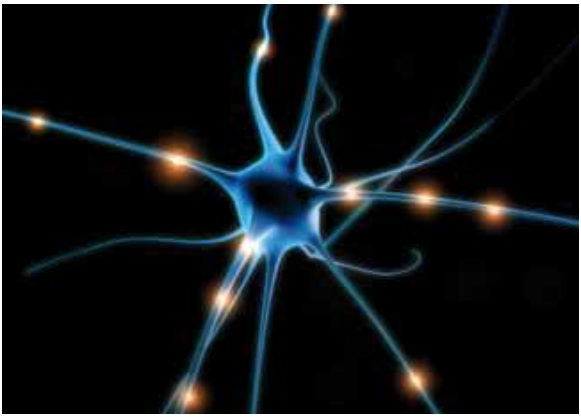
## 6. Estrés oxidativo y neuroprotección

Una vez que se ha establecido la biodisponibilidad de cada uno de los principales grupos de compuestos bioactivos de la granada en el sistema nervioso se pueden abordar las posibilidades neuroprotectoras de la granada y sus polifenoles frente a las principales patologías del sistema nervioso. El SNC tiene una alta tasa de metabolismo oxidativo en comparación con otros tejidos, recibiendo casi el 15% del flujo sanguíneo y consumiendo el 30% del metabolismo basal (21). El estrés oxidativo es uno de los principales factores responsables de disfunción o muerte de las células neuronales, lo que contribuye al desencadenamiento y progresión de las enfermedades neurológicas (22). Hay evidencias de cómo los compuestos ingeridos por la dieta pueden reducir dicho estrés y el incremento del mismo que se da durante el envejecimiento. Así, los antocianos de algunos frutos rojos y el vino han demostrado, después de una exposición regular a cantidades moderadas, que pueden

*Representación de la actividad neuronal a nivel encefálico.*

ejercer un papel protector tanto frente al daño oxidativo implicado en ciertas patologías neuronales, como son la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la demencia asociada al VIH, como frente al estrés asociado al envejecimiento (13, 22-26). Del mismo modo, los antocianos han sido postulados como un nuevo agente neuroprotector con efectos beneficiosos en la disminución de la neurotoxicidad causada por el etanol y asociada a estrés oxidativo, tanto en las fases de desarrollo del SNC como en la edad adulta (27). Alguno de los mecanismos propuestos acerca de cómo los antocianos pueden proteger al tejido nervioso han sido: evitar la formación de ROS y la apoptosis, quelatar metales (28) y evitar la pérdida de funcionalidad de la mitocondria y la fragmentación del ADN (24). Estos mecanismos de actuación han ganado atención como posibles estrategias terapéuticas contra la neurodegeneración (29).

Por su parte, los trabajos en los que se evalúa el efecto del ácido elágico frente a estrés oxidativo en tejido nervioso son más bien escasos. Éste ha sido testado en estudios de administración subcrónica llevados a cabo con una población de ratas en las que se reducen los niveles de ciertos marcadores de estrés oxidativo (lipoperoxidación, degradación del ADN y del anión superóxido) (20) y con otra población de ratones en los que se promovió la expre-



*Representación de una neurona.*

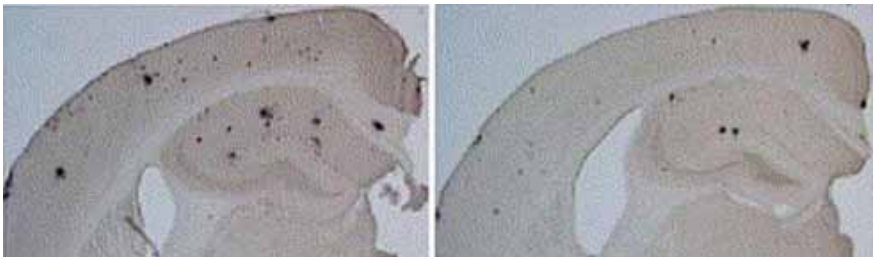
sión del gen que participa en la síntesis de glutatión (19), una enzima antioxidante, lo que puede resultar importante para la quimioprevención cerebral.

Y, puesto que los principales compuestos bioactivos de la granada, antocianos y derivados del ácido elágico, han manifestado su capacidad para actuar frente a procesos de estrés oxidativo en el SNC, no es de extrañar esperar que el zumo de granada tenga una actividad similar, hecho evaluado en un modelo animal de la enfermedad de Alzheimer. Ratones transgénicos con una patología similar a la de Alzheimer fueron tratados en la edad adulta con zumo de granada, retrasando la aparición del deterioro cognitivo y mejorando el aprendizaje y reduciendo en un 50% la acumulación de β–amiloide soluble y la deposición amiloide en el hipocampo, un proceso muy relacionado con el avance de la enfermedad (26).

Otra patología asociada con un incremento de las especies reactivas de oxígeno, la isquemia cerebral hipóxica neonatal, una de las mayores causas de enfermedad y muerte infantil en recién nacidos muy prematuros, ha mostrado interesantes resultados de neuroprotección. Dos estudios en los cuales ratonas preñadas fueron suplementadas con zumo de granada y a cuyas crías se les provocó isquemia cerebral hipóxica, revelaron que aquellas crías descendientes de madres que durante el embarazo habían consumido el zumo tenían una descenso significativo (64%) en la pérdida de tejido cerebral, así como otro descenso notable (84%) en la cantidad de caspasa-3, un marcador de muerte celular por apoptosis (30, 31). Estos resultados demuestran que el consumo de zumo de granada por parte de la madre durante el embarazo ejerce neuroprotección en los neonatos, a la vez que señala la transferencia de esa neuroprotección de la madre al neonato.

## 7. Papel de la granada en la neuromodulación del sistema nervioso

Otras de las más importantes patologías nerviosas están relacionadas con el proceso de neurotransmisión, como es el caso de las epilepsias, que afectan al 2% de la población mundial, sobre todo en países en vías de desarrollo o subdesarrollados. Los neurotransmisores



***Cerebro Control*** ***Cerebro Zumo Granada***

*Contenido de β-amiloide en cerebro de ratón control y tratado con zumo de granada. Fuente: Hartman et al., 2006*

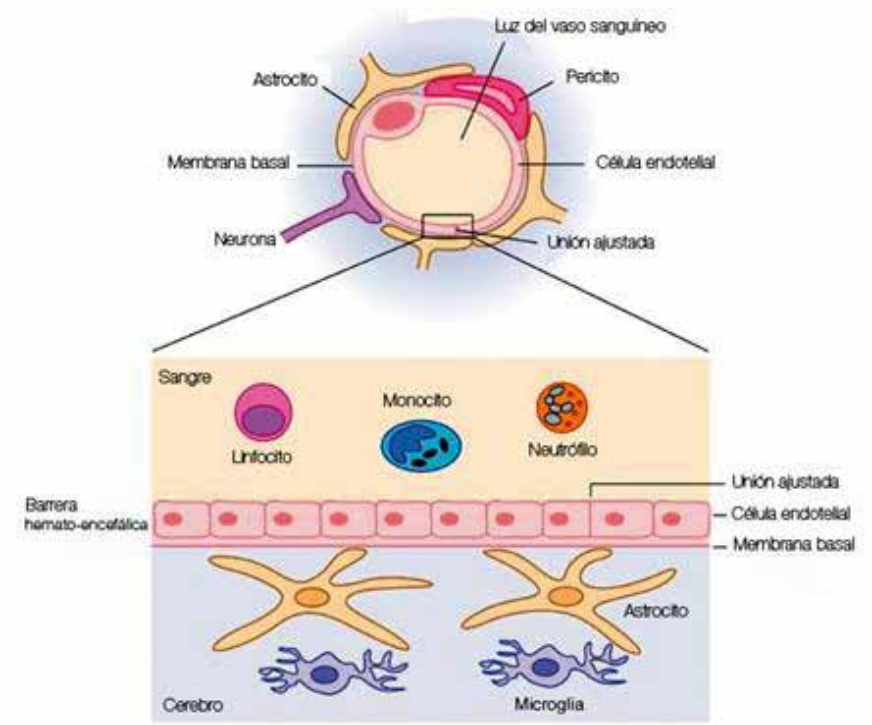
son biomoléculas de síntesis principalmente neuronal que permiten la comunicación interneuronal; para ello son liberados por la neurona presináptica al espacio sináptico donde causan un potencial de acción sobre los receptores de la neurona postsináptica. Dentro de la amplia cantidad de neurotransmisores existentes, algunos de los más relevantes son: el glutamato y el ácido gamma-aminobutírico o GABA. La granada y sus compuestos han demostrado poder modificar las cantidades de neurotransmisores presentes al mostrar efecto antinociceptivo, efecto antidepresivo y ansiolítico (10). El efecto antidepresivo es característico de compuestos estimulantes, mucho de los cuales favorecen la síntesis del neurotransmisor excitatorio glutamato. Sin embargo, el efecto ansiolítico (anti-ansiedad) de un compuesto suele deberse a la mediación de éste en la síntesis del neurotransmisor inhibitorio GABA. Así pues, es interesante que se den ambos efectos (antidepresivo y ansiolítico) y no se vean enmascarados por la compensación o equilibrio en la actividad de estos neurotransmisores antagónicos, lo que podría deberse a que el (o los) compuesto(s) responsable(s) participen modulando la síntesis de neurotransmisores en función del estímulo recibido.

Estas características convierten al zumo de granada en un buen candidato a neuroprotector frente a episodios de crisis epilépticas. Esta condición ha sido recientemente ensayada en ratones, con resultados satisfactorios, aunque no definitivos, tanto para zumos con distintas concentraciones de antocianos y punicalaginas como para extractos enriquecidos en punicalaginas. Estos productos derivados de la granada han sido capaces de atenuar crisis epilépticas severas, evitando la frecuente muerte subsecuente tras crisis tónicas (datos propios en preparación).

El efecto de la granada sobre la regulación de la neurotransmisión también ha sido sugerido en un modelo de caracol donde se afectó la degradación de la acetilcolina (9), un neurotransmisor asociado principalmente al SNP y a la motricidad muscular. En este caso se logró la inhibición del enzima acetilcolin-esterasa por ciertos compuestos de la corteza del granado, los cuales no tendrían que pasar ninguna barrera diferente al epitelio intestinal. Ello nos sugiere que cualquier compuesto del zumo de granada capaz de pasar al torrente sanguíneo podría ser capaz de actuar sobre el SNP y sus funciones.

En resumen, la granada y sus principales polifenoles han demostrado tener capacidad para actuar sobre el estrés oxidativo y la neurotransmisión en sistema nervioso, siendo estos

**Gráfico 1:**
Estructura de la barrera hematoencefálica.




*Fuente: Cambridge University Press*

dos procesos los mayores responsables de las patologías neurológicas. Por lo tanto, el zumo de granada y otros productos derivados se presentan como excelentes neuroprotectores; sin embargo, se requieren estudios más profundos que establezcan las posibilidades reales de la granada frente a diversas enfermedades neuronales, señalen cuales son los compuestos principales de dichas actividades beneficiosas y sus posibles mecanismos de acción.

## 8. Bibliografía


• WHO, World Health Organization, Neurological Disorders: Public Health Challenges. WHO Press: Geneva, Switzerland, 2006; pp 218.

• García-Alonso, M.; De Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C., Evaluation of the antioxidant properties of fruits. Food Chemistry 2004, 84, (1), 13-18.

• Gil, M. I.; García-Viguera, C.; Artés, F.; Tomas-Barberán, F. A., Changes in pomegranate juice pigmentation during ripening. Journal of the Science of Food and Agriculture 1995, 68, (1), 77-81.

• Gil, M. I.; Tomas-Barberán, F. A.; Hess-Pierce, B.; Holcroft, D. M.; Kader, A. A., Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2000, 48, (10), 4581-4589.

• Faria, A.; Monteiro, R.; Mateus, N.; Azevedo, I.; Calhau, C., Effect of pomegranate (Punica granatum) juice intake on hepatic oxidative stress. European Journal of Nutrition 2007, 46, (5), 271-278.

• Koyama, S.; Cobb, L. J.; Mehta, H. H.; Seeram, N. P.; Heber, D.; Pantuck, A. J.; Cohen, P., Pomegranate extract induces apoptosis in human prostate cancer cells by modulation of the IGF-IGFBP axis. Growth Hormone and IGF Research 2010, 20, (1), 55-62.

• Larrosa, M.; Tomás-Barberán, F. A.; Espín, J. C., The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. Journal of Nutritional Biochemistry 2006, 17, (9), 611-625.

• Sartippour, M. R.; Seeram, N. P.; Rao, J. Y.; Moro, A.; Harris, D. M.; Henning, S. M.; Firouzi, A.; Rettig, M. B.; Aronson, W. J.; Pantuck, A. J.; Heber, D., Ellagitannin-rich pomegranate extract inhibits angiogenesis in prostate cancer in vitro and in vivo. International Journal of Oncology 2008, 32, (2), 475-480.

• Tripathi, S. M.; Singh, V. K.; Singh, S.; Singh, D. K., Enzyme inhibition by the molluscicidal agent Punica granatum Linn. bark and Canna indica Linn. root. Phytotherapy Research 2004, 18, (7), 501-506.

• Kumar, S.; Maheshwari, K. K.; Singha, V., Central nervous system activity of acute administration of ethanol extract of Punica granatum L. seeds in mice. Indian Journal of Experimental Biology 2008, 46, (12), 811-816.

• De Pascual-Teresa, S.; Sánchez-Ballesta, M. T., Anthocyanins: From plant to health. Phytochemistry Reviews 2008, 7, (2), 281-299.

• Passamonti, S.; Vrhovsek, U.; Vanzo, A.; Mattivi, F., Fast access of some grape pigments to the brain. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2005, 53, (18), 7029-7034.

• Andrés-Lacueva, C.; Shukitt-Hale, B.; Galli, R. L.; Jauregui, O.; Lamuela-Raventós, R. M.; Joseph, J. A., Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. Nutritional Neuroscience 2005, 8, (2), 111-120.

• Borges, G.; Roowi, S.; Rouanet, J. M.; Duthie, G. G.; Lean, M. E. J.; Crozier, A., The bioavailability of raspberry anthocyanins and ellagitannins in rats. Molecular Nutrition and Food Research 2007, 51, (6), 714-725.

• El Mohsen, M. A.; Marks, J.; Kuhnle, G.; Moore, K.; Debnam, E.; Srai, S. K.; Rice-Evans, C.; Spencer, J. P. E., Absorption, tissue distribution and excretion of pelargonidin and its metabolites following oral administration to rats. British Journal of Nutrition 2006, 95, (1), 51-58.
• Talavéra, S.; Felgines, C.; Texier, O.; Besson, C.; Gil-Izquierdo, A.; Lamaison, J. L.; Rémésy, C., Anthocyanin metabolism in rats and their distribution to digestive area, kidney, and brain. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2005, 53, (10), 3902-3908.
• Espín, J. C.; González-Barrio, R.; Cerdá, B.; López-Bote, C.; Rey, A. I.; Tomás-Barberán, F. A., Iberian pig as a model to clarify obscure points in the bioavailability and metabolism of ellagitannins in humans. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2007, 55, (25), 10476-10485.
• Cerdá, B.; Cerón, J. J.; Tomás-Barberán, F. A.; Espín, J. C., Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003, 51, (11), 3493-3501.
• Carlsen, H.; Myhrstad, M. C. W.; Thoresen, M.; Moskaug, J.; Blomhoff, R., Berry intake increases the activity of the γ-glutamylcysteine synthetase promoter in transgenic reporter mice. Journal of Nutrition 2003, 133, (7), 2137-2140.
• Hassoun, E. A.; Vodhanel, J.; Abushaban, A., The modulatory effects of ellagic acid and vitamin E succinate on TCDD-induced oxidative stress in different brain regions of rats after subchronic exposure. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology 2004, 18, (4), 196-203.
• Wurtman, R. J.; Wurtman, J. J., Nutrition and the brain: Determinants of the availability of nutrients to the brain. 1977.
• Barnham, K. J.; Masters, C. L.; Bush, A. I., Neurodegenerative diseases and oxidatives stress. Nature Reviews Drug Discovery 2004, 3, (3), 205-214.
• Reynolds, A.; Laurie, C.; Lee Mosley, R.; Gendelman, H. E., Oxidative Stress and the Pathogenesis of Neurodegenerative Disorders. In International Review of Neurobiology, Academic Press: 2007; Vol. Volume 82, pp 297-325.
• Tarozzi, A.; Morroni, F.; Hrelia, S.; Angeloni, C.; Marchesi, A.; Cantelli-Forti, G.; Hrelia, P., Neuroprotective effects of anthocyanins and their in vivo metabolites in SH-SY5Y cells. Neuroscience Letters 2007, 424, (1), 36-40.
• Singh, M.; Arseneault, M.; Sanderson, T.; Murthy, V.; Ramassamy, C., Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: Bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2008, 56, (13), 4855-4873.
• Hartman, R. E.; Shah, A.; Fagan, A. M.; Schwetye, K. E.; Parsadanian, M.; Schulman, R. N.; Finn, M. B.; Holtzman, D. M., Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiology of Disease 2006, 24, (3), 506-515.
• Chen, G.; Luo, J., Anthocyanins: Are they beneficial in treating ethanol neurotoxicity? Neurotoxicity Research 17, (1), 91-101.
• Kostyuk, V. A.; Potapovich, A. I.; Strigunova, E. N.; Kostyuk, T. V.; Afanas'ev, I. B.,

Experimental evidence that flavonoid metal complexes may act as mimics of superoxide dismutase. Archives of Biochemistry and Biophysics 2004, 428, (2), 204-208.
• Doraiswamy, P. M.; Finefrock, A. E., Metals in our minds: Therapeutic implications for neurodegenerative disorders. Lancet Neurology 2004, 3, (7), 431-434.
• Loren, D. J.; Seeram, N. P.; Schulman, R. N.; Holtzman, D. M., Maternal dietary supplementation with pomegranate juice is neuroprotective in an animal model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. Pediatric Research 2005, 57, (6), 858-864.
• West, T.; Atzeva, M.; Holtzman, D. M., Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. Developmental Neuroscience 2007, 29, (4-5), 363-372.

## 9. Sobre los autores

**Pedro Miguel Mena Parreño**

Ingeniero Agrónomo, Becario Predoctoral FPU del Ministerio de Educación en el Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CEBAS-CSIC.

**Prof. Cristina García Viguera**

Licenciada en Farmacia, Dra. en CC. Químicas, Responsable del Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CEBAS-CSIC.

# Índice

**1.** Resumen ..... 227
**2.** Abstract ..... 228
**3.** Introducción ..... 228
**4.** Materiales y métodos ..... 229
**5.** Resultados ..... 231
**6.** Conclusiones ..... 232
**7.** Bibliografía ..... 233
**8.** Sobre los autores ..... 237

# Propiedades antiinflamatorias de la granada en un modelo de colitis ulcerosa

**Mar Larrosa, Antonio González-Sarrías, María J. Yáñez-Gascón, María V. Selma, María Azorín-Ortuño, Mayte García-Conesa, Francisco Tomás-Barberán y Juan Carlos Espín**

Grupo de Calidad, Seguridad y Bioactividad de Alimentos Vegetales. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. CEBAS-CSIC. Murcia-España.

## 1. Resumen

Hoy en día se desconoce si los efectos beneficiosos de la granada se deben a los elagitaninos que se encuentran en su composición o a los metabolitos generados por la microbiota del colon (urolitinas) tras el consumo de estos elagitaninos. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el efecto del consumo de la granada y su principal metabolito derivado de la microbiota urolitina-A (URO-A) en la inflamación del colon y tratar de dilucidar si URO-A es el principal compuesto anti-inflamatorio. Para llevar a cabo este objetivo, se utilizaron técnicas histológicas, microbiológicas y moleculares. Ratas Fisher fueron alimentadas con 250 mg/kg/día de extracto de granada (GR) o 15 mg/kg/día de URO-A durante 25 días. Durante los cinco últimos días se administró sulfato de dextrán sódico (DSS) (5%) en el agua de bebida con el fin de provocar la inflamación intestinal. Tanto el GR como URO-A modificaron genes relacionados con la inflamación y con la supresión de tumores (p53 y Rb1) y modularon favorablemente la microbiota intestinal. Sólo URO-A ayudó a conservar la estructura del colon. La inflamación impidió la formación normal de urolitinas en el colon en ratas alimentadas con GR. Nuestros resultados sugieren que la URO-A podría ser el compuesto activo mayoritario derivado de la ingestión de granada con efectos anti-inflamatorios en sujetos sanos, mientras que en el colon que presenta inflamación, los efectos podrían deberse a la fracción no metabolizada de los elagitaninos.

**Palabras clave:** inflamación intestinal, microbiota del colon, microarray, sulfato de dextrán sódico, polifenol.

## 2. Abstract

Whether the beneficial effects of pomegranate are due to the ellagitannins or to their microbiota-derived urolithins is not known. Our objectives were to evaluate the effects of pomegranate intake and its main microbiota-derived metabolite urolithin-A (URO-A) on colon inflammation to assess whether UROA is the main anti-inflammatory compound. To accomplish this goal several histological, microbiological and molecular techniques were approached. In addition, the effect of the inflammation on the phenolic metabolism was also explored. Fisher rats were fed with 250 mg/kg/day pomegranate extract (PE) or 15 mg/kg/day URO-A for 25 days. Dextran sodium sulphate (DSS) (5%) was administered for the five last days and then rats were euthanized. Both PE and URO-A modulated genes related to inflammation and tumor suppressor genes (p53, Rb1) and influenced favourably the gut microbiota. Only URO-A preserved colonic architecture. The normal formation of urolithins in PE-fed rats was prevented during inflammation. Our results suggest that UROA could be the most active anti-inflammatory compound derived from pomegranate ingestion in healthy subjects, whereas in colon inflammation, the effects could be due to the non metabolized ellagitannin-related fraction.

**Keywords:** Dextran sulfate sodium; Gut microbiota; microarray; Bowel disease; Polyphenol

## 3. Introducción

En los últimos años se ha producido un aumento de la incidencia de los episodios de inflamación aguda provocada por la infección de virus o bacterias, el estrés, o alergias así como un aumento de enfermedades intestinales (EII) que cursan con inflamación crónica como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn [1]. La relación entre inflamación crónica y cáncer no se conoce bien todavía pero es un hecho notable que en la inflamación crónica se produce un aumento de la expresión de ciertos genes que también se encuentra elevada en el cáncer de colon. Además el estrés oxidativo que acompaña a la inflamación crónica también contribuye a desencadenar la displasia [2]. La etiología de las EII es todavía desconocida, pero se han planteado dos hipótesis respecto a la naturaleza fundamental de la patogénesis. La primera sostiene que se produce una desregulación del sistema inmunitario de la mucosa que provoca una respuesta inmunológica excesiva frente a la microbiota normal. La segunda sugiere que la inflamación provoca cambios en la composición de la microbiota intestinal y la ruptura de la resistencia a la colonización produciéndose el crecimiento de patógenos [3].

Desde la antigüedad, la granada ha sido considerada como un alimento curativo frente a varias enfermedades como diarreas, úlceras, aftas y también como anti-helmíntico y vermífugo. Los estudios llevados a cabo hoy en día indican que algunas de las propiedades de la granada no eran infundadas. La granada parece prevenir el estrés oxidativo y ciertas enfermedades inflamatorias como la artritis [4,5]. Sin embargo, estos estudios no tienen en cuenta que cuando la granada se ingiere solo una fracción es absorbida y que la microbiota del colon transforma la fracción no absorbida en otros compuestos. En nuestro grupo de investigación hemos demostrado por primera vez que los elagitaninos de la granada y otras fuentes

son transformados por la microbiota en las llamadas urolitinas, que después son absorbidas alcanzando diversos órganos [6,7]. Sin embargo, la actividad biológica de estas urolitinas ha sido muy poco estudiada, y no se sabe realmente si son estos metabolitos o no los responsables de las propiedades atribuidas a la granada. El objetivo de esta investigación fue determinar si dietas enriquecidas con extracto de granada (GR) o urolitina A (URO-A), el principal metabolito derivado del consumo de elagitaninos, tenían efecto en un modelo de inflamación intestinal. Además se estudió si la inflamación intestinal influenciaba el metabolismo de los elagitaninos.

## 4. Material y métodos

### 4.1 Estudios con animales

Los experimentos siguieron un protocolo aprobado por el comité local de ética y el gobierno local. Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las recomendaciones de la Unión Europea con respecto a la experimentación animal (Directiva 86/609/CE del Consejo Europeo). Ratas macho Fischer (n=32) fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos (n = 8). Todas las ratas fueron alimentadas durante 25 días con dieta estándar (Panlab, Barcelona, España). Los cuatro grupos se distribuyeron de la siguiente manera: grupo control alimentado con dieta estándar de pienso, grupo DSS que recibió la dieta estándar durante 25 días más 5% DSS (Sulfato de dextrán sal sódica, peso molecular medio 36,000-50,000, Biomedicals MP, Illkirch, Francia) durante los últimos 5 días del experimento; los grupos DSS-GR y de DSS-URO-A recibieron la dieta estándar suplementada con 250 mg/kg/día de extracto de granada ("Nutragranate", Nutracitrus SL, Elche, España) y 15 mg/kg/día de URO-A (Kylolab SL, Murcia, España), respectivamente, durante 25 días más un 5% de DSS durante los últimos 5 días del ensayo. La dosis de GR ensayadas fueron equivalente a 36 mg/kg/día en humanos (2,5 g de GR para una persona de 70 kg) y la dosis URO-A a 2,2 mg/kg/día (154 mg de URO-A para una persona de 70 kg) [8]. La colitis aguda se indujo mediante la administración de DSS (5%) a los grupos DSS, DSS-GR y DSS-URO-A durante los últimos 5 días. Diariamente se controló la ingesta de agua y comida así como el peso de los animales. Después del quinto día de la inducción de la colitis, las ratas fueron anestesiadas con una mezcla (1:1 v/v, 1 mL/kg de peso corporal) de xilazina (Xilagesic 2%, Laboratorios Calier, Barcelona, España) y ketamina (Imalgene 1000, laboratorios Merial, Barcelona, España) y se sacrificaron por decapitación. Dos grupos de más de ratas macho Fischer (n = 4 por grupo) se utilizaron para comprobar el metabolismo de GR y URO-A en ratas sanas.

### 4.2 Procedimiento de muestreo

El colon de cada rata fue escindido y lavado con PBS, y la porción distal de la mucosa se raspó con un portaobjetos de vidrio. Las muestras fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80 ° C hasta su análisis. Las muestras de tejido fueron extirpadas y fijadas en formalina neutra tamponada.

### 4.3 Análisis histológico

Las muestras de tejido del colon distal fueron fijadas en formalina neutra tamponada al 10%, fueron sometidas a una deshidratación en serie con etanol e incluidas en parafina. Para la evaluación histológica los cortes de tejido de 5 micras de grosor se tiñeron con hematoxilina-eosina y se observaron bajo un microscopio Leica DMRB luz (Leica Ultracut, Wetzlar, Alemania). El grado de daño ocasionado en la mucosa por colitis se puntuó de acuerdo con Araki y colaboradores [9]. Las muestras fueron clasificadas 0-4 para la pérdida de superficie epitelial, la destrucción de las criptas e infiltración de células inflamatorias en la mucosa (puntuación máxima = 12).

### 4.4 Análisis de la microbiota fecal

Las muestras fecales fueron recolectadas los días 0, 10, 20 y 25 y se homogeneizaron en agua de peptona tamponada (100 mg/mL) (AES Laboratoire, Combourg, Francia) (dilución 1:10) en bolsas con filtro Stomacher (Seward Limited, Londres, Reino Unido) durante 90 s. Las diluciones se sembraron en distintos medios de agar específicos. Lactobacilos y bifidobacterias se determinaron en Man Rogosa Sharpe agar (MRS) y MRS agar suplementado con 0,5 mg/L de dicloxacilina, 3 g/L de LiCl y 0,5 g/L de clorhidrato de L-cisteína, respectivamente. Los recuentos de Enterobacterias y *Escherichia coli* fueron obtenidos mediante la inoculación en agar bilis y rojo violeta con glucosa y los coliformes en Chromocult, respectivamente. Los clostridios se determinaron en medio para clostridios suplementado con 20 mg/mL de polimixina de sulfadiacina. Las placas de cultivo se incubaron a 37ºC durante 24-48 horas en una cámara anaeróbica (Don Whitley Scientific Limited, Shipley, Reino Unido) ($CO_2$: $H_2$: $N_2$, 5:15:80). Del mismo modo, el total de bacterias aerobias se determinó por el método de recuento en placa estándar en brain heart infusion agar después de la incubación en condiciones aeróbicas a 37°C durante 48 h. Los recuentos microbianos se expresaron como log CFU /g.

### 4.5 Microarrays y análisis funcional

Para el análisis del ARN, el tejido del colon distal se homogeneizó y el ARN total se aisló utilizando el kit de RNeasy Midi (Qiagen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La cantidad de ARN y la pureza se evaluaron a 260 y 280 nm utilizando un Nanodrop (ND-1000, Labtech Internacional). Para crear los grupos control y DSS se combinaron cantidades iguales de ARN extraído de cada muestra individual de colon (n = 8). Cinco microgramos de cada grupo fueron amplificados y marcados. La expresión de los genes se analizó mediante hibridación con microarrays (Rata oligo kit de Microarray, Agilent, Waldbronn, Alemania). La expresión diferencial de genes se evaluó para comparar la expresión de los grupos DSS-GR y DSS-URO-A con el grupo DSS utilizando coeficientes normalizados de registro no redundante. Los datos fueron sometidos a análisis de conglomerados funcionales utilizando las herramientas de visualización GenMAPP (Gene Mapp Anotator Pathway Profiler) versión 2.1 y MAPPFinder.

### 4.6 Identificación y cuantificación de los elagitaninos de granada y sus metabolitos derivados

La identificación de ácido elágico y punicalagina se llevó a cabo mediante la comparación cromatográfica (UV y MS) con patrones puros de ambos compuestos. Los elagitaninos (con espectros similar a la punicalagina) se cuantificaron como punicalagina a 360 nm y los derivados de ácido elágico se cuantificaron como ácido elágico libre a 360 nm. Los metabolitos (urolitinas) se identificaron de acuerdo a sus espectros UV y MS así como por la fragmentación en MS/MS y se cuantificaron a 305 nm como se ha descrito previamente [6,7].

### 4.7 Estadística

Todos los análisis estadísticos, salvo el análisis de microarrays, se llevaron a cabo utilizando el software SPSS 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para comprobar el supuesto de normalidad. Todos los datos se expresan como media ± S.D. de medidas independientes. La significancia estadística se determinó mediante el test t de Student tomando como significativos todos los valores con $P<0.05$. En el caso de los estudios histológicos se utilizó la prueba no paramétrica de los signos de Wilcoxon.

## 5. Resultados

### 5.1 Análisis histológico

En el grupo DSS (Fig. 1B) se observaron los cambios típicos que sufre la estructura del colon durante el proceso inflamatorio como la pérdida de criptas y epitelio así como la infiltración de células inflamatorias (células mononucleares, neutrófilos y eosinófilos). El grupo DSS-URO-A mostró una atenuación en la severidad de la lesión del colon, una mayor integridad de la estructura de la mucosa y menor pérdida del epitelio (Fig. 1C). A pesar de que la pérdida de epitelio y la infiltración de células inflamatorias fue menor en el grupo DSS-GR en comparación con el grupo DSS, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig. 1D).

### 5.2 Análisis de la microbiota

Los grupos DSS-GR y DSS-URO-A mostraron un aumento de la población de bifidobacterias, lactobacilos y clostridios en las heces después de 10 días de comenzar la suplementación de la dieta estándar y estas diferencias se mantuvieron en el transcurso de los 20 días de consumo. Tras la administración de DSS el incremento observado en bifidobacterias y lactobacilos en las ratas alimentadas con granada fue significativamente reducido mientras que el nivel de estos grupos de bacterias en las heces de ratas alimentadas con URO-A se mantuvo (Fig. 2A, B). La administración de DSS produjo una disminución de los niveles de clostridios en las heces del grupo alimentado con granada mientras que el grupo alimentado con URO-A se mantuvo. La administración de DSS, produjo la inducción de un crecimiento significativo de E. coli, enterobacterias, y el total de bacterias aerobias (Fig. 3). Por el contrario, el aumento de E. coli, enterobacterias y el total de bacterias aerobias fue significativamente menor en los grupos alimentados con GR y URO-A (Fig. 3).

### 5.3 Cambios en la expresión génica

El perfil de expresión génica de la mucosa colónica de ratas tratadas con DSS se comparó con los perfiles de los grupos DSS-GR y DSS-URO-A. Del total de 27.056 genes estudiados, el grupo DSS-GR mostró una expresión diferencial en el 7,6% (2.058 genes), la mayoría de ellos presentaban un aumento de la expresión (84%). En el caso de DSS-UROA el 25,8% (6.996 genes) mostraron expresión diferencial siendo regulados positivamente hasta el 57% de los genes. El 32% de los genes (667 genes), modificados por la suplementación con GR también fueron modificados por URO-A. La suplementación con GR y URO-A aumentó, entre otros, los genes supresores de tumores retinoblastoma 1 (Rb1) y p53. En el caso del grupo DSS-URO, se produjo una disminución de la expresión CD40 y de las interleuquinas pro-inflamatorias IL-1ß e IL-4. El análisis funcional de la expresión génica mostró una regulación del paso de la fase G1 a fase S del ciclo celular con ambos tratamientos. En el grupo DSS-UROA también se observó una sobreexpresión del ciclo celular KEGG y una disminución de las rutas implicadas en la respuesta inflamatoria y la contracción del músculo estriado.

### 5.4 Perfil polifenólico de la granada y de metabolitos derivados en heces de ratas con inflamación y sanas.

En las heces de ratas sanas alimentadas con granada se observó la presencia de metabolitos derivados del ácido elágico urolitinas, A, B y C pero no se encontró ni ácido elágico libre ni elagitaninos (Fig.3). Las heces de ratas que presentaban inflamación en el colon y que habían sido alimentadas con granada mostraban un perfil totalmente distinto en el que aparecían ácido elágico, punicalagina y en cantidades muy inferiores a las observadas en ratas sanas, urolitinas A, B y C. En las ratas tratadas con urolitinas el perfil polifenólico era muy similar al de ratas sanas (Fig. 3).

## 6. Conclusiones

En el presente estudio, podemos concluir que los efectos observados en ratas que habían sido alimentadas con extracto de granada no se debían principalmente a la presencia de URO-A en el colon, mientras que el efecto observado en las ratas alimentadas con URO-A puede atribuirse claramente a este metabolito. En general, la suplementación de la dieta con URO-A fue más eficaz disminuyendo la inflamación que la suplementación con extracto de granada, aunque esta también tuvo cierto efecto, que podría ser debido a la presencia de ácido elágico o la fracción de elagitaninos que puede alcanzar el colon, junto con la pequeña cantidad de URO-A producido por la microbiota o bien por la URO-A formada previamente a la inducción de la inflamación y que podría haber tenido carácter preventivo. Aunque la participación de otros compuestos fenólicos en la acción anti-inflamatoria de la granada no se puede descartar. Con base en estos resultados, podemos plantear diversas hipótesis:

1) URO-A es el principal compuesto activo anti-inflamatorio relacionado con el consumo de granada por sujetos sanos (con metabolismo normal), sin embargo, en el caso de colon inflamado como en la EII, los elagitaninos y el ácido elágico, junto con alguna cantidad menor de URO-A podrían actuar como anti-inflamatorios.

2) URO-A, formada en el colon de ratas sanas durante la administración de granada antes del tratamiento con DSS es el único compuesto anti-inflamatorio que proporciona protección frente a la colitis inducida.

3) El aumento de lactobacilos, bifidobacterias y clostridios observado antes del tratamiento con DSS producido por la suplementación con extracto de granada o URO-A podría tener un efecto importante en los efectos observados.

4) Una combinación de todo lo anterior.

Es necesario profundizar más en estos estudios para dilucidar cuál es la explicación más probable. Sin embargo, independientemente del compuesto principal responsable de la acción, nuestros resultados indican que el extracto de granada podría prevenir la inflamación del colon antes y durante el proceso de la enfermedad.

Estos datos proceden de la publicación: Larrosa M, González-Sarrías A, Yáñez-Gascón MJ, Selma MV, Azorín-Ortuño M, Toti S, Tomás-Barberán F, Dolara P, Espín JC. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. J Nutr Biochem. 2010 Aug; 21(8):717-25

## 7. Bibliografía


• Rubio CA, Befrits R. Colorectal cancer in Crohn's disease: review of a 56-year experience in Karolinska Institute University Hospital. J Environ Pathol Toxicol Oncol 2008; 27:257–66.

• Itzkowitz SH, Yio X. Inflammation and cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2004; 287:G7–G17.

• Stecher B, Hardt WD. The role of microbiota in infectious disease. Trends Microbiol 2008; 16:107–14.

• Faria A, Monteiro R, Mateus N, Azevedo I, Calhau C. Effect of pomegranate (Punica granatum) juice intake on hepatic oxidative stress. Eur J Nutr 2007; 46:271–8.

• Shukla M, Gupta K, Rasheed Z, Khan KA, Haqqi TM. Consumption of hydrolysable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. Nutrition 2008; 24:733–43.

• Cerdá B, Espín JC, Parra S, Martínez P, Tomás-Barberán FA. The potent in vitro antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans. Eur J Nutr 2004; 43:205–20.

• Cerdá B, Periago P, Espín JC, Tomás-Barberán FA. Identification of urolithin as a metabolite produced by human colon microflora from ellagic acid and related compounds. J Agric Food Chem 2005; 53:5571–6.

• Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. FASEB J 2008; 22:659–61.

• Araki Y, Andoh A, Fujiyama Y, Bamba T. Development of dextran sulfate sodium induced experimental colitis is suppressed in genetically mast cell-deficient Ws/Ws rats. Clin Exp Immunol 2000; 119:264–9.

**Gráfico 1:**

Cortes histológicos de colon distal teñidos con hematoxilina-eosina. A) grupo control en el que se muestra un corte histológico normal de colon B) grupo DSS en el que se observa el daño en la mucosa ocasionado por la colitis. C) Grupo DSS-URO-A. D) Grupo DSS-GR. (a) criptas, (b) epitelio, (c) infiltrado celular.

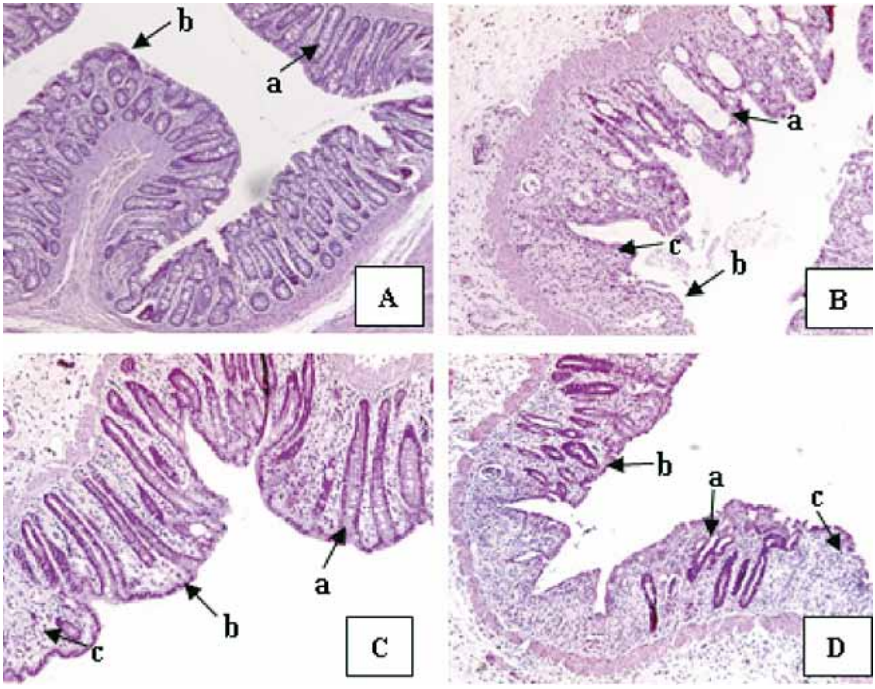


**Gráfico 2:**

Recuentos de (A) *Bifidobacterium*, (B) *Lactobacillus* y (C) *Clostridium spp* en heces de rata tras el consumo de 250 mg/kg/día de GR y 15mg/kg/día de URO-A, antes y después del tratamiento con DSS. Las flechas indican el comienzo del tratamiento con DSS.

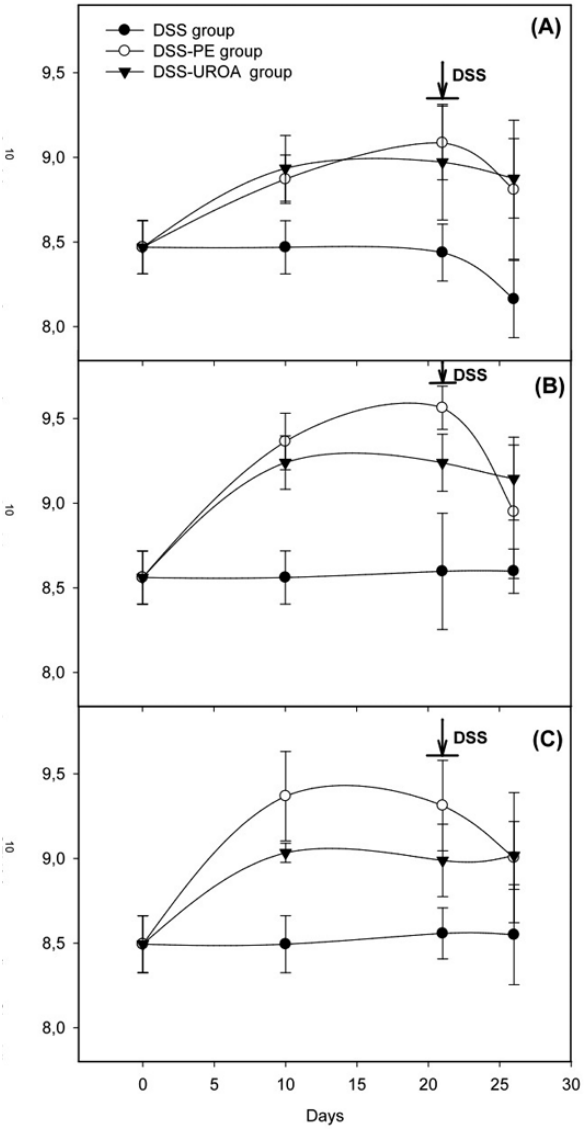
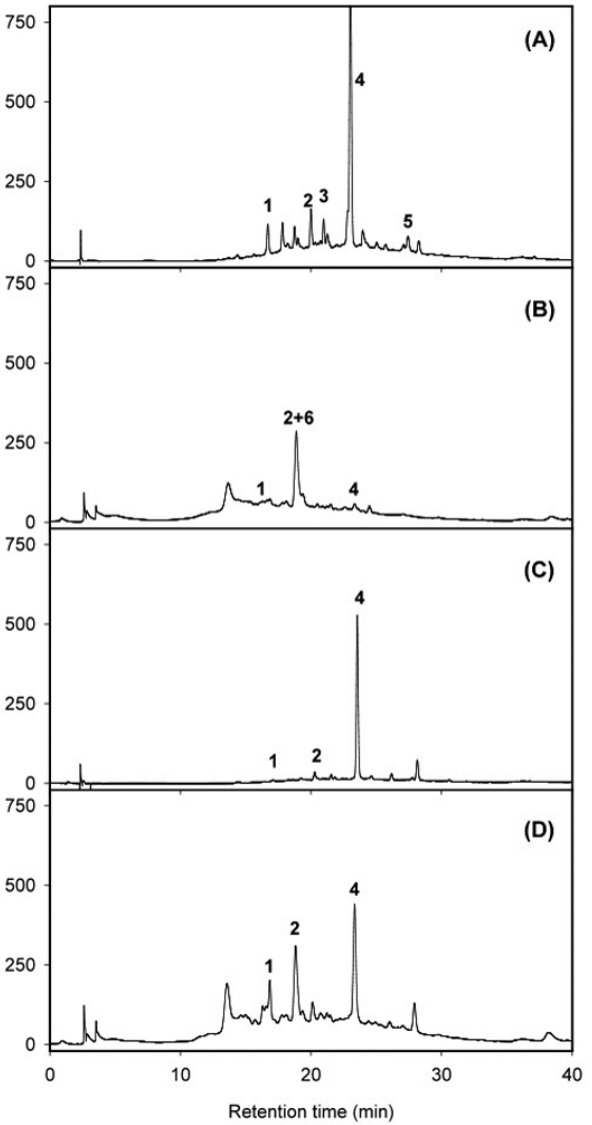


**Gráfico 3:**

Cromatogramas de extractos de heces de rata. Los cromatogramas A y B pertenecen a ratas alimentadas con GR (A) sanas y (B) tratadas con DSS. Los cromatogramas C y D pertenecen a ratas alimentadas con urolitinas, (C) sanas y (D) tratadas con DSS.



## 8. Sobre los autores

### Juan Carlos Espín de Gea

Es doctor en Ciencias Biológicas con Premio Extraordinario por la Universidad de Murcia. Es Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas adscrito al CEBAS-CSIC de Murcia. Es miembro de la Comisión Nacional de Alimentos del CSIC. Ha liderado Proyectos de investigación sobre el metabolismo de polifenoles y su efecto en enfermedad cardiovascular, inflamación, cáncer y estrés oxidativo. Ha publicado 90 artículos de investigación en revistas científicas de alto impacto, varios capítulos de libro y artículos de divulgación. Ha dirigido 6 Tesis Doctorales y 3 más en curso. Ha liderado Proyectos Tecnológicos y Contratos de Transferencia a la Industria dando lugar a nuevos productos y patentes en explotación. Actualmente es el investigador número 38 más citado de los 2.600 mejores investigadores del mundo en su ámbito científico y el 2º más citado de los investigadores españoles en su campo. Sus investigaciones sobre las propiedades biológicas de constituyentes de la granada y la uva son un referente científico internacional.

### Dra. Mar Larrosa

Realizó su Tesis Doctoral titulada "Bioactividad y Metabolismo de Polifenoles de la Dieta y sus Metabolitos en Líneas Celulares Humanas: Efectos Anticancerígenos y Estrogénicos" en el CEBAS-CSIC de Murcia obteniendo la máxima calificación Cum Laude por unanimidad con mención "Doctor Europeo" y el Premio Extraordinario de Doctorado por la Facultad de Medicina. En 2006 realizó una estancia postdoctoral de dos años en la Universidad de Florencia (Italia) donde se especializó en modelos de inflamación. En la actualidad se encuentra contratada en el CEBAS-CSIC donde continua trabajando en la línea de investigación de polifenoles de la dieta y su relación con la inflamación intestinal y enfermedades cardiovasculares. Es autora de 17 artículos en revistas de alto índice de impacto y se encuentra dirigiendo 4 Tesis Doctorales.

# Índice

**1.** Resumen ..... 239
**2.** Abstract ..... 239
**3.** Introducción ..... 240
**4.** Constituyentes fitoquímicos de la granada ..... 240
**5.** Efectos antitumorales de la granada ..... 240
**6.** Aplicaciones clínicas del zumo de granada ..... 243
**7.** Ensayos clínicos en curso utilizando zumo de granada ..... 245
**8.** Conclusiones ..... 246
**9.** Bibliografía ..... 246

# Utilidad del zumo de granada en oncologia, urologia y andrologia

**Gilberto E. Chéchile Toniolo**
g.chechile@urovirtual.net
Instituto de Enfermedades Prostáticas. Instituto Universitario Dexeus.
Instituto Médico Tecnológico. Clínica Nostra Senyora del Remei.

## 1. Resumen

Aunque las propiedades terapéuticas de la granada se conocen desde hace miles de años, hace solamente 10 años que se han comenzado a realizar estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* analizando la su utilidad en el tratamiento de células cancerosas. El alto contenido en polifenoles que se obtienen de todos los componentes de la fruta e incluso de todas las partes del árbol de granada se relaciona con sus propiedades antitumorales. En diferentes estudios realizados con células de varios cánceres con el de próstata, mama, colon o piel se han demostrado efectos antiproliferativos, pro-apoptóticas, anti-angiogénesis, anti-invasión e inhibición del factor nuclear κB. En la actualidad se estan realizando varios estudios clínicos multicéntricos sobre todo en pacientes con cáncer de próstata para determinar los efectos de la granada en el tratamiento de pacientes con este tumor.

## 2. Abstract

Despite the therapeutics properties of pomegranate are known since thousand of years experimental studies analizing its effects in the treatment of malignant cells have started only 10 years ago. Antitumoral properties of the fruit and even from all the parts of the tree are related with a high content of poliphenols. Different studies with cells from prostate, breast, colon and skin cancer have shown anti-proliferatives, pro-apoptotic, anti-angiogenesis, anti-invasion and inhibition of nuclear factor κB effects. Nowadays are in course several multicenter clinical studies specially in patients with prostate cancer to demonstrate the effects of pomegranate in this tumor.

## 3. Introducción

La granada es el fruto del árbol *Punica granatum* originario de los montes Himalayas en el norte de la India hasta Irán. Su cultivo se extendió desde la antigüedad a los países Mediterráneos, India, China, Japón, Rusia, zonas de Estados Unidos y Afganistán. Las propiedades medicinales de la granada se conocen desde hace miles de años ya que se menciona en el Antiguo Testamento de la Biblia, en la Torah Judía y en el Talmud Babilonio. Se utilizaba en las ceremonias y en la mitología de los Egipcios, Griegos y Romanos. En la medicina Ayurvédica se considera la granada como una farmacia en si misma siendo utilizada como agente antiparasitario, antidiarreico, antidiabético y para la curación de úlceras. En América del Sur se mastica la corteza, la cáscara y los pétalos de la granada para tratar la disentería y las enfermedades de la boca y las encías[1].

## 4. Constituyentes fitoquímicos de la granada

Los fitoquímicos son metabolitos secundarios de las plantas que poseen efectos beneficiosos para la salud aunque no sean considerados nutrientes esenciales. En general, los fitoquímicos son producidos por las plantas como mecanismo de protección contra agentes peligrosos externos como la radiación ultravioleta, patógenos, etc[2]. El consumo de dietas ricas en fitoquímicos ha sido asociada con una disminución en el riesgo a desarrollar enfermedades inflamatorias, cardiovasculares, neurodegenerativas o ciertos tipos de tumores. Aunque la mayor fuente de los fitoquímicos de la granada se encuentran en la fruta también se encuentran fitoquímicos en las diferentes partes del árbol, hojas, semillas, etc. Se han aislado más de 100 compuestos fitoquímicos en la granada. Los más frecuentemente detectados son los polifenoles que incluyen: a- *flavonoides* como las antocianinas y antocianidinas (cianidina, delfinidina, pelargonidina); b- *flavonoles* como luteolin, quercetin y kaempferol; c- *taninos hidrolizables* como los elagitaninos, punicalaginos y galotaninos. Los taninos hidrolizables son los responsables del 92% de la actividad antioxidante del zumo de granada y los punicalaginos son los responsables de la mitad de esa capacidad antioxidante[3]. La granada presenta también catequinas como las que se encuentran en el té verde y esteroides como estradiol, estriol, estrona, testosterona y ácido ursólico. El aceite obtenido con las semillas de la granada contiene ácidos grasos siendo el más frecuente el ácido punícico (>60%). Existen grandes variaciones estructurales entre los polifenoles extraídos de la fruta, zumos u otras partes de la granada o del árbol.

## 5. Efectos antitumorales de la granada

### 5.1 Efectos antiproliferativos y pro-apoptosis

**a- Cáncer de próstata**. Varios estudios han mostrado que diferentes partes de la granada (fruta, pieles, cáscara, semillas, etc.) al natural o fermentadas ejercen efectos antiproliferativos. Albrecht et al[4] mostraron que varios extractos obtenidos de la granada inhibían *in Vitro* la proliferación de varias líneas celulares de cáncer de próstata tanto hormono sensible (LNCaP) como hormono resistentes (PC-3 y DU 145). Por el contrario, no se afectan las células prostáticas normales. Malik et al[5] evaluaron el efecto antiproliferativo y proapoptosis

del extracto de granada en células muy agresivas de cáncer de próstata hormono-resistentes (PC-3) y observaron inhibición dosis dependiente del crecimiento celular e inducción de apoptosis. Este efecto se conseguía por descenso en la expresión de la proteína del gen anti-apoptosis Bcl-2 y aumento de la expresión de la proteína del gen pro-apoptosis Bax. En un experimento *in vivo* en el que implantaban en ratones atímicos, células de cáncer de próstata sensibles a hormonas, observaron que en los animales a los cuales se les administraba extracto de granada como único líquido para beber se retrasaba el crecimiento de los tumores comparados con los animales que solo bebían agua. Además los animales que recibían extracto de granada, mostraban una reducción significativa (hasta 85%) en la producción de PSA[5]. Seeram et al[6] observaron similares resultados del zumo de granada en cuanto a la inhibición del crecimiento *in vitro* e *in vivo* de células de cáncer de próstata. También observaron que las urolitinas (metabolitos del ácido elágico) se localizaban en la próstata y que inhibían el crecimiento tanto de las células hormono-sensibles como de las hormono-resistentes. Recientemente, Koyama et al han demostrado en células de cáncer de próstata que el zumo de granada induce apoptosis a través de inhibición del IGF[7]. Estos resultados sugieren que el consumo de granada puede retardar el crecimiento del cáncer de próstata lo que podría prolongar la vida de los pacientes y mejorar la calidad de la misma.

**b- Cáncer de mama**. Resultados similares han sido demostrados en estudios in Vitro y en modelos animales con células de cáncer de mama. Metha et al[8] observaron que el aceite obtenido de las semillas de la granada poseía propiedades antitumorales en células de cáncer de de mama. Jeune et al[9] estudiaron células de cáncer de mama MCF-7 y encontraron que el extracto obtenido con toda la granada presentaba un efecto citotóxico producido por inducción de la apoptosis y que el efecto era dosis dependiente. El efecto era superior con el extracto que si se utilizaban por separado los distintos constituyentes de la granada. Kim et al[10] demostraron *in vitro* que tanto el aceite obtenido de las semillas de la granada como el jugo natural y el fermentado inhibían la síntesis de estrógenos y la actividad de la aromatasa entre 60 y 80%. El efecto fue máximo en las células estrógeno dependientes MFC-7, algo menor en las células estrógeno independientes MDA-AM-231 y muy baja en las células de epitelio mamario normal MCF-10. Además, en un modelo murino de cáncer de mama, el jugo fermentado de la granada inhibió un 47% la formación de tumores inducidos por el carcinógeno DMBA[10]. Estas observaciones apoyan la aplicación terapéutica de la granada en el cáncer de mama humano.

**c- Cáncer de colon**. El aceite de semillas de granada, compuesto por más de 70% de ácido linolénico conjugado, mostró supresión de la carcinogénesis colónica[11]. Todos los componentes de la granada han mostrado que inducen apoptosis en las células de cáncer de colon (HT-29)[12].

**d- Cáncer de pulmón**. El tratamiento con extracto de granada produce disminución de la viabilidad de células de cáncer de pulmón (A549) mientras que solo afecta de forma mínima a las células de epitelio bronquial normal (NHBE)[13]. En otro estudio, Khan et al[14] mostraron que el extracto de granada reducía de modo significativo el número de tumores que se desarrollaban en ratones expuestos a dos carcinógenos diferentes benzo(a)pireno [B(a)P] y N-nitroso-tris-cloroetilurea (NTCU). A los 84 días de la exposición al carcinógeno B(a)P,

los animales que recibían extracto de granada mostraron una reducción de 54% en el número de tumores, mientras que a los 140 días, la reducción fue del 62%. A los 240 días de exposición al carcinógeno NTCU los animales que recibieron extracto de granada mostraron una reducción en el número de tumores de 66%[13].

**d- cáncer de piel**. Hora et al[15] observaron que el aceite de semillas de granada reducía la incidencia y el número de tumores de piel en un modelo de carcinogénesis en ratones.

### 5.2 Efectos sobre el factor nuclear kB (NF-kB)

El NF-κB forma parte de una familia de factores de transcripción que es activado como respuesta a varios estímulos: citoquinas, carcinógenos, quimioterápicos, endotoxinas, estrés químico o físico, radiación, hipoxia e inflamación. El NF-κB se encuentra activado en varios tumores y se ha demostrado que regula la expresión de más de 200 genes con diferentes funciones que participan en la regulación del sistema inmune, carcinogénesis, proliferación y adhesión celular, antiapoptosis, angiogénesis, invasión y metástasis[12]. La actividad del NF-κB es regulada por una proteína inhibidora que se une a él y lo retiene en el citoplasma. Cuando se activa la vía del NF-κB se degrada por fosforilación la proteína inhibidora liberando el NF-κB que pasa al núcleo donde actúa como factor de transcripción[16]. Shishodia et al han mostrado que tanto el zumo de granada como los taninos de la granada y el punicalagino suprimen la activación del NF-κB en células de cáncer de colon[12]. Khan et al han mostrado en diferentes estudios que el extracto de granada inhibe la activación del NF-κB en células de cáncer de pulmón y mama y en un modelo in vivo con ratones atímicos implantados con células de cáncer de pulmón[13,14,17].

El cáncer de próstata es uno de los tumores en los que se ha demostrado la activación del NF-κB donde representa un factor de riesgo independiente de recidiva tumoral tras la prostatectomía radical[18,19]. Rettig et al han demostrado que tanto el zumo como el extracto de granada inhiben el NF-κB y la viabilidad celular en células de cáncer de próstata *in vitro.* En un modelo *in vivo,* observaron que la granada retrasa la aparición de hormono independencia del cáncer de próstata[20]. La inhibición del NF-κB es un mecanismo requerido para obtener el máximo efecto proapoptótico del zumo de granada.

### 5.3 Efectos sobre la angiogénesis

La hipoxia es el mecanismo más importante para la progresión de más del 70% de los tumores a través de la activación de la angiogénesis que es esencial para que un tumor crezca más de 200 micras[21]. Sin embargo, a diferencia de lo que sucede con la vascularización del tejido normal, los microvasos tumorales formados a través de la angiogénesis están muy desorganizados por lo que se produce más hipoxia con la subsecuente activación de factores de transcripción asociados con la hipoxia celular como por ejemplo el factor inducible por hipoxia 1-α y 1-β (HIF-1α y HIF-1β) que a su vez activan la expresión de diferentes genes relacionados con la angiogénesis que conducen a mayor progresión y agresividad[22]. La angiogénesis inducida por el tumor es regulada por factores producidos por los macrófagos, neutrófilos y por las propias células tumorales como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). En el cáncer de próstata por ejemplo, se ha demostrado que los andróge-

nos, que juegan un factor muy importante en la etiología y progresión del tumor, activan la expresión de HIF-1α y VEGF[23]. Toi et al analizaron el potencial antiangiogénico del aceite obtenido de las semillas o el zumo fermentado de granada en células de cáncer de mama estrógeno sensible (MFC-7) o estrógeno resistente (MDA-MB-231) observando una disminución significativa del mismo[24]. Sartippour et al estudiaron *in vitro* el efecto del extracto obtenido de la piel de la granada estandarizado a 37% de elagitaninos y 3,5% de ácido elágico libre sobre células de cáncer de próstata hormono-sensible (LNCaP) y células endoteliales de vena umbilical humana[25]. El extracto de granada inhibió la proliferación de las células endoteliales tanto en condiciones normóxicas como hipóxicas e inhibió la proliferación de las células LNCaP en condiciones hipóxicas. También se observó que en condiciones de hipoxia se reducía la concentración de la proteína HIF-1α y de VEGF en ambos grupos celulares. En un experimento *in vivo* se implantaron células de cáncer de próstata humano (LAPC4) en ratones con inmunodeficiencia severa combinada (SCID) y recibieron por boca 5 días a la semana durante 4 semanas extracto de granada o un líquido que actúo como control. La dosis de extracto de granada que recibían los animales correspondía al consumo humano de 320 ml. de zumo de granada. Se observó que a las 4 semanas el volumen tumoral fue significativamente inferior (199±37 $mm^3$ comparado con 1179±106 $mm^3$) en los animales que recibieron el extracto de granada. Además, la concentración del VEGF fue significativamente superior en los animales que recibieron el líquido control mientras que la tinción de HIF-1α y la densidad de vasos sanguíneos estaban significativamente disminuidas en los animales que recibieron el extracto de granada[25]. Khan et al observaron que la densidad de microvasos se reducía 78% en ratones con cáncer de pulmón primario que recibían extracto de granada, al igual que la expresión de VEGF que también se encontraba reducida[14].

### 5.4 Efecto sobre la invasión tumoral

Para que los tumores infiltren los tejidos vecinos se requiere que las células tumorales secreten enzimas proteolíticas como las metaloproteinasas, para la digestión de la matriz extracelular. El extracto de granada ha demostrado su efectividad para inhibir la expresión de metaloproteinasas a través de la inhibición de NF-κB en condrocitos humanos[26]. En otro estudio, varios componentes de la granada (ácido elágico, ácido cafeico, luteolina y ácido punícico) fueron estudiados *in vitro* como inhibidores potenciales de la invasión de células de cáncer de próstata humano hormono- resistente (PC-3) a través de una membrana artificial[27]. Aunque todas las sustancias por separado inhibieron significativamente la invasión, cuando se utilizaban de forma conjunta, se observaba un efecto supra-aditivo. Resultados similares, observaron Albrecht et al con el mismo tipo celular de cáncer de próstata[4]. Khan et al en un modelo *in vitro* de cáncer de mama observaron disminución de la invasión celular de forma dosis dependiente (hasta 46%) cuando se utilizaba extracto de granada[17].

## 6. Aplicaciones clínicas del zumo de granada

Desde hace mas de mil años que se utilizan todos los componentes de la granada para el tratamiento de varias enfermedades. Sin embargo no fue hasta el comienzo de la década de los noventa que se comenzaron a realizar los primeros estudios experimentales y clínicos[1].

### 6.1 Cáncer de próstata

Pantuck et[28] al realizaron un ensayo clínico en fase II en 46 varones con cáncer de próstata que habían sido tratados con cirugía, radioterapia o crioterapia y en los que posteriormente se había elevado el PSA. Los criterios de inclusión fueron Gleason ≤ 7 y PSA >0,2 y < 5 ng/ml. El tratamiento consistió en 240 ml de zumo de granada por día hasta la progresión de la enfermedad. Ningún paciente tenía metástasis ni había recibido tratamiento hormonal. El seguimiento se realizó cada 3 meses con determinación de PSA. El objetivo final del estudio fue la variación en las cifras de PSA como por ejemplo el tiempo de duplicación. Paralelamente se realizó un estudio de proliferación celular *in vitro* en el que se ponía en contacto el suero de los pacientes con un cultivo de células de cáncer de próstata hormono sensibles (LNCaP). Dieciséis de los 46 pacientes (35%) mostraron una reducción en las cifras de PSA. En 4 casos el PSA descendió más del 50%. El tiempo de duplicación del PSA (PSADT) se incrementó significativamente, desde una media de 15 meses al comienzo del estudio hasta los 54 meses (p<0,001). En el estudio in vitro, a los 9 meses de comenzado el estudio se observó una reducción en la proliferación de las células de cáncer de próstata del 12% y un incremento de la apoptosis del 17%. En el Congreso anual de 2008 de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) se presentaron los resultados de los pacientes que continuaron el tratamiento con zumo de granada, observándose que el PSADT se incrementaba a 68 meses[29]. Estos resultados sugieren que el zumo de granada es efectivo para retrasar la evolución del cáncer de próstata en pacientes en los que ha fracasado al tratamiento inicial. Actualmente se está realizando un estudio clínico multicéntrico, fase III para valorar los beneficios del zumo de granada frente a placebo en pacientes con cáncer de próstata. En el momento actual no existen resultados sobre los efectos del zumo de granada en pacientes con otros tumores.

### 6.2 Andrología

Los pacientes con disfunción eréctil de causa vascular presentan acumulación de productos oxidativos en los cuerpos cavernosos por lo que el estrés oxidativo puede ser de gran importancia en la etiología de la disfunción eréctil arteriogénica. Los antioxidantes pueden ser útiles en la prevención de la disfunción eréctil y de la fibrosis de los cuerpos cavernosos. Azadzoi et al[30] examinaron la actividad antioxidante de varias bebidas antioxidantes como el zumo de granada, arándanos, naranja, te verde y vino tinto. El zumo de granada mostró la mayor capacidad para retirar radicales libres, reducir la oxidación de la lipoproteína de baja densidad y para inhibir el estrés oxidativo en los macrófagos. Además, en un modelo de disfunción eréctil en conejos, los autores observaron que la utilización de zumo de granada durante un tiempo prolongado incrementaba el flujo sanguíneo en el cuerpo cavernoso, mejoraba la respuesta eréctil y la relajación del músculo liso en los animales con disfunción eréctil y en el grupo control. No se observaron efectos significativos en la expresión de la sintetasa de óxido nítrico. En el grupo de animales con disfunción eréctil el consumo prolongado de zumo de granada prevenía la fibrosis del cuerpo cavernoso[30]. Foster el al[31] realizaron un estudio piloto con 53 varones que presentaban disfunción eréctil leve o moderada y que consumieron zumo de granada o placebo durante dos períodos de 4 semanas separados

por un período de dos semanas sin tratamiento. La valoración se realizó con un cuestionario de actividad sexual (IIEF) y uno de valoración global (GAQ). De los 42 pacientes que mostraron mejoría, 25 habían consumido zumo de granada. Los síntomas analizados con el cuestionario IIEF mejoraron mas en el grupo del zumo de granada, aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística (p=0,058) probablemente por el reducido tamaño de la muestra[31].

Turk et al[32] analizaron los efectos del zumo de granada sobre diferentes parámetros del semen en 28 ratas macho sanas que se dividieron en cuatro grupos de 7 animales. Cada grupo se trató diariamente durante 7 semanas con diferentes concentraciones de zumo de granada o agua como grupo control. Al final del estudio se sacrificaron todos los animales, se pesaron los órganos sexuales y se estudió la calidad del semen, la densidad de células espermatogénicas, la actividad de las enzimas antioxidantes y los niveles de testosterona. Los animales que habían recibido zumo de granada mostraron incremento de: a- la concentración de espermatozoides en el epidídimo, b- la movilidad de los espermatozoides, c- la densidad de las células espermatogénicas, d- diámetro de las túbulos seminíferos, e- grosor de las capas de células germinales. Además se observó un incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes (glutatión peroxidada y catalasas)[32].

Zhang et al[33] analizaron la utilidad del zumo de granada para proteger contra el estrés oxidativo en conejos a los cuales se les había inducido disfunción eréctil de etiología vascular. Los animales fueron tratados durante 8 semanas con extracto de antioxidantes obtenidos de la granada o agua como placebo. Al finalizar el tratamiento se midió el flujo sanguíneo al pene y la actividad eréctil. Se determinaron los productos oxidativos y los genes que responden al daño oxidativo. En los animales tratados con extracto de granada mejoró significativamente el flujo sanguíneo al cuerpo cavernoso, la actividad eréctil, la relajación del músculo cavernoso y la fibrosis comparado con los animales tratados con agua aunque no llegó a la normalización de los valores que les corresponden a los controles sin disfunción eréctil inducida. Futuros estudios clínicos deben intentar reproducir estos resultados en varones con disfunción eréctil.

## 7. Ensayos clínicos en curso utilizando zumo de granada

En el momento actual se están realizando en el mundo 25 ensayos clínicos utilizando zumo de granada que se encuentran en diferente etapas (completados, incluyendo pacientes o activos pero sin haber comenzado el reclutamiento, etc[34].

En 8 estudios se relacionan con el cáncer de próstata, en 5 de ellos se reclutan pacientes que presentan elevación del PSA tras el fracaso del tratamiento inicial con prostatectomía radical o radioterapia. En otro se tratan con zumo de granada pacientes antes de ser sometidos a cirugía radical, en otro se tratan pacientes con cáncer de próstata localizado que no han recibido ningún tratamiento y en el estudio restante se valora la suplementación de la dieta con fitoquímicos y ácidos grasos poliinsaturados en pacientes con cáncer de próstata. En 5 estudios se analiza la acción del zumo de granada en pacientes diabéticos. Tres estudios se relacionan con la infección por renovirus, influenza y gripe porcina y resfriado común respactivamente. Los 9 estudios restantes analizan respectivamente: hiperplasia benig-

na de próstata, grosor de las capas íntimas y media de la carótida, cardiomiopatía crónica complicada con insuficiencia renal, injuria cerebral en fetos con restricción del crecimiento intrauterino, riesgo de enfermedad cardiovascular, linfoma, estrés oxidativo en pacientes en hemodiálisis, función física y mental de adultos de edad media y la capacidad oxidativa de la dieta.

## 8. Conclusiones

Pese a que las propiedades de la granada se conocen desde hace mas de mil años, no ha sido hasta las últimas dos décadas que se han incrementado el número de estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que analizan los efectos de varios constituyentes de la granada sobre todo el zumo natural sobre diferentes patologías. Del mismo modo, en los últimos años se han diseñado varios ensayos clínicos multicéntricos que actualmente se encuentran en curso y que cuando se analicen sus resultados podrán ofrecernos mucha información sobre los efectos terapéuticos del zumo de granada. En el campo de la oncología, los efectos antiproliferativos, proapoptóticos y antiangiogénesis han sido ampliamente estudiados en modelos animales y están pendientes de confirmar en estudios en humanos. Otros campos abiertos a la investigación médica sobre los efectos de la granada son la disfunción eréctil y la infertilidad masculina.

## 9. Bibliografía


• Longtin, R. The pomegranate: nature´s power fruit? J Natl Cancer Inst, 2003; 95: 346-48.

• Seeram NP, Zhang Y, Reed JD, et al. Pomegranate Phitochemicals. En “Pomegranate : ancient roots to modern medicine”. Seeram NP, Schulman RN, Heber D (eds). Taylor & Francis. New York, 2006; 3- 29.

• Cerda B, Ceron JL, Tomas-Barberan FA, Espin JC. Repeated oral administration of high doses of pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. J Agric Food Chem 2003; 51: 3493-501.

• Albrecht M, Jiang W, Kumi-Diaka J, et al. Pomegranate extracts potentially suppress proliferation xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. J Med Food 2004; 7: 274-83.

• Malik A, Afaq F, Sarfaraz S, et al. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. Proc Natl Acad Sci 2005; 102: 14813-8.

• Seeram N, Aronson W, Zhang Y, et al. Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. J Agric Foof Chem 2007; 55: 7732-7.

• Koyama S, Cobb LJ, Metha HH, et al. Pomegranate extract induces apoptosis in human prostate cancer cells by modulation of the IGF-IGFBP axis. Growth Horm IGF Res 2010; 20: 55-62.

• Metha R, Lansky EP. Breast cancer chemopreventive properties of pomegranate (punica granatum) fruits extracts in a mouse mammary organ culture. Eur J Cancer Prev 2004; 13: 345-8.

• Jeune MA, Kumi-Diaka J, Brown J. Anticancer activities of pomegranate extracts and genistein in human breast cancer cells. J Med Food 2005; 8: 469-75.
• Kim ND, Metha R, Yu W, et al. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (Punica granatum) for human breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2002; 71: 203-17.
• Kohno H. Suzuki R, Yasui Y, et al. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. Cancer Sci 2004; 95: 481-6.
• Shishodia S, Adams L, Bhatt ID, Aggarwal BB. Anticancer potential of pomegranate. En "Pomegranate: ancient roots to modern medicine". Seeram NP, Schulman RN, Heber D (eds). Taylor & Francis. New York, 2006; 107-16.
• Khan N, Hadi N, Afaq F, et al. Pomegranate fruit extract inhibits prosurvival pathways in human A549 lung carcinoma cells and tumor growth in athymic nude mice. Carcinogenesis 2007; 28: 163-73.
• Khan N, Afaq F, Kweon MH. Oral consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. Cancer Res 2007; 67: 3475-82.
• Hora JJ, Maydew ER, Lansky EP, Dwivedi C. Chemopreventive effects of pomegranate seed oil on skin tumor development in CD1 mice. J Med Food 2003; 6: 157-61.
• Baldwin AS Jr. Series introduction: the transcription factor NF-κB and human diseases. J Clin Invest 2001; 107: 3-6.
• Khan GN, Gorin MA, Rosenthal D, et al. Pomegranate fruit extract impairs invasion and motility in human breast cancer. Integr cancer Ther 2009; 8: 242-53.
• Domingo-Domenech J, Mellado B, Ferrer B et al. Activation of nuclear factor-κB in human prostate carcinogenesis and association to biochemical relapse. Br J Cancer 2005; 93: 1285-94.
• Fradet V, Lessard L, Begin LT et al. Nuclear factor-κB nuclear localization is predictive of biochemical recurrence in patients with positive margin prostate cancer. Clin Cancer Res 2004; 10: 8460-4.
• Rettig MB, Heber D, An J, et al. Pomegranate extract inhibits androgen-independent prostate cancer growth through a nuclear factor-κB-dependent mechanism. Mol Cancer Ther 2008; 7: 2662-71.
• Harris AL. Hypoxia – A key regulatory factor in tumor growth. Nat Rev Cancer 2002; 2: 38-47.
• Shannon AM, Bouchier-Hayes DJ, Condron CM, Toomey D. Tumor hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxia-related therapies. Cancer Treat Rev 2003; 29: 297-307.
• Mabjeesh NJ, Willard MT, Frederickson CE, et al. Androgens stimulate hypoxia-inducible factor 1 activation via autocrine loop of tyrosine kinase receptor/phosphatidylinositol 3´-kinase/protein kinase B in prostate cancer cells. Clin Cancer Res 2003; 2616-25.
• Toi M, Bando H, Ramachandran C, et al. Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions in vitro and in vivo. Angiogenesis 2003; 6: 121-8.
• Sartippour MR, Seeram NP, Rao JY, et al. Ellagitannin-rich pomegranate extract inhi-

bits angiogenesis in prostate cancer in vitro and in vivo. Int J Oncol 2008; 32: 475-80.
• Ahmed S, Wang N, Hafeez BB, et al. Punica granatum L. extract inhibits IL-1(beta)-induced expresión of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF-κB in human chondrocytes in vitro. J Nutr 2005; 135: 2096-102.
• Lansky EP, Harrison G, Froom P, Jiang WG. Pomegranate (Punica granatum) pure chemicals show posible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. Invest New Drugs 2005; 23: 121-2.
• Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N, et al. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. Clin Cancer Res 2006; 12: 4018-4026.
• Pantuck AJ, Zomorodian N, Seeram N, et al. Long term follow up of pomegranate juice for men with prostate cancer and rising PSA shows durable improvement in PSA doubling time. Abstract presented in annual meeting of ASCO, 2008.
• Azadzoi KM, Schulman RN, Aviram M, Siroky MB. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. J Urol 2005; 174: 386-93.
• Forest CP, Padma-Nathan H, Liker HR. Efficacy and safety of pomegranate juice on improvement of erectile dysfunction in male patients with mild to moderate erectile dysfunction: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. Int J Impot Research 2007; 564-7.
• Turk G, Sönmez M, Aydin M et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. Clin Nutr 2008; 27: 289-96.
• Zhang Q, Radisavljevic ZM; Siroky MB, Azadzoi KM. Dietary antioxidants improve arteriogenic erectile dysfunction. Int J Androl 2010 June 24 (Epub ahead of print).
• www.clinicaltrials.gov. Consultado el 16-09-2010.

# SELECCIÓN DE GRANADAS

Greefa está especializada en el desarrollo y producción de sistemas de selección avanzados. Combinando experiencia y especialización con las últimas técnicas y desarrollos tecnológicos, Greefa produce equipos de almacén durables y facil manejo para el usuario, reconocidos a nivel mundial. Ofrecemos a nuestros clientes soluciones completas, desde la alimentación de la línea hasta el envasado.

Greefa tiene amplia experiencia en muchos tipos de frutas y hortalizas. Hemos fabricado diferentes instalaciones para productores de granada, pensando junto con nuestros clientes para ayudar a encontrar soluciones a los problemas de la selección.

GREEFA

www.greefa.com

Doctor Manuel Candela 26, puerta 11 • 46021 Valencia • Apdo. de Correos 13175 • 46080 Valencia • España (Spain)
Tel.: +34-649 485 677 • Fax: +34-963 311 789 • **info@poscosecha.com** • **www.poscosecha.com**