



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

Índice

1.	Resumen.....	1
2.	Abstract	1
3.	Introducción	2
3.1	Producción de frutas y hortalizas en España	2
3.2	Exportación y distribución.....	3
3.3	Cadena de valor y logística de frutas y hortalizas	4
3.3.1	Producción en campo.....	5
3.3.2	Transformación	5
3.3.3	Distribución logística	5
3.3.4	Distribución minorista	6
3.4	Factores causantes de la pérdida de calidad y tipos de deterioro.....	7
3.4.1	Deterioro fisiológico	7
3.4.2	Deterioro patológico	9
3.4.3	Deterioro físico	9
3.5	Índices de calidad comerciales.....	10
3.5.1	Índices de calidad específicos en piña y tipos de desórdenes más frecuentemente encontrados.	11
3.5.2	Índices de calidad específicos en tomate.....	12
3.5.3	Índices específicos de calidad en arándanos.	12
3	Justificación y objetivos.....	12
4	Materiales y métodos	13
4.1	Material vegetal	13
4.2	Desarrollo experimental.....	14
4.2.1	Determinación de la influencia de la temperatura de almacenamiento en la calidad comercial de piña, tomate y arándanos.....	14
4.2.2	Estudio de los daños por frío en piña como ejemplo de deterioro fisiológico: efecto sobre los parámetros fisiológicos y el estado oxidativo del fruto.	15
4.3	Métodos y determinaciones analíticas.	16
4.3.1	Análisis de parámetros físico-químicos	16
4.3.2	Análisis de parámetros fisiológicos	17
4.3.3	Análisis del estado oxidativo de las membranas y de los frutos.....	19
5.	Resultados	20
5.1	Determinación de la influencia de la temperatura de almacenamiento en la calidad comercial.....	20
5.1.1	Piña (variedad <i>Golden Sweet</i>)	20

5.1.2 Tomate (variedad <i>Rosa de Barbastro</i>)	23
5.1.3 Arándanos (variedad <i>Duke</i>).....	25
5.2 Estudio de los daños por frío en piña como ejemplo de deterioro fisiológico: efecto sobre los parámetros fisiológicos y el estado oxidativo del fruto.	27
6. Conclusiones.....	32
7. Conclusions.....	34
8. Valoración personal.....	35
9. Bibliografía	36
10. Anexos.....	41

1. Resumen

Durante la cadena de distribución de frutas y hortalizas, las pérdidas económicas están asociadas a la presencia de daños físicos (relacionados con un manejo inadecuado), al deterioro patológico o al almacenamiento del producto en condiciones lejanas a las óptimas (Temperatura, humedad...), siendo la textura, calidad interna, el aspecto externo del fruto y su aroma característico, los principales atributos de calidad afectados. De los parámetros externos que más influyen en la calidad comercial de las frutas, destaca la temperatura por tener un mayor efecto sobre los mecanismos implicados en el comportamiento postcosecha.

En este Trabajo Fin de Grado se seleccionaron tres tipos de fruta susceptibles a diferentes tipos de deterioro (piña, tomate y arándanos) para realizar estudios de simulación de comercialización a distintas temperaturas utilizadas habitualmente en distribución y transporte de fruta: 2 °C, en transporte marítimo de ultramar; 5-7°C, en transporte terrestre y estancia en lineal refrigerado de supermercado, 21°C en lineal no refrigerado y 12 °C como temperatura recomendada para el almacenamiento de fruta tropical o subtropical. De las tres frutas evaluadas, la piña fue la que presentó una mayor sensibilidad y susceptibilidad al desarrollo de algún tipo de deterioro. En su caso los daños por frío, asociados a su almacenamiento en temperaturas inadecuadas. Sobre ella se realizó un estudio con mayor profundidad, analizando el efecto del tiempo y temperatura de exposición sobre diferentes parámetros fisiológicos y otros metabolitos asociados al estrés oxidativo del fruto.

En general, aunque la temperatura más baja (2°C) permite ralentizar el desarrollo madurativo del fruto, está asociada a una importante pérdida de intensidad aromática en todos los casos, pérdida de sabor característico en tomate o arándanos y desarrollo de daños, como puede ser el pardeamiento interno o traslucidez en piña, en la que se ha definido un tiempo máximo de exposición de 10 días antes de desarrollarse los primeros síntomas.

2. Abstract

During the fruit and vegetable distribution chain, economic losses are due to the presence of physical damages (related to improper handling), pathological deterioration or storage of the product in inappropriate conditions (Temperature, humidity ...), being the texture, internal quality, external appearance, and fruit's characteristic aroma, the main quality attributes affected. Of the external parameters that influence on the commercial quality of

fruits, temperature stands out because it's having a higher effect on the mechanisms involved in postharvest fruit behaviour.

In this Final Degree Project, three types of fruit susceptible to different types of deterioration (pineapple, tomato and blueberries) were selected to carry out marketing simulation studies at different temperatures commonly used in fruit distribution and transport: 2°C, in maritime transport; 5-7°C, in land transport and stay in refrigerated supermarket shelves, 21°C in non-refrigerated shelves and 12°C like the recommended temperature for the storage of tropical or subtropical fruits. Of the three fruits evaluated, pineapple was the only one that presented the highest sensitivity and susceptibility to the development of some type of deterioration. In that case, chilling injury, it is associated with storage at inappropriate temperatures. Another research was carried out on it to analyze the effect of the time and temperature on different physiological parameters and other metabolites associated with the oxidative stress.

In general, although the lowest temperature (2°C) slowed the ripening development, it was associated with a significant loss of aromatic intensity in all cases, the loss of characteristic flavor in tomatoes or blueberries and the development of damages, as can be the internal browning or translucency in pineapple. The first symptoms developed after 10 storage days.

3. Introducción

3.1 Producción de frutas y hortalizas en España

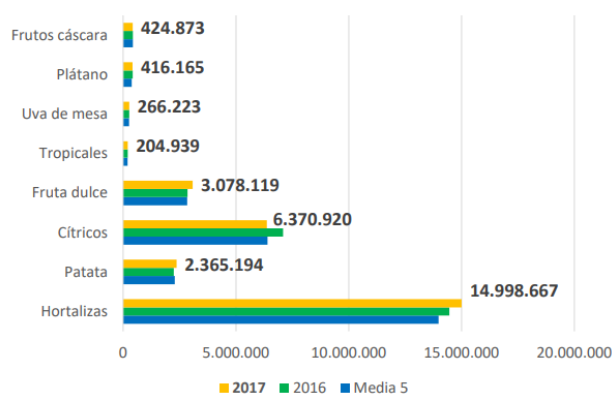


Figura 1: Producción en toneladas de frutas y hortalizas por cultivos, en España. **Fuente:** Anuario de Estadística y Superficies y Producciones Anuales. MAPAMA, 2017.

España es el primer país productor de la UE de frutas y hortalizas con más del 25% de la producción europea y el sexto a nivel mundial. En 2017 la producción española de frutas y hortalizas superó los 28 millones de toneladas, un 1% más que en 2016 y un 5% más que la media de los cinco años anteriores. Como se puede observar en la (**Figura 1**), más del 50% de la

producción fue de hortalizas, seguidas de los cítricos (24%) y de la fruta dulce (11%) (MAPAMA,2017).

El valor de la producción del sector de frutas y hortalizas exclusivamente (sin incluir flores y plantas, uva de vinificación ni aceitunas) superó en 2017 los 14.000 millones de euros, un 3% más que en 2016 y un 14% más que la media de las últimas 5 campañas (2012-2016). De forma que este sector aporta a la producción vegetal el 47% y el 29% de la producción de la rama agraria, lo que le sitúa como el sector más importante en el conjunto del sector agrario de nuestro país (MAPAMA,2017).

3.2 Exportación y distribución

Las frutas y hortalizas constituyen uno de los sectores más importantes de la exportación agroalimentaria española que, además, apenas se vio afectado durante los años más duros de la crisis económica iniciada en 2008. De modo que, junto al porcino, el aceite y el vino, las frutas y hortalizas conforman los grandes motores de la exportación agroalimentaria española (García Azcárate y Langreo, 2020). A pesar de ello, desde el Ministerio de Industria y Turismo, así como desde diferentes asociaciones sectoriales, se sigue trabajando en la apertura y consolidación de nuevos mercados en el exterior. Ejemplos de ello podrían ser el caso de la apertura del mercado canadiense para cerezas, arándanos y tomates o el tailandés para peras y uvas de mesa (FEPEX, 2021).

Está claro que el precio de estos productos de exportación vendrá determinado por su calidad comercial. Teniendo en cuenta que España es el primer país exportador de la UE y uno de los tres primeros exportadores mundiales junto con China y EE. UU, alcanzando en 2017 la cifra récord de 13,8 millones de toneladas exportadas con un valor cercano a los 15.000 M€ (MAPAMA,2017). Podemos concluir que el desarrollo de nuevas soluciones para evitar la pérdida de calidad en frutas y hortalizas podría suponer un gran impacto beneficioso en el sector hortofrutícola español.

Desde que el producto se cosecha en el campo hasta que llegan al consumidor, se generan mermas debido a que se desechan productos con una calidad insuficiente. La FAO, estima que se desecha un 45% de la producción hortofrutícola mundial. Aproximadamente, un tercio de estos desechos se producen entre la recolección y el consumo, correspondiendo un 5% al manejo posrecolección y almacenamiento, un 2% al procesado y envasado y un 10% a la etapa de distribución (FAO, 2012).

El objetivo de la distribución no solo es el de hacer llegar el producto al mercado de destino, sino también, hacerlo de tal forma que el fruto presente una correcta apariencia externa, así como una fresca apetecible para el consumidor. ***Para que esto se dé, el producto tiene que manipularse, conservarse y transportarse en las mejores condiciones posibles y dentro de unos rangos de temperatura, humedad, composición atmosférica, etc., determinados en función del producto.*** Hay que destacar que este último tramo es determinante para la fijación del precio y la posterior ganancia económica, pues de nada sirve tener un fruto excelente en el campo si no se cuenta con un manejo poscosecha y cadena de frío adecuados. Como manejo poscosecha se entiende aumentar la vida útil de la fruta y retardar en la medida de lo posible, el proceso natural de senescencia. De no evitarse el deterioro de la fruta, lo más común es que se vea reducido el precio final en el mercado de destino e incluso se produzcan rechazos de cargas completas.

Así, tanto productores como distribuidores deben poner todos sus esfuerzos en evitar el deterioro de las frutas y hortalizas debido a una incorrecta manipulación o falta de control de las condiciones ambientales que rodean al producto durante su almacenamiento y distribución.

3.3 Cadena de valor y logística de frutas y hortalizas

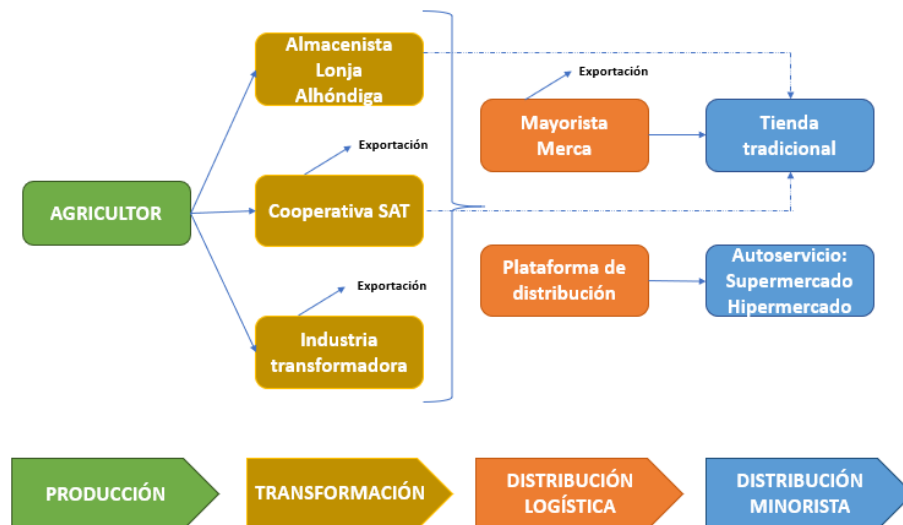


Figura 2: Esquema de la cadena de valor y agentes económicos representativos. **Fuente:** Elaboración propia en base a Toribio (2012).

La cadena de valor agroalimentaria española (**Figura 2**) está integrada por cuatro eslabones: producción, transformación, distribución logística y distribución minorista. Los datos existentes prueban que la parte más importante del precio final del producto hortofrutícola (algo más del 45%) se genera en la fase de producción, que poco más del 20% se genera en el

eslabón de la transformación, que en la fase de comercialización el 11%, y que solo el 22% restante se genera en la fase de la distribución minorista (Toribio, 2012).

3.3.1 Producción en campo

El cultivo en campo es la base de la cadena productiva del sector hortofrutícola español. En esta etapa se genera la materia prima que se usará en el resto de la cadena. Incluye las actividades básicas de producción sin que se produzca transformación alguna. (Toribio, 2012). En este eslabón encontramos un gran número de pequeños y medianos productores, así como unas 620 organizaciones de productores, de las cuales, las 100 más importantes controlan más de un tercio de la facturación del sector (Illescas, 2016).

3.3.2 Transformación

La transformación incluye desde la recepción hasta el etiquetado de los productos. Por un lado, encontramos los almacenes y centrales hortofrutícolas que además de realizar una importante labor de intermediación, ofrecen servicios adicionales de manipulación, transporte, almacenaje... e incluso integran actividades logísticas de comercialización y de entrega de producto a los centros de distribución. Por otro lado, se encuentran las cooperativas y Sociedades Agrarias de Transformación (SAT) dónde los asociados no sólo se dedican a la venta de bienes que adquieren, sino también a actividades de almacenamiento, manipulación... Finalmente, la industria transformadora produce principalmente mercancías envasadas. Las empresas con esta denominación se encargan de todos los procesos industriales necesarios para la preparación, envasado y posterior distribución del producto (Toribio, 2012).

3.3.3 Distribución logística

Los agentes económicos implicados en esta etapa son los mayoristas, los mercas y las plataformas de distribución. Estos agentes se encargan de la expedición, transporte, recepción y gestión de los pedidos. Estas tareas incluyen la selección de la ubicación de los distintos productos y el control de los almacenes. Además, dependiendo de las condiciones pactadas, esta fase puede incluir también el transporte hasta el punto de venta final (Toribio, 2012).

Actualmente, la cadena de distribución en España obedece a un sistema dual de comercio:

El tradicional o especializado donde el producto llega a los mercados centrales o mercas, lugar donde obtienen suministros casi exclusivamente el pequeño comercio de calle (fruterías), galerías de alimentación o puestos de mercados municipales. Donde finalmente el consumidor

adquiere los productos hortofrutícolas (Toribio, 2012). Hay que resaltar que una gran parte de la distribución de frutas, hortalizas y patatas en España recae en los mercados centrales o mercas (Illescas y Martín Cerdeño, V.J., 2017).

Las Mercas son un canal con capacidad para distribuir a nivel interior y exterior (internacional) con experiencia en la venta presencial (Illescas, 2014). En España, este eslabón de la comercialización lo lleva a cabo MERCASA, con una infraestructura formada por 23 unidades alimentarias, de las cuales 22, disponen de mercados mayoristas de frutas y verduras, ocupando una superficie de 575.000m². Cubriendo de esta forma la totalidad del territorio nacional (Illescas, 2016).

Por otra parte, encontramos la distribución organizada, que es llevada a cabo por grandes organizaciones empresariales y superficies de libre servicio. Estas cuentan con una alta capacidad de compra en origen y una posición dominante para exigir condiciones a sus proveedores. Está formada por centrales de compra/plataformas de distribución y supermercados e hipermercados en la venta final (Illescas, 2014). Hay que destacar que las plataformas de distribución han ido ganando terreno a mayoristas y mercas en los últimos años. Por otro lado, la puesta en marcha de mecanismos de compra centralizada de productos frescos, por parte de la distribución organizada, se traduce al mismo tiempo a la tendencia de aumentar la cuota de productos frescos en los establecimientos. El desarrollo de supermercados e hipermercados está acelerando este proceso (Toribio, 2012).

Además, existen otros canales alternativos como podrían ser la venta online o los especialistas en suministro a hostelería y restauración. (Illescas, 2014). Finalmente, es posible que en algunas ocasiones se prescinda de la distribución logística, y, por tanto, los productos pasen directamente a la distribución minorista. Esto se debe a que algunos productores o la industria transformadora comercializan directamente sus productos (Toribio, 2012).

3.3.4 Distribución minorista

La actividad de distribución al por menor tiene como objetivo ofrecer diariamente a los consumidores finales una serie diversificada de productos de consumo. En la llamada configuración tradicional, la distribución minorista se encarga de realizar las compras de los distintos productos (generalmente al mayorista) y de recibirla venderla al público. En (**Figura 3**) se observa que los productos se venden en tiendas tradicionales, pero también existen autoservicios de proximidad de menos de 400 m² que siguen este modelo. Por el contrario, en la llamada configuración moderna, son los servicios comerciales de las cadenas de distribución

los que se encargan de realizar las compras a la industria y mayoristas. Tras ello, las plataformas logísticas reciben el producto y posteriormente los venden a sus clientes en los mostradores y lineales. Los establecimientos que ofrecen estos productos son hipermercados, supermercados y autoservicios de entre 400 a 2.5000 m² (Illescas, 2014 y Toribio, 2012).

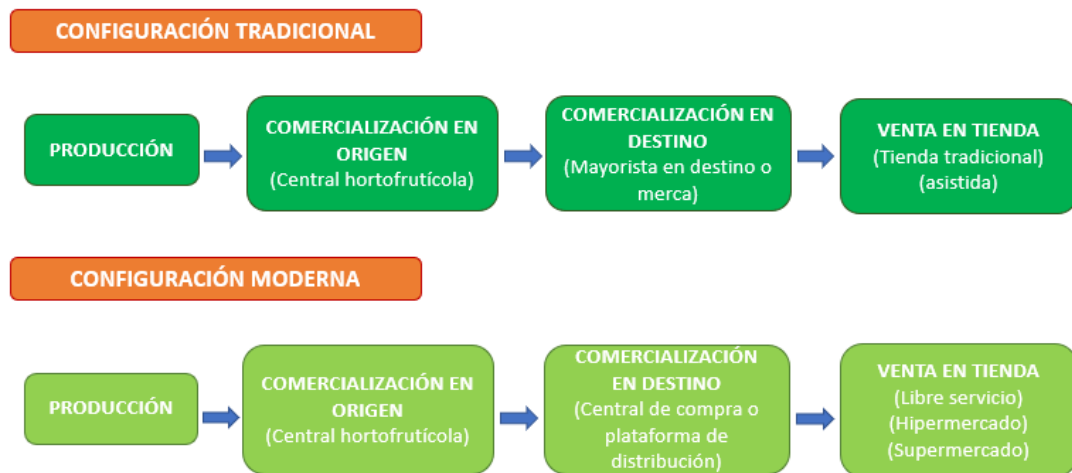


Figura 3: Cadena de valor en frutas y verduras. Elaboración propia.

3.4 Factores causantes de la pérdida de calidad y tipos de deterioro

3.4.1 Deterioro fisiológico

Entre los distintos tipos de deterioro que podemos encontrar en la fruta debido a una incorrecta manipulación o a incorrectas condiciones ambientales durante el transporte, almacenamiento y comercialización, destaca el deterioro fisiológico que es aquel que se produce como consecuencia del proceso natural de maduración. Está relacionado con pérdidas de apariencia, ablandamiento o pérdidas de peso. Es un proceso natural que puede ser retardado aplicando diferentes condiciones de conservación y tecnologías postcosecha.

Dentro de este tipo de deterioro, tienen gran importancia los **desórdenes fisiológicos** los cuales se deben a alteraciones en los tejidos generados como respuesta a un ambiente adverso. ***Este tipo de problema es especialmente preocupante en el caso de los productos sensibles al frío o a un determinado rango de temperaturas, y, que actualmente, suelen ser transportados en las mismas condiciones que el resto, originando lo que se denomina daños por frío. Los cuales normalmente se manifiestan y son detectados una vez el producto llega al lineal o incluso a nivel doméstico.***

3.4.1.1 Daños por frío

Los daños por frío (DF) suceden tras una cierta exposición de los productos a temperaturas de entre -0,5°C a 15°C, dependiendo del tipo de fruta al que nos referimos. De modo que la temperatura crítica a la que aparecen varía de una especie a otra, y puede ser de -0,5°C a 4°C para los poco sensibles, de 4°C a 7°C para algunas especies de clima templado, y desde unos 8°C hasta 15° e incluso 20°C para las tropicales y subtropicales más sensibles (Artés y Artés-Hernández, 2002).

Aunque no se conoce exactamente cómo se desarrollan los DF, se sabe que tiene lugar en dos fases sucesivas. La primera se prolonga desde apenas unas pocas horas (caso del plátano o de la chirimoya) hasta algunos meses (en manzana y pera), aunque lo más frecuente es una duración de unas dos semanas. En la fase inicial las alteraciones son tan poco severas que no se manifiestan los síntomas. Esta situación se denomina umbral de inducción o fase de latencia, y es aquella en la que los productos pueden retornar a un estado normal si se almacenan a temperaturas más elevadas. La segunda fase tiene lugar cuando una vez se ha superado el umbral de inducción, aparecen los síntomas. En este punto los daños son irreversibles y la aplicación de un incremento moderado de la temperatura solo contribuye a acelerar su desarrollo (Artés y Artés Hernández, 2002).

Los síntomas con los que se manifiestan a nivel macroscópico los daños por frío en frutas y hortalizas son muy diversos y se pueden distinguir en dos categorías. La primera consiste en **anomalías del desarrollo o del metabolismo**, como la maduración incompleta y un sabor y aromas insuficientes, característico en plátano o piña (Kader, 2002). Además, varios metabolitos gaseosos como el CO₂, etileno, etanol y acetaldehído, pueden ser bio-indicadores para evaluar y detectar las alteraciones organolépticas, fisiológicas y patológicas antes de que se manifiesten los síntomas. (Artés y Artés-Hernández, 2002). La segunda categoría de DF la integran **verdaderos daños** que se presentan de formas muy variadas como depresiones de la piel o picado, que afecta al 60% de las especies de frutas y hortalizas de regiones tropicales y subtropicales, descomposición de tejidos (en fruta de hueso y de pepita) y pardeamientos internos o superficiales que son típicos, por ejemplo, en el caso de la piña (Kader, 2002). Este pardeamiento se produce cuando las piñas se almacenan a temperaturas inferiores a 7°C y consiste en la aparición de áreas marrones empapadas de agua que comienzan como manchas en el área central y que se agrandan para hacer que todo el centro sea marrón en casos más severos (Kader, 1996). Otros síntomas pueden ser la infiltración de agua en los espacios intercelulares, que es frecuente en tomate o pepino. En tomate también se puede dar el

ennegrecimiento de semillas y de la pulpa. Finalmente, los daños por frío también producen un debilitamiento en la resistencia a daños mecánicos y a los ataques microbianos (Artés y Artés-Hernández, 2002).

3.4.2 Deterioro patológico

Por otro lado, las frutas y hortalizas son productos con un alto contenido en humedad y ricas en nutrientes. De modo que pueden servir como sustrato para el desarrollo de microorganismos, provocando daños en forma de pudriciones. A este fenómeno se le denomina deterioro patológico. A medida que avanza la maduración, las frutas y hortalizas se vuelven más susceptibles a las lesiones y, por tanto, al ataque por microorganismos. Además, durante el almacenamiento los productos vegetales sufren una serie de procesos fisiológicos que producen la senescencia de los tejidos, aumentando su susceptibilidad. Finalmente, exámenes en tallos, hojas, flores, frutos y otros órganos después de la cosecha, demostraron la presencia de hongos, como especies de *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Botrytis*, *Fusarium* y otros, causantes de las enfermedades poscosecha. (Barkai-Gola, 2001).

3.4.3 Deterioro físico

La principal causa del deterioro físico son los impactos y/o vibraciones. Según (Vigneault et al., 2002) los impactos son movimientos transitorios provocados por una aceleración o desaceleración repentina que causa una gran disipación de energía y, por tanto, el consiguiente daño en la fruta. Este deterioro debido a cargas dinámicas y estáticas sobre el producto puede ser provocado durante las etapas de manipulación, transporte y almacenamiento. En cuanto a los tipos de daños mecánicos, encontramos **magulladuras**, que se caracterizan por la ruptura de las células; **grietas**, producidas por el desgarro de los tejidos; y la **separación de tejidos** como consecuencia de abrasiones o roces. Por lo tanto, se puede concluir que el mecanismo básico involucrado en el daño mecánico es la transformación de energía. En el caso de las magulladuras, la energía cinética se disipa mediante la ruptura de las células de los tejidos en las zonas sometidas a estrés, mientras que, en el caso de las grietas, la energía almacenada se libera mediante la propagación de estas. Además, a diferencia de los deterioros fisiológicos y patológicos, los daños debidos a cargas excesivas pueden considerarse instantáneos. Ya que cuando cae un tomate, por ejemplo, se produce la lisis de las células de forma instantánea, aunque la decoloración del tejido debido a las reacciones enzimáticas puede llevar algún tiempo. Además de originarse cambios de color, las magulladuras provocan una mayor susceptibilidad al deterioro patológico, así como la pérdida de agua debido a la pérdida del líquido intracelular procedente de las células que han sido sometidas a estrés (Holt y Schoorl, 1982).

3.5 Índices de calidad comerciales

La mayoría de los índices que se utilizan hoy en día para determinar la calidad de los frutos son una combinación entre los índices que garantizan la mejor calidad alimentaria y aquellos que proporcionan la flexibilidad necesaria para el transporte y la comercialización. (Benichou et al., 2018). Por otro lado, la calidad de las frutas depende de la combinación de atributos como pueden ser el color, la apariencia, el sabor, la textura, las características nutricionales y la seguridad (Skrzynski y Konopacki, 2003).

El **color** de la frutas es uno de los atributos más importantes. Este se debe a la presencia de pigmentos como carotenoides, betalainas, antocianinas y clorofila. Generalmente, el color afecta a la percepción de calidad y del sabor. Utilizado como índice de madurez, es útil para determinar el momento óptimo de cosecha y estimar el periodo de tiempo en el cual la fruta puede almacenarse y comercializarse (Benichou et al., 2018).

La **firmeza** de la fruta es otro de los atributos de calidad determinantes. Se define como el grupo de propiedades mecánicas que determinan las sensaciones humanas cuando se ingieren alimentos. Influye considerablemente en la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. En el caso de la fruta, depende mayoritariamente de la anatomía celular, el contenido en agua y la composición de las paredes celulares. La firmeza, es el atributo de textura más importante en cuanto a calidad de la fruta, ya que disminuye durante el almacenamiento y la comercialización. También determina la capacidad de estos de resistir al manejo postcosecha y su resistencia al daño mecánico (Benichou et al., 2003).

El **contenido en azúcar o sólidos solubles** está altamente relacionado con la cantidad de sólidos solubles presentes en el fruto, además de afectar al sabor de las frutas. Los frutos se caracterizan por tener una alta concentración de almidón en sus primeras fases de desarrollo, sin embargo, este se va hidrolizando progresivamente a medida que avanza la maduración. Debido a esto, se produce un aumento en el contenido de azúcares simples como glucosa, fructosa y sacarosa. Dando como resultado un aumento del sabor dulce y del contenido de sólidos solubles. Por otro lado, los ácidos orgánicos son abundantes en frutas, principalmente cítrico y málico. El contenido de estos ácidos disminuye conforme avanza la maduración. Los ácidos orgánicos intervienen en el sabor, textura, pH, y color de los frutos, alterando su calidad sensorial (Montero et al. 1996).

Por último, la calidad comercial de la fruta también vendrá determinada por el contenido de **compuestos volátiles**. Estos compuestos son los responsables del aroma de las

frutas y, como es sabido, el flavor de las frutas depende de la combinación de los aromas y sabores percibidos. Muchos frutos emiten una amplia gama de compuestos volátiles, algunos de los cuales se consideran extremadamente importantes en lo que se refiere a calidad de la fruta. En las frutas abundan principalmente ésteres, alcoholes, aldehídos y cetonas. Su intensidad depende de la concentración umbral, que puede ser tan baja como 1 ppb y de la interacción con otros compuestos (Kader, 1999; Zheng et al., 2012; Forney, 2001; Li, et al., 2009).

Como se ha indicado anteriormente, una vez la fruta es recogida del árbol comienzan diferentes cambios bioquímicos y fisiológicos que pueden estar relacionados con una pérdida de calidad comercial y que influyen notablemente en la vida útil del producto. Alguno de estos cambios son la degradación de la pared celular, la pérdida de agua, el marchitamiento, el ablandamiento, la maduración excesiva, desarrollo de podredumbres, etc. (Benichou, et al. 2018). A esta pérdida de calidad, relacionada con los parámetros comerciales, puede sumarse la aparición de determinados desórdenes o fisiopatías que reducen todavía más la vida útil comercial y que son dependientes de las condiciones que rodean al fruto, tanto durante su conservación/almacenamiento como durante su distribución/comercialización.

3.5.1 Índices de calidad específicos en piña y tipos de desórdenes más frecuentemente encontrados.

La piña es un fruto tropical no climatérico, de modo que se tiene que cosechar justo en el momento en el que esté lista para su consumo. Esto tiene lugar cuando se produce un cambio de color en la base del verde al amarillo y el contenido de SS y de acidez titulable es de al menos un 12% y menor al 1% respectivamente. Además, la calidad de la piña será máxima cuando presente uniformidad de tamaño y forma, firmeza aceptable, se encuentre exenta de pudriciones, quemaduras de sol, agrietamientos, magulladuras, daños internos, manchado pardo interno, gomosis y daños por insectos, cuando las hojas de la corona sean de color verde y erguidas y cuando el contenido de SS se encuentre entre 11-18% y la acidez titulable sea del 0,5-1,6% de ácido cítrico (Kader, 1996).

Por otro lado, la piña al ser un fruto tropical es sensible a las bajas temperaturas, siendo la temperatura óptima de almacenamiento de 11°C a 13°C (Ramojaro, 2016). Se caracteriza por ser una fruta que puede sufrir daños por frío en el caso de ser almacenada a baja temperatura. Durante este almacenamiento, en primer lugar, se produce el encharcamiento de la pulpa cercana al corazón de la piña. Posteriormente, el propio corazón y la pulpa cercana a éste adquieren un color marrón produciéndose el llamado pardeamiento interno (Nukuntornprakit et al., 2015). El pardeamiento interno es el trastorno fisiológico más observado en piñas que se

almacenan por debajo de los 13°C (Selvarajah et al., 2001), limitando tanto el almacenamiento como la exportación de esta fruta. Finalmente, los síntomas se desarrollan más rápido después de que la fruta que ha sido almacenada a bajas temperaturas pase a ambientes con temperaturas más altas (Nukuntornprakit et al., 2015).

3.5.2 Índices de calidad específicos en tomate.

El tomate, a diferencia de la piña, es un fruto que sigue madurando tras la cosecha. La calidad del tomate estándar se basa principalmente en la uniformidad de la forma y la ausencia de defectos de crecimiento y manejo. En cuanto al tamaño, no es un factor que defina la calidad, pero puede influir de manera importante en la percepción por parte del consumidor. Por otro lado, el tomate tendrá que ser redondo, en forma de globo, aplanado u ovalado dependiendo del tipo, tener un color uniforme en la superficie de color rojo anaranjado a rojo intenso y con ausencia de manchas verdes. Así como una superficie lisa con las cicatrices correspondientes a la punta floral y al pedúnculo. Por otra parte, será firme al tacto y no se tendrá que deformar fácilmente debido a un exceso de madurez (Cantwell et al. 1997).

3.5.3 Índices específicos de calidad en arándanos.

A pesar de que son frutas climatéricas, suelen recolectarse cerca de su madurez completa ya que el sabor no mejora después de la cosecha. Generalmente se utiliza como índice de cosecha el color, aunque también se pueden considerar los sólidos solubles y la acidez titulable (Crisosto et al. 1998).

En el caso del contenido de sólidos solubles y la acidez titulable, se establece que los arándanos deben poseer al menos un 10% de SS y una acidez titulable entorno al 0,6-0,9% (Kader,1999). Además, los resultados obtenidos por (Bremer et al. 2008) reflejan que los arándanos que presentan una concentración de SS entorno al 10-12%, no son aceptados por los consumidores en el caso de que tengan una acidez titulable muy baja (menor del 0,3%).

Por último, también se pueden utilizar como índices de calidad la firmeza, los compuestos volátiles, el contenido de vitamina A y C y la ausencia de defectos debido a desórdenes fisiológicos o podredumbres (Crisosto et al. 1998).

3 Justificación y objetivos

A pesar de que la mayor parte del tiempo la fruta se encuentra en el campo, donde realmente se producen los cambios determinantes e influyentes en la apreciación del consumidor, es en el tiempo desde que se cosecha hasta que llega al mercado de destino. De

modo que el objetivo principal de agricultores y distribuidores es hacer que los frutos lleguen al consumidor con una apariencia y frescura apetecibles. Por ello, el producto tiene que ser conservado y transportado en las mejores condiciones posibles dentro de unos rangos de temperatura, humedad, composición atmosférica, etc., determinados en función del tipo de producto. De esta forma, será posible mantener la calidad de la fruta, lograr una mayor vida útil y evitar la aparición de los diferentes tipos de deterioro (fisiológico, patológico y físico) que puedan afectar a la fruta a lo largo de la poscosecha (incluyendo almacenamiento, conservación y distribución).

En la primera parte de este Trabajo Fin de Grado se estudió el efecto de 2 temperaturas habitualmente utilizadas durante el transporte, distribución y comercialización de fruta (2°C en transporte marítimo y aéreo y 7°C, en estancia del fruto en lineal de frío del supermercado) sobre los principales parámetros de calidad de piña, tomate y arándanos. Siendo el principal ***objetivo determinar el tiempo máximo de exposición a esas temperaturas a partir del cual se observa una pérdida de calidad o se detecta algún tipo de desorden fisiológico o daño en el producto.***

Por otro lado, con el objetivo de ***analizar en mayor profundidad el desarrollo de uno de los principales síntomas de deterioro fisiológico asociado a pérdidas de calidad, los daños por frío (DF)***, se conservaron piñas a diferentes temperaturas y se analizó la evolución de distintos parámetros asociados con la respuesta del fruto a esa situación de estrés y que estarán relacionados con el metabolismo fisiológico (actividad respiratoria, producción de etanol y acetaldehído) y el estado oxidativo, tanto de la fruta (fenoles totales y capacidad antioxidante) como de las membranas (pérdida de electrolitos). Se trabajó a 2 temperaturas a las que se asocia el desarrollo de este tipo de daños en frutas tropicales y subtropicales, que llamamos temperaturas de daño (2°C y 6°C), y a una temperatura adecuada para su conservación, que denominamos temperatura de no daño (12°C).

4 Materiales y métodos

4.1 Material vegetal

Para llevar a cabo esta investigación se utilizaron piñas (*Ananas comosus*, variedad *Golden Sweet*), tomates (*Solanum lycopersicum*, variedad *Rosa de Barbastro*) y arándanos (*Vaccinium myrtillus*, variedad *Duke*) que fueron adquiridos en el distribuidor mayorista de Mercazaragoza ALZAFRUT, y transportadas bajo condiciones de refrigeración hasta el laboratorio del Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal (GIAOVE) situado en la

Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza Tras ello, los frutos fueron seleccionados según tamaño y color, calidad óptima y ausencia de defectos superficiales (**Figura 4**).



Figura 4: Aspecto de arándanos, piñas y tomates en el momento de la recepción en el laboratorio

4.2 Desarrollo experimental

4.2.1 Determinación de la influencia de la temperatura de almacenamiento en la calidad comercial de piña, tomate y arándanos.

Una vez fueron recibidos los frutos en el laboratorio, éstos se seleccionaron, clasificaron y distribuyeron en lotes de 2 muestras, constituidas cada una de ellas por 4 submuestras para tomate y piña y por 5 submuestras para arándanos de 3 cajas de arándanos cada una (**Figura 5**). El mismo día de recepción se separó una muestra compuesta de 3 frutos o cajas (muestra día 0, T0) y que se empleó como referencia del estado inicial de cada fruta. El resto de los frutos se distribuyeron en 2 lotes, correspondientes cada uno a los frutos almacenados a las temperaturas de ensayo (2°C y 7°C). Ambas temperaturas están relacionadas con el desarrollo de algún tipo de daño (diferente en cada tipo de fruta) que afecta a la calidad comercial. Transcurridos 3, 6, 9, 12 días en el caso de tomate y 18 en el caso de arándanos y piña (T3, T6, T9, T12 y T18), se procedió a la toma de muestras realizando los siguientes análisis: °Brix, firmeza, acidez titulable y análisis del perfil olfatométrico.

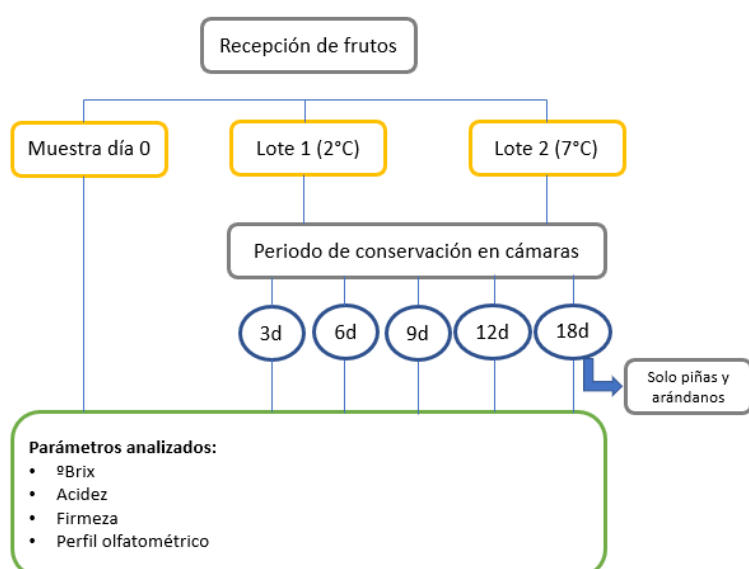


Figura 5: Esquema del desarrollo experimental llevado a cabo para determinar la influencia de la temperatura en la calidad comercial de tomate, piña y arándano.

4.2.2 Estudio de los daños por frío en piña como ejemplo de deterioro fisiológico: efecto sobre los parámetros fisiológicos y el estado oxidativo del fruto.

Para este ensayo se seleccionaron 60 piñas, con un grado de madurez homogéneo y sin defectos. Cuando los frutos llegaron al laboratorio se distribuyeron en 3 lotes diferentes (temperaturas de 2°C, 6°C y 12°C de almacenamiento) constituidos cada uno de ellos por 3 submuestras (5, 10 y 18 días de conservación) de 6 frutos cada una (**Figura 6**). El mismo día de recepción se separó una muestra compuesta de 6 frutos (muestra día 0, T0) y que se empleó como referencia del estado inicial de la fruta. El resto de los frutos se distribuyeron en las temperaturas definidas para el estudio, una de ellas ideal para el almacenamiento de fruta tropical (12°C) y otras dos relacionadas con el desarrollo de daños por frío y utilizadas habitualmente en el circuito de distribución de este tipo de frutas (2 °C y 6 °C). Transcurridos 5, 10 y 18 días (T5, T10 y T18) se procedió a la toma de muestras para la realización de diferentes parámetros. Todos los análisis fueron realizados una vez transcurridos 24 horas a 21 °C, ya que los cambios asociados al desarrollo de esta fisiopatía tienen lugar una vez la fruta es almacenada a temperatura ambiente (T5+1, T10+1, T18+1). Para evaluar la incidencia y desarrollo de este tipo de daños se llevaron a cabo diferentes análisis relacionados con los cambios bioquímicos asociados a esta fisiopatía (la metodología es descrita en el siguiente epígrafe): Actividad respiratoria, síntomas internos de daño por frío (pardeamiento y vitrescencia), producción de etanol y acetaldehído, actividad antioxidante (métodos DPPH y FRAP), concentración de fenoles totales y pérdida de electrolitos.

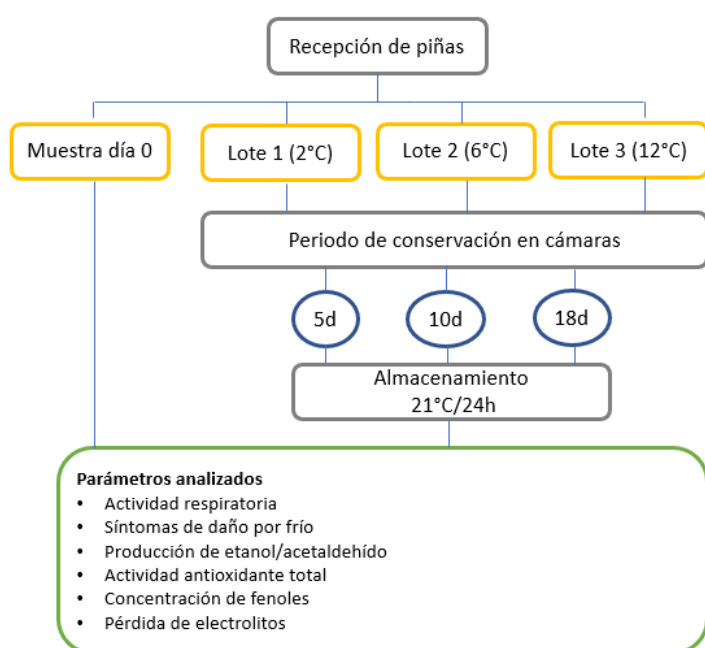


Figura 6: Esquema del desarrollo experimental llevado a cabo en el estudio de los cambios bioquímicos asociados a los daños por frío en piña.

4.3 Métodos y determinaciones analíticas.

4.3.1 Análisis de parámetros físico-químicos

4.3.1.1 Firmeza

La firmeza se evaluó por un procedimiento destructivo de penetración, el cual se define como la fuerza necesaria para introducir en la zona ecuatorial del fruto un vástago cilíndrico. Las medidas instrumentales de textura se llevaron a cabo con el durómetro/penetrómetro modelo AGROSTA 100 (Agrotechnologie; Francia) Los resultados se expresaron en gramos.

4.3.1.2 Sólidos solubles totales (SST)

El contenido en SST se determinó mediante reflectometría con un equipo digital modelo DBX 55 (Atago; Tokio, Japón) que llevaba incorporado un corrector automático de temperatura. Los resultados se expresaron en °Brix a 20°C.

4.3.1.3 Acidez valorable

El contenido total en ácidos naturales se determinó por valoración con una solución de hidróxido sódico por el método potenciométrico. El análisis se realizó por triplicado para cada una de las frutas por el siguiente procedimiento: 1 gramo de zumo obtenido para la determinación de los sólidos solubles se diluyó hasta 100 mL con agua destilada, y se valoraron con hidróxido sódico 0,1 N hasta alcanzar pH=8,1. Se utilizó para la valoración el titulador automático (Crison; Barcelona, España) y la acidez total se expresó en gramos de ácido cítrico por Kg de zumo, por ser éste el ácido mayoritario de las frutas estudiadas

4.3.1.4 Determinación de compuestos volátiles aromáticos por cromatografía de gases-olfatometría (GC-O)

El análisis de los compuestos aromáticos se llevó a cabo mediante una técnica de extracción de compuestos volátiles conocida como SPME (Micro extracción en fase sólida) junto con una técnica de detección de compuestos aromáticos denominada cromatografía de gases-olfatometría (GC-O).

- **Preparación de la muestra**

En primer lugar, se trituro cada uno de los lotes de fruta. Posteriormente, se pesó 50 gramos de muestra y se adicionó un 30% de NaCl con el fin de paralizar la actividad enzimática. Las muestras fueron etiquetadas y almacenadas en congelación hasta el día de análisis.

- **Extracción de aromas por SPME**

Se añadió 7 ml de pasta de fruta descongelada en un vial de 15 mL de capacidad de Supelco (Barcelona, España) cerrado con un septum, y se acondicionó a 50°C durante 20 minutos. Después, la fibra recubierta con una fase estacionaria de divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano de Supelco (Barcelona, España) se expuso al espacio de cabeza durante 40 minutos a 50°C con una agitación de 250 rpm. Los compuestos adsorbidos por la fibra fueron desorbidos en el cromatógrafo de gases durante 5 minutos. En todos los casos el análisis por GC-O se llevó a cabo inmediatamente después del muestreo.

- **Cromatografía de gases-olfatometría (GC-O)**

Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP 4890A (Agilent Technologies) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y un puerto olfatométrico con nariz de vidrio. Además, el equipo estaba provisto de una columna capilar DB-WAX (polietilenglicol) de 30m x 0,32mm suministrada por J&W Scientific (Folsom, CA). Las condiciones cromatográficas fueron: Caudal de hidrógeno (H₂) de 3,5 mL/min como gas portador, inyección splitless, temperatura de inyector y detector de 220°C. El programa de temperatura del horno utilizado fue de 40°C durante 5 minutos, seguido de una rampa de temperatura de 5°C/minuto hasta alcanzar una temperatura de 220°C que se mantuvo durante 10 minutos.

El análisis olfatométrico fue llevado a cabo por una persona. Para cada muestra se indicó el tiempo al que se detectó el aroma, y la descripción y estimación de la intensidad de este en una escala de 1 a 3, siendo 1, leve y 3, muy intenso. Finalmente, los compuestos odorantes se identificaron por comparación de los olores identificados con el índice de retención (LRI) en una columna DB-WAX de los compuestos puros de referencia. En los casos en los que los olores no se pudieron identificar de esta forma, la identificación se realizó de manera tentativa por comparación de los índices de retención y la descripción aromática con otros estudios realizados. (Paraskevopoulou et al., 2012 y Rega et al., 2009).

4.3.2 Análisis de parámetros fisiológicos

4.3.2.1 Evaluación de síntomas daños por frío en piña

Para la evaluación del pardeamiento interno se utilizaron piñas enteras por cada punto de análisis. La incidencia del daño por frío se evaluó según la metodología descrita en (Luengwilai et al., 2018) , basada en analizar el porcentaje del área de corte que presenta síntomas de pardeamiento interno y/o vitrescencia. Previamente se desarrolló una escala que nos permitió cuantificar el porcentaje de área afectado y su relación con la severidad (**Figura 7**).

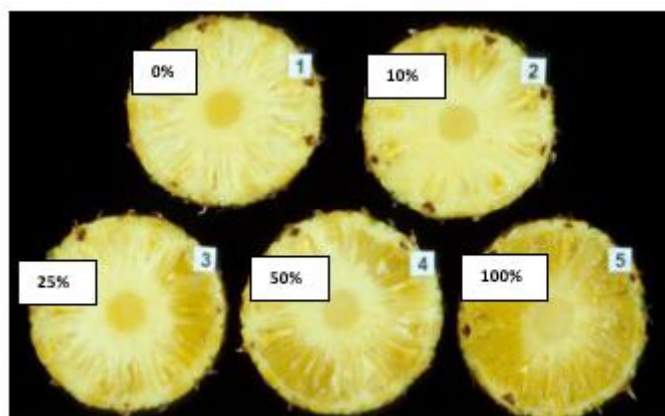


Figura 7: Escala para la cuantificación de daños por frío (ordenado de grado 1 (0% área afectada) a grado 5 (100% área afectada).

4.3.2.2 Análisis de la actividad respiratoria

La determinación de la actividad respiratoria se realizó utilizando el método del sistema cerrado. De modo que las muestras se colocaron en el interior de recipientes herméticos y se determinó la acumulación de CO₂ y el consumo de O₂ trascurridas cuatro horas. Para ello, en primer lugar, se pesó la muestra. Y, tras cuatro horas, se determinó la concentración de O₂ y CO₂ en el interior del recipiente utilizando el equipo OXYBABY (Wittgas; Witten, Alemania). Posteriormente se determinó el volumen libre.

Finalmente, se calculó la velocidad de respiración, expresada en consumo de O₂ (mL O₂/Kg h), y la velocidad de producción de CO₂, expresada en mL de CO₂/Kg h mediante las expresiones siguientes:

$$RO_2 = \frac{V \times ([O_2]t_1 - [O_2]t_2)}{100 \times W \times (t_2 - t_1)} \quad RCO_2 = \frac{V \times ([CO_2]t_2 - [CO_2]t_1)}{100 \times W \times (t_2 - t_1)}$$

Siendo: [O₂]: Concentración de oxígeno (%), [CO₂]: Concentración de dióxido de carbono (%), T1: Tiempo inicial (horas), T2: Tiempo final (horas), V: Volumen libre del recipiente (mL) y W: Peso de la muestra (Kg).

4.3.2.3 Determinación de la producción de etanol y acetaldehído

La determinación del etanol y acetaldehído se llevó a cabo mediante una adaptación del método propuesto por Gorny et al., (1999).

Para ello se añadieron 20 gramos de pulpa a tubos de ensayo de 100 mL de capacidad cerrados a rosca con tapones que presentaban un orificio en el septum de goma de silicona para permitir la extracción de muestra del espacio de cabeza. Los tubos se incubaron a 60°C durante 1 hora y se analizaron 3 réplicas por punto.

Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases con Hewlett Packard 4890 suministrado por Thermoquest (Milán, Italia) equipado con un detector de ionización de llama y una columna HP 19001A-QSO. Se inyectó 1 ml del espacio de cabeza en el cromatógrafo con una jeringuilla Hamilton 1001RN gastight. El análisis por muestra fue de 8 minutos en condiciones isotermas: Temperatura del horno 50°C, detector 150°C y del inyector 50°C. Además, se utilizó como gas portador nitrógeno (N₂).

Finalmente, para la identificación y cuantificación de los picos, se utilizaron diferentes concentraciones de etanol (0 µL, 50 µL, 100 µL, 150 µL, 200 µL y 250 µL) y acetaldehído (0 µL, 5 µL, 10 µL, 15 µL, 20 µL, 25 µL).

4.3.3 Análisis del estado oxidativo de las membranas y de los frutos

4.3.3.1 Pérdida de electrolitos

La pérdida de electrolitos se determinó siguiendo el método descrito por (Kou et al., 2014) con modificaciones en cuanto a la recogida de muestra descritas en (Luengwilai et al., 2018). Donde se establece que el tejido de fruta debe ser cortado en piezas de 0,5 cm x 0,5 cm x 0,5 cm de tamaño. Una vez troceada la piña, se tomaron 15 g de pulpa de piña y se sumergieron en 300 mL de agua destilada durante 30 minutos a 20°C. El contenido de electrolitos de la solución acuosa se determinó midiendo la conductividad de esta con un conductímetro (pHmetro/conductímetro FE20 con electrodo LE 409 (pH: 0-14, 0-80°C) suministrado por Mettler Toledo. Posteriormente, se congeló a -20°C la misma cantidad pulpa durante 24 horas. Una vez se descongelaron las muestras a temperatura ambiente, se realizó el mismo análisis descrito anteriormente con el fin de determinar el contenido total de electrolitos. La pérdida de electrolitos se expresó en base al % de electrolitos totales.

4.3.3.2 Determinación de la capacidad antioxidante total

La determinación de la capacidad antioxidante total se llevó a cabo mediante dos métodos distintos:

- **Método del radical libre DPPH**

Para determinar la capacidad antioxidante total se mezclaron en cubetas de espectrofotometría 900 µL de reactivo DPPH junto con 450 µL, 110 µL y 30 µL de extracto y 450 µL de, 790 µL y 870 µL de disolución etanol/agua al 80%, respectivamente. La absorbancia se midió a 515 nm en el espectrofotómetro (Unicam; Waltham, USA). tras 2 horas y media de incubación de las muestras en oscuridad. Se realizaron tres réplicas por cada punto y concentración. Para extrapolar la capacidad antioxidante total se elaboró una recta patrón a

partir de una disolución de Trolox de 100 μ M elaborada a partir de una solución madre de Trolox de 10 mM.

- **Método de reducción férrica (FRAP)**

En este caso, se utilizó el reactivo FRAP. Para su preparación se mezclaron 25 mL de tampón acetato 23 mM, 2,5 mL de TPTZ y 2,5 mL de cloruro férrico (III) hexahidratado 20 mM. Para llevar a cabo el ensayo se añadieron en cubetas de espectrofotometría 120 μ L de muestra y 900 μ L de reactivo FRAP. Posteriormente, se midió la absorbancia de las muestras a 595 nm en el espectrofotómetro (Unicam; Waltham, USA) tras ser incubadas en oscuridad durante 20 minutos. Finalmente, para extrapolar la capacidad antioxidante total se elaboró una recta patrón a partir de una solución de Trolox de concentración 1000 μ L.

4.3.3.3 Determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales

La determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales se llevó a cabo mediante el método Folin-Ciocalteu. Para ello se añadieron en tubos de ensayo 0,5 mL de extracto, 0,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y tras 5 minutos y posterior agitación, se añadieron 0,5 mL de NaCO_3 al 7,5% y 7 mL de agua destilada. Finalmente, tras agitación los tubos de ensayo se almacenaron en oscuridad durante una hora para que se desarrollara la reacción. Por último, se midió la absorbancia de la muestra a 760 nm para extrapolar el contenido de compuestos fenólicos totales a partir de una recta patrón elaborada con ácido gálico.

5. Resultados

5.1 Determinación de la influencia de la temperatura de almacenamiento en la calidad comercial.

5.1.1 Piña (variedad *Golden Sweet*)

La piña es un fruto no climatérico, de modo que una vez recolectadas, no desarrolla ningún cambio significativo que afecte a su madurez. Esto se debe a que, una vez cosechado el fruto, no varía apenas la tasa de respiración ni tampoco la síntesis de etileno, lo que implica un efecto sobre sus características organolépticas (sabor, aroma, color, etc.). Debido a ello, su cosecha temprana es indeseable, ya que deben ser recolectadas en el momento en el cual alcanzan la madurez óptima. La calidad comercial de la piña viene determinada normalmente por uniformidad de tamaño y forma, firmeza aceptable. Así como la inexistencia de pudriciones, quemaduras de sol, agrietamientos, magulladuras, daños internos, pardeamiento interno, gomosis y daños por insectos. Además, también influyen otros parámetros como el contenido en sólidos solubles (11-18%) y la acidez titulable (0,5-1,6% ácido cítrico). A continuación, se

presentan los resultados obtenidos sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento en los parámetros físico-químicos más importantes: firmeza, contenido en sólidos solubles y acidez titulable.

En el caso de la piña, los valores de firmeza iniciales fueron de unos 1.900g. Al comparar los datos de firmeza (**Figura 8.A**) obtenidos en ambas temperaturas durante todo el almacenamiento, respecto a los obtenidos en el día inicial (T0), se observó una reducción significativa en todos puntos de análisis. Esto concuerda con los resultados presentados por Huigang et al. (2011) en piñas variedad “Comte de París” almacenadas durante 21 días a 7°C, donde a lo largo de todo el almacenamiento se observó una disminución gradual de la firmeza. Además, tras 12 días de conservación (T12) se observó una diferencia significativa entre la firmeza de las piñas almacenadas a 2°C y 7°C, siendo la firmeza menor en esta última temperatura de almacenamiento. Sin embargo, esta diferencia no se encontró en T18, donde todas las piñas presentaron valores próximos a 1000g.

Por otro lado, en el caso de la piña almacenada a 2°C (**Figura 8.B**), se observó una disminución en el contenido de SST, mientras, en piña almacenada a 7°C, los valores se mantuvieron siempre cercanos a los 14,0 °Brix salvo a partir de los 18 días de almacenamiento, donde se obtuvo una reducción significativa el valor de °Brix. Esto concuerda con los datos obtenidos por Kegian et al. (2013), donde el contenido de sólidos solubles aumenta lentamente hasta los 12 días en piñas almacenadas a 6°C y 10°C para posteriormente disminuir significativamente en el día 18 de almacenamiento.

Finalmente, en cuanto a la acidez (**Figura 8.C**), se observó en ambas temperaturas de almacenamiento una disminución significativa respecto a T0 en el día 12 de almacenamiento. De modo que del 1,45% de ácido cítrico inicial se pasó al 0,98% y 0,76% para 2°C y 7°C, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos por Huigang. et al., (2011) en un estudio llevado a cabo con piñas de la variedad “Comte de París” almacenadas a 7°C durante 21 días. Además, a partir de T12 también se observó que la acidez de las piñas almacenadas a 2°C fue significativamente superior a la de aquellas que fueron almacenadas a 7°C

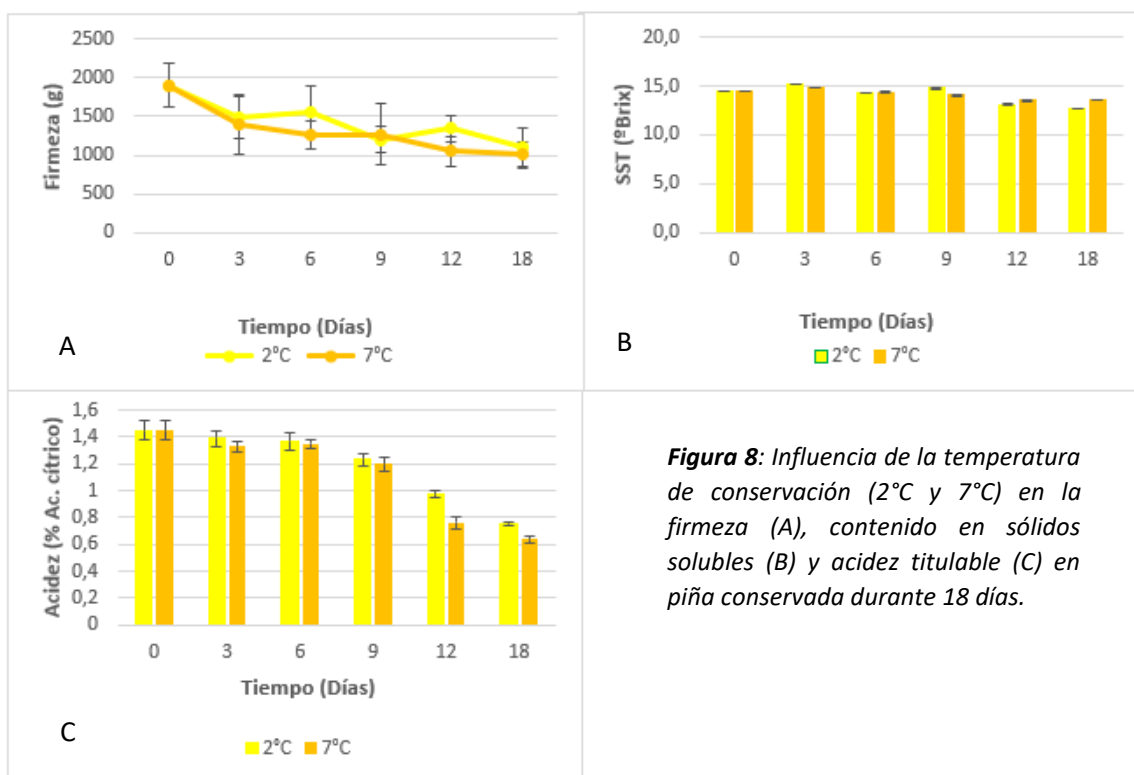


Figura 8: Influencia de la temperatura de conservación (2°C y 7°C) en la firmeza (A), contenido en sólidos solubles (B) y acidez titulable (C) en piña conservada durante 18 días.

En cuanto al perfil aromático de la piña (**Anexo I**) se observaron compuestos comunes entre aquellas almacenadas a 2°C y 7°C. En este caso, estos compuestos comunes son sobre todo ésteres (Butaonato de etilo, 2-metilbutaonato de metilo, 2-metilbutaonato de etilo y pentaonato de etilo) que dan lugar a olores a dulces afrutados y que disminuyeron su intensidad a lo largo del almacenamiento, siendo este descenso menor en aquellas piñas almacenadas a 7°C. Los ésteres son el principal grupo de compuestos volátiles que conforman el perfil aromático de la piña según Zheng et al., (2012), representando casi el 80% del aroma de las piñas, seguido de compuestos azufrados, hidrocarburos y lactonas según los resultados que se recogen en la investigación llevada a cabo por Kaewtatip y Charoenrein, (2012). El resto de los compuestos comunes detectados fueron dos aldehídos, uno productor de aroma a césped (Z-6-Decenal) y otro que da lugar a un aroma suave a patata cocida (Metional). En el caso de los aldehídos, las puntuaciones obtenidas, al igual que en los ésteres, fueron elevadas al inicio y fueron decreciendo a lo largo del almacenamiento, siendo este descenso más acusado a la temperatura menor. Estos datos concuerdan con los encontrados en Kaewtatip y Charoenrein, (2012) donde la intensidad aromática de los compuestos volátiles disminuyó en gran medida a temperaturas cercanas a los 4°C. Por otro lado, también se detectaron compuestos diferentes entre muestras. Es el caso de compuestos como el limoneno (cítrico), hexaonato de etilo (afrutado) y E-2-Hexenal (hierba) que se detectaron únicamente en piñas conservadas a 7°C. Hay que destacar, que el hexaonato de etilo según Takeoka et al. (1991) es uno de los compuestos

que más contribuyen al aroma de la piña. De forma que el almacenamiento a 7°C parece indicar que es capaz de preservar mejor el aroma característico de la piña. Finalmente, hay que destacar compuestos como el isobutirato de etilo que se dejó de detectar a medida que avanzaba el almacenamiento, o, el ácido hexanoico que se comenzó a detectar a partir del sexto día.

5.1.2 Tomate (variedad *Rosa de Barbastro*)

La calidad comercial del tomate viene determinada normalmente por su color externo y ausencia o presencia de defectos, pero también se ve influenciada por atributos como la firmeza, el contenido de sólidos solubles o la acidez titulable. Han sido varios los estudios que han analizado la influencia de la temperatura de almacenamiento sobre diferentes parámetros físico-químicos del tomate como por ejemplo Artes y Escriche (1994), que concluyeron que el almacenamiento a 9°C era el adecuado para tomates var. *Darío F-150*, o el realizado por Nardos, et al., (2015), en el que se comprobó que el proceso de maduración se ralentizaba a medida que descendía la temperatura de almacenamiento.

A diferencia del estudio llevado a cabo por Nardos, et al., (2015), en el que se comprobó un efecto positivo del almacenamiento de tomate a baja temperatura sobre el mantenimiento de su firmeza, en nuestro estudio no se observaron diferencias significativas entre aquellos tomates almacenados a 2°C y 7°C. En ambas condiciones de almacenamiento, los frutos sufrieron un ablandamiento significativo durante la conservación, pasando de una firmeza inicial de aproximadamente de 2000g a 1000g (**Figura 9.A**). Lana et al., (2005), obtuvo un resultado similar en tomates conservados entre en un rango de temperaturas entre 2°C y 8°C, donde también se comprobó una pérdida de firmeza del fruto, pero ésta fue menor. Existen otras variedades de tomate menos susceptibles al ablandamiento. Un estudio llevado a cabo por Artes y Escriche (1994) demostró un mínimo ablandamiento de tomates variedad *Darío F-150* conservados durante 28 días a 12°C.

Además, se observó que la temperatura no influyó de forma significativa sobre el contenido en sólidos solubles (**Figura 9.B**) a pesar de que los tomates conservados a 7°C mostraron valores un poco más altos que los almacenados a 2°C. Datos similares se reflejaron en la investigación realizada por Nardos, et al., (2015), donde no se produjeron diferencias significativas en el contenido de sólidos solubles entre tomates almacenados a 4°C, 20°C y 30°C durante 10 días.

En cuanto a la acidez titulable (**Figura 9.C**), no se detectaron diferencias significativas entre frutos almacenados a 2°C y 7°C. Estos datos son contrarios a los obtenidos por Nados, T. et al., (2015), donde se establece que, a mayor temperatura, mayor es la tasa de respiración y de maduración, y, por tanto, mayor pérdida de ácidos orgánicos y menor acidez. Esto podría deberse al consumo de ácidos orgánicos como sustrato en el proceso de respiración del tomate (Lurie y Klein, 1990).

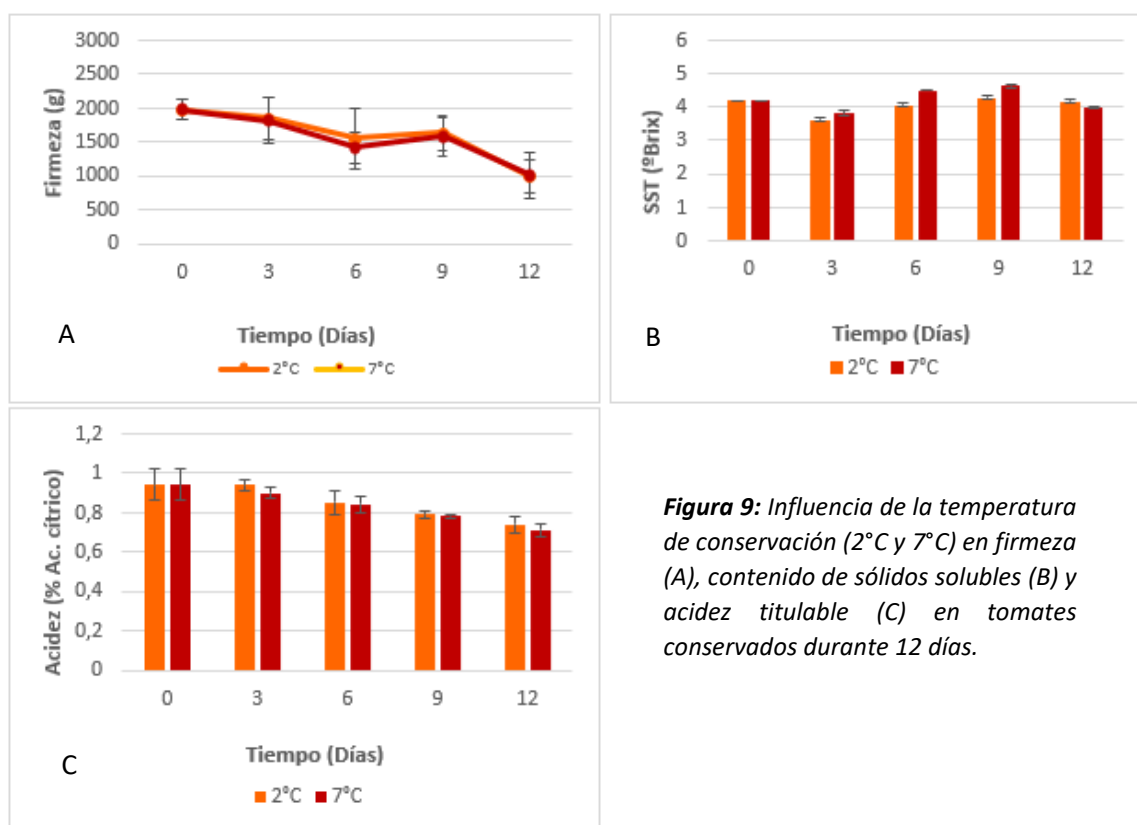


Figura 9: Influencia de la temperatura de conservación (2°C y 7°C) en firmeza (A), contenido de sólidos solubles (B) y acidez titulable (C) en tomates conservados durante 12 días.

En cuanto al perfil aromático, como se puede observar en (**Anexo II**), se detectaron compuestos comunes en tomates almacenados a 2°C y 7°C a lo largo del almacenamiento. Dos aldehídos productores de aroma a césped (Hexanal y E-2-hexenal) y un éster que da lugar a un aroma dulce afrutado (Butaonato de etilo). En el caso de los aldehídos hay que destacar que, según Li, et al., (2009) el aroma del tomate se debe mayoritariamente a aldehídos volátiles, entre los cuales se encuentra el E-2-hexenal. Además, en el caso de nuestra investigación se observó que las puntuaciones obtenidas por parte de estos compuestos fueron máximas al inicio, decreciendo posteriormente a lo largo del almacenamiento. Por otro lado, también se detectaron compuestos diferentes entre las muestras almacenadas a diferentes temperaturas. Por ejemplo, compuestos que dan lugar a olores a césped, bosque, hortaliza etc. como por ejemplo el Z-3-Hexenal, Z-3-Hexen-1-ol o E-2-Z-6-nonadienal se detectaron únicamente al

comienzo del almacenamiento, es decir, cuando el fruto está en un grado de madurez inferior. Estos compuestos fueron desapareciendo durante el estudio de vida útil. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Markovic et al. (2006), donde se establece que el Z-3-Hexenal es un compuesto volátil con aroma a hierba característico de tomates frescos y, que, por tanto, pierde intensidad a medida que avanza el almacenamiento, relacionándose significativamente con el aroma a fresco del tomate y directamente con su calidad comercial, concluyendo así que el aroma característico del tomate fresco se conserva mejor a 7°C que a 2°C. Es decir, un tiempo de exposición del fruto demasiado largo a temperaturas utilizadas habitualmente en exportación, inhibirá el desarrollo del aroma característico del fruto influyendo notablemente en la aceptación por parte del consumidor.

5.1.3 Arándanos (variedad *Duke*)

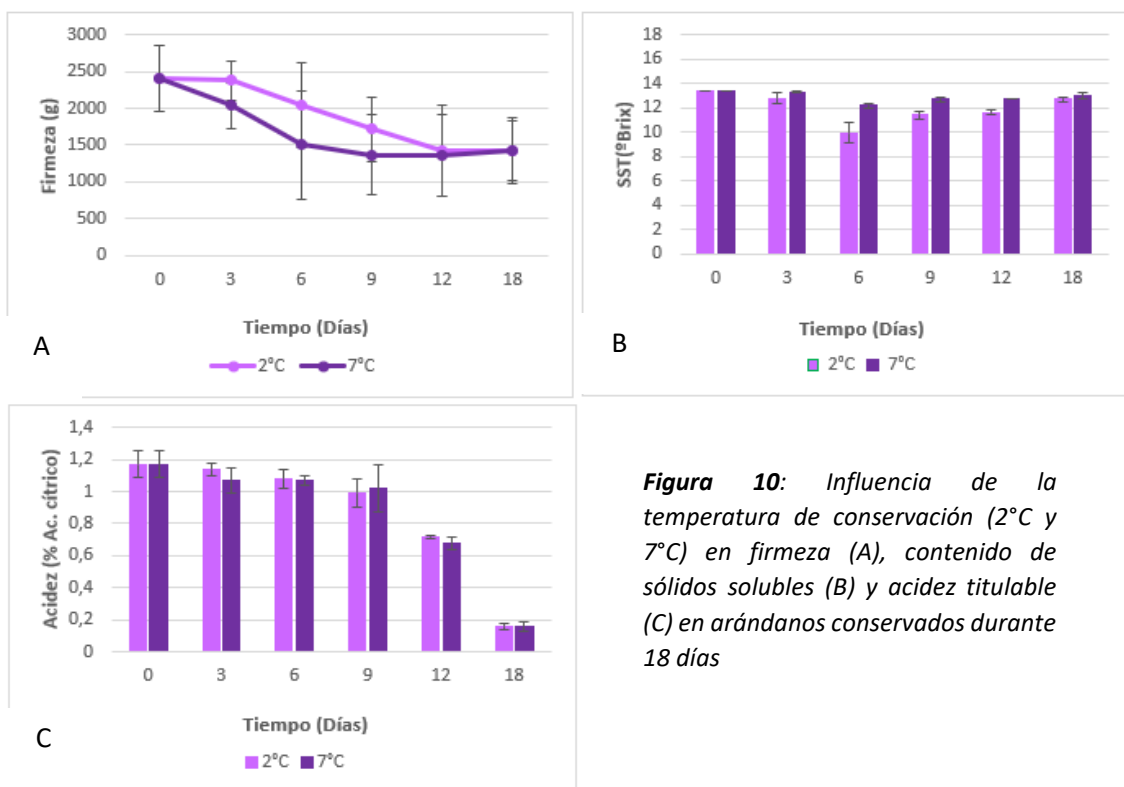


Figura 10: Influencia de la temperatura de conservación (2°C y 7°C) en firmeza (A), contenido de sólidos solubles (B) y acidez titulable (C) en arándanos conservados durante 18 días

En los últimos años, los arándanos y frutos rojos han ido ganado popularidad entre los consumidores debido a sus propiedades saludables y elevada concentración de compuestos antioxidantes. Las actuales exigencias de los consumidores implican aplicar nuevas tecnologías y herramientas en el método de cosecha, el manejo poscosecha y la temperatura de almacenamiento en estas frutas más susceptibles y de elevado valor añadido. Al igual que en los otros dos productos se llevó a cabo un estudio sobre la influencia de esas dos temperaturas

comúnmente empleadas en la distribución sobre diferentes parámetros físico-químicos y la influencia en su perfil aromático. Los resultados se muestran en (**Figura 10**).

En el caso de los arándanos, los valores medios iniciales de firmeza (**Figura 10.A**) fueron de aproximadamente 2400g. Desde el primer día de almacenamiento los arándanos almacenados a 7°C sufrieron un mayor ablandamiento. A partir del día 12 y, los valores de firmeza de los frutos conservados a una y otra temperatura fueron similares. Hay que destacar también, que las grandes desviaciones obtenidas en esta determinación se deben a los distintos tamaños que presentaban los arándanos. Otros autores Chiabrando et al., (2009) también han observado este comportamiento, obteniendo valores de firmeza más elevados cuanto menor es el tamaño del arándano, y que podría estar relacionado con una menor susceptibilidad a la deshidratación o pérdida de peso, y, por tanto, menor pérdida de turgencia.

Por otro lado, como se observa en (**Figura 10.B**), a lo largo del periodo de conservación el contenido de sólidos solubles totales se mantuvo estable con valores comprendidos entre 12 y 13 °Brix para ambas temperaturas de almacenamiento, siendo un poco inferiores en el caso de los frutos almacenados a 2°C y que podría estar relacionado con una pérdida de dulzor y sabor característico ya que a partir del octavo día también se comprobó un descenso muy acusado de la acidez (**Figura 10.C**). Chiabrando et al. (2009) observaron un comportamiento similar en arándanos de la variedad *Coville* y *Bluecrop*, almacenados durante 5 semanas a temperaturas de 0°C.

Por otro lado, en el perfil aromático de arándanos (**Anexo III**) se observaron compuestos comunes entre aquellos almacenados a 2°C y 7°C. Un alcohol como el 1-Butanol (como se recoge en Forney (2001), la mayor parte del aroma en arándanos se debe a alcoholes), que da lugar a un aroma dulce, un éster como el acetato de isoamilo que es causante de aroma a flor y finalmente dos aldehídos (E-2-Hexenal y Z-3-Hexen-1-ol) que dan lugar a aromas a hierba y flor, respectivamente. En todos ellos las puntuaciones obtenidas fueron disminuyendo a lo largo del almacenamiento, siendo este, más rápido en aquellos arándanos almacenados a 2°C. Además, de todos ellos únicamente un compuesto obtuvo la máxima puntuación, el E-2-Hexenal. De modo que de acuerdo con (Horvat y Senter, 1985) que informaron que la mezcla de los compuestos E-2-hexenal, T-3-hexenol, E-2-hexenol, linalol y geraniol da lugar al aroma de arándanos, y en base a nuestros resultados, se observa que cuanto menor es la temperatura, el arándano sufre una pérdida más rápida de su aroma característico. Además, en (Almenar et al., 2008) se observó que, en arándanos almacenados durante 18 días a 10°C, compuestos volátiles

característicos del mismo como el nonanal o el E-2-hexenal, aumentaron su intensidad aromática a lo largo del periodo de almacenamiento.

Finalmente, compuestos como el pineno, butanoato de etilo y hexanal que se dejaron de detectar a medida que avanzaba el almacenamiento. Otros compuestos como el 1-Hexanol, al igual que en Almenar et al., (2008) se comenzaron a detectar a partir del sexto día de almacenamiento. Hay que destacar que estos compuestos se detectaron antes en aquellos arándanos almacenados a 7°C.

5.2 Estudio de los daños por frío en piña como ejemplo de deterioro fisiológico: efecto sobre los parámetros fisiológicos y el estado oxidativo del fruto.

Uno de los parámetros de calidad comercial de la piña más utilizados habitualmente, junto al **pardeamiento interno** es el **nivel de translucidez de la pulpa** que tiene que ser el mínimo posible ya que es motivo de rechazo. La translucidez se presenta cuando los espacios intercelulares se llenan de líquido debido a la pérdida de la permeabilidad en las membranas y a cambios en el potencial osmótico de las células Paull y Chen, (2003).

En el presente estudio los síntomas visibles por daño por frío comenzaron a detectarse a partir del quinto día de conservación, donde el 25% de las piñas almacenadas a 2°C mostró pardeamiento interno y translucidez de la pulpa debido probablemente, como ya se ha demostrado en diferentes investigaciones (Nukuntornprakit et al., 2015) y (Luengwilai et al. 2018), a roturas de las membranas de la pared celular. En piñas almacenadas a 6°C y 12°C, el quinto día de almacenamiento se observaron zonas translúcidas siendo la incidencia del 50% igual en ambas. Luengwilai et al. 2018 también observaron un comportamiento similar en piñas de la variedad *Trad Sri Thong*, en las que tras 8 días de conservación a 10°C se detectó el desarrollo de pardeamiento interno en la pulpa. La incidencia de daños en las piñas almacenadas a 2°C se incrementó de un 25% a un 100% tras 10 días de conservación a esa temperatura. En este estudio, la incidencia fue un 50% menor cuando los frutos fueron almacenados a 6°C (10 días). Tras 18 días de conservación a 6°C, la totalidad de las piñas que componían el lote mostraron síntomas de daños por frío. Este resultado es importante tenerlo en cuenta ya que la mayoría de las piñas que proceden de importación han sido almacenadas/transportadas en un rango de temperaturas por debajo de los 6°C, lo que llevará asociado el desarrollo de este tipo de fisiopatías cuando lleguen al consumidor. En cuanto a las piñas conservadas a 12°C, si bien es cierto que no se encontraron síntomas evidentes de este tipo de deterioro fisiológico, tras 18 días de almacenamiento los frutos se caracterizaron por estar sobremaduros y presentar un ablandamiento excesivo, y, en algunos casos, desarrollo de mohos en la piel y hojas del fruto.

Han sido varias las hipótesis planteadas como posible explicación al desarrollo de pardeamientos internos en tejidos vegetales que sufren daños por frío, pero la que ha sido más defendida y demostrada en diferentes investigaciones (Salvador et al., 2000) es en la que se plantea un incremento de la permeabilidad del tonoplasto. Eso facilitaría el contacto entre los compuestos fenólicos disueltos en la vacuola con las enzimas polifenoloxidasas del citoplasma dando lugar al pardeamiento (Artés y Artés Hernández, 2003). Además, se ha demostrado un aumento en la fuga de electrolitos en granada (Ramezani et al., 2010) y mango (Dea et al., 2010) almacenados a bajas temperaturas, así como un aumento en las actividades del enzima fenilalanina amonio liasa (sintetiza compuestos fenólicos) y de la enzima polifenoloxidasa en cítricos sometidos a daños por frío (Salvador et al. 2000).

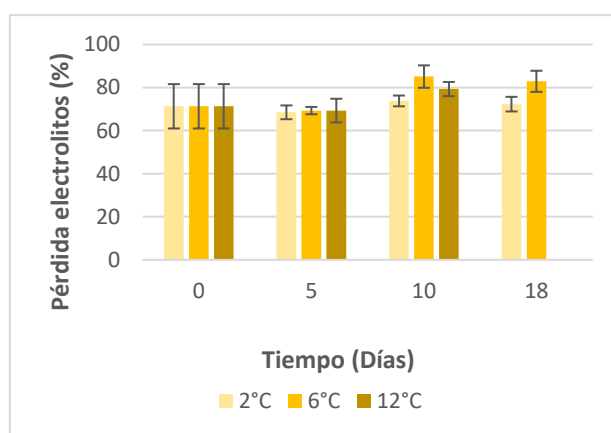


Figura 11: Pérdida de electrolitos (%) en piñas almacenadas a 2°C, 6°C y 12°C durante 5, 10 y 18 días a dichas temperaturas más 1 día a 21°C.

En frutos sensibles a daños por frío, las temperaturas de refrigeración superiores a la temperatura de congelación provocan la pérdida de estructura bicapa lipídica y finalmente la lisis celular. En este TFG se ha evaluado el **estado oxidativo** y la **integridad de las membranas celulares** mediante el **porcentaje de salida de electrolitos**. Este parámetro, ha sido utilizado por diversos autores para el estudio de diferentes factores sobre la susceptibilidad al desarrollo de daños por frío en distintos tipos de fruta como la ciruela (Pérez et al., 2004) y la pitahaya (Quiroz-González et al., 2017). En nuestro estudio, la mayor pérdida de electrolitos se obtuvo en las piñas almacenadas a las temperaturas más altas, lo que puede estar relacionado con la desestructuración de las membranas, típica del propio proceso de maduración y que resulta más elevada que la que pueda relacionarse a la respuesta ante el estrés provocado por las bajas temperaturas. Ramojaro (2016) obtuvo resultados similares en pulpa de chirimoya, la cual al igual que la piña, es una fruta susceptible de sufrir daños por frío si es almacenada a temperaturas inferiores a 10°C. En este estudio, la mayor salida de electrolitos también se dio en aquellos frutos almacenados a temperaturas mayores. Al igual que en nuestro caso, los frutos almacenados a bajas temperaturas presentaron una menor pérdida de electrolitos (**Figura 11**)

En general, en la mayoría de las frutas, la temperatura es el factor externo más importante capaz de influir sobre la **actividad respiratoria** del fruto. En temperaturas asociadas a daños por frío, podría observarse un aumento de la tasa respiratoria asociado a una aceleración del metabolismo debido al estrés inducido por las bajas temperaturas. En nuestro caso, no se observaron diferencias significativas entre la actividad respiratoria de las piñas almacenadas a 2°C, 6°C y 12°C, ni como consumo de O₂ (mL O₂/kg h) ni como producción de CO₂ (mL CO₂/kg h). En todos los casos se detectó un incremento significativo a los 5 días de almacenamiento permaneciendo estable hasta el final del estudio de vida útil.

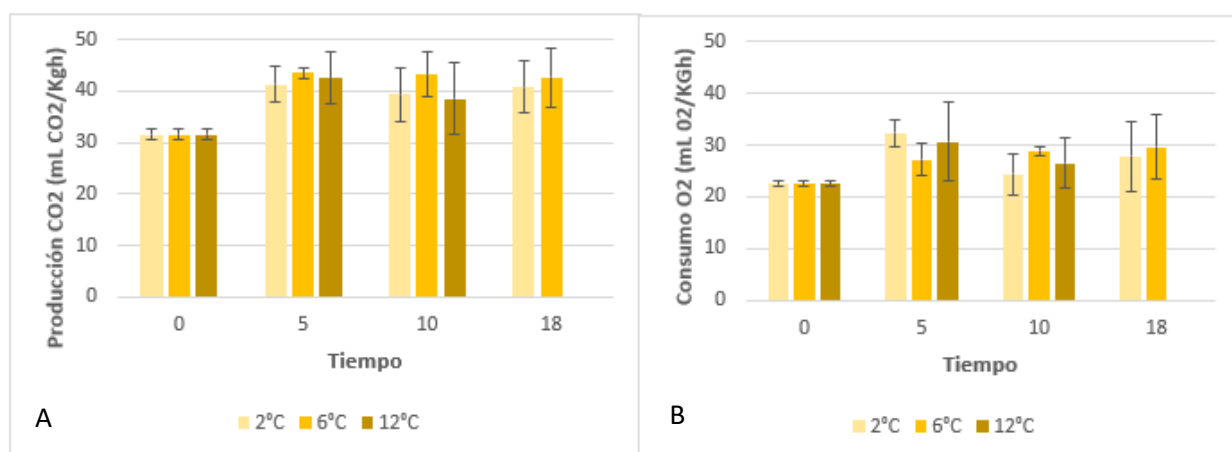


Figura 12: Actividad respiratoria expresada como producción de CO₂ (mL CO₂/kg h) (A) y como consumo de O₂ (mL O₂/kg h) (B) en piñas almacenadas a 2°C, 6°C y 12°C durante 5, 10 y 18 días de almacenamiento a dichas temperaturas más 1 día a 21°C.

Los daños por frío, además de afectar a la estructura de las membranas, también producen efectos sobre las enzimas de membrana encargadas de catalizar las reacciones asociadas al metabolismo respiratorio. La exposición a bajas temperaturas provoca una disminución de la tasa de respiración, con lo que disminuye la síntesis de ATP y esto provoca la activación de procesos fermentativos que dan lugar a la acumulación de **etanol y acetaldehído** en las células (Ramojaro, 2016). Esto ha sido comprobado por varios autores en distintas frutas como la mandarina (Meier et al., 2004) y el melón (Sahagún et al., 2005), donde se comprobó que cuanto menor era la temperatura de almacenamiento, mayor era la producción de acetaldehído y etanol. En nuestro estudio, también se comprobó un comportamiento similar (ver **Figura 12.A y 12.B**). Tras los 18 días de almacenamiento, la mayor concentración tanto de acetaldehído como de etanol se produjo en los frutos almacenados a las temperaturas de daño, siendo el efecto mayor a 2°C y más elevado sobre la producción de etanol (**Figura 13**).

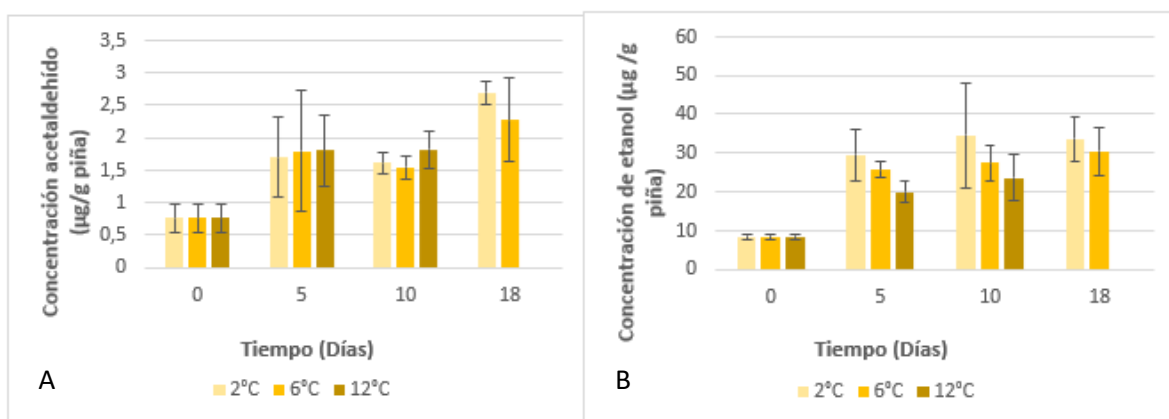


Figura 13: Concentración de acetaldehído (µg/ g piña) (A) y de etanol (µg/ g piña) (B) en piñas almacenadas a 2°C, 6°C y 12°C durante 5, 10 y 18 días de almacenamiento a dichas temperaturas más 1 día a 21°C.

Además del efecto directo de las bajas temperaturas sobre la estructura de la membrana, la pérdida de la integridad de la membrana está de por sí inducida por los procesos oxidativos, ya que el almacenamiento a bajas temperaturas produce un estrés que aumenta la concentración de especies reactivas de oxígeno o ROS. Produciéndose el llamado **estrés oxidativo** cuando la concentración de especies activas de oxígeno es mayor a la capacidad que tiene la planta para capturarlas. En primer lugar, debido a una perturbación como podrían ser las bajas temperaturas, se produce un aumento de ROS como por ejemplo el peróxido de hidrógeno. Como consecuencia de esto, se inician un sin número de modificaciones en el metabolismo celular como pueden ser la síntesis de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos los cuales sirven para aliviar la respuesta al estrés. Sin embargo, si el estrés se prolonga en el tiempo, el sistema es sobrepasado y puede ocurrir daño celular y subcelular como por ejemplo un aumento de la peroxidación lipídica que acelera la desintegración de la membrana dando lugar a un aumento de su permeabilidad (Aghdam et al. 2015; Sevillano et al., 2009; Toivonen, 2004).

En nuestro caso, nos importan aquellos **mecanismos de defensa de carácter antioxidante**, cuya función es la de mitigar las alteraciones oxidativas, para evitar la aparición de alteraciones y lesiones celulares. Se entiende por antioxidantes a aquellas moléculas que impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, debido a que estos reaccionan o interactúan más rápidamente con los ROS que el resto de las moléculas (Halliwell y Gutteridge, 1989). Dentro de los mecanismos antioxidantes, encontramos dos tipos: los enzimáticos y los no enzimáticos. En cuanto a los sistemas no enzimáticos, comprenden un amplio grupo de sustancias que pueden actuar como captadores de radicales libres o como quelantes de iones metálicos. De entre todas estas sustancias, se encuentran los compuestos fenólicos. Los cuales presentan una gran variedad de estructuras y de funciones, además de ser metabolitos secundarios de las plantas.

Con el objetivo de analizar la respuesta del fruto a las temperaturas relacionadas con la aparición de daños por frío, se determinó en cada día de análisis tanto la concentración de ***fenoles totales*** como la ***actividad antioxidante total***. Los resultados se incluyen en las **Figuras 14; Figura 15.A y 15.B.**

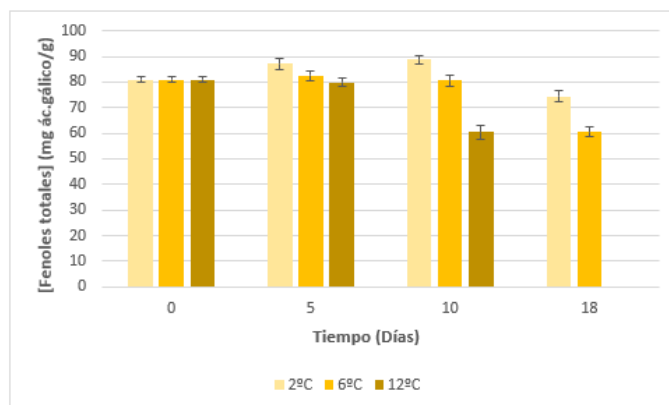


Figura 14: Concentración de fenoles totales (mg ácido gálico/g) en pulpa de piña almacenada a 2°C, 6°C y 12°C durante 5, 10 y 18 días a dichas temperaturas más 1 día a 21°C.

En cuanto al contenido de fenoles totales (**Figura 14**), en nuestro estudio, al igual que en el realizado por Ramojaro, (2016) sobre calabacín y chirimoya almacenados a 1°C, las piñas almacenadas a la temperatura de daño (2°C y 6°C) fueron las que presentaron la mayor concentración de fenoles pasando de 81,0 mg ácido gálico/g inicial a 87,1 y 88,7 mg ácido gálico/g, tras 5 y 10 días de conservación a 2°C más un día a 21°C. Según la hipótesis planteada por Toivonen (2004), tras 5 días de almacenamiento los frutos sintetizaron sustancias antioxidantes para aliviar el aumento de la concentración de ROS, como consecuencia de la exposición a esa temperatura extrema. Este aumento de la capacidad antioxidante se deberá en parte, a la presencia de compuestos fenólicos. Tras 18 días de almacenamiento se observó un descenso generalizado en todos los lotes analizados. Este descenso fue mayor en el caso de las piñas almacenadas a 12°C, lo que podría estar relacionado con el proceso de maduración y senescencia. Han sido varias las investigaciones en las que se ha evaluado la relación de los mecanismos de defensa de carácter antioxidante con la respuesta del fruto al estrés por exposición a temperaturas de daño (Luengwilai et al., 2018; Nukuntornprakit et al., 2015). Al contrario que lo observado por nosotros, Luengwilai et al., 2018 no detectaron ninguna variación en la concentración de fenoles a lo largo de todo el almacenamiento en piñas almacenadas a 10°C, una temperatura similar a la ensayada en nuestro estudio.

Tal y como se ha indicado anteriormente, además de analizar la concentración de fenoles totales, se determinó la actividad antioxidante total. Existen una gran variedad de

métodos para evaluar la actividad antioxidante, pero ninguno está oficialmente aprobado ni estandarizado.

Durante la realización de este TFG se han utilizado dos metodologías diferentes: el método FRAP y el método del radical DPPH (ambos basados en la transferencia de electrones). Mediante el análisis con el método FRAP (**Figura 15.A**), aunque se observó un descenso brusco de la capacidad antioxidante tras los 5 primeros días de almacenamiento, al igual que en el análisis de fenoles totales, la mayor actividad antioxidante se encontró en las piñas almacenadas a 2°C y 6°C. En el caso de la actividad antioxidante determinada mediante el método DPPH (**Figura 15.B**), existe una mejor correlación con la concentración de fenoles totales observándose un comportamiento similar. Según los resultados de (Nukuntornprakit et al., 2015) el descenso de la actividad antioxidante total se debe a que la exposición a bajas temperaturas durante largos periodos de tiempo produce un aumento de ROS y un descenso en la concentración de ácido ascórbico y antioxidantes. Otros autores también han evidenciado un incremento en la capacidad antioxidante de piña almacenada a diferentes temperaturas. (Luengwilai et al. 2018), observaron un incremento de 0,9-1,4 mmol AAE/L a 2,4-3,2 mmol AAE/L, tras 10 días de almacenamiento de los frutos a 10°C.

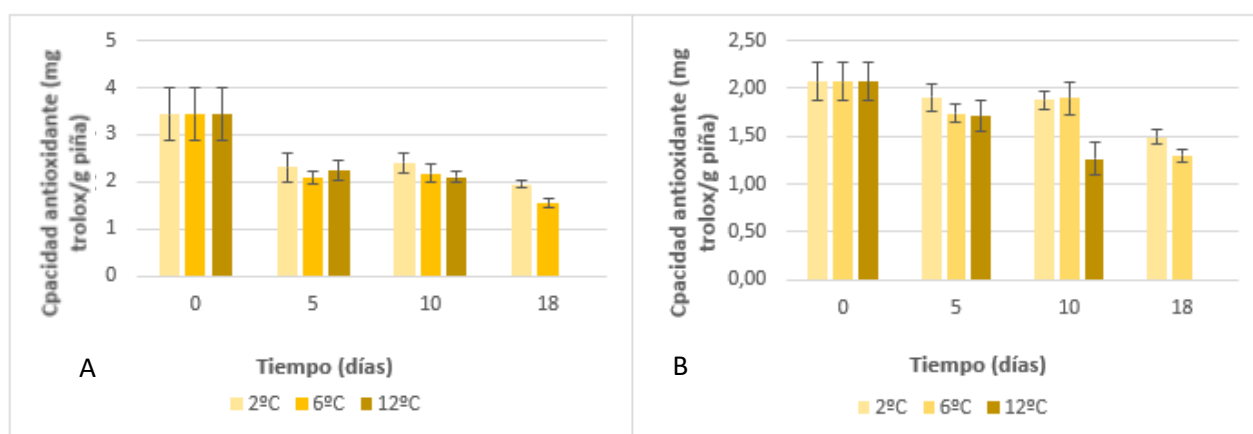


Figura 15: Capacidad antioxidante total (mg trolox/g piña) determinada por el método FRAP (A) del radical libre DPPH (B) en piñas almacenadas a 2°C, 6°C y 12°C durante 5, 10 y 18 días a dichas temperaturas más 1 día a 21°C.

6. Conclusiones

En el caso de la piña (variedad *Golden Sweet*), el parámetro físico-químico más dependiente de la temperatura de almacenamiento fue la firmeza. Aunque a partir de los tres días, todos los frutos mostraron un ablandamiento, este fue superior en el caso de las piñas almacenadas a 7 °C. Al final del estudio, la firmeza de ambos lotes fue similar. No se observó una influencia significativa en el valor de °Brix. Todas las piñas mostraron un descenso de la acidez

titulable a lo largo del estudio, siendo mayor en los últimos días en el caso de los frutos almacenados a 7 °C.

La temperatura de almacenamiento no tuvo un efecto significativo sobre ninguno de los parámetros físico-químicos evaluados en el análisis de la calidad comercial del tomate (variedad *Rosa de Barbastro*), conservado durante 18 días. Sí que se comprobó una influencia notable en el perfil aromático del fruto.

Desde el primer día de almacenamiento los arándanos (variedad *Duke*) almacenados a 7 °C, sufrieron un mayor ablandamiento. A partir del día 12 de almacenamiento, los valores de firmeza de los frutos conservados a una y otra temperatura fueron similares. En ese mismo día y en ambos lotes, se comprobó un descenso muy brusco de la acidez, que estuvo relacionado con una pérdida de sabor característico.

Cada una de las frutas estudiadas presenta diferentes grupos de compuestos volátiles mayoritarios (ésteres, aldehídos y alcoholes en piña, tomate y arándano, respectivamente), caracterizándose la piña por presentar el perfil aromático más complejo, tanto en número de compuestos como en intensidad. En todos los casos, el número de compuestos detectados, así como su intensidad, disminuyó con el tiempo de almacenamiento, siendo estos cambios más significativos en los productos conservados a 2 °C.

De los parámetros de calidad comercial evaluados, la firmeza y el perfil aromático son los más afectados por la temperatura de almacenamiento. La combinación de un transporte, durante un tiempo moderado, a 2°C con un almacenamiento posterior a 6°C, permitiría mantener la firmeza inicial del producto (criterio de exigencia por parte de muchos clientes) y evitar la pérdida de compuestos volátiles asociados al aroma característico.

En el caso de la piña, se define un tiempo de exposición máximo de 5 días a 2°C antes de detectar los primeros síntomas de daños por frío en la pulpa (pardeamiento interno y translucidez). Si el tiempo de almacenamiento/transporte a esa temperatura es superior a 10 días, el porcentaje de frutos con síntomas pasa de un 25% a un 100%. Esa incidencia se reduce a la mitad si la temperatura de conservación aumenta a 6 °C. En cuanto a las piñas conservadas a 12 °C, si bien es cierto que no se encontraron síntomas evidentes de este tipo de daño, tras 18 días los frutos se caracterizaron por estar sobremaduros y presentar un ablandamiento excesivo, y, en algunos casos, desarrollo de mohos en la piel y hojas del fruto.

La mayor pérdida de electrolitos se obtuvo en las piñas almacenadas a las temperaturas más altas. Por lo que, en este caso, su relación con el propio proceso de maduración resulta más elevada que la que pueda relacionarse a la respuesta ante el estrés provocado por las bajas temperaturas.

Tras los 10 días de almacenamiento, la mayor concentración tanto de acetaldehído como de etanol se produjo en las piñas almacenadas a las temperaturas de daño (2°C y 6 °C), siendo el efecto mayor a 2°C y más elevado sobre la producción de etanol.

En el caso de la piña, el almacenamiento a bajas temperaturas produce un estrés oxidativo asociado a un aumento de la concentración de especies reactivas de oxígeno o ROS debido a la activación de los mecanismos de defensa de carácter antioxidante y que se traduce en un mayor contenido de fenoles totales y mayor capacidad antioxidante.

7. Conclusions

In pineapple (*Golden Sweet* variety), the physical-chemical parameter that most depends on storage temperature was the firmness. Although after three days, all the fruits showed a softening, this was higher in the case of pineapples stored at 7 ° C. At the end of the study, the firmness of both batches was similar. Significant influence on the ° Brix was not showed. All pineapples showed a decrease in titratable acidity during the study, being higher in the last days and in fruits stored at 7 ° C.

Storage temperature did not have a significant effect on any of the physical-chemical parameters evaluated in the analysis of the commercial quality of the tomato (*Rosa de Barbastro* variety). However, a notable influence was checked on the aromatic profile of the tomato.

From the first day, blueberries (*Duke* variety) stored at 7 ° C, had a higher softening. From day 12 of storage, the firmness values were similar in fruits stored at both temperatures. On the same day and in both batches, a large drop in acidity was showed. It was related to a loss of characteristic flavor.

All fruits studied has different major volatile compounds group (esters, aldehydes and alcohols in pineapple, tomato, and blueberry, respectively). Pineapple was stand out for presenting the most complex aromatic profile, both in number of compounds and intensity. In all cases, the number of compounds detected and their intensity, decreased during the storage. These changes were more significant in products stored at 2°C.

Of all commercial quality parameters evaluated, the firmness and the aromatic profile were the most affected by the storage temperature. The combination of a transport, for a moderate time, at 2°C with a storage at 6°C, could allow to maintain the initial firmness of the product (demand requirement by many customers) and avoid the loss of volatile compounds associated with the characteristic aroma.

In pineapple was defined a maximum exposure time of 5 days at 2 ° C before to detect the first symptoms of chilling injury to the pulp (internal browning and translucency). If the storage transport time at this temperature is higher than 10 days, the percentage of fruits with symptoms increase from 25% to 100%. This incidence is reduced by half if the storage temperature increases to 6°C. However, in pineapples stored at 12°C after 18 storage days, it were characterized to had overripe and present excessive softening, and, in some cases, to develop of fungus on the skin and leaves of the fruit.

The highest loss of electrolytes was showed in pineapples stored at the highest temperatures. In this case, its relationship with the ripening process is higher than with response to stress caused by low temperatures.

After 10 days of storage, the highest concentration of acetaldehyde and ethanol occurred in pineapples stored at damaging temperatures (2°C and 6°C). The effect was highest at 2°C and on the ethanol production.

In pineapple, storage at low temperatures produces oxidative stress associated with an increase in the concentration of reactive oxygen species (ROS) due to the activation of antioxidant. This translates into a higher content of total phenols and antioxidant capacity.

8. Valoración personal

La elaboración de este TFG me ha servido para adquirir nuevos conocimientos y afianzar aquellos tanto prácticos como teóricos que he visto a lo largo de la carrera de Ciencia y Tecnología de los alimentos. En este caso, he podido profundizar en el tipo de análisis que se utiliza para evaluar la calidad postcosecha de frutas y la importancia de un buen manejo y almacenamiento. Además de aprender cómo se planifica un estudio o investigación.

Por otro lado, he aprendido técnicas que hasta antes de la realización de este TFG eran totalmente desconocidas para mí, como es el caso de la olfatometría mediante cromatografía de gases o del análisis de la producción de etanol y acetaldehído. Sin embargo, me hubiese gustado haber podido incluir los resultados de otros 2 experimentos realizados en el marco de

este TFG y que están relacionados con otros tipos de deterioro en fruta (“Análisis de la producción de etileno como posible biomarcador para la detección precoz del deterioro patológico en arándanos” y “Determinación de la influencia de daños físicos en la calidad comercial del tomate”), pero que, por falta de espacio, no han sido incluidos en la memoria escrita.

Por último, me gustaría decir que me llevo una buena experiencia en mi primer contacto con el mundo de la investigación y darle las gracias al Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal por su buen trato a lo largo de todo este año.

9. Bibliografía

Aghdam, M.S., Sevillano, L., Flores, F.B., Bodbodak. S. (2015). “The contribution of biotechnology to improving post-harvest chilling tolerance in fruits and vegetables using heat-shock proteins”. *The Journal of Agricultural Science*, 153(1), pp. 7-24.

Almenar, E., Samsudin., Auras, R., Harte, B., Rubino. M.(2008). “Postharvest shelf-life extension of blueberries using a biodegradable package”. *Food Chemistry*, 110 (1), pp. 120-127.

Artés, F., Escriche, A.J. (1994). “Intermittent warming reduces chilling injury and decay of tomato decay”. *Journal of Food Science*, 59(5), pp. 1053-1056.

Artes, F., Artes-Hernández, F. (2002). “Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas”. En: Gómez, A.L., Calero, F.A., Esnoz, A., Nicuesa, A.E. ed(s). *Avances en Ciencias y Técnicas del Frío*. Cartagena (España): Universidad Politécnica de Cartagena, pp. 299–310

Barkai-Gola, R. (2001). *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables*. Amsterdam: *El servier Sciences*.

Benichou M., Ayour J., Sagar M., Alahyane A., Elateri I., Aitoubahou A. (2018). “Postharvest Technologies for Shelf-Life Enhancement of Temperate Fruits”. En: Mir S., Shah M., Mir M ed(s). *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits*. Cham: Springer, pp. 77-100.

Bremer, V., Crisosto, C.H., Crisosto, G., Dollahite, S., Molinar Jiménez, M. (2008). “San Joaquin Valley blueberries evaluated for quality attributes”. *California Agriculture*, 62(3), pp. 91-96.

Cantwell, M., Suslow, T.V. (1997). *Tomato: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*. http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=36&ds=799 . [Consultado: 01/04/2021]

Chiabrando, V., Giacalone, G., Rolle, L. (2009). "Mechanical behaviour and quality traits of highbush blueberry during postharvest storage". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6), pp. 989-992.

Crisosto, C.H., Kader, A.A., Mitcham, E.J. (1998). *Blueberry: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*.
http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_English/?uid=12&ds=798 . [Consultado: 01/04/2021].

Dea S., K. Brecht J., Nunes M., Baldwin E. (2010). "Occurrence of chilling injury in fresh-cut 'Kent' mangoes". *Postharvest Biology and Technology*, 57(1), pp. 61-71.

FAO.(2012). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. Alcance, causas y prevención. Roma: *Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura*.

FEPEX.(2021). Exportación/importación españolas de frutas y hortalizas. Disponible en: <https://www.fepex.es/datos-del-sector/exportacion-importacion-espa%C3%B1ola-frutas-hortalizas> [Consultado en: 05-04-2020]

Forney, C.F. (2001). "Horticultural and other Factors Affecting Aroma Volatile Composition of Small Fruit". *HortTechnology*, 11(4) pp. 529-538.

García Azcárate, T., Langreo, A. (2020). "Las frutas y hortalizas en la economía española. Perspectivas, certezas y tendencias". *Distribución y consumo*, 163(3), pp. 5-22.

Gorny, J. R., Hess-Pierce, B., Kader, A. A. (1999). "Quality changes in fresh-cut peach and nectarine slices as affected by cultivar, storage atmosphere and chemical treatments". *Journal of Food Science*, 64(3), pp. 429-432.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1989). Free radicals in biology and medicine. Oxford: *Oxford University Press*.

Holt, J. E., Schoorl, D. (1982). "Mechanics of failure in fruits and vegetables". *Journal of Texture Studies*, 13(1), pp. 83-96.

Horvat, R.J., Senter. S.D. (1985). "Comparison of the volatile constituents from rabbit eye blueberries (*Vaccinium ashei*) during ripening". *Journal of the Food Science*, 50(2), pp. 429-431.

Huigang, H., Xueping, L., Chen, D., Chen, W. (2011). Effects of wax treatment on quality and postharvest physiology of pineapple fruit in cold storage. *African Journal of Biotechnology*, 10(39), pp. 7592-7603

Illescas, J.L. (2014). "La cadena comercial de frutas y hortalizas. Distribución mayorista en la Red de Mercas, evolución del consumo y cuotas de mercado minorista por formatos de establecimiento". *Distribución y consumo*, 134(4), pp. 6-26.

Illescas, J.L. (2016). "Mercado de frutas y hortalizas. Consumo y posicionamiento de los mercados". *Distribución y consumo*, 143(3), pp. 92-133.

Illescas, J.L. & Martín Cerdeño, V.J. (2017). "Cadena de valor de frutas y hortalizas frescas. Producción, distribución y consumo". *Distribución y consumo*, 148(3), pp. 17-32.

Kader, A.A. (1999). "Fruit maturity, ripening, and quality relationships". *Acta Horticulturae*, 485, pp.203-208.

Kader, A.A. (1996). Pineapple: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_English/?uid=50&ds=798 .[Consultado: 01/04/2021].

Kader, A.A. (2002). Postharvest Technology of Horticulture Crops. California: *University of California Agriculture & Natural Resources*.

Kaewtathip, T., Charoenrein, S. (2012). "Changes in volatile aroma compounds of pineapple (*Ananas comosus*) during freezing and thawing". *International Journal of Food Science and Technology*, 47(5), pp. 985-990.

Kegian, H., Hanbing, X., Junning, W., Lubin, Z., Huigang, H., Zhiwei, J., Hui, G., Quanguang, H., Deqiang, G. (2013). "Quality changes and internal browning developments of summer pineapple fruit during storage at different temperatures". *Scientia Horticulturae*, 151, pp. 68–74.

Kou, L., Luo, Y., Park, E., Turner, E. R., Barczak, A., Jurick, W. M. (2014). "Temperature abuse timing affects the rate of quality deterioration of commercially packaged ready-to-eat baby spinach. Part I: Sensory analysis and selected quality attributes". *Postharvest Biology and Technology*, 91, pp. 96-103.

Luengwilai, K., Beckles, D.M., Roessner, U., Dias, D.A., Lui, V., Siriphanich, J. (2018). "Identification of physiological changes and key metabolites coincident with postharvest internal browning of pineapple (*Ananas comosus* L.) fruit". *Postharvest Biology and Technology*, 137(56), pp. 56-65.

Meier, G.E.; Ponte, E.; Vázquez, D. E. (2004). "Contenido de acetaldehído y etanol en naranjas y mandarinas durante la postcosecha RIA". *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 33(1), pp. 135-150.

Montero, T.M., Mollá, E.M., Esteban, R.M., López-Andréu, F.J. (1996). "Quality attributes of strawberry during ripening". *Scientia Horticulturae*, 65(4), pp.239-250.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2017). Información general frutas y verduras. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/frutas-y-hortalizas/informacion_general.aspx [Consultado en: 30-03-2021]

Nardos, T., Ibrahim, A.M., Gebreselassie W. (2015). "Degradation and formation of fruit color in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in response to storage temperature". *American Journal of Food Technology*, 10(4), pp. 147-157.

Nukuntornprakit, O., Chanjirakul, K., van Doorn, W., Siriphanich, J. (2015). "Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism". *Postharvest Biology and Technology*, 99, pp. 20-26.

Paraskevopoulou, A., Chrysanthou, A., & Koutidou, M. (2012). "Characterisation of volatile compounds of lupin protein isolate enriched wheat flour bread". *Food Research International*, 48(2), 568-577.

Paull, R.E., Chen, C.C. (2003). "Postharvest physiology, handling, and storage of pineapple". En: Bartholomew, D.P., Paull, R.E., Rohrbach, K.G., (ed)s. *Pineapple: Botany, Production and Uses*. Wallingford: CABI, pp 253–279.

Pérez, L., Saucedo V., Arévalo G., Muratalla L. (2004). "Efecto del grado de madurez en la calidad y vida poscosecha de ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L.)". *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(2), pp. 133-139.

Quiroz-González, B., Corrales-García, Colinas-León, M., Beryl, T., Ybarra-Moncada, M. C. (2017). "Identificación de variables correlacionadas con el daño por frío en Pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth)". *Agrociencia*, 51(2), pp. 153-172.

Ramezani A. M., Rahemi, M., Maftoun, B., Kholdebarin, S., Eshghi, S. M., Tavallali, R. (2010). "The ameliorative effects of spermidine and calcium chloride on chilling injury in pomegranate fruits after long-term storage". *Fruits*, 65(3), pp. 169-178.

Rega B., Guerard A., Delarue J., Maire M., and Giampaoli P. (2009). "On-line dynamic HS-SPME for monitoring endogenous aroma compounds released during the baking of a model cake". *Food Chemistry*, 112, pp. 9–17.

Romero Casado, M. (2016). Tratamientos poscosecha para el control de los daños por frío en frutos climatéricos y no climatéricos. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.

Sahagún, M.L., Vargas, I., Gardea, A.A., Tiznado, M.H., Martínez, M.A. (2005). "Daño por frío en melón cantaloupe en dos estados de madurez". *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28 (1), pp. 161-170.

Selvarajah, S., Bauchot, A., John, P. (2001). "Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by postharvest application of 1-methylcyclopropene". *Postharvest Biology and Technology*, 23(2), pp. 167-170.

Sevillano, L., Sánchez Ballesta, M.T., Romojaro, F., Flores, F.B. (2009). "Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact". *Journal of the Science Food and Agriculture*, 89(4), pp. 555-573.

Skrzyński, J., Konopacki, P. (2003). "Quality of apples after storage. A review of methods". *Acta horticulturae*, 604(67), pp. 565–570.

Takeoka, G.; Buttery, R.G.; Teranishi, R.; Flath, R.A.; Guentert, M. (1991). "Identification of additional pineapple volatiles". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(10), pp. 1848-1851.

Toivonen, P. (2004). "Postharvest storage procedures and oxidative stress". *Horticultural Science*, 39(5), pp. 938-942.

Toribio, J.J. (2012). "La cadena agroalimentaria en España".

Vigneault, C., Bordini, M.R., Abrahao, R.F. (2002). "Packaging for fruits and vegetables". En: Cortez LAB, Honorio SL, Moretti CL (ed)s. *Cooling of fruits and vegetables*. Brasilia: EMBRAPA, pp 96–121.

Zheng, L.Y., Sun, G.M., Liu, Y.G., Lv, L.L., Yang, W.-X., Zhao, W.F., Wei, C.B. (2012). "Aroma Volatile Compounds from Two Fresh Pineapple Varieties in China". *International Journal of Molecular Sciences*; 13(6) pp. 7383-7392.

10. Anexos

Tiempo	Descriptor	IR	Compuesto	T0	T3		T6		T9		T12		T18	
				T° amb	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C
0:05:30	Fruta	961	isobutirato de etilo	2	2	1,75	1	1,5		1,75		1,5		1
0:08:40	Fresa/Fruta	1007	2- metilbutaonato de metilo	2	2	1,5	1	2	1	2	1,5	1,75	1,5	1,75
0:09:16	Fruta	1028	Butaonato de etilo	2,5	2	2	1,75	2,5	1,5	2	1,75	2	1,5	1,5
0:10:40	Fruta/Piña	1047	2-metilbutirato de etilo	1,5	1,75	1	1,5	1,5	1	1	1	1,25		1
0:11:42	Hierba	1079	Hexanal	1	1	1	1	1	1					
0:12:40	Fruta/Plátano	1117	Acetato isoamilo	1	1	1,5		1,25		1	1	1	1	1
0:13:22	Fruta	1133	Etil pentanonato				1	1	1,25	2	1	2		1,5
0:13:50	Hierba	1144	Z-3-Hexenal	1	1	1	1,75		1,5	2	1,25	1,25	1	1
0:15:10	Cítrico	1185	Limoneno	3	3	2		2,5						
0:15:37	Fruta	1226	Hexaonato de etilo	2		2,5		2,75	1	1,5		2		1,5
0:16:54	Hierba	1229	E-2-Hexenal	1		1		1,5				1		
0:17:10	Bosque	1233	Z-6-Decenal	1,5	1,75	1,5	2	1,5	1,5	1,75	1,5	1,75	1,5	1,5
0:18:39	Fruta	1270	Hexyl acetato		1,25		1,5		1	1,25	1			
0:22:06	Fruta	1427	Octaonato de etilo	2	2,5		1,5	1,5	1	1		1		
0:23:33	Dulce	1457	Furfural							2	1	2	1	1,5
0:24:21	Patata	1471	Metional	1		1,5	1	1	1	1,5	1	1	1	1
0:26:02	Hierba	1502	E-2-Nonenal						1	1,75	1,25	1,5	1,5	1,5
0:26:54	Cítrico	1540	Linalool	1	1	1		1,25		1				
0:28:10	Pepino	1583	E,Z-2,6-Nonadienal	1	1,5	1,75	2		1,5					
0:30:07	Miel	1642	2-feniletanal				1			2		1,5		1
0:30:27	Dulce	1661	Ácido isovalérico	1	2	2	2		1,5	2,5	1,5	2	1,5	2
0:32:20	Dulce	1837	Ácido hexanoico				1	2,25	1,25	3	1,5	2,5	1,5	2

Anexo I: Influencia de la temperatura de conservación (2°C y 7°C) en el perfil aromático de piña conservada durante 18 días. (IR: índice de retención en columna DB-WAX).

Tiempo	Descriptor	IR	Compuesto	T0	T3		T6		T9		T12	
				T amb	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C
0:05:50	Amargo	969	Pentanal	1	1	1	1	1				
0:07:48	Dulce/Hierba	982	Metil Butaonato	1	1	1						
0:09:40	Fruta	1028	Etil Butaonato	2	1,75	2	1,5	2	1	1,75	1	1,5
0:10:21	Fruta	1047	2 metilbutirato etilo		1							
0:11:48	Hierba	1079	Hexanal	3	2,5	3	2,25	2,5	2	2,25	1,5	2
0:12:46	Fruta	1117	Acetato isoamilo						1,5		1	
0:13:50	Césped	1144	Z-3-Hexenal	2	1,5	1,5	1					
0:14:03	Hierba	1151	1-Butanol					2		1		
0:15:10	Dulce/Fruta	1185	Limoneno	1,5	1	1	1	1		1		1,5
0:16:43	Hierba	1229	E-2-Hexenal	3	2,25	3	2,5	3	1,75	2,5	1,5	2
0:18:00	Flor/Dulce	1270	Hexil Acetato			1			1,25	1,5	1	1
0:20:40	Tostado	1327	2-acetil-1-pirolina					1,5	1			
0:22:08	Bosque	1389	Z-3-Hexen-1-ol	1	1	1,5		1				
0:28:00	Pepino	1583	E-2-Z-6-nonadienal	1,5	1,5							
0:29:36	Queso	1752	E-2-Z-4-nonadienal		1							
0:31:50	Dulce	1762	Citronello	1	1		1	1,5		1		1

Anexo II: Influencia de la temperatura de conservación (2°C y 7°C) en el perfil aromático de tomate conservado durante 12 días. (IR: índice de retención en columna DB-WAX).

Tiempo	Descriptor	IR	Compuesto	T0	T3		T6		T9		T12		T18	
				T amb	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C
0:06:50	Lacteo/Dulce	981	Diacetilo			1,5		1,5		1,5	1	1,75	1,5	2
0:07:44	Fruta	982	Metil butaonato				1,5		1					
0:09:28	Hierba/Flores	1007	Alpha pineno	2	1,5	1,5	1,25	1	1,5	1		1		
0:10:20	Fresa	1028	Etil butaonato	1,5	1,5	1	2	2						
0:11:50	Hierba	1079	Hexanal		1	1	1,75	2	1,5	2	1	1,5		1
0:12:29	Flor	1117	Acetato isoamilo	2	2	2	1,5	2	1,5	2	1,5	1,75	1	1
0:13:13	Hierba/Dulce	1144	Z-3-Hexenal		1		1,5	1,5	1					
0:14:06	Dulce	1151	1-Butanol	2	1,75	2	1,5	2	1,5	2	1	2	1	1,5
0:16:10	Galleta	1213	Alcohol isoamilico				2,5		1,5					
0:16:38	Césped	1229	E-2-Hexenal	3	1,5	2,5	3	3	2	2	1,75	2	1	1,5
0:18:03	Dulce/Flor	1270	Hexilacetato	3	2,5	2,5			1,5	2	1	2		1,5
0:20:33	Flor	1351	1-Hexanol					2,75	1,5	2,5	1	2		1,5
0:21:40	Bosque	1385	Nonanal							1,5				
0:22:12	Dulce/Flor	1389	Z-3-Hexen-1-ol	3	3	3	2	2	2	2	1,5	1,75	1	1
0:24:33	Floral	1457	Furfural			2								
0:26:17	Amargo		¿?	2	1,5		1,5		1,5	1	2			
0:26:40	Hortaliza	1583	(E,Z)-2,6-Nonadienal		1,5									
0:29:30	Miel	1661	Acido isovaleriánico					1						
0:31:11	Queso	1698	(E,Z)-2,4-Decadienal	1,5	1,5		1,5							
0:32:12	Garbanzos	1752	(E,E)-2,4-Decadienal	1,5	1,75		1,5			1				

Anexo III: Influencia de la temperatura de conservación (2°C y 7°C) en el perfil aromático de arándanos conservados durante 18 días. (IR: índice de retención en columna DB-WAX).