

UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Estudio químico de los compuestos activos del aroma del Arazá (*Eugenia stipitata*)**

**Angie Tatiana González Galindo**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias – Área Curricular Química  
Maestría en Ciencias Química – Modalidad Profundización  
Bogotá D. C., Colombia,  
2023



# **Estudio químico de los compuestos activos del aroma del Arazá (*Eugenia stipitata*)**

**Angie Tatiana González Galindo**

Trabajo de final de grado presentado como requisito para optar al título de:

**Magister en ciencias – Química (Profundización)**

Directora:

Prof. Dra. **CORALIA OSORIO ROA**

Línea de Investigación:

Química de aromas

Grupo de Investigación:

Grupo de Aditivos Naturales de Aroma y Color GANAC

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Bogotá, Colombia

2023



# Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



---

Nombre: Angie Tatiana González Galindo

Fecha 31/07/2023



# Agradecimientos

A Dios por concederme la fortaleza, sabiduría y discernimiento para llevar a cabo este importante proyecto. A mi familia por su apoyo incondicional y su creencia en mis capacidades lo que me permitió desenvolverme a lo largo de este arduo camino académico. A mi amigo, Bayron Florez por ofrecerme valiosas sugerencias para mejorar mi trabajo, así como su entusiasmo por mi éxito, lo que fue una fuente de inspiración para mí.

A la Universidad Nacional de Colombia por brindarme la oportunidad de cursar mis estudios en la Facultad de Ciencias, realizar procesos de investigación, además de proporcionar un ambiente propicio para mi crecimiento profesional y personal.

A mi directora de tesis, la profesora Coralia Osorio, a quien admiro profundamente y a mis compañeros del grupo de investigación GANAC, Andrés Amaya, Sergio Rodríguez, Camilo Correa y Natalia Cuéllar por su invaluable colaboración y apoyo en la realización de este proyecto, principalmente a Juliana García, por su invaluable guía y orientación que han sido fundamentales para el desarrollo de esta tesis.

A Javier Espitia, Mauricio Tapia y el grupo del panel entrenado de Lucta Grancolombiana, por su apoyo en los análisis sensoriales para validar la identificación de los compuestos volátiles responsables del aroma de Arazá.

A mi jefe, Óscar Pedraza, por permitirme desarrollar mis actividades académicas con espacios de tiempo para la ejecución de este proyecto.

## Resumen

**Título: Estudio químico de los compuestos activos del aroma del Arazá (*Eugenia stipitata*)**

En este trabajo de maestría se presenta el estudio químico del aroma del fruto de Arazá (*Eugenia stipitata*). Se empleó la metodología denominada *Molecular Sensory Approach*, que consiste en una serie de etapas que combinan el análisis instrumental y sensorial permitiendo así el aislamiento, identificación y cuantificación de los compuestos olfativamente activos, así como su confirmación a través de evaluación sensorial. Para este fin, un extracto incoloro y libre de compuestos no volátiles se obtuvo mediante la técnica SAFE (*Solvent Assisted Flavor Evaporation*), el cual se sometió a análisis AEDA (*Aroma Extract Dilution Analysis*) por GC-O (cromatografía de gases acoplada a olfatometría) y GC-MS (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas). A partir de estos análisis se identificaron nueve compuestos olfativamente activos: 2,3-butanodiona, 2-metilbutirato de metilo, hexanoato de etilo,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -damascenona, furaneol, ácido octanoico, cinamato de etilo y  $\gamma$ -dodecalactona. La cuantificación fue realizada empleando acetato de linalilo como estándar interno, lo cual permitió determinar las concentraciones, y calcular el valor de OAV (*Odor Activity Value*) de cada analito con base en el valor umbral de olor reportado en la literatura, determinando su relevancia en el perfil olfativo de la fruta. Así, la  $\beta$ -damascenona, la 2,3-butanodiona y el hexanoato de etilo, fueron identificados como los compuestos impacto en el aroma de esta fruta con las notas amaderada, rancia y tropical, respectivamente.

Finalmente, con el objetivo de validar los resultados obtenidos analíticamente, se realizó el análisis sensorial con panelistas entrenados, comparando el perfil olfativo del puré de la fruta contra el recombinado, lo cual permitió determinar las notas más relevantes de la fruta. Se encontraron diferencias en la nota tropical y rancia, lo que confirma la alta perecibilidad de la fruta, y por tanto un cambio rápido en el perfil del aroma.

**Palabras claves:** Aroma, Myrtacea, compuestos olfativamente activos, Molecular sensory approach.



## Abstract

**Title: Chemical studies of odor active volatile compounds of Araza (*Eugenia stipitata*) fruit**

This work presents the chemical study of Arazá (*Eugenia stipitata*) fruit. The Molecular Sensory Approach was used, which consists of different steps that combine instrumental and sensory analyses, allowing the isolation, identification, and quantitation of odor active volatiles, as well as their confirmation through sensory evaluation. For this purpose, a colorless extract free of non-volatile compounds was obtained through the SAFE (Solvent Assisted Flavor Evaporation) technique, and subsequent AEDA analysis (*Aroma Extract Dilution Analysis*) by GC-O (gas chromatography coupled to olfactometry) and GC-MS (gas chromatography coupled to mass spectrometry). From these analyses, nine odor active volatiles were identified as: 2,3-butanedione, methyl 2-methylbutyrate, ethyl hexanoate,  $\beta$ -caryophyllene,  $\beta$ -damascenone, furaneol, octanoic acid, ethyl cinnamate and  $\gamma$ -dodecalactone. The quantitation was carried out using linalyl acetate as an internal standard, which allowed to determine the concentrations, and calculate the OAV value of each analyte based on the odor threshold reported in literature, thus determining the relevance in the olfactory profile of the fruit. Thus,  $\beta$ -damascenone, 2,3-butanodione and ethyl hexanoate, were the key aroma compounds with higher contribution to the fruit aroma, exhibiting woody, rancid and tropical odor notes, respectively.

Finally, to validate the results analytically obtained, a sensory analysis with trained panel was carried out, comparing the olfactory profile of fruit puree with the recombined aroma. Based on these results, the fruit odor notes were defined. It was found that tropical and rancid odor notes were different between the fruit and recombined aroma, such confirming the high perishability of this fruit, and therefore the fast change of aroma profile.

**Keywords:** Aroma, Myrtaceae, odor active volatiles, Molecular sensory approach.

# Contenido

<b>Resumen .....</b>	<b>IX</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>X</b>
<b>Lista de Figuras .....</b>	<b>XII</b>
<b>Lista de Tablas.....</b>	<b>XIII</b>
<b>Lista de abreviaturas .....</b>	<b>XIV</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Estado del arte.....</b>	<b>3</b>
1.1. Producción de Arazá en Colombia.....	3
1.2. Generalidades y características de la fruta .....	6
1.3. Estudios previos en componentes volátiles del arazá .....	9
1.4. <i>Molecular Sensory Approach</i> .....	13
1.4.2. Determinación de zonas olfativamente activas por GC-O y AEDA.....	16
1.4.3. Identificación de los compuestos activos olfativamente .....	17
1.4.4. Cuantificación de los compuestos activos olfativamente.....	18
<b>2. Metodología .....</b>	<b>20</b>
2.1. Materiales y reactivos .....	20
2.2. Material vegetal y caracterización.....	20
2.3. Obtención del extracto enriquecido en compuestos volátiles .....	21
2.4. Análisis cromatográfico de los compuestos volátiles.....	21
2.6. Identificación y cuantificación de los compuestos activos olfativamente .....	23
2.7. Análisis sensorial y ensayos de recombinación .....	23
<b>3. Resultados y discusión.....</b>	<b>25</b>
3.3. Análisis sensorial .....	31
<b>4. Conclusiones .....</b>	<b>33</b>
<b>5. Anexos .....</b>	<b>34</b>
Anexo A. Ficha para evaluación sensorial.....	34
<b>6. Bibliografía.....</b>	<b>35</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1-1.</b> Departamento de Caquetá - productor de Arazá en Colombia.....	3
<b>Figura 1-2.</b> Fruto Arazá ( <i>Eugenia stipitata</i> ) – Florencia (Caquetá, Colombia) (Foto tomada por Natalia Cuellar, miembro GANAC) .....	6
<b>Figura 1-3.</b> Diagrama de flujo para la identificación de los compuestos responsables del aroma de Arazá .....	14
<b>Figura 1-4.</b> Montaje SAFE (Solvent Assisted Flavor Extraction). A). Vista esquemática de la unidad de destilación para realizar evaporación asistida por solvente (SAFE). B). Vista general del equipo SAFE. C). Montaje SAFE laboratorio de aromas GANAC.....	16
<b>Figura 3-1.</b> Análisis por GC-MS (columna FFAP) y resultados del AEDA (en color azul) del extracto SAFE del fruto de Arazá ( <i>Eugenia stipitata</i> ). Los números asignados corresponden a los compuestos de la <b>Tabla 3-1</b> . .....	26
<b>Figura 3-2.</b> Notas olfativas detectadas por GC-O para cada compuesto activo olfativamente en el aroma del arazá .....	29
<b>Figura 3-3.</b> Perfil de aroma del puré de Arazá ( <i>Eugenia stipitata</i> ) comparado con la respectiva solución de recombinedo de aroma. ....	31

## Lista de Tablas

<b>Tabla 1-1.</b> Estadísticas de producción de Arazá en el departamento de Caquetá (Ministerio de Agricultura, 2022).....	4
<b>Tabla 1-2.</b> Clasificación taxonómica de la especie <i>Eugenia stipitata</i> (Aristizabal, 2021) (Reyes & Lanari, 2020).....	7
<b>Tabla 1-3.</b> Caracterización fisicoquímica del fruto de arazá en estado maduro (Reyes & Lanari, 2020) (Hernandez, Barrera, & Carrillo, 2006).....	8
<b>Tabla 1-4.</b> Resumen de los estudios publicados sobre compuestos volátiles presentes en el fruto de Arazá ( <i>Eugenia stipitata</i> ) .....	12
<b>Tabla 3-1.</b> Identificación y cuantificación de los compuestos activos olfativamente obtenidos del extracto SAFE del fruto de Arazá ( <i>Eugenia stipitata</i> ).....	28

## Lista de abreviaturas

### Abreviatura Término

AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis (Análisis de aroma por dilución de extracto)
FD	Flavour Dilution Factor (Factor de dilución)
FID	Flame Ionization Detector (Detector de ionización de llama)
GC	Gas Chromatography (Cromatografía de gases)
GC-MS	Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
GC-O:	Gas chromatography coupled to olfactometry (Cromatografía de gases acoplado a olfatometría)
OAV:	Odour activity value (Valor de actividad de olor)
SAFE:	Solvent-assisted flavour extraction
TIC:	Total Ion cromatogram
HS-MEFS:	Hedspace Microextracción en Fase Sólida.
SPME:	Solid Phase MicroExtraction Microextracción en Fase Sólida

## Introducción

La región Amazónica de países como Colombia, Brasil, Perú, Ecuador y Bolivia goza de una gran diversidad de frutas nativas, las cuales presentan características sensoriales particulares y/o exóticas, alto valor nutricional y un importante valor comercial. Una familia que presenta estas características es la Myrtaceae, las cuales son habitualmente encontradas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Entre las frutas pertenecientes a la familia Myrtaceae, una de las más conocidas es la guayaba (*Psidium guajava* L.), mientras que otras, como el arazá (*Eugenia stipitata* ssp), guabijú (*Myrcianthes pungens*) y guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg), han sido poco exploradas y estudiadas (Fernandes de Araújo, y otros, 2021).

*Eugenia stipitata* se caracteriza por ser un arbusto de fuste medio, con hojas y flores de gran tamaño, y a su vez grandes frutos respecto a otras especies de este género. Su piel es delgada, color amarillo, el mesocarpio presenta un contenido de agua de entre 90 – 94%, pH de 2.0 a 2.8 y brix 4-8° aproximadamente. Usualmente, puede consumirse en jugos, néctares, mermeladas, confitería y conservas; su aroma suele usarse en dulces, helados, yogurt, jarabes y otras bebidas. El arazá es considerado una buena fuente de fibra, minerales, y es de gran interés farmacológico (Fernandes de Araújo, y otros, 2021). En Colombia, esta fruta se distribuye en los departamentos de Caquetá, Guaviare, Putumayo y Amazonas, esto debido a la excelente productividad y capacidad de adaptación a los suelos de la región, en los cuales ocupa cerca de 600 hectáreas (Fierro, 2010).

En la actualidad, existen compañías y empresas que están centrando sus esfuerzos en el desarrollo de productos y se han interesado en el empleo de frutas tropicales con fines de innovación en el mercado, y entre estas se encuentra el arazá, (Niño & Otálvaro, 2013). Así pues, el interés económico hacia esta fruta se ha incrementado desde finales del siglo XX; sin embargo, su producción ha disminuido significativamente, pues se presentan varios inconvenientes en su comercialización, ya que, al ser una fruta altamente perecedera, resulta ser susceptible a factores ambientales y de manejo postcosecha que afectan su vida útil. Si bien es cierto, estos frutos se distribuyen en mercados y ferias locales, en ciudades grandes se desconocen, pues provienen de pequeños cultivos que usualmente tienen baja productividad, por lo que usualmente su comercio es limitado (Fierro, 2010). Adicionalmente, la consolidación de la cadena productiva presenta obstáculos en su desarrollo, debido a la falta de adaptación de tecnología, validación de métodos para

cosecha, selección, clasificación y tratamiento postcosecha. Además, las condiciones climáticas adversas, como altas temperaturas y humedad, junto con una infraestructura de almacenamiento inadecuada, contribuyen a una mayor tasa de deterioro del producto. Estas limitaciones en la conservación y distribución del arazá son causantes de la disminución de su producción a nivel nacional. Actualmente, no se han asignado normas y estándares de calidad, lo que dificulta procesos de negociación, y no se han desarrollado sistemas de empaque que facilite el abastecimiento a largas distancias que garanticen la calidad de este fruto altamente perecedero (Hernández, Barrera, Fernández, Carrillo, & Bardales, 2007) (Niño & Otálvaro, 2013). Así pues, en la actualidad se espera el desarrollo de alternativas y/o metodologías que trabajen en la corta ventana de tiempo entre la recolección y el deterioro del arazá, que faciliten su comercialización y transporte, evitando pérdidas significativas en la cadena de suministro y así asegurar la sostenibilidad de la producción en el país (El tiempo, 2003).

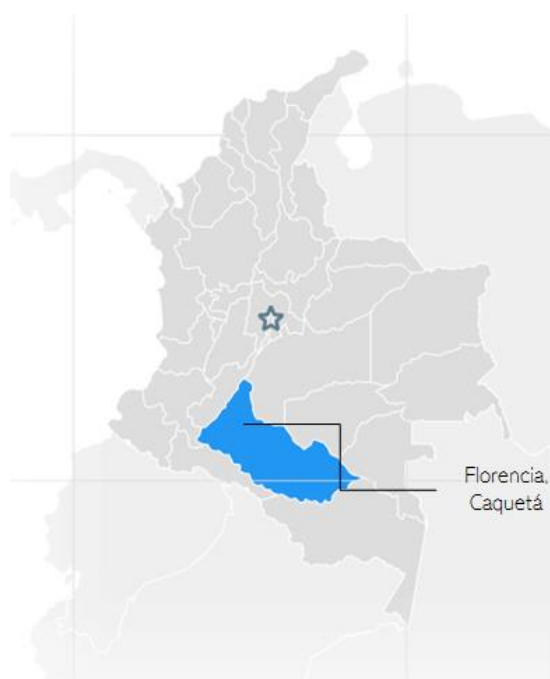
De acuerdo con lo anterior, el estudio del aroma (*flavor*) de Arazá permitirá fortalecer y facilitar la aceptación por parte del consumidor, así como establecer características significativas para el desarrollo de productos tanto en alimentos como cosméticos; por tanto, el presente trabajo está encaminado a la identificación y cuantificación de los compuestos volátiles responsables del aroma de la fruta, que aporten de manera importante al *flavor* de la misma.

# 1. Estado del arte

En el presente ítem se describe el fundamento teórico sobre el cual se basa esta investigación; en este capítulo se abordan generalidades de la especie en estudio, en donde se tratan aspectos como producción en el país, clasificación taxonómica, características fisicoquímicas, aspectos nutricionales, estudio químico y sensorial, metodología *molecular sensory approach*, además de publicaciones e investigaciones que se han realizado sobre esta fruta.

## 1.1. Producción de Arazá en Colombia

El Arazá es cultivado en regiones amazónicas de países como Perú, Brasil y Colombia. En Colombia, la mayor área de siembra se da principalmente en los departamentos de Caquetá, Putumayo y Guaviare, donde la mayor producción se concentra en el Caquetá (**Figura 1-1**) (Hernandez, Barrera, & Carrillo, 2006).



**Figura 1-1.** Departamento de Caquetá - productor de Arazá en Colombia

De acuerdo con investigaciones realizadas se determinó que en este departamento existen 819,61 hectáreas (Has) de frutales amazónicos, entre los cuales 494,56 Has corresponden a Arazá (*Eugenia stipitata*) (Anturi, 2018). Hay registro de 912 productores de la fruta, de



aproximadamente 355 veredas, y con censo cercano a 247.282 plantas de Arazá distribuidas en los municipios de Albania, Florencia, Valparaíso y Solita (Hernández, Barrera, Fernández, Carrillo, & Bardales, 2007). Lo anterior en gran medida por el programa de sustitución de cultivos ilícitos desarrollado por ASOHECA (Asociación de reforestadores y cultivadores de Caucho del Caquetá). Adicionalmente, los procesos de cultivo son realizados por pequeños productores, razón por la cual, la mayoría de estos frutos Amazónicos no presenta estadísticas de producción, y por tanto sus estudios son limitados. De acuerdo con reportes de Agronet, la red de información y comunicación del sector agropecuario colombiano, se evidencia una disminución en la producción (ton) en los últimos años, siendo los años 2009 y 2010, el periodo en el que hubo mayor producción de Arazá siendo 1299 y 1103 ton, respectivamente. Los valores en la baja de la producción de Arazá se ven reflejados en la **Tabla 1-1**, lo que se debe en gran medida a su baja posibilidad de distribución (Ministerio de Agricultura, 2022).

**Tabla 1-1.** Estadísticas de producción de Arazá en el departamento de Caquetá (Ministerio de Agricultura, 2022).

<b>Año</b>	<b>Área (Ha)</b>	<b>Producción (ton)</b>	<b>Producción Nacional (ton)</b>	<b>Área Nacional (Ha)</b>
2009	416.00	1,299.00	56.26	60.77
2010	436.00	1,103.50	78.15	82.42
2011	290.00	640.52	65.02	74.23
2012	186.00	430.00	59.56	58.13
2013	140.00	294.80	46.09	45.60
2014	56.00	206.40	31.90	21.81
2015	75.00	238.30	35.39	27.85
2016	107.00	720.80	66.79	62.94
2017	128.00	790.00	65.33	69.67
2018	113.00	690.00	59.74	64.65
2019	26.00	24.00	10.73	24.30
2020	35.00	49.00	7.15	17.77
2021	20.00	27.50	3.32	9.69

La ubicación geográfica y las regiones tropicales en Colombia permiten que exista una gran variedad de frutas con exóticos sabores durante todo el año, por lo cual es posible ofrecer al consumidor una amplia oferta a precios razonables. De acuerdo con lo indicado por

Hernández et al. (2006), en el país el aumento de consumo de frutas está determinado por algunos factores como lo son el aumento en población, niveles de ingreso y agroindustria, entre otros (Hernandez, Barrera, & Carrillo, 2006). Específicamente, los frutos amazónicos poseen información limitada referente a estadísticas de consumo y áreas cultivadas en el país, debido en gran parte al desconocimiento de las frutas tropicales, tales como el Arazá, en las principales ciudades y, por tanto, solo conocidos en los mercados locales de los departamentos donde se producen.

En Colombia, el desarrollo y distribución de algunas frutas tropicales y exóticas han sido dadas por el desarrollo del mercadeo de estas frutas en mercados locales de veredas, pueblos y/o ciudades pequeñas, transformación de la fruta (ej. mesocarpio), desarrollo de mercado en centros urbanos, distribución en supermercados de cadena, y posterior desarrollo en el resto del país. Es así como, finalmente se consideran las opciones de participación en el mercado internacional. El proceso previamente mencionado lo han experimentado frutas como la uchuva (*Physalis peruviana*), y el borojó (*Borojoa patinoi*) (Orduz J. , 2000).

Algunos estudios indican que en Colombia, la población tiene preferencia por las frutas cítricas, por su relación con el contenido de vitamina C. En Bogotá, los consumidores encuentran en el Arazá una fruta de textura, aroma y apariencia agradable. La fruta fresca tiene una amplia aceptación, teniendo en cuenta la posibilidad de realizar jugos de frutas frescas, que además sean de nuevos sabores, el rendimiento de la fruta para realizar bebidas y la accesibilidad en cuanto a precio hace atractiva a esta especie para su consumo (Hernandez, Barrera, & Carrillo, 2006).

A nivel internacional, según indica Procolombia, Colombia es clasificado como el noveno proveedor de frutas exóticas del mundo, exportando frutas como: uchuva, tomate de árbol, tamarindo y granadilla a los Países bajos, Alemania y Bélgica, principalmente. También existe importante oferta de pitaya, gulupa y baby banana; entre los frutos Amazónicos se encuentran el acai y el copoazú; por tanto, el Arazá, es una fruta ampliamente promisoría para exportación (Procolombia, 2023).

## 1.2. Generalidades y características de la fruta

El Arazá (*Eugenia stipitata*) (**Figura 1-2**) conocida también como araza-boi en Brasil y/o pichi o sosoria en Perú, es un fruto que pertenece a la familia Myrtaceae, y es considerada una fruta tropical. Esta es una baya carnosa de epicarpio fino (1 mm), amarillo, pubescencia fina, aterciopelada, de atractivo y exótico sabor, diámetro de 5 a 10 cm y peso de 200 a 400 g. Su piel es color verde claro mientras es un fruto joven, sin embargo se torna amarillento o anaranjado una vez llega a la madurez; la pulpa o mesocarpio es espeso, jugoso, entre amarillo y naranja, tiene sabor ácido agradable, es muy aromático, relativamente frágil y la cavidad interior del fruto esta ocupada por un varias semillas ([Fernandes de Araújo, y otros, 2021](#)) ([Apolinario & Erazo, 2020](#)).



**Figura 1-2.** Fruto Arazá (*Eugenia stipitata*) – Florencia (Caquetá, Colombia)  
(Foto tomada por Natalia Cuellar, miembro GANAC)

La especie fue descrita por Mc Vaugh en 1956. Tal como se observa en la **Tabla 1-2**, se reportan dos subespecies, *Eugenia stipitata* sororia y *Eugenia stipitata* stipitata ([Fernandez, Hernandez, Carillo, & Barrera, 2011](#)). El árbol de *Sosoria* presenta un porte arbustivo, sus hojas y flores son de gran tamaño, con mayor número de estambres. Por otra parte, la subespecie *Stipitata* presenta un pequeño número de estambres, y pequeño tamaño de hojas, fruto y flores, además tiene una apariencia arbórea ([Osorio, Ariza, & Morales, 2001](#)).

La cosecha de la especie *sosoria* es la más difundida, lo anterior por su alta resistencia a contraer enfermedades y resistencia a la alta saturación de aluminio en los suelos, además de presentar una alta producción del fruto. En Colombia, esta especie se encuentra en los departamentos de Caquetá, Guaviare, Amazonas, Cundinamarca, Meta, Antioquia y Putumayo ([Cuéllar & Jiménez, 2013](#)).

**Tabla 1-2.** Clasificación taxonómica de la especie *Eugenia stipitata*  
(Aristizabal, 2021) (Reyes & Lanari, 2020)

<b>Reino vegetal</b>	(Plantea)
<b>Subreino</b>	Embryophyta
<b>División</b>	Tracheophyta
<b>Subdivisión</b>	Spermopsida
<b>Clase</b>	Angiospermae
<b>Subclase</b>	Dicotyledoneae
<b>Orden</b>	Myrtaceae
<b>Familia</b>	Myrtaceae
<b>Género</b>	Eugenia
<b>Especie</b>	<i>Eugenia stipitata</i> Mc. Vaugh
<b>Subespecie</b>	<i>Eugenia stipitata</i> subsp. sosoria <i>Eugenia stipitata</i> subsp. stipitia

Sin embargo, la diversidad de la especie se encuentra dividida en 6 ecotipos que difieren en las características morfológicas de la planta, teniendo en cuenta su procedencia y las características de la semilla. Así, se clasifican en: Arazá Amazónico, Arazá Brasileiro grande, Arazá Brasileiro pequeño, Arazá Costarricense grande, Arazá Costarricense pequeño, y Arazá Peruano (Osorio, Ariza, & Morales, 2001). En la Amazonía Colombiana pueden encontrarse estos 6 ecotipos, que a su vez se distribuyen en las dos subespecies así:

- *Eugenia stipitata* subsp. *Stipitata*: Arazá Amazónico
- *Eugenia stipitata* subsp. *Sosoria*: Arazá brasileiro grande, Arazá brasileiro pequeño, Arazá costarricense grande, Arazá costarricense pequeño, y Arazá peruano

El Arazá es una fruta adaptable a suelos ácidos y fertilidad baja, lo cual es característico de la región Amazónica, a pesar de que esta fruta es promisoría por sus propiedades sensoriales y potenciales beneficios, el tiempo de vida útil es muy corto (Narváez, 2003).

**Tabla 1-3.** Caracterización fisicoquímica del fruto de arazá en estado maduro  
(Reyes & Lanari, 2020) (Hernandez, Barrera, & Carrillo, 2006)

Componente	Unidad	Brasilero	Peruano		
Diámetro longitudinal	cm	6.99	7.9		
Diámetro transversal	cm	8.1	73.2		
Peso fresco	g	227.33	189.84		
Corteza	% en peso	5.98	4.17		
Mesocarpio	% en peso	71.97	78.31		
Semilla	% en peso	22.04	17.52		
		<b>Mesocarpio</b>	<b>Corteza</b>	<b>Mesocarpio</b>	<b>Corteza</b>
Acidez total	%Ácido cítrico anhidro	2.1988	2.217	2.661	1.952
pH		2.88	3.15	2.79	3.17
Sólidos solubles	°Brix	3.4	4.4	4.1	5.1
Azúcares reductores	%	0.3072	0.577	0.302	0.578
Azúcares totales	%	0.542	0.323	0.427	0.342
Materia Seca	%bs	9.68	14.59	7.89	15.8
Cenizas	%bs	2.037	2.148	2.814	3.49
proteínas	%bs	12.67	12.14	11.05	11.82
Extracto etéreo	%bs	12.32	8.34	12.32	7.48
Fibra cruda	%bs	11.29	8.3	9.74	8.24

El Arazá presenta un alto contenido de humedad (cerca del 90%), lo que incrementa la respiración de la fruta y por tanto contribuye a su alta perecebilidad, además presenta valores de pH en un rango de de 2.6 – 2.9, aproximadamente. En su maduración se evidencia la disminución en la concentración de ácidos orgánicos (incluido hasta el 25% del ácido ascórbico o vitamina C durante una o dos semanas por cambio de condiciones de almacenamiento), acompañada de una disminución en la acidez titulable y fenólicos totales, libres o glicosilados (Reyes & Lanari, 2020). Según indica Narváez (2003), cuando los

frutos se almacenan a 25°C maduran luego de dos días, a 20°C se observa maduración luego de cinco días momento en el cual se inicia la observación de color y lectura (Narváez, 2003). Otras investigaciones muestran que existen técnicas para causar el retraso de su maduración, por ejemplo, tratar el fruto con 1-metilciclopropeno (1 ppm) durante 1 h a 20°C previo en su almacenamiento a 12°C, permite una extensión y/o ampliación de su vida útil hasta las 2 semanas, además técnicas como refrigeración, choque térmico, entre otros funcionan bien para tal fin (Fernandez, Hernandez, Carillo, & Barrera, 2011).

El Arazá presenta un alto valor nutritivo, contienen vitaminas A, B1 y B2, compuestos fenólicos y vitamina C, la cual duplica su contenido respecto a la naranja proyectando un fruto benéfico con excelente potencial antioxidante. Esta protección que generan las frutas frente a diversas enfermedades se atribuye al contenido fitoquímicos, por ejemplo, los fenoles, que además de neutralizar los radicales libres gracias a su actividad anti radicalaria, son ampliamente relacionados con las propiedades sensoriales. La composición de estos en la fruta varía de acuerdo con el cultivo, tipo de suelo, estado de maduración y fertilización (Restrepo, 2012). La especie *stipitata* Mc Vaugh produce gran variedad de metabolitos secundarios entre los cuales se encuentran los flavonoles quercetina y kaempferol (Aristizabal, 2021). El mesocarpio del fruto maduro presenta un pH 2.6 – 2.9, contenido de sólidos solubles °Brix 4.0, contenido en base seca de carbohidratos entre 70 a 80.6%, proteína 6.0 a 10.9%, pectina 3.4%, vitamina C 0.77 a 7.4%, calcio 0.16 a 0.22%, y magnesio de 0.08 a 0.12 % (Vargas, Rivera, & Narváez, 2005).

### **1.3. Estudios previos en componentes volátiles del arazá**

Además del gran valor nutricional que presenta el fruto, esta es una especie de importancia económica, en Colombia principalmente en el departamento del Caquetá; el interés en su consumo se ha incrementado debido al desarrollo de nuevos productos por su exótico sabor, sus aplicaciones médicas además de su potencial de exportación (Garzón, Narváez, Kopec, & Barry, 2012). Las frutas tropicales, como el Arazá, se consideran frutas exóticas, teniendo en cuenta su escaso cultivo y poca comercialización en los mercados globales, razón por la cual pocos estudios se han desarrollado con el objetivo de caracterizar el fruto de *Eugenia stipitata*.

Entre las características sensoriales agradables, se encuentra la jugosidad, suavidad, aroma característico e intenso; sin embargo, se destaca el sabor ácido, por lo que usualmente no es consumido directamente, sino como subproducto. Por esta razón, es

ampliamente usado en mermeladas, confites, jaleas, licores, vinos, cremas y compotas (Reyes & Lanari, 2020). En la industria de la perfumería es utilizada por su olor agradable y exótico.

A la fecha existen cuatro estudios relacionados con la composición volátil del fruto del arazá (*Eugenia stipitata*). Los resultados obtenidos en estas investigaciones se resumen en la **Tabla 1-4**, en donde se describen los métodos de extracción utilizados, y los principales compuestos encontrados en diversas técnicas instrumentales.

En el primer estudio, Franco y Shibamoto (2000), lograron identificar 39 compuestos volátiles (91%), los cuales fueron identificados por GC-MS empleando una columna polar DB-Wax y como solvente hexano, siendo los más abundantes los sesquiterpenos, principalmente Germacreno D (38%); además no se identificó contenido significativo de esterés. Respecto al procesamiento de la fruta, se tomaron 200g de mesocarpio de fruta y se homogenizaron con agua destilada a una proporción 1:2 en un procesador de alimentos o licuadora. Luego se adicionaron 30% de NaCl a 300g de la mezcla obtenida y se transfirió a un vaso colector de volátiles (Franco & Shibamoto, 2000).

En un segundo trabajo, Pino & Quijano (2007), aislaron los componentes volátiles del mesocarpio de la fruta mediante extracción líquido-líquido usando pentano-diclorometano en proporción 1:1 por 8 horas. Se usó como estándar interno decanol, y posteriormente el extracto fue analizado por cromatografía de gases GC-FID en columna HP-Innowax de alta polaridad. Este extracto fue evaluado por panelistas, los cuales detectaron notas aromáticas muy similares a la fruta fresca, con el predominio de notas dulce, verdosa y frutal. En este trabajo se identificaron 27 ésteres (54.8% de la composición total siendo los más abundantes), 20 terpenos, 5 alcoholes, 6 compuestos carbonílicos, 5 ácidos, 3 hidrocarburos, 2 lactonas y 2 compuestos azufrados. Los autores enfatizaron que esta investigación reportó 53 compuestos adicionales a los que ya habían sido descubiertos, además de presentar concentraciones más altas, lo que atribuyen a la influencia de maduración, forma de cultivo, región geográfica y método de aislamiento. Entre los compuestos mayoritarios se destacan los esterés: Octanoato de etilo, Dodecanoato de etilo y Decanoato de etilo. Otros compuestos detectados fueron: Etanol, 1-Hexanol, Globulol, ácido 2-metil butanoico, ácido hexanoico, ácido octanoico, 3-metil-2-buten-1-ol y 2-furfural (Pino & Quijano, 2007).

Luego, Fajardo (2009), quien fue el primero en emplear además del mesocarpio, las semillas y estudió la composición de los compuestos volátiles y volátiles enlazados glicosídicamente. En este trabajo se empleó la extracción líquido-líquido, utilizando pentano-diclorometano 1:1 por 48 horas, y empleando acetato de nerilo como estándar interno. Adicionalmente, se utilizó la extracción por arrastre con vapor-destilación simultánea con solvente orgánico (DES) extrayendo el mesocarpio por 2 horas con pentano-éter etílico 1:1 en un aparato de *Likens-Nickerson*. Finalmente, empleó la técnica de headspace- microextracción en fase sólida para estudiar los cambios de volátiles durante el proceso de maduración de la fruta. En las diferentes etapas de maduración que sufre el Arazá, se determinaron los cambios de los compuestos mayoritarios, identificados como los ésteres y las lactonas. En la evaluación olfatométrica no se detectaron compuestos con carácter de impacto. En el estudio realizado sobre las semillas, se encontraron como componentes mayoritarios eran los alcoholes y los terpenos. En el estudio de los volátiles enlazados glicosídicamente del mesocarpio se identificó principalmente el ácido cinámico (Fajardo, 2009).

Finalmente, Fernandes de Araújo et al. (2021) analizaron la parte comestible (mesocarpio y el epicarpio) y las semillas. Los extractos obtenidos por HS-MEFS se analizaron por GC-MS en una columna polar DB-WAX. Durante la experimentación, se identificaron 30 compuestos volátiles, con diferentes grupos funcionales tales como cetonas, alcoholes, ésteres y terpenos. Entre ellos se destacan el 1-hexanol y los compuestos terpénicos,  $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno, limoneno y  $\alpha$ -terpineol. Se definieron como notas olfativas relevantes la amaderada, herbácea, verde, terpeno y cítrica.



**Tabla 1-4.** Resumen de los estudios publicados sobre compuestos volátiles presentes en el fruto de Arazá (*Eugenia stipitata*)

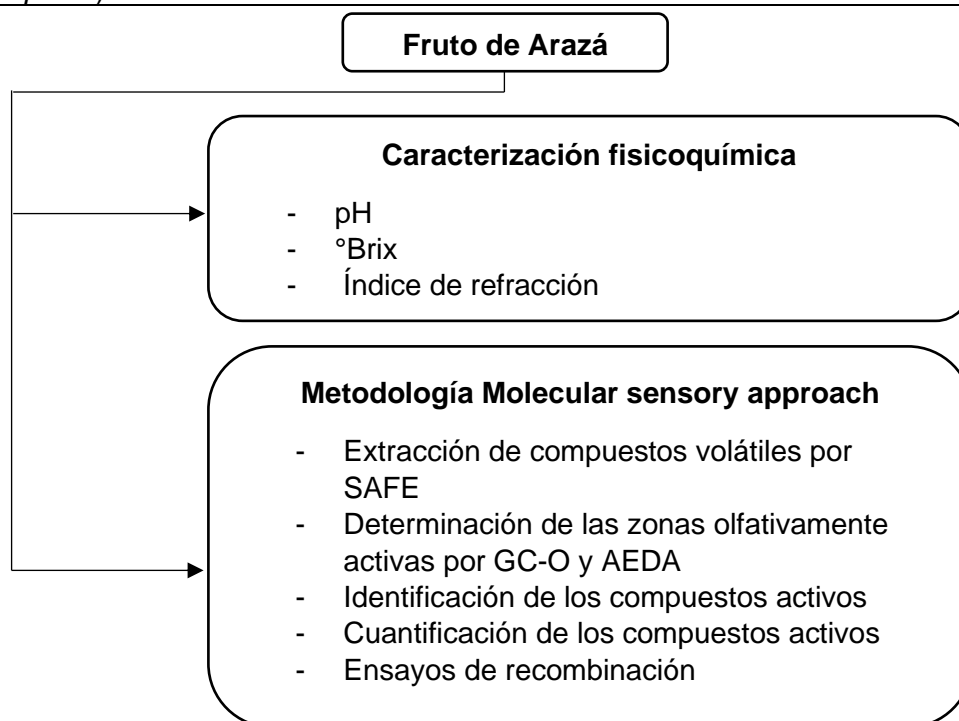
Métodos	País / origen/ Parte usada	Componentes encontrados	Componentes responsables del aroma	Referencia artículo
<b>Adición sal (NaCl), análisis directo HS/GC-MS</b>	Brasil: <i>Eugenia stipitata</i> Se usó el mesocarpio congelado	91% de componentes volátiles de la abundancia relativa, se detectaron compuestos sesquiterpenos, en donde Germacreno D fue el compuesto de mayor abundancia (38%) del área total. Contenido de esteres bajo y como mayoritarios $\alpha$ -pineno, $\alpha$ -fencheno, $\beta$ -pineno y limoneno.	Sin reportes de GC-O	(Franco & Shibamoto, 2000)
<b>Líquido-líquido/ GC-MS</b>	Colombia: <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh Únicamente el mesocarpio	Se identificaron 27 ésteres (54.8% de composición total), 20 terpenos, 5 alcoholes, 6 compuestos carbonílicos, 5 ácidos, 3 hidrocarburos, 2 lactonas y 2 compuestos azufrados. Total 70.	Sin reportes GC-O.	(Pino & Quijano, 2007)
<b>Líquido-líquido/ DES/ MEFS/ GC-MS/ GC-O</b>	Colombia: <i>Eugenia stipitata</i> Mc Vaugh (Semilla y mesocarpio)	Identificados 59 componentes volátiles (87.8% del total del extracto), con ésteres alifáticos (50.6%), alcoholes (14.3%), lactonas (10.8%), compuestos carbonílicos (7.1%) y ácidos carboxílicos (5.7%) como compuestos predominantes.	Sin detección de aroma impacto. Identificación ésteres alifáticos. Las lactonas como $\delta$ -hexalactona (0.7%) y $\delta$ -octalactona (3.3%) fueron descritas con nota roja dulce suave. Sin reportes GC-O.	(Fajardo, 2009)
<b>HS/ SPME/ GC-MS</b>	Brasil: <i>Eugenia stipitata</i> Mc Vaugh Únicamente uso parte comestible, no se encontró en la semilla.	Se reportaron 30 compuestos volátiles. Principalmente encontrados ácido butanoico, 2-metil-, hexil éster and $p$ -ocimeno.	$\beta$ -ocimeno es uno de los compuestos mayoritarios (amaderado, herbal, verde, terpénico y cítrico). Sin reportes GC-O.	(Fernandes de Araújo, y otros, 2021)

## 1.4. *Molecular Sensory Approach*

Las sustancias que estimulan el sentido del olfato son compuestos volátiles que se detectan vía orthonasal y/o retronasal, porque están presentes en los alimentos en concentraciones mayores al umbral de olor (threshold). Entre los compuestos activos olfativamente, se presta especial atención a aquellos compuestos que aportan el aroma característico de los alimentos y que, en consecuencia, se denominan compuestos impacto (*key aroma compounds*) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009).

Durante los estudios que se realizaban en química de aromas se pensaba que todos los componentes volátiles presentes en un alimento contribuían a su aroma, sin embargo, en el año de 1975 Rijkens y Boelens durante la evaluación de los odorantes claves de los alimentos mediante experimentos de dilución, modelos de aroma y omisión, determinaron la actividad odorífera, también conocida como OAV (*Odour Activity Value*). Este parámetro relaciona la concentración del compuesto en la matriz del alimento con su valor de umbral de olor (concentración más baja de un compuesto, pero suficientemente reconocible por el olfato humano), por tanto, solo el 5% de los compuestos volátiles tienen OAV >8, y se encuentran en concentraciones por encima a su valor umbral de olor (Grosch, 2001). Es así como no todos los compuestos volátiles son responsables del aroma de la fruta y, por tanto, la identificación y cuantificación de los compuestos volátiles activos en el aroma de cada alimento, permite realizar la correlación de las respuestas sensoriales con las sustancias químicas volátiles, y es ampliamente útil para monitorear cambios de aroma y sabor durante la vida útil o procesamiento del alimento. A partir de esta metodología, se desarrollaron otras con el propósito de reconocer aquellos compuestos volátiles presentes en la fruta en una cantidad superior a su umbral de olor, los cuales contribuyen al aroma característico. Para ello, se emplean para su identificación de manera simultánea técnicas sensoriales (GC-O) e instrumentales (GC-MS).

Para estudiar el aroma de la fruta o de cualquier alimento se realiza a través de una serie de pasos que incluyen análisis sensoriales e instrumentales, el **Figura 1-3** representa el proceso de trabajo para la identificación y cuantificación de actividad olfativa.



**Figura 1-3.** Diagrama de flujo para la identificación de los compuestos responsables del aroma de Arazá

### 1.4.1. Extracción y aislamiento de los componentes volátiles mediante **SAFE (Solvent Assisted Flavor Evaporation)**

La extracción delicada de los componentes volátiles es considerada la primera etapa de un estudio químico de aroma. El análisis de los compuestos de un aroma en un alimento inicia con la separación de la fracción volátil, donde el perfil olfativo de este extracto debe ser idéntico al de la fruta fresca. La técnica seleccionada para la extracción de compuestos volátiles debe cumplir principalmente con tres características importantes:

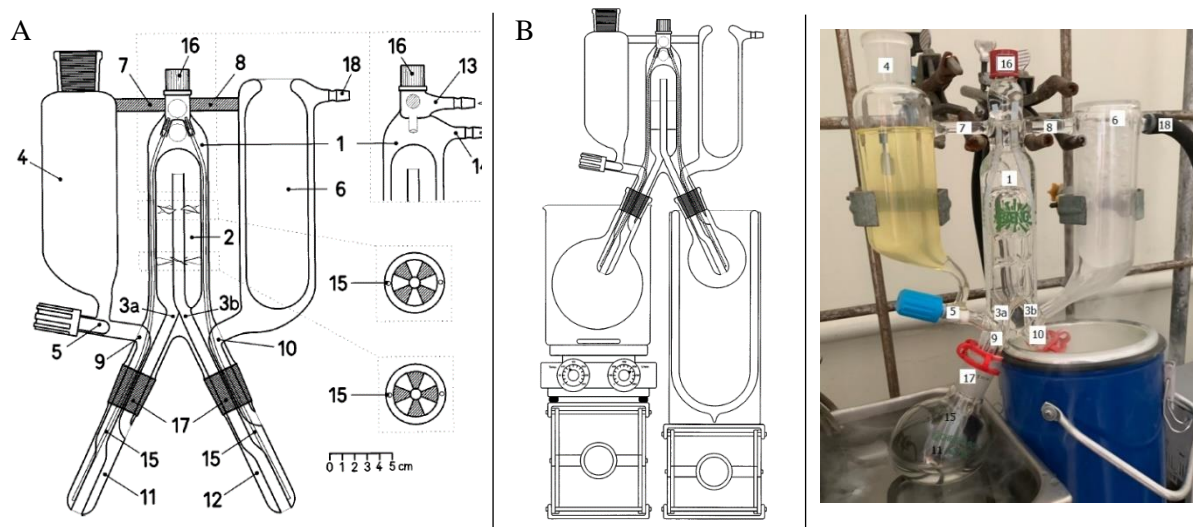
1. La capacidad de extracción de compuestos volátiles no debe discriminar ningún componente durante el proceso de extracción.
2. Las condiciones a las que se lleva a cabo la extracción no deben alterar la estructura de los compuestos de aroma.
3. Se deben remover compuestos no volátiles de la matriz, que pueden generar interferencias en el análisis cromatográfico posterior.

A fin de dar solución a estas tres características, es posible iniciar con procesos de concentración del analito, que dependen de la volatilidad, los coeficientes de partición del

analito entre la fase gaseosa o la fase de extracción y la matriz del alimento; a mayor coeficiente de partición, mayor será la extracción del analito.

La razón de emplear una técnica suave como SAFE, es que al no trabajar con temperaturas y presiones elevadas durante la destilación evita la formación de artefactos o formaciones sólidas, y/o desencadenar reacciones enzimáticas como: hidrólisis de esteres, desdoblamiento oxidativo de ácidos grasos insaturados, hidrogenación de aldehídos; o no enzimática como: hidrólisis de glucósidos, lactonas desde hidroxi-ácidos, ciclación de di-, tri- y polioles, deshidratación y reordenamiento de alcoholes tert-alílicos, reducción de disulfuros por reductonas de la reacción de Maillard, fragmentación de hidroperóxidos, entre otros (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). Por ejemplo, cuando los azúcares y los aminoácidos libres están presentes en la muestra, la reacción de Maillard o Strecker que podría conducir a la formación de compuestos volátiles adicionales considerados artefactos porque no están en la matriz original (Sinuco, 2009). El equipo SAFE transfiere los volátiles en un sistema de un diferencial de temperatura extrema entre dos recipientes conectados a través de un tubo de vidrio, eliminando así el material no volátil (Engel, Bahr, & Schieberle, 1999). La **Figura 1-4**, muestra el montaje para el proceso SAFE (Solvent Assisted Flavor Extraction). En la imagen A se observa el esquema de la unidad de destilación para realizar evaporación asistida por solvente, la imagen B presenta una visión general del equipo SAFE y finalmente, la imagen C hace referencia al equipo SAFE del laboratorio de aromas GANAC.

El equipo consta de un embudo de adición (4), una trampa fría (6) y una cabeza central (2) que sostiene 2 tubos de vidrio (11 y 12) equipados con una sección esmerilada (17), donde se ajustan herméticamente dos balones. El balón conectado a la salida del embudo de adición se coloca sobre un baño termostataado a 40 °C, mientras que el segundo balón conectado a la trampa fría se coloca sobre un baño de nitrógeno líquido.



**Figura 1-4.** Montaje SAFE (Solvent Assisted Flavor Extraction). A). Vista esquemática de la unidad de destilación para realizar evaporación asistida por solvente (SAFE). B). Vista general del equipo SAFE. C). Montaje SAFE laboratorio de aromas GANAC.

La cabeza y los tubos de vidrio se encuentran completamente termostatados a 40 °C con agua que ingresa hasta el fondo de los tubos de vidrio mediante tubos de polietileno (15) asegurando una temperatura homogénea en la trampa. El equipo se conecta por el extremo (18) a una bomba de alto vacío (10 -3Pa). La destilación se inicia cuando desde el embudo de adición se dejan caer gotas que, debido a la presión se atomizan. Los volátiles y el solvente son transferidos por medio del tubo (3a) dentro de la cabeza de destilación (2). El destilado, a través del tubo (3b), entra en el balón donde el solvente y los componentes volátiles son condensados debido al baño de nitrógeno líquido. De esta forma se obtiene un extracto incoloro, libre de componentes no volátiles y que usualmente posee el olor característico del alimento (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009) (Conde, 2013).

### 1.4.2. Determinación de zonas olfativamente activas por GC-O y AEDA

En esta segunda etapa, se realiza la determinación de las zonas olfativamente activas, (aquellas que aportan significativamente una nota al aroma global del alimento), y los compuestos sobre los que debe enfocarse la identificación y cuantificación. Consiste en analizar el extracto de volátiles por cromatografía de gases con detección instrumental convencional (FID) y acoplado simultáneamente a un detector olfatométrico (CG-O), lo que permite relacionar la percepción olfativa con la respuesta instrumental. Es de considerarse la relación entre el umbral olfativo del compuesto y el límite de detección del detector empleado; lo que indica que aquellos compuestos cuyos umbrales olfativos son muy bajos,

podrían no generar señales en el cromatograma, pero si podría ser detectado por el panelista. Así mismo, se puede dar el caso contrario, señales instrumentales intensas podrían no generar percepción olfativa en el panelista; de manera que el acoplamiento de estas dos herramientas permite el desarrollo de un análisis e identificación completa para diversos compuestos (Conde, 2013).

AEDA (*Aroma Extract Dilution Analysis*) es una metodología empleada una vez se han establecido las zonas del perfil cromatográfico, en el que el concentrado del extracto se diluye sucesivamente (usualmente hasta 10 veces). Luego cada dilución la analizan panelistas expertos por GC-O. El objetivo de este análisis es eliminar limitaciones presentes en la percepción del aroma, además de jerarquizar la potencia olfativa de cada una de las zonas identificadas. Por medio del AEDA se puede determinar la máxima dilución a la cual un compuesto es detectado olfativamente, expresada como FD (factor de dilución de aroma). Con esta metodología es posible cuantificar la contribución individual de los diferentes compuestos presentes en un aroma complejo y relacionarlo con un parámetro físico reproducible, en este caso el índice de retención (Conde, 2013). Es decir, la evaluación por GC-O, no puede considerarse como única prueba teniendo en cuenta que la percepción de las sustancias aromáticas en la corriente del gas portador depende de cantidades límite que no se relacionan con el valor del aroma. Lo anterior, se corrige empleando la dilución por etapas de la fracción volátil con solvente, seguida del análisis por cromatografía de gases/olfatometría de cada dilución. El proceso continúa hasta que no se puede detectar más sustancia aromática por medio de GC-O. De esta forma, se determina un factor de dilución  $2^n$  ( $n$  = número de diluciones 1+1) para cada compuesto activo olfativamente que aparece en el cromatograma de gases.

### **1.4.3. Identificación de los compuestos activos olfativamente**

En esta tercera fase del análisis se realiza la identificación de los compuestos que generan la nota olfativa de cada una de las zonas activas identificadas. Para este fin, se lleva a cabo la comparación de los siguientes parámetros: criterios olfativos (nota olfativa, el valor umbral de olor), cromatográficos (los índices de retención en al menos dos columnas de diferente polaridad) y espectrales (espectro de masas de analitos frente a los correspondientes estándares). La identificación de los compuestos volátiles se lleva a cabo utilizando los *Índices de retención*, los cuales son relativos a una serie de homólogos de *n*-alcanos, que al realizar los cálculos y compararlos con los índices reportados en la literatura o bases de datos (referencia) es posible establecer un determinado compuesto. Para el cálculo de los

índices de retención de cada compuesto obtenido en el análisis, se emplea una mezcla de hidrocarburos (C10 – C26), la cual se analiza por GC-MS y de acuerdo con los tiempos de retención reportados por el detector, se calculan los índices de retención con la siguiente fórmula [1] (García, 2017):

$$IR = 100 * \left( \frac{tr,m-tr,n}{tr,n+1-tr,n} + n \right) \quad [1]$$

Donde,

*IR* = índice de retención.

*tr, m* = tiempo de retención del pico de la muestra (min).

*tr, n* = tiempo de retención del hidrocarburo anterior (min).

*tr, n+1* = tiempo de retención del hidrocarburo posterior (min).

*n* = número del hidrocarburo anterior.

#### 1.4.4. Cuantificación de los compuestos activos olfativamente

La cuarta etapa determina la cantidad presente de aquellos compuestos activos previamente identificados. Teniendo en cuenta que trabajar con compuestos altamente volátiles como aquellos presentes en las frutas, pueden presentarse pérdidas de los compuestos de interés, generando problemas de reproducibilidad, por tanto resulta útil utilizar el método de estándar interno, en el que las propiedades fisicoquímicas del patrón sean similares a las del analito. La determinación del factor de respuesta (FR) de cada compuesto, se realiza a través de una curva de calibración, de manera que es posible aproximar las pérdidas que sufre el analito, con el fin de obtener resultados confiables. Para la cuantificación de cada uno de los compuestos olfativamente activos identificados, se debe obtener el factor de respuesta, tanto del analito como del estándar interno. Para tal fin se utiliza la siguiente fórmula [2] (IOFI Working Group on Methods of Analysis, 2011):

$$Concentration \left( \frac{\mu g}{Kg} \right) = \frac{\text{Área analito}}{\text{Área estándar}} \times \frac{\mu g \text{ estándar}}{Kg \text{ fruta}} \times FR. \quad [2]$$

Finalmente, los valores de actividad del aroma (OAV) se calculan empleando la relación entre la concentración y el valor umbral en agua [3], reportado en la literatura para aquellos compuestos con factor de dilución de aroma mayor a 8 (FD≥8). Los compuestos con valor

superior 1, serán considerados como activos y/o responsables del aroma de arazá, por tanto, su gran aporte a la misma. el cálculo se da c

$$OAV = \frac{\text{Concentración del analito}}{\text{Umbral}} [3]$$

### 1.4.5. Ensayos de recombinación

En esta etapa se realiza la validación los resultados analíticos derivados de los análisis cromatográficos y sensoriales utilizados en la identificación y cuantificación de compuestos con actividad olfativa, a través de pruebas de simulación del aroma. Estos experimentos de recombinación buscan determinar si la mezcla sintética de los compuestos olfativamente activos identificados, en las cantidades específicas encontradas, exhibe un perfil olfativo similar al de la fruta (Grosch, 2001). Las pruebas de recombinación implican combinar los compuestos que exhiben un valor de actividad olfativa (OAV) superior a su valor de umbral, considerando las concentraciones específicas determinadas de cada analito. La evaluación del perfil sensorial de esta mezcla recombinada y su posterior comparación con el perfil sensorial de la fruta se lleva a cabo mediante una evaluación realizada por un equipo de panelistas entrenados, al menos en duplicado (Conde, 2013). Cabe indicar que resaltar, que antes de llevar a cabo las evaluaciones, los panelistas reciben un entrenamiento previo, durante el cual se les expone a sustancias de referencia que evocan notas olfativas específicas, de acuerdo con los descriptores determinados, así como la escala de intensidad utilizada en las pruebas.

Es así como el objetivo general de este trabajo fue identificar los compuestos volátiles olfativamente activos del aroma de Arazá (*Eugenia stipitata*) empleando la metodología *Molecular Sensory Approach*. Este objetivo se dividió en los siguientes objetivos específicos: obtener el extracto de arazá (*Eugenia stipitata*) empleando la metodología SAFE que exhiba las notas características de la fruta y evaluar las zonas olfativamente activas mediante GC-O (Cromatografía de gases acoplada a Olfatometría), e identificar y cuantificar los compuestos olfativamente activos identificados, para hacer un ensayo de recombinación.



## 2. Metodología

La metodología *Molecular Sensory Approach* fue empleada para el estudio del *flavor* del aroma de Arazá, a continuación, se presenta a detalle cada uno de los pasos durante el proceso de experimentación.

### 2.1. Materiales y reactivos

Los reactivos y los compuestos estándar se obtuvieron de la aromateca del grupo de investigación GANAC. El diclorometano (Merck, Darmstadt, Alemania) fue destilado diariamente antes de usarse. La mezcla de la fruta fue deshidratada con sulfato de sodio de Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania). El nitrógeno líquido fue obtenido del departamento de física de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá. Los patrones empleados fueron, 2,3-butanodiona (NC Natura Chemical, Hamburgo, Alemania), 2-metilbutirato de metilo (suministrado por GANAC, Bogotá, Colombia), hexanoato de etilo (Firmenich, Indonesia),  $\beta$ -cariofileno (suministrado por GANAC, Bogotá, Colombia),  $\beta$ -damascenona (Firmenich, Brasil), furaneol (suministrado por GANAC, Bogotá, Colombia), ácido octanoico (suministrado por GANAC, Bogotá, Colombia), cinamato de etilo (Iberchem, Murcia, España) y  $\gamma$ -dodecalactona (Aroma Chemical Services International GmbH, Höxter, Alemania). Se empleó mezcla de *n*-alcanos (C<sub>10</sub>-C<sub>26</sub>) para calcular los índices de retención, y como estándar interno acetato de linalilo (Disaromas, Bogotá, Colombia).

### 2.2. Material vegetal y caracterización

Para la experimentación, los frutos de arazá (*Eugenia stipitata*) en estado maduro (color amarillo) para consumo, fueron adquiridos en los mercados locales Florencia, Caquetá, Colombia. Se transportaron el mismo día de la recolección hasta el laboratorio de Química de aromas en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Este material vegetal se recolectó bajo las directrices técnicas del Contrato Marco de Acceso de Recursos Genéticos y sus Productos Derivados No. 357 del 17 de noviembre de 2022, suscrito entre el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Universidad Nacional de Colombia.

Para la caracterización fisicoquímica de la fruta se midió el pH y el contenido de sólidos solubles en °Brix. Para la determinación de pH se empleó un pH-metro Jenway 370

(Londres, UK), y la medición se realizó sobre el puré de la fruta. Por otra parte, el análisis de contenido de sólidos solubles totales fue medido directamente en la fruta empleando un refractómetro Atago RX-5000 (Tokio, Japón), y los resultados fueron expresados como °Brix. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

### **2.3. Obtención del extracto enriquecido en compuestos volátiles**

Para el procesamiento de la fruta, se pesaron 200g de Arazá maduro, incluyendo el mesocarpio, epicarpio y semilla, y se homogenizaron de forma manual hasta la formación de un puré. Posteriormente, 30 mL de diclorometano se adicionaron a esta mezcla. Se realizaron dos procedimientos, uno sin estándar interno y a la segunda se adicionó como estándar interno, acetato de linalilo a una concentración de 1676 ppm (IR<sub>FFAP</sub>:1551) para realizar la cuantificación. Luego se adicionaron 400g de sulfato de anhídrido (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) con el fin de deshidratar la fruta y tener una mejor extracción de los compuestos volátiles. Esta mezcla se mantuvo sobre baño de hielo con el fin de evitar la pérdida de los volátiles. El producto y/o sólido obtenido se empacó en una columna de vidrio y eluyó con 300 mL del solvente (DCM). Durante este proceso el balón recolector se dejó en un baño de hielo con el fin de mantener bajas temperaturas. El procedimiento fue realizado por duplicado.

La mezcla orgánica obtenida durante el proceso de extracción que exhibió el aroma característico del Arazá se sometió a extracción con un equipo SAFE (Solvent-Assisted Flavor Evaporation) que extrae los componentes volátiles sin afectarlos (**Figura 1-4**). El extracto SAFE se secó con sulfato de sodio anhídrido y se concentró hasta 500 µL, usando una columna Vigreux (50 cm X 1cm) a 40°C, con el fin de eliminar el solvente. Este procedimiento se realizó por duplicado.

### **2.4. Análisis cromatográfico de los compuestos volátiles**

El extracto obtenido por SAFE se sometió a análisis por GC-O y GC-MS. El análisis de cromatografía de gases acoplado a olfatometría (GC-O) se realizó en un cromatógrafo de gases HP 5890 Serie II (Hewlett Packard, USA) equipado con un detector de ionización de llama (FID), acoplado a un olfatómetro o puerto de olfacción (con divisor de flujo HP OSS-2). Se utilizó una columna METAWAX (Teknokroma, 30m x 0,25mm x 0,25µm). Al final de la columna cromatográfica, el flujo de la columna se dividió en una relación 1:1, una parte se dirigió hacia el detector de ionización por llama, mientras que la otra fue guiada al

olfatómetro para su correspondiente detección por parte de los panelistas, obteniendo así una respuesta simultánea en los dos detectores. El programa de temperatura del horno fue el siguiente: una temperatura inicial de 40°C por 1 minuto, luego la temperatura incrementó a una velocidad de 6 °C/min hasta 180°C y posteriormente a velocidad de 12°C/min hasta 240°C, finalmente se mantuvo a 230°C por 7 minutos. La temperatura del inyector y del detector fue de 250 °C. La inyección se realizó en modo split (1:10). El gas de arrastre usado fue helio el cual trabajó con un flujo de 1.5 ml/min.

Los análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS), se realizaron en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B GC System (Agilent Technologies Inc. Wilmington, DE, USA), acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5977A MSD, empleando el software Mass Hunter Work Station de la empresa Agilent Technologies. Este equipo se trabajó en modo ionización electrónica (70 eV) con inyección automática y temperatura de fuente de 250 °C. Los espectros de masas se obtuvieron en un rango de masa entre 40 y 300 u y se procesaron con el software ChemStation con librería NIST (versión 2.2, NIST/EPA/NIH, 2014). El programa de temperatura fue el mismo utilizado en el análisis por GC-O.

Los índices de retención se calcularon, utilizando la mezcla de parafinas (C10 – C26) como referencia externa.

## **2.5. Análisis de dilución de extracto de aroma (AEDA)**

Para la identificación de los compuestos olfativamente activos, se empleó el método AEDA. Para lo anterior, tres panelistas entrenados de la Universidad Nacional de Colombia realizaron el proceso de olfacción detectando las zonas activas olfativamente del extracto obtenido por SAFE mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a olfatometría (GC-O). Para los compuestos que exhibieron alguna nota olfativa, se determinaron los índices de retención, mediante los cuales se correlacionaron los resultados obtenidos por GC-O con los de GC-MS. Posteriormente, se determinó el factor de dilución (FD) de los compuestos activos detectados por GC-O, usando el análisis AEDA, para lo cual se realizaron diluciones sucesivas del extracto original del SAFE en un factor de 2<sup>n</sup>. Nuevamente la olfacción se realizó por panelistas entrenados en orden creciente hasta que no se percibió aroma, determinando así la actividad olfativa de cada compuesto. Esta actividad se expresó como el factor de dilución (FD) promediando los resultados obtenidos por los tres panelistas.

La identificación de los compuestos olfativamente activos de la fruta de arazá se realizó comparando los índices de retención obtenidos en GC-O con la nota olfativa detectada; y los índices de retención obtenidos por GC-MS obtenido para cada uno de los compuestos en relación con sustancias de referencia NIST. Los índices de retención fueron calculados según el método de Kovats, fórmula [1].

## **2.6. Identificación y cuantificación de los compuestos activos olfativamente**

Para su cuantificación, se empleó el método de estándar interno, en el que se relaciona el área bajo la curva de cada compuesto con la concentración del estándar (acetato de linalilo), lo que permitió calcular la cantidad relativa de cada compuesto en la fruta.

Los datos cuantitativos obtenidos se corrigieron con el factor de respuesta (FR) obtenido para cada analito. Se analizaron mezclas de concentración conocida de patrón interno, con cada analito, a diferentes concentraciones. En cada caso, se graficó la relación del área estándar/área del analito versus la relación de sus concentraciones, y se calculó la pendiente que correspondió al factor de respuesta para cada analito. La concentración de cada compuesto se calculó mediante la relación de las áreas de los picos correspondientes al analito y al patrón interno y corrigiendo con el factor de respuesta calculado como se mencionó previamente. Los datos se obtuvieron por duplicado.

Los valores de actividad del aroma (OAV) se calcularon por la relación entre la concentración y el valor umbral de cada compuesto en agua reportado en la literatura, para cada factor de dilución superior a 8 ( $FD \geq 8$ ). Los compuestos con valor superior 1, fueron considerados como activos y/o responsables del aroma de arazá.

## **2.7. Análisis sensorial y ensayos de recombinación**

La evaluación sensorial fue realizada por un panel entrenado compuesto por 11 panelistas sensoriales (7 mujeres y 4 hombres, con edades entre los 22 y los 55 años), los cuales pertenecían a la empresa Lucta, dedicada a la fabricación de fragancias, sabores y aditivos para alimentación animal (Tocancipá, Cundinamarca, Colombia). Los experimentos sensoriales se realizaron a  $20 \pm 1$  °C en una sala sensorial con cabinas individuales y luz roja. Durante varias sesiones, los panelistas fueron entrenados en la percepción olfativa y gustativa de los descriptores del aroma del Arazá, así como, en el manejo de escalas de puntajes de intensidad a través de soluciones de referencia con los siguientes atributos

aromáticos: Rancio (ácido octanoico), frutal ( $\gamma$ -dodecalactona), tropical (hexanoato de etilo), caramelo (furanol) y floral ( $\beta$ -damascenona). Adicionalmente, se utilizó una escala lineal de 3 puntos (donde, 0 = no perceptible, 1 = débilmente perceptible, 2 = moderadamente perceptible, y 3 = muy perceptible) para determinar la amplitud o impresión general de cada solución de referencia (Lawless & Heymann, 2010).

Para la evaluación olfativa, se emplearon diluciones *stock* al 10% p/v de cada descriptor en propilenglicol, verificando concentraciones por encima del umbral de olor del respectivo descriptor odorante. Para la preparación de la solución del recombinedo, se mezclaron cantidades apropiadas (1–2 mL) de las soluciones *stock* de los odorantes y se completaron hasta 1 L con agua para obtener las mismas concentraciones determinadas en los frutos de *Eugenia stipitata*. Adicionalmente, se preparó un puré del fruto completo de Arazá fresco (5.0 g) y tanto la fruta, como la solución recombineda, fueron colocados individualmente en frascos de vidrio ámbar para realizar una comparación olfativa basada en los atributos de olor de las soluciones de referencia. Las muestras fueron etiquetadas con números aleatorios de tres dígitos.

Se solicitó a los panelistas que evaluaran orthonasalmente la intensidad de las cinco soluciones de referencia tanto en el fruto fresco, como en el recombinedo de Arazá, así como, comparar la similitud general del perfil olfativo entre las dos muestras en mención (Ver **Anexo A**). El análisis olfativo de tipo descriptivo y cuantitativo se realizó por duplicado y los resultados se representaron en un diagrama de araña siguiendo los parámetros de la Norma Técnica Colombiana, NTC 3929 (ICONTEC , 2021). Cada panelista firmó un consentimiento informado autorizando el uso de la información obtenida para propósitos de la investigación. Los formatos de evaluación sensorial se presentan en el **Anexo A**.

### 3. Resultados y discusión

En este capítulo se exhiben los resultados del análisis químico del aroma del Arazá, en este se detallan los hallazgos para cada etapa de la metodología empleada.

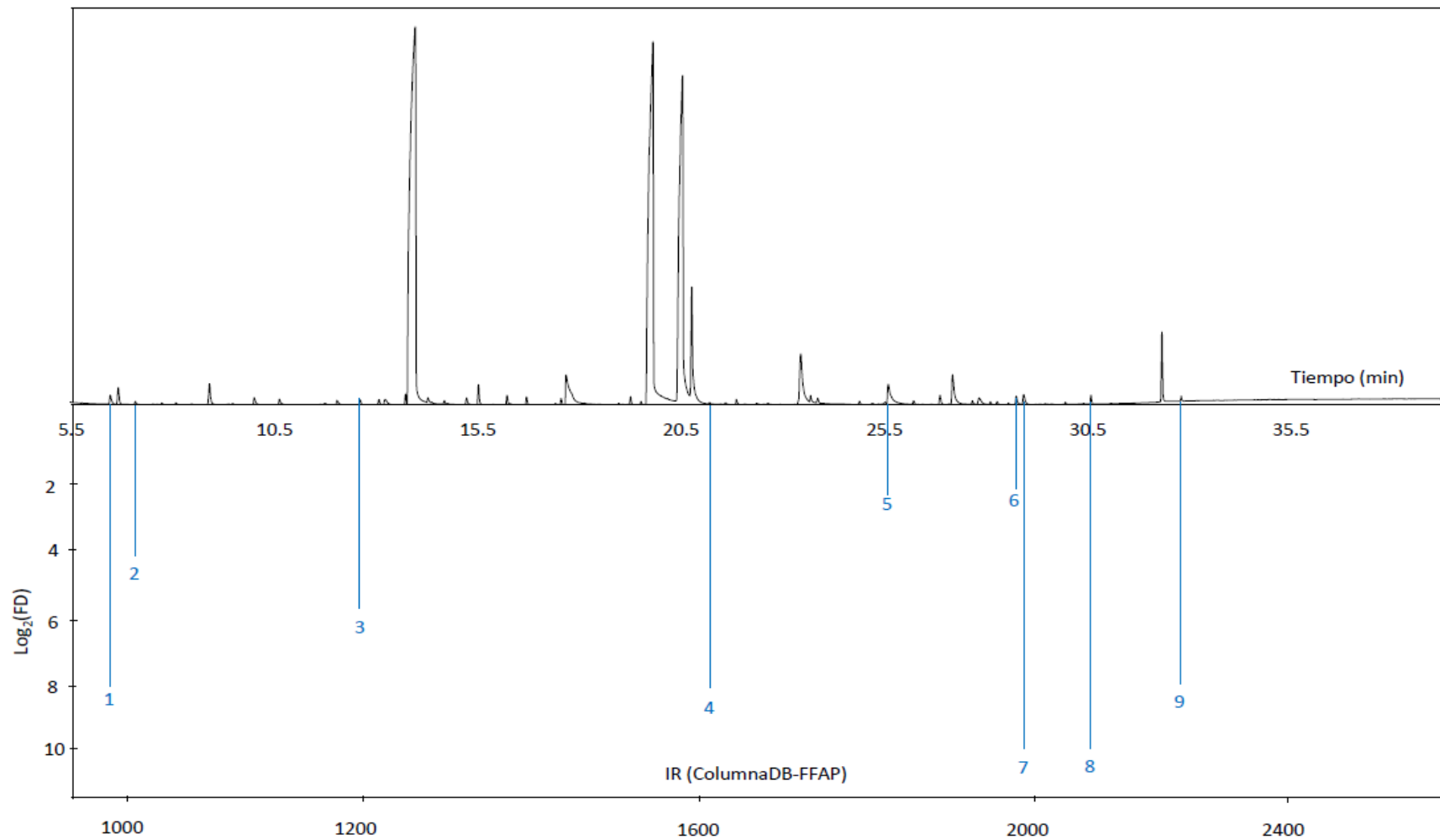
#### 3.1. Análisis fisicoquímico

Se determinó que el fruto de Arazá (*Eugenia stipitata*) presentó valores de pH de  $2.69 \pm 0.04$ , indicativo que es una fruta bastante ácida que generalmente se encuentra en rangos 3.0 – 4.0 (Hernández, Barrera, Fernández, Carrillo, & Bardales, 2007). El valor de sólidos solubles obtenidos como Brix° fue de  $7.5 \pm 0.30$ , sus rangos suelen encontrarse entre 7.0 – 10.0, dependiendo de la madurez de la fruta, este valor indica una baja concentración de azúcares.

#### 3.2. Análisis de compuestos volátiles activos en el aroma de la fruta

El objetivo principal del estudio fue determinar los analitos responsables del aroma de la fruta *Eugenia stipitata*, esto teniendo en cuenta que, en el mercado, el aroma es uno de los atributos más importantes de los alimentos pues promueven su aceptación y permanencia. Para esto se decidió emplear una metodología que combina las técnicas instrumentales y sensoriales, y se utilizó el fruto completo con miras al aprovechamiento integral de la fruta, ya que la cáscara es comestible.

De acuerdo con el análisis sensorial realizado durante la experimentación, se encontró que el solvente utilizado para la extracción (DCM) fue adecuado ya que se obtuvo un extracto con características de aroma similares a las de la fruta. En el extracto obtenido, se detectaron notas dulces, cítricas, lácteas, que corresponden a las notas características de Arazá. El análisis SAFE permitió la obtención de un producto incoloro, rico en componentes volátiles, siendo esta la primera investigación realizada para la fruta Arazá *Eugenia stipitata* con esta metodología. La **Figura 3-1** presenta el perfil cromatográfico comparativamente con los resultados del AEDA.



**Figura 3-1.** Análisis por GC-MS (columna FFAP) y resultados del AEDA (en color azul) del extracto SAFE del fruto de Arazá (*Eugenia stipitata*). Los números asignados corresponden a los compuestos de la **Tabla 3-1**.

Con base en el *Molecular Sensory Approach*, se identificaron 11 compuestos volátiles responsables del aroma característico de la fruta, correspondientes al limoneno (IR = 1174, óxido de limoneno IR = 1467, 2,3-butanodiona, 2-metilbutirato de metilo, hexanoato de etilo,  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -damascenona, furaneol, ácido octanoico, cinamato de etilo y  $\gamma$ -dodecalactona. A partir del AEDA, se encontró que solo los nueve compuestos reportados en la **Tabla 3-1**, eran relevantes para el aroma de esta fruta porque su factor de dilución fue superior a 8 (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). Por esta razón, el limoneno y el óxido de limoneno no fueron cuantificados. Con base en los FD se encontró que los compuestos que más contribuyen al aroma de esta fruta son: el ácido octanoico, el cinamato de metilo, el  $\beta$ -cariofileno y la  $\gamma$ -dodecalactona.

Los datos de cuantificación presentados en las **Tabla 3-1** muestran la presencia de C<sub>13</sub>-norisoprenoides como la  $\beta$ -damascenona, compuestos furánicos como el furaneol, sesquiterpenos como el  $\beta$ -cariofileno, esterés alifáticos como el hexanoato de metilo y ácidos como el octanoico como mayoritarios entre los compuestos olfativamente activos. En menor proporción se identificaron cetonas como la 2,3-butanodiona, esterés cíclicos como la  $\gamma$ -dodecalactona, esterés aromáticos como el cinamato de metilo y alifáticos como el 2-metil-butirato de metilo.

Las estructuras químicas, sus valores de OAV y las notas olfativas detectadas por el análisis por GC-O se resumen en la **Figura 3-2**. Con base en estos datos, se puede decir que la  $\beta$ -damascenona, la 2,3-butanodiona y el hexanoato de etilo son compuestos impacto en el aroma de esta fruta.



**Tabla 3-1.** Identificación y cuantificación de los compuestos activos olfativamente obtenidos del extracto SAFE del fruto de Arazá (*Eugenia stipitata*)

N° <sup>a</sup>	Compuesto <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup>	Factor de respuesta	FD <sup>d</sup>	Conc. ± SD (%CV) (µg/Kg fruta) <sup>e</sup>	Umbral de olor (µg/Kg agua) <sup>f</sup>	OAV <sup>g</sup>	Referencias <sup>h</sup>
1	2,3-Butanodiona	< 1000	0.28	8	1872.68±3.59 (1.92)	0.05	51721	(Díaz, Ventura, & Galceran, 2004)
2	2-Metilbutirato de metilo	1049	0.65	16	524.28±26.58 (50.7)	0.25	2668	(Leffingwell, & Associates, 2023)
3	Hexanoato de etilo	1205	0.76	64	2962.89±14.08 (4.75)	1	3747	(Leffingwell, & Associates, 2023)
4	β-Cariofileno	1648	0.29	256	4092.02±1.37 (0.33)	64	80	(Leffingwell, & Associates, 2023)
5	β-Damascenona	1818	0.91	8	27731.28±50.32 (1.81)	0.002	10.8x10 <sup>5</sup>	(Leffingwell, & Associates, 2023)
6	Furaneol (4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona)	2010	0.87	8	6980.57±0.99 (0.14)	31	225	(Buttery, Takeoka, & Ling, 1995)
7	Ácido octanoico	2039	0.87	1024	2358.43±5.13 (2.18)	15	157	(Salo, 1970)
8	Cinamato de etilo	2135	0.41	1024	1786.38±9.18 (5.14)	1	1786	(Khairallah, Reynolds, & Bowen, 2016)
9	γ-Dodecalactona	2364	0.31	256	1787.32±2 (1.12)	8	223	(Cooke, Van Leeuwen, Capone, & Sefton, 2009)

a. Los odorantes se numeraron según su tiempo de retención en la columna FFAP (**Figura 3-2**).

b. Los analitos activos se identificaron por comparación de los índices de retención en columna FFAP, los espectros de masas, y las notas olfativas, con los estándares correspondientes.

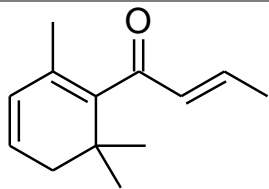
c. Índice de retención experimental en columna FFAP

d. Factor de dilución obtenido a través del análisis AEDA

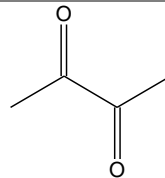
e. Todos los datos son la media de tres mediciones ± desviación estándar y coeficiente de variación (CV).

f. Valores de umbral indicado para cada analito, tomado de las referencias en la columna h

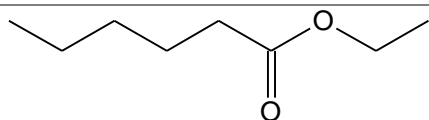
g. OAV: Valor de actividad de olor, concentración del compuesto dividido por su umbral de olor

 **$\beta$ -Damascenona, OAV:  $10.8 \times 10^5$** 

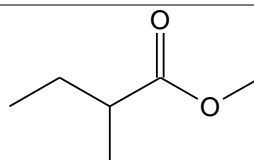
Rosa, ciruela, amaderado

**2,3-Butanodiona, OAV: 51721**

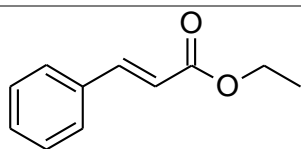
Mantequilla, rancio

**Hexanoato de etilo, OAV: 3747**

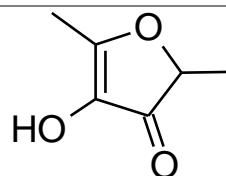
Frutal, piña, verde

**2-Metilbutirato de metilo, OAV: 2668**

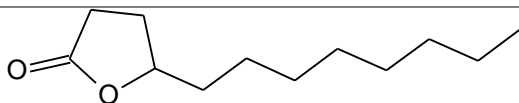
Etéreo, frutal, tutti frutti

**Cinamato de etilo, OAV: 1786**

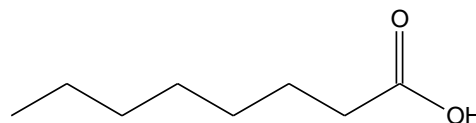
Dulce, balsámico afrutado

**Furaneol, OAV: 225**

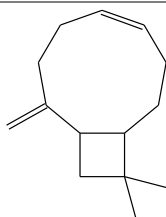
Dulce, azúcar, caramelo

 **$\gamma$ -Dodecalactona, OAV: 223**

Melocotón coco, nuez.

**Ácido octanoico, OAV: 157**

Dulce, afrutado, rancio

 **$\beta$ -Cariofileno, OAV: 80**

Especiado, clavo, terroso

**Figura 3-2.** Notas olfativas detectadas por GC-O para cada compuesto activo olfativamente en el aroma del arazá

Esta es la primera vez que se reportan los compuestos activos olfativamente en el aroma del araza. Sin embargo, la presencia de  $\beta$ -cariofileno, ácido octanoico,  $\gamma$ -dodecalactona, furaneol y hexanoato de etilo fue reportada por Franco & Shibamoto (2000), Pino & Quijano (2007), Fajardo (2009) y Fernandes de Araújo (2021).

Por otra parte, al comparar el perfil cromatográfico con otras frutas de la familia Myrtaceae, como guayaba (*Psidium guajava*) o guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* Nied.), se encontraron diferencias significativas en la composición cuantitativa y cualitativa.

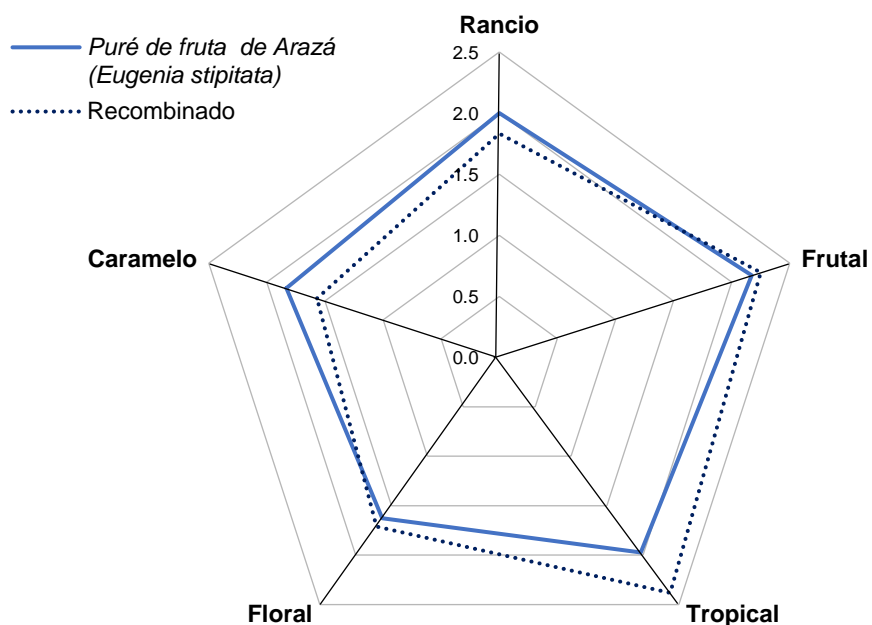
Por ejemplo, en el aroma de la guayaba (Steinhaus, Sinuco, Polster, Osorio & Schieberle, 2008), se encontró que los compuestos impacto eran azufrados como el acetato de 3-sulfanil hexilo, el 3-sulfanil hexanol y el metional, así como los alifáticos C<sub>6</sub>, (*Z*)-3-hexenal, y el hexanal; el furaneol; y los ésteres butanoato de etilo y acetato de cinamilo. En otra la otra especie de la familia Myrtaceae, la guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* Nied.), también se detectó la presencia de compuestos azufrados como el acetato de 3-sulfanilhexilo, esterés como el butanoato de etilo y el de hexilo y lactonas como  $\delta$ -dodecalactona, entre los compuestos más relevantes en el aroma de esta fruta (Cuadrado-Silva, Pozo-Bayón, & Osorio, 2017).

Entre las principales diferencias, se encuentra que en el arazá los compuestos azufrados y los alifáticos tipo C<sub>6</sub> no son relevantes para el aroma de esta fruta, a diferencia de las dos especies de guayaba mencionadas anteriormente.

Recientemente, se realizó el estudio del aroma de una fruta Amazónica de la familia Myrtaceae, el camu-camu (*Myrciaria dubia*) (García-Chacón, Forero, Peterson & Osorio, 2023). En esta investigación donde se usó el *Molecular Sensory Approach*, se identificaron cuatro compuestos olfativamente activos: el acetato de isoamilo,  $\alpha$ -pineno, limoneno, y  $\beta$ -cariofileno, cuyas descriptores olfativos fueron frutal, herbal, madera y cítrico. Al comparar estos resultados con los del arazá, se observa de similitud la relevancia de los terpenos en el aroma de estas frutas, y el hecho que en el camu-camu los compuestos azufrados tampoco fueron relevantes.

### 3.3. Análisis sensorial

Con el fin de verificar los resultados de la cuantificación y del análisis por GC-O presentados en el numeral anterior, se preparó una solución recombinada de los compuestos olfativamente activos en el fruto de arazá, empleando las cantidades reportadas en la **Tabla 3-1**. Los resultados del panel sensorial realizado comparativamente entre el recombinado y el puré de la fruta se presentan en el diagrama de araña la **Figura 3-3**.



**Figura 3-3.** Perfil de aroma del puré de Arazá (*Eugenia stipitata*) comparado con la respectiva solución de recombinado de aroma.

Durante la evaluación sensorial, los panelistas determinaron que las notas frutales, rancias y tropicales (atribuidas a la  $\gamma$ -dodecalactona, ácido octanoico y hexanoato de etilo, respectivamente), fueron características del aroma de esta fruta.

Entre los descriptores se puede ver que hubo bastante similitud en la nota frutal y floral. Aunque los perfiles se ven similares, la nota tropical del recombinedo estaba sobredimensionada frente a la fruta utilizada; en contraste con las notas rancia y caramelo que no eran tan potentes. También se encontró que al recombinedo le faltaba algo de frescura. De igual forma, los jueces determinaron que una nota roja propia del 2-metil butirato de metilo sobresalía en la solución recombineda, la cual no se asoció con el perfil olfativo característico del Arazá.

Con estos resultados se encontró que el fruto de *Eugenia stipitata* es altamente perecedero, por lo que durante su transporte y almacenamiento puede sufrir alteraciones en su estado de madurez y, por ende, en la composición de sus compuestos volátiles (Fernandes de Araújo, y otros, 2021). De esta manera, se determinaron notas ligeramente más rancias en la fruta, así como notas fermentadas que influyeron en la evaluación de la similitud durante el análisis sensorial.

## 4. Conclusiones

Empleando la metodología *Molecular sensory approach* para el estudio químico del aroma de Arazá (*Eugenia stipitata*), se lograron identificar once compuestos olfativamente activos, de los cuales nueve compuestos presentaron un factor de dilución igual o superior a 8. Se identificó la 2,3-butanodiona, el 2-metilbutirato de metilo, el hexanoato de etilo, el  $\beta$ -cariofileno, la  $\beta$ -damascenona, el furaneol, el ácido octanoico, el cinamato de etilo y la  $\gamma$ -dodecalactona, como compuestos olfativamente activos en el aroma del fruto de arazá (*Eugenia stipitata*). A pesar de que el equipo GC-MS detecta más de 50 compuestos volátiles en el extracto SAFE de esta fruta, sólo nueve son relevantes al aroma por estar en una concentración mayor de su valor umbral de olor.

De acuerdo con los resultados obtenidos frente al análisis sensorial se concluyó que no hay un compuesto impacto en el aroma de esta fruta y que el aroma percibido es una sinergia de todos los compuestos olfativamente activos acá reportados.

Los compuestos volátiles azufrados no fueron relevantes en el aroma de esta fruta, en comparación con otras frutas de la familia Myrtacea. Se sugiere hacer un análisis sensorial comparando el atributo sabor entre el recombinado y la fruta para confirmar la relevancia de algunos compuestos olfativamente activos.

## 5. Anexos

### Anexo A. Ficha para evaluación sensorial



EVALUACIÓN SENSORIAL DESCRIPTIVA DE AROMA  
Grupo de Aditivos Naturales de Aroma y Color — GANAC

Evaluidor: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Frente a usted tiene un grupo de DOS muestras. Por favor evaluar de acuerdo con el orden que le aparece en el formato. Antes de evaluar agite ambas muestras.

1. Califique el AROMA de los siguientes descriptores de acuerdo con la siguiente escala:

Escala	Descripción
0	No percibida
1	Débil
2	Moderado
3	Fuerte

Nota: Puede emplear números intermedios en la escala para calificar.

Descriptor	Intensidad	
	194	583
Lácteo		
Frutal		
Notas amarillas (Tropical)		
Floral/madera		
Caramelo		

2. Califique la similitud general en AROMA entre las dos muestras, utilizando la misma escala 0: Poco similar y 3: Muy similar.

Similitud general: \_\_\_\_\_

3. Describa la diferencia entre el AROMA de las dos muestras (si la hay).

---

---

---

---

¡Muchas gracias!

## 6. Bibliografía

- Anturi, F. (2018). El bio-comercio en la cadena productiva de los productiva de los frutales Amazónicos en Florencia Caquetá. Trabajo de Investigación en Administración. Neiva, Colombia: Universidad del Valle.
- Apolinario, G., & Erazo, M. (2020). Evaluación de los parámetros fisicoquímicos, farmacognósticos, y actividad antioxidante de las semillas de Arazá (*Eugenia stipitata*). Tesis de Pregrado de Química y Farmacia. Guayaquil, Ecuador: Universidad de Guayaquil.
- Aristizabal, A. (2021). Revisión sistemática de métodos de extracción y cuantificación de ácido ascórbico para su aplicación en frutos Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) y cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal). *Tesis de Pregrado en Tecnología Regencia de Farmacia*. Bogotá, Bogotá, Colombia: Corporación Tecnológica de Bogotá CTB.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. Germany: Springer.
- Buttery, R. G., Takeoka, G. R., & Ling, L. C. (1995). Furanol: Odor threshold and importance to tomato aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(6), 1638-1640. doi:DOI10.1021/jf00054a042
- Conde, N. (2013). Estudio químico del aroma de dos especies del género passiflora; gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis*) y curuba de castilla (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*). Tesis de Maestría en Ciencias Química. Bogotá, Colombia: Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.
- Cooke, R. C., Van Leeuwen, K. A., Capone, D. L., Gawel, R., Elsey, G. M., & Sefton, M. A. (2009). Odor detection thresholds and enantiomeric distributions of several 4-alkyl substituted  $\gamma$ -lactones in Australian red wine. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57 (6), 2462–2467. DOI: 10.1021/jf802866f
- Cuadrado, C., Del Pozo, M., & Osorio, C. (2017). Identification of aroma compounds and precursors of sour guava (*Psidium friedrichsthalianum* Nied.) following a sensomics approach. *European Food Research and Technology*, 243, 1-10. DOI: 10.1007/s00217-016-2716-y



- Cuéllar, E., & Jiménez, C. (2013). Caracterización física y química del fruto de Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). *Ingenierías & Amazonia*, 116-123.
- Díaz, A., Ventura, F., & Galceran, M. (2004). Identification of 2,3-butanedione (diacetyl) as the compound causing odor events at trace levels in the Llobregat River and Barcelona's treated water (Spain). *Journal of Chromatography A*, 1034(1-2), 175-182. doi:doi:10.1016/j.chroma.2004.02.008
- Engel, W., Bahr, W., & Schieberle, P. (1999). Solvent assisted flavour evaporation - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research & Technology*, 209, 237–241.
- Fajardo, A. (2009). Estudio de los componentes volátiles libres y enlazados y de los precursores no volátiles de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) y cocona (*Solanum sessiliflorum*). Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, *Tesis de Doctorado en Ciencias-Química*.
- Fernandes de Araújo, F, de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., Dias-Audibert, F.L., Delafiori, J., Gama de Souza, F., . . . Pastore, G. M. (2021). Chemical characterization of *Eugenia stipitata*: A native fruit from the Amazon rich in nutrients and source of bioactive compounds. 139, 109904. Brasil: *Food Research International*. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109904
- Fernandez, J., Hernández, M., Carillo, M., & Barrera, J. (2011). Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). *Arazá (Eugenia stipitata McVaugh)*, 99 - 115. Ministerio de Agricultura de Colombia e Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI.
- Fierro, M. (2010). Implementación de una planta procesadora de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*) en el cantón indanza, provincia de morona santiago con la finalidad de generar fuentes de empleo. *Tesis pregrado Ingeniería de Alimentos*. Ambato, Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Franco, M. R., & Shibamoto, T. (2000). Volatile composition of some Brazilian fruits: Umbu- caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), arazá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuacu (*Theobroma grandiflorum*). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 1263-1265. doi: 10.1021/jf9900074.
- García, J. (2017). Desarrollo de microencapsulados enriquecidos en carotenoides a partir de residuos de frutas tropicales para uso como colorantes naturales en alimentos.

- Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- García-Chacón, J., Forero, D. P., Peterson, D. G., & Osorio, C. (2023). Aroma characterization and *in vitro* antihypertensive activity of Amazonian camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit. *Journal of Food Bioactives*, *21*, 55-61. DOI: 10.31665/JFB.2023.18339
- Garzón, G. A., Narváez-Cuenca, C. E., Kopec, R. A., Barry, A. M., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2012). Determination of carotenoids, total phenolic content, and antioxidant activity of Arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), an Amazonian fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*, 4709 - 4717. doi:dx.doi.org/10.1021/jf205347f
- Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, *26*(5), 533 - 545. <https://doi.org/10.1093/chemse/26.5.533>
- Hernández, M., Barrera, J., & Carrillo, M. (2006). Arazá: Origen y fisiología de conservación. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI.
- Hernández, M., Barrera, J., Fernández, P., Carrillo, M., & Bardales, X. (2007). Manual de manejo de cosecha y postcosecha de frutos de Arazá (*Eugenia Stipitata* Mc. Vaught) en la Amazonía Colombiana. Bogotá, Colombia: Instituto Amazónico de investigaciones científicas SINCHI .
- ICONTEC . (2021). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación.
- IOFI Working Group on Methods of Analysis. (2011). Guidelines for the quantitative gas chromatography of volatile flavouring substances, from the Working Group on Methods of Analysis of the International Organization of the Flavor Industry (IOFI). *16*, 297-299. *Flavour and Fragrance Journal*. doi:<https://doi.org/10.1002/ffj.2061>
- Khairallah, R., Reynolds, A. G., & Bowen, A. J. (2016). Harvest date effects on aroma compounds in aged Riesling icewines. *Journal of the Science Food and Agricultural*, *96*(13), 4398-4409 . doi:DOI 10.1002/jsfa.7650
- Lawless, H., & Heymann, H. (2010). Descriptive analysis. *En: Sensory Evaluation of Food*. Food Science Text Series. pp. 227 - 257. New York, NY: Springer. doi:DOI: 10.1007/978-1-4419-6488-5\_10

- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. Springer Link.
- Leffingwell, & Associates. (2023). *Odor Detection Thresholds and References*. Obtenido de <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>. Disponible online
- Ministerio de Agricultura. (2022). *Agronet*. Obtenido de <https://www.agronet.gov.co/estadistica/paginas/home.aspx?cod=1>. Consultado Julio 2023.
- Narváez, C. (2003). Efecto del choque térmico de Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) sobre la tolerancia al frío. *Revista Colombiana de Química*, 32, 93 - 102.
- Niño, M., & Otálvaro, M. (2013). Arazá en Colombia: Características, Producción y Potencial exportador. Tesis pregrado Administrador de Negocios internacionales y Administrador de Logística y Producción. Bogotá, Colombia: Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario.
- Ordúz, J. (2000). Introducción, conservación y evaluación de frutales exóticos y promisorios en el piedemonte llanero con alta potencialidad en el mercado regional y nacional - Informe Final Proyecto. 8 - 13. Villavicencio-Meta, Colombia: CORPOICA (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria regional - Villavicencio).
- Osorio, V., Ariza, A., & Morales, M. (2001). ARAZA *Eugenia stipitata* Mc Vaught. En: Especies Promisorias de la Amazonia. Conservación, manejo y utilización del germoplasma. 44-45. Colciencias-Corpoica. Produmedios.
- Pino, J. A., & Quijano, C. E. (2007). Volatile compounds of arazá fruit (*Eugenia stipitata* McVaught). *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 38(3), 363-366. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181621616001>
- Procolombia. (s.f.). Obtenido de <https://procolombia.co/frutas-exoticas-0#:~:text=Colombia%20esta%20entre%20los%20principales,el%20acai%20y%20e1%20copoazu>. Consultado en Julio 2023.
- Restrepo, L. (2012). Determinación del perfil de compuestos fenólicos en Arazá (*Eugenia stipitata*). Investigación Docente - Estudio de los cambios químicos y bioquímicos de alimentos frescos y procesados. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

- Reyes, C., & Lanari, M. C. (2020). Viabilidad del arazá (*Eugenia stipitata*) como fuente de compuestos beneficiosos para la salud, efecto de distintos métodos de procesamiento en su calidad nutricional. Tesis de Doctorado en Ciencias Exactas. Argentina, Argentina: Universidad Nacional de la Plata.
- Salo, P. (1970). Determining the odor thresholds for some compounds in alcoholic beverages. *Journal of Food Science*, 35(1), 95-99.
- Sinuco, D. (2009). Estudio químico del aroma de la guayaba (*Psidium guajava* L. genotipos regional roja y regional blanca) proveniente de la hoya del río Suárez. Tesis de doctorado en Ciencias Químicas. Bogotá: Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.
- Steinhaus, M., Sinuco, D., Polster, J., Osorio, C., & Schieberle, P. (2008). Characterization of the aroma-active compounds in pink guava (*Psidium guajava*, L.) by application of the Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4120–4127. DOI: 10.1021/jf8005245
- Vargas, A., Rivera, A., & Narváez, C. (2005). Capacidad antioxidante durante la maduración de Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). *Revista Colombiana de Química*, 35, 57-65.