

OBTENCION DE ESENCIAS DE LULO (*Solanum quitoense* L.) UTILIZANDO CO₂ SUPERCRITICO

F. Parada, E. A. Guerrero, M. Suárez, C. Duque.

Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá, Colombia

Keywords: Solanum, lulo, aroma, essences, supercritical fluid extraction

RESUMEN

Separadamente la pulpa y la corteza de lulo (*Solanum quitoense* L.) fueron sometidos a extracción con CO₂ supercrítico a diferentes temperaturas y presiones para obtener extractos de volátiles (aroma) de la fruta. La composición de las esencias así obtenidas, fue determinada por cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas, encontrándose que esta variaba de acuerdo a los parámetros de extracción usados.

En general pudo observarse que para las extracciones realizadas a 50°C, incrementos en la presión (1500, 2000 y 2500 psi) favorecen la obtención de compuestos de mayor peso molecular, principalmente oxigenados, mientras que a 60°C este efecto no es considerable. Aumentos en las temperaturas de extracción (35, 50 y 60°C) dan lugar a extractos con mayor número y concentración de volátiles, incremento que llega a su límite cuando se alcanza 60°C a 2000 y 2500 psi.

La evaluación del aroma de los extractos obtenidos por este método de extracción supercrítico mostró que estas esencias poseían características de olor similares a las de la fruta fresca.

ABSTRACT

Lulo (*Solanum quitoense* L.) pulp and peeling fruit volatiles were extracted with supercritical carbon dioxide at different conditions of pressure and temperature. Different volatile composition was found in the extracts obtained, as revealed by high resolution gas chromatography coupled to mass spectrometry, according to the conditions of pressure and temperature used during the extraction.

Increasing in the pressure of the extraction (1500, 2000 and 2500 psi) at 50°C favoured the presence in the volatile extracts of more high molecular weight compounds particularly oxygenated. In contrast, when the pressure was changed keeping the temperature at 60°C, this tendency was not observed. The major effect observed when the temperature was rised

(35, 50 and 60°C) was also an increase in the number and concentration of volatiles in the extracts. This effect was leveled-off when the temperature reached 60°C and the pressure used 2000 or 2500 psi. Aroma panel evaluation of the extracts found no significant differences between the extracts (essences) here obtained, and the pulp and the peelings of fresh fruit.

INTRODUCCION

Como parte reciente de nuestros trabajos dirigidos al conocimiento del aroma de nuestras frutas, particularmente de aquellas que tienen o pueden tener en el futuro cercano, un marcado interés comercial, se encuentran los estudios relacionados con la obtención de esencias naturales de lulo (1).

Estas esencias generalmente se obtienen utilizando las técnicas tradicionales de extracción de los compuestos del aroma de las frutas utilizando solventes orgánicos (2, 3). Sin embargo, para la incorporación de estas esencias o "aromatizantes" en productos comerciales tales como jugos, helados, yogurt, jabones, productos de perfumería y tocador, etc., es deseable tener una esencia libre de solvente orgánico, lo cual sólo puede hacerse por calentamiento, evaporando dicho solvente a expensas de la pérdida de algunos compuestos volátiles importantes o la alteración de aquéllos que sean térmicamente lábiles.

En los últimos años se ha venido ensayando CO₂ supercrítico como solvente extractor de compuestos de origen natural (4), teniendo en cuenta su gran poder solvente utilizando temperaturas moderadas de extracción (35-60°C), el fácil control de su fuerza como solvente variando solo la temperatura y presión de extracción, su no toxicidad, su bajo costo, su no reactividad química y la facilidad de su remoción a temperatura ambiente luego que la etapa de extracción ha finalizado. Algunos estudios recientes han comenzado a mostrar su uso en el aislamiento de compuestos volátiles de naranja, canela y tomillo (5), limón (6) y romero (7).

Así el objetivo del presente trabajo fue investigar la posibilidad de utilizar el CO₂ supercrítico para la extracción de los compuestos volátiles de la pulpa y de la corteza de lulo (*Solanum quitoense* L.) y estudiar el efecto de la temperatura y presión de extracción sobre la composición y calidad de las esencias obtenidas en cada caso.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de la muestra

El lulo (*Solanum quitoense* L.) utilizado, fue recolectado en el municipio de Granada, Cundinamarca, e identificado por el doctor Roberto Jaramillo del Instituto de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia.

Las extracciones se realizaron sobre fruta en estado óptimo de madurez (corteza de color amarillo-naranja y pulpa con pH de 3.5 y concentración de sólidos de 8.9 °Brix. La pulpa fue separada manualmente de la corteza y ambas partes fueron luego sometidas a homogenización y posteriormente a extracción de volátiles.

Extracción de volátiles

El sistema extractor utilizado (Fig. 1) fue diseñado para este trabajo por el ingeniero Ignacio Rodríguez y construido en el taller de mecánica fina del Departamento de Física de la Universidad Nacional de Colombia. Los principales componentes de este equipo son: Un tanque con CO_2 a una presión entre 30-80 Kg/cm^2 ; una bomba para líquidos, Beckman 110A de las utilizadas para cromatografía líquida de alta eficiencia, cuya cabeza y conexiones de entrada fueron enfriadas con hielo seco para garantizar que el CO_2 suministrado estuviera siempre en forma líquida; un extractor de acero inoxidable (14 cm de longitud x 5.8 cm de d.e. x 4 cm de d.i.) con capacidad

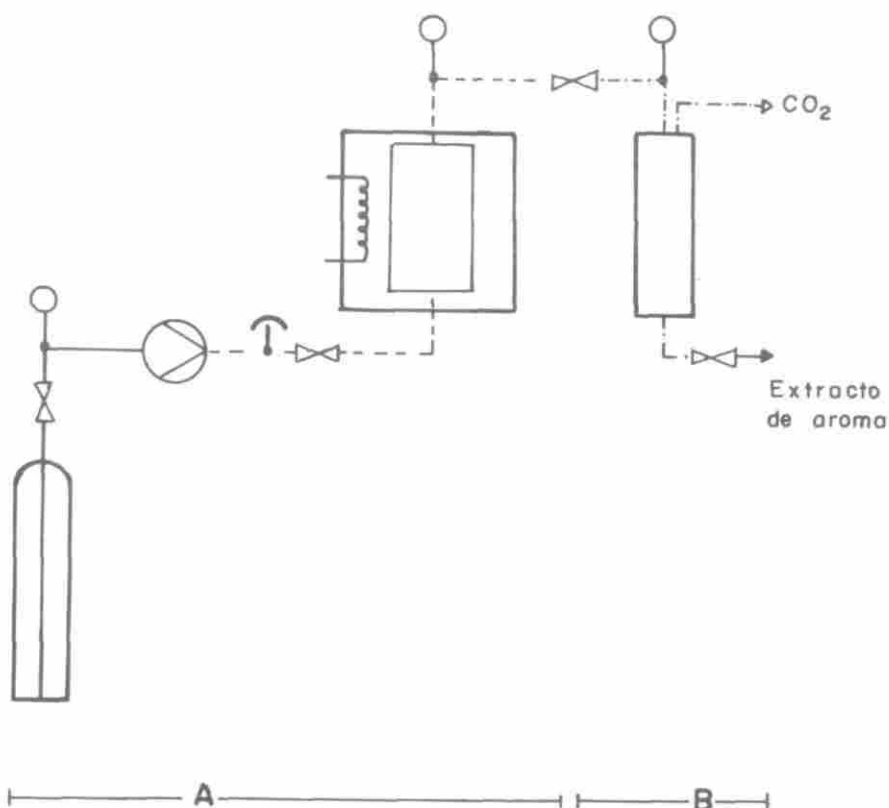


Figura 1

Esquema del equipo de extracción con CO_2 supercrítico.

A= Sección de extracción. B= Sección de separación.

— = CO_2 líquido. -- = CO_2 supercrítico. -.- = CO_2 gaseoso.

aproximada de 150 mL, equipado con control de temperatura; un separador también en acero inoxidable (11 cm de longitud x 5.8 cm de d.e x 4 cm de d.i.) con capacidad aproximada de 120 mL, donde se separa el CO₂ de los componentes volátiles que constituyen la esencia de pulpa o de corteza, según el caso.

La extracción se llevó a cabo en forma de cochadas usando 80 g de muestra (pulpa o corteza) y utilizando diferentes condiciones de temperatura (35, 50 y 60°C) y presión (1500, 2000 y 2500 psi), obteniéndose en total 9 extractos en pulpa y 9 en corteza. Todas las extracciones se hicieron por triplicado. En el recipiente de extracción se colocó la muestra e inmediatamente después se comenzó el calentamiento. Una vez alcanzada la temperatura deseada, se dio inicio a la presurización haciendo llegar CO₂ al extractor por medio de la bomba, hasta lograr las condiciones de presión que se necesitaran. En este punto se suspendió el suministro de CO₂ y se dejó el sistema 15 minutos bajo estas condiciones. Cumplido este tiempo se permitió el paso de fluido (CO₂ con compuestos volátiles) hacia el separador (mantenido a 700 psi y a temperatura ambiente) donde tuvo lugar la remoción del CO₂ y la condensación de los volátiles. Este procedimiento se repitió 4 veces para cada muestra. Finalmente se procedió a efectuar la recolección de los volátiles que quedaron depositados en el fondo del separador. Todos los extractos de volátiles fueron luego sometidos a análisis por Cromatografía de Gases de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas (CGAR-EM) y a análisis sensorial.

Análisis por CGAR-EM

Se utilizó un Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 equipado con una columna capilar DBWax de sílica fundida (30 m x 0.25 mm de d.i. y 0.25 m de espesor de fase estacionaria), acoplado con un detector selectivo de masas Hewlett Packard 5970 y con un sistema de datos Hewlett Packard 59970. Las condiciones de análisis fueron las siguientes: Programa de temperatura en la columna, 3 min isotérmico a 50°C, luego una velocidad de calentamiento de 2°C/min hasta alcanzar la temperatura final de 180°C y finalmente 10 min más en condiciones isotérmicas; temperatura del inyector y del detector de masas 250 y 220°C, respectivamente; gas de arrastre He a una velocidad de 1.3 mL/min; relación de split 1:10; energía de ionización 70 eV y volumen de inyección 1 µL.

Análisis Cualitativo y Cuantitativos

La identificación de los compuestos volátiles extraídos de pulpa y corteza de lulo fue hecha utilizando tanto el criterio cromatográfico (Índice de Retención (IR)), como el criterio espectral (análisis de los espectros de masas), así como la comparación de los datos cromatográficos y espectrales con los mostrados por muestras auténticas o con los reportados por nosotros en trabajos anteriores de lulo (8,9). La cuantificación fue hecha utilizando el procedimiento general de la normalización de las áreas.

Análisis sensorial

Fue realizado por un panel entrenado conformado por 6 catadores. Se utilizó una

prueba de ordenamiento en la que se comparó el aroma de los extractos obtenidos frente al aroma de la pulpa y de la corteza de lulo fresco. Los resultados fueron tratados estadísticamente utilizando la prueba de Duncan (10).

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis estadístico de los resultados de la evaluación sensorial de todos los extractos de volátiles obtenidos utilizando la técnica de extracción con CO_2 supercrítico (en las condiciones descritas en la parte experimental) mostró que no hubo diferencia significativa entre ninguno de ellos. Así, puede decirse que en las condiciones de extracción usadas todos las esencias presentaron características de olor muy semejantes a las que exhibe la fruta fresca.

La tabla 1 muestra los componentes volátiles (aroma) identificados por CGAR-EM en la pulpa de lulo, junto con los IR experimentales y con los reportados para muestras de referencia, así como también el porcentaje relativo obtenido para cada uno de los compuestos, cuando se realiza la extracción a 50°C y a 60°C en diferentes condiciones de presión: 1500, 2000 y 2500 psi. Puede observarse que a 60°C el extracto de aroma obtenido estuvo constituido por 32 compuestos de los cuales 30 fueron identificados, teniendo en cuenta el criterio cromatográfico (IR), el criterio espectral (análisis de los espectros de masas en impacto electrónico) y la comparación de estos datos con los reportados en trabajos anteriores (8, 9). Entre los constituyentes identificados se encuentran ésteres metílicos y etílicos de ácidos saturados e insaturados, alcoholes de C_3 a C_6 , cetonas, ácidos, lactonas, hidrocarburos y algunos terpenoles, siendo los mayoritarios: acetato de 2-hidroxi-etilo, acetato de etilo, n-tetradecano, benzoato de metilo, ácido acético, n-hexadecano y hexanoato de metilo. A 50°C se detectaron 43 compuestos volátiles, de los cuales 38 fueron identificados. Entre los volátiles extraídos se encuentran en general las mismas clases de compuestos mencionadas cuando se habló de la extracción a 60°C , siendo los mayoritarios: acetato de etilo, 2-butanona, acetato de 2-hidroxietilo, hexanodiol, ácido acético y n-decano.

De manera similar en la tabla 2 se muestran los componentes volátiles de corteza extraídos con CO_2 supercrítico e identificados por CGAR-EM. Puede verse que a 60°C se detectaron 26 compuestos, lográndose la identificación de 24. Entre ellos se encuentran algunos hidrocarburos, ésteres, alcoholes, aldehídos, ácidos y lactonas, siendo los mayoritarios: 2-butanona, acetato de etilo, benzoato de metilo, benzoato de etilo, n-tetradecano, linalol y ácido acético. A 50°C se detectaron 33 compuestos volátiles, de los cuales 31 fueron identificados. En general se nota que los volátiles extraídos e identificados pertenecen a las mismas clases de compuestos reportados para la extracción a 60°C , con los siguientes volátiles mayoritarios: 2-butanona, acetato de etilo, 2-propanol, benzoato de metilo, geraniol, un compuesto sin identificar y benzoato de etilo.

Tanto en corteza como en pulpa la concentración de los volátiles extraídos a 35°C fue tan baja que se hizo difícil su detección por CGAR-EM. Sin embargo, los catadores que conformaron el panel para el análisis sensorial, hicieron la detección del aroma sin ningún problema.

Si se compara la composición de los extractos de aroma de lulo (pulpa y corteza) obtenidos con CO₂ supercrítico, con la obtenida utilizando técnicas de extracción que involucran el uso de solventes orgánicos, por ejemplo destilación con arrastre de vapor y extracción simultánea con solvente orgánico (DES) (8, 11), puede apreciarse que con CO₂ supercrítico se extraen algunos compuestos como los hidroxiésteres, acetoxiésteres y lactonas, no extraídos si se utiliza DES. Además la calidad organoléptica (en cuanto al aroma) de los extractos obtenidos con CO₂ supercrítico es sensiblemente mejor que la de los extractos obtenidos por DES. En consecuencia podría afirmarse que los compuestos mencionados están jugando un papel importante como contribuyentes al aroma del lulo. Experimentos en este sentido están llevándose a cabo actualmente.

En contraste, la composición química de los extractos obtenidos con CO₂ supercrítico y la obtenida utilizando la extracción Líquido-Líquido (11), resultaron ser bastante similares. Sin embargo, el aroma de los extractos provenientes de la extracción Líquido-Líquido, fue muy inferior en calidad, al obtenido cuando se utilizó CO₂ supercrítico (Por supuesto, esto es debido a la presencia de residuos de solvente orgánico en los extractos provenientes de extracción Líquido-Líquido).

Por lo tanto, de los resultados aquí obtenidos puede recomendarse la extracción con CO₂ supercrítico para la obtención de esencias de pulpa y corteza de lulo, de excelente calidad organoléptica.

Efecto de Algunos Parámetros de Extracción sobre la Composición de Volátiles del Lulo

Efecto de la presión

En general puede observarse en las tablas 1 y 2 que un aumento en la presión de extracción a 50°C favorece un aumento en el número de compuestos de mayor peso molecular (principalmente oxigenados) extraídos, tanto de pulpa como de corteza. Como ejemplo puede mencionarse para la pulpa de lulo, como a 50°C al cambiar la presión de extracción del CO₂ supercrítico de 1500 a 2500 psi, se extraen nuevos compuestos o se incrementa la concentración de los ya extraídos, por ejemplo: el 2-metilpropanol, (E) -2-hexenal, 3-acetoxibutanoato de metilo, linalol, benzoato de metilo, hexadienol, 3-hidroxihexanoato de metilo, γ -hexalactona, 5-acetoxicaproato de metilo, γ -heptalactona, n-nonadecano, unecicano, furaneol, cis-iso Eugenol y los ácidos hexanoico, octanoico y decanoico. Este hecho puede atribuirse a que a un aumento de presión del fluido supercrítico, le corresponde un aumento de su

densidad, por lo que es lógico que su fuerza solvente se vea también incrementada, favoreciendo la extracción de los compuestos más polares y pesados. A 60°C, incrementos en la presión de extracción producen variaciones irregulares en la composición de las esencias obtenidas.

Efecto de la Temperatura

Como ya se discutió anteriormente, a 35°C tanto para la pulpa como para la corteza de la fruta del lulo, la concentración de los compuestos volátiles extraídos fue tan baja que no pudo ser evaluada ni cualitativa ni cuantitativamente por la técnica de CGAR-EM. Al aumentar la temperatura de extracción a 50°C, ya fue posible evaluar la concentración y la identidad de los compuestos volátiles que aparecen listados en las tablas 1 y 2, a las diferentes presiones utilizadas. Continuando el incremento de temperatura hasta 60°C, se puede observar (tablas 1 y 2) un aumento en el número de compuestos extraídos particularmente de ésteres y alcoholes, manteniendo la presión a 1500 psi, pero si la presión utilizada es 2000 o 2500 psi, el número de compuestos volátiles obtenido decrece ligeramente.

Tabla 1. Composición de los Extractos de Aroma de la Pulpa de Lulo (*Solanum quitoense* L.) Obtenidos con CO₂ Supercrítico

Item	Compuesto	IR*		50°C			60°C		
				presión (psi)			presión (psi)		
				1500	2000	2500	1500	2000	2500
Exp.	Lit.	(% relativo)			(% relativo)				
1	acetato de etilo ¹			33.8	25.9	24.3	12.6	12.7	17.6
2	2-butanona ¹			24.0	16.1	7.3	--	--	--
3	n-decano	995	1000	3.8	7.1	2.8	--	1.8	--
4	2-butanol	1029	1016	tr	1.9	tr	0.3	0.2	0.2
5	n-undecano	1092	1100	--	--	--	0.4	0.1	0.3
6	(E)-2-butenoato de metilo	1095	1100	--	--	--	0.4	0.2	0.1
7	2-metilpropanol	1102	1083	tr	tr	0.5	0.3	0.3	0.7
8	xileno ¹	1112		tr	tr	0.3	0.2	0.9	0.1
9	limoneno	1164	1195	1.5	3.5	1.2	--	0.9	0.3
10	n-dodecano	1201	1200	2.4	--	4.1	--	4.1	2.2
11	hexanoato de metilo	1162	1167	--	--	--	9.0	1.2	4.2
12	butanol	1143	1136	--	--	--	0.3	--	--
13	(E)-2-hexenal	1202	1207	tr	tr	4.2	1.0	0.6	1.1
14	3-metilbutanol	1212	1210	tr	4.9	0.6	1.1	0.7	1.0
15	sin identificar	1227		1.5	--	0.9	0.4	0.5	0.4
16	acetato de (E)-2-hexenilo	1291	1279	--	--	--	0.4	--	0.3
17	n-hexanol	1342	1353	--	--	--	0.3	--	--
18	(Z)-3-hexenol	1367	1387	--	--	--	1.5	1.1	0.9
19	(E)-2-hexenol	1387	1390	--	--	--	0.3	--	--
20	n-tetradecano	1403	1400	3.0	4.9	5.4	9.1	10.0	9.7
21	ácido acético	1429	1435	5.6	4.6	3.3	5.0	4.5	5.0

Tabla 1. (Continuación)

Item	Compuesto	IR ^a		50°C			60°C		
				presión (psi)			presión (psi)		
				1500	2000	2500	1500	2000	2500
Exp.	Lit.	(% relativo)			(% relativo)				
22	sin identificar	1455		--	--	0.5	--	--	--
23	acetato de 2-hidroxi-etilo ^l	1510		10.5	8.4	--	32.4	26.2	27.2
24	3-acetoxibutanoato de metilo	1523	1529	--	--	0.8	0.3	--	0.3
25	linalol	1530	1539	--	--	0.8	0.3	tr	0.6
26	benzoato de metilo	1577	1596	0.1	tr	2.1	7.8	6.3	7.8
27	n-hexadecano	1598	1600	2.4	--	1.8	3.3	5.5	4.2
28	hexadienol ^l	1610		--	2.3	10.2	--	--	--
29	3-hidroxihexanoato de metilo	1623	1637	--	tr	1.6	0.4	0.7	--
30	benzoato de etilo	1629	1650	--	--	--	--	--	tr
31	3-hidroxihexanoato de etilo	1664	1675	--	tr	--	--	--	--
32	3-acetoxicaproato de metilo ^l	1669		--	tr	--	--	--	--
33	γ-hexalactona	1670	1677	0.1	tr	3.0	--	--	--
34	α-terpineol	1673	1679	0.1	--	tr	--	--	--
35	5-acetoxicaproato de metilo ^l	1753		--	--	0.8	--	--	--
36	γ-heptalactona ^l	1778		--	tr	0.4	--	--	--
37	n-octadecano	1797	1800	2.1	2.6	1.1	0.9	1.8	1.9
38	ácido hexanoico	1812	1823	--	--	0.2	--	--	--
39	sin identificar	1865		tr	3.2	--	8.5	15.3	9.6
40	n-nonadecano	1898	1900	--	tr	1.1	--	--	--
41	n-eicosano	1998	2000	1.2	2.6	2.6	--	0.1	tr
42	furaneol	2013	1997	--	--	2.4	--	--	--
43	ácido octanoico	2025	2040	--	--	0.7	--	--	--
44	2,4-dimetoxiacetofenona ^l	2066		tr	tr	2.7	1.1	2.3	1.9
45	sin identificar	2076		--	--	1.9	--	--	--
46	uneicosano	2096	2100	--	--	0.4	--	--	--
47	sin identificar			--	4.4	1.2	--	--	--
48	ácido decanoico ^l			--	tr	0.8	--	--	--
49	2,6-dimetil-2,7-octadien-1,6-diol ^l			7.4	1.9	--	0.9	0.5	0.5
50	n-trieicosano ^l			--	3.3	--	--	--	--
51	cis-isoeugenol ^l			--	--	5.6	--	--	--
52	n-tetraeicosano ^l			--	2.4	--	--	--	--

^a Índice de retención medido sobre DBwax

tr = < 0.1 %.

^l Identidad asignada sólo por el espectro de masas

-- = No detectado

Tabla 2. Composición de los Extractos de Aroma de la Corteza de Lulo (*Solanum quitoense* L.) Obtenidos con CO₂ Supercrítico

Item	Compuesto	IR ^a Exp. Lit.		50°C			60°C		
				presión (psi)			presión (psi)		
				1500	2000	2500	1500	2000	2500
				(% relativo)			(% relativo)		
1	2-propanol ^l			--	28.0	--	--	--	--
2	acetato de etilo ^l			31.0	9.2	25.0	23.0	28.0	31.0
3	2-butanona ^l			32.0	7.9	24.0	26.0	32.0	32.0
4	butanoato de metilo	960	961	4.8	0.8	1.9	--	--	--
5	n-decano	1001	1000	1.0	1.6	0.7	1.9	1.8	1.2
6	butanoato de etilo	1032	1031	--	0.5	4.6	1.8	1.2	1.9
7	n-hexanal	1063	1067	tr	--	0.5	--	--	--
8	(E)-2-butenoato de metilo	1102	1092	--	--	0.4	--	--	--
9	limoneno	1164	1195	1.2	--	1.7	0.4	0.2	--
10	hexanoato de metilo	1166	1167	--	1.4	--	--	--	--
11	n-dodecano	1198	1200	1.7	1.9	2.7	3.3	0.7	1.3
12	(E)-2-hexenal	1209	1207	--	--	1.2	0.8	--	--
13	3-metil-butanol	1212	1210	--	0.7	0.4	0.6	0.8	1.7
14	hexanoato de etilo	1219	1220	0.5	0.4	0.5	0.3	0.3	0.2
15	acetato de hexilo	1257	1265	--	--	--	0.2	0.4	0.3
16	acetato de (Z)-3-hexenilo	1300	1315	--	0.4	0.4	0.3	0.3	0.2
17	1-hexanol	1348	1353	--	--	0.2	0.4	0.1	0.2
18	(Z)-3-hexenol	1375	1387	--	--	0.1	0.4	0.1	0.2
19	n-tetradecano	1399	1400	tr	4.2	1.8	5.1	4.3	2.4
20	ácido acético	1435	1435	1.3	1.4	1.6	2.4	1.7	1.2
21	3-hidroxibutenoato de etilo	1500	1494	--	--	1.5	--	--	0.4
22	sin identificar	1513		1.8	11.1	6.3	7.2	6.2	4.8
23	linalol	1534	1539	2.6	1.3	0.3	2.2	4.1	2.1
24	benzoato de metilo	1582	1596	9.8	17.2	5.5	7.7	4.4	7.5
25	ácido butírico	1601	1598	--	1.3	1.2	1.0	1.1	0.1
26	3-hidroxihexanoato de metilo	1625	1637	1.2	0.8	--	--	--	--
27	benzoato de etilo	1629	1650	--	--	7.2	6.4	2.8	4.9
28	3-hidroxihexanoato de etilo	1664	1675	--	--	3.0	1.0	1.1	2.0
29	γ-hexalactona	1670	1677	0.1	0.1	0.5	0.1	--	0.5
30	octadecano	1800	1800	tr	1.2	0.5	1.5	0.6	0.5
31	geraniol	1831	1832	10.8	--	--	--	--	--
32	sin identificar	1880		tr	5.9	3.4	5.4	4.8	2.8
33	furaneol	2000	1997	tr	--	0.1	--	--	--
34	n-eicosano	2004	2000	0.2	0.7	--	0.1	--	--

^a Índice de retención medido sobre DBwax

tr = < 0.1 %.

^l Identidad asignada sólo por el espectro de masas

-- = No detectado

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a COLCIENCIAS, a la Comunidad Económica Europea (proyecto CII-CT92-0019) y al Programa Internacional en Ciencias Químicas (IPICS), Universidad de Uppsala, Suecia, por la financiación que hizo posible el presente trabajo. También se agradece la ayuda e interés del CINDEC por esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. Silva, J.; Suárez, M.; Duque, C. *Rev. Col. de Química*, 1990, **19**, 47-54.
2. Drawert, F.; Rapp, P. *Chromatographia*, 1968, **1**, 446-457.
3. Flath, R. A.; Forrey, R. R. *J. Agric. Food Chem.* 1977, **25**, 103-109.
4. Hawthorne, S. B. *Anal. Chem.* 1990, **62**, 633A-642A.
5. Hawthorne, S. B.; Krieger, M. S.; Miller, D. *Anal. Chem.* 1988, **60**, 472-477.
6. Sugiyama, K.; Saito, M. *J. Chromatog.* 1988, **442**, 121-131.
7. Reverchon, E.; Senatore, F. *Flav. Fragr. J.* 1992, **7**, 227-230.
8. Suárez, M.; Duque, C. *J. Agric. Food Chem.* 1991, **39**, 1498-1500.
9. Suárez, M.; Duque, C.; Bicchi, C.; Wintoch, H.; Full, G.; Schreier, P. *Flav. Fragr. J.* 1993, en prensa.
10. Steel, R.; Torrie, J. *Bioestadística "Principios y Procedimientos"*, McGraw Hill, Bogotá, 1985, pp. 181-186.
11. Suárez, M. *Estudio químico del aroma del lulo (Solanum vestissimum D.) y algunos aspectos sobre su formación a partir de precursores no volátiles*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia 1993.