

COMPONENTES VOLÁTILES LIBRES Y GLICOSÍDICAMENTE ENLAZADOS DEL AROMA DE LA PIÑA (*Ananas comosus L.*) VARIEDAD PEROLERA

FREE AND GLYCOSIDICALLY BOUND VOLATILE COMPONENTS FROM PINEAPPLE (*Ananas comosus L.*) VAR. PEROLERA

D. C. Sinuco, A. L. Morales y C. Duque*

Recibido: 30/04/04 – Aceptado: 07/05/04

RESUMEN

Los componentes volátiles del aroma de la piña perolera fueron obtenidos mediante extracción L-L y analizados por CGAR, CGAR-EM (IE, IQP) y CGAR-O. En esta forma se identificaron 67 compuestos, siendo 2-metilbutanoato de metilo, hexanoato de metilo, 4-acetoxi-hexanoato de metilo, 5-acetoxi-hexanoato de metilo y 3-metiltiopropanoato de metilo los componentes mayoritarios. Mediante el análisis por CGAR-O no se detectaron compuestos impactos.

La fracción glicosídica se obtuvo por adsorción sobre Amberlita XAD-2 y posterior elución con metanol. La composición de la fracción glicosídica se estableció por medio del análisis por CGAR y CGAR-EM de los compuestos volátiles liberados por hidrólisis enzimática. Así se identificaron 17 agliconas, las que principalmente se agrupan en compuestos fenólicos, ácidos carboxílicos y compuestos furánicos, siendo alcohol coniferílico, ácido hexadecanoico, furaneol y

4-vinilguayacol los constituyentes mayoritarios.

Palabras clave: piña, *Ananas comosus*, aroma libre, aroma enlazado glicosídicamente.

ABSTRACT

Free volatiles of pineapple var. perolera were obtained by L-L extraction and analyzed by HRGC, HRGC-MS (EI, PCI) and HRGC-O. Sixty-seven constituents were identified with methyl 2-methyl butanoate, methyl hexanoate, methyl 4-acetoxy-hexanoate, methyl 5-acetoxy-hexanoate and methyl 3-methylthiopropoate as major components. Glycosidically bound aroma compounds were identified by HRGC and HRGC-MS after isolation of the glycosidic fraction obtained by Amberlite XAD-2 adsorption and methanol elution followed by hydrolysis with a commercial enzyme. In total 17 bound aroma compounds (aglycones) were identified.

* Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490 Bogotá, Colombia. Correo electrónico: almoralesp@unal.edu.co

These aglycones mainly consisted of phenolic compounds, carboxylic acids and furanic compounds of which coniferyl alcohol, hexadecanoic acid, furaneol and 4-vinylguaiacol are the most representative.

Key words: Pineapple, *Ananas comosus*, free volatiles, glycosidically bound volatiles.

INTRODUCCIÓN

La piña es una fruta originaria de la Amazonia que se cultiva actualmente en zonas tropicales de América, África y el Caribe. El comercio internacional de la piña ha mostrado gran dinamismo en los últimos años gracias a sus múltiples posibilidades de consumo en fresco y procesada. Actualmente se comercializan volúmenes significativos de piña en Europa y Estados Unidos, provenientes de Brasil, Filipinas y Costa de Marfil, principales productores de la fruta (1). En Colombia la piña se cultiva en casi todas las zonas cálidas del país, sobresalen tres áreas específicas como grandes productoras: Valle del Cauca y Cauca dedicada principalmente al cultivo de la variedad cayena lisa, la zona del viejo Caldas donde se cultiva la variedad manzana, y los departamentos de Santander y Norte de Santander donde se cultiva la variedad perolera (2).

El distinguible y agradable aroma de la piña ha sido motivo de numerosos estudios permitiendo la identificación de más de 100 compuestos volátiles en ella (3-10). Con base en los anteriores estudios se puede establecer que el aroma de las diferentes variedades estudiadas está constituido por compuestos furánicos como 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-fura-

nona (Furaneol®), su éter metílico 2,5-dimetil-4-metoxi-3(2H)-furanona (metoxifuraneol), hidrocarburos sesquiterpénicos; ésteres metílicos y etílicos de ácidos carboxílicos saturados e insaturados de 5 a 10 átomos de carbono, ésteres azufrados, ésteres hidroxilados en las posiciones 3 y 4, acetoxiésteres en las posiciones 3 y 5 y varias γ - y δ -lactonas.

Si bien la investigación sobre los compuestos volátiles enlazados glicosídicamente ha tenido un gran auge en los últimos años, en la literatura consultada sólo se encontró un estudio sobre la caracterización de las agliconas liberadas por hidrólisis enzimática de la fracción glicosídica de piñas cultivadas en Costa Rica, las agliconas que se encuentran en mayor cantidad son furaneol, δ -octalactona y 3-hidroxihexanoato de etilo (7).

La piña perolera (tachirense, cachepera, motilona, lebrija) se distingue por su corto periodo vegetativo y su alta calidad saborizante y aromatizante. Además, es una variedad resistente al manipuleo y transporte, características que le permiten ser la variedad de mayor distribución y consumo en el país. A pesar de su importancia comercial en Colombia, hasta nuestro conocimiento no hay estudios sobre la composición química de su aroma. Como continuación de nuestros estudios sobre el aroma libre y enlazado de frutas colombianas (11-13), se presenta por primera vez la composición del aroma libre y glicosídicamente enlazado de la piña variedad perolera, cultivada en Colombia.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal: piñas de la variedad perolera, provenientes de Lebrija (Santan-

der), se seleccionaron de acuerdo con los parámetros de madurez establecidos (14): color amarillo-naranja en la cáscara, coloración rojiza en las puntas de las hojas de la corona y fácil desprendimiento de las mismas, pH de la pulpa 3,5 y grados Brix de la pulpa 12,5.

Análisis de volátiles libres

Extracción líquido-líquido: se homogeneizó un kilogramo de pulpa en licuadora. La mezcla obtenida fue clarificada por centrifugación (8000 rpm, 4 horas, 4 °C), el sobrenadante (1 L) se sometió a extracción líquido-líquido durante 48 horas utilizando 250 mL de una mezcla pentano:diclorometano 1:1 como solvente (15). El extracto así obtenido fue secado sobre sulfato de sodio anhidro y concentrado a un volumen aproximado de 200 μ L para su posterior análisis. Para el análisis cuantitativo se utilizó 2-heptanol (181,6 μ g/kg de fruta) como estándar interno.

Análisis de volátiles enlazados

Obtención del extracto glicosídico: se homogeneizó un kilogramo de pulpa de piña neutralizado (pH 7,0) con una solución de NaOH 1N y centrifugado (8000 rpm, 1h, 4 °C). El sobrenadante neutralizado se adsorbió sobre Amberlita XAD-2 (80 cm x 7 cm d.i.); se lavó con agua desionizada y se eluyó con un litro de metanol para obtener el extracto glicosídico. El eluido metanólico fue concentrado a presión reducida (rotavapor) hasta sequedad (16).

Hidrólisis enzimática: cien miligramos del extracto glicosídico se disolvieron en 20 mL de buffer citrato-fosfato (pH 5,5) y se sometieron a extracción con

éter etílico para remover los volátiles libres presentes. Luego de remover el éter residual la muestra se incubó a 37 °C durante 18 horas con 300 μ L de una pectinasa no selectiva (Rohapect D5L, Röhm, Darmstadt, Germany) y con fenil- β -D-glucopiranosido, como estándar interno (4981 μ g/kg de fruta) (13). Las agliconas liberadas se extrajeron con éter etílico, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en una columna Vigreux para su posterior análisis por CGAR y CGAR-EM en las condiciones descritas para el análisis de volátiles libres.

Cromatografía de gases de alta resolución (CGAR)

CGAR de los volátiles libres y de las agliconas: los análisis por CGAR se realizaron en un cromatógrafo de gases HP5890 equipado con detector de ionización por llama (FID). La introducción de la muestra se hizo en el modo split con una relación 1:10 con una columna de sílica fundida con fase estacionaria DB-Wax (25 m x 0,25 mm d.i., $df=0,25 \mu$ m), gas de transporte helio a 41,7 cm/min. La temperatura del horno fue programada así: 50 °C durante 4 minutos y luego calentamiento hasta 200 °C a una velocidad de 4 °C/min. La temperatura del inyector y del detector se mantuvo en 200 °C.

Los índices de retención se calcularon utilizando una mezcla de parafinas normales C_9 - C_{24} , como referencia.

CGAR-Olfatometría (CGAR-O): la descripción del olor de cada uno de los compuestos presentes en el extracto de volátiles libres se realizó utilizando un puerto de olfacción SGE y un detector de

ionización por llama con una relación 1:1 entre ellos y conectados a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 Serie II, en las condiciones utilizadas para el análisis por CGAR. La salida hacia el olfatómetro se mantuvo a una temperatura de 60 °C y el efluente se mezcló con una corriente de aire húmedo a 100 mL/min. La descripción olfativa fue realizada con la colaboración del grupo de expertos de Lucta Grancolombiana S.A.; esta evaluación se realizó tres veces bajo las mismas condiciones.

Cromatografía de gases de alta resolución-espectrometría de masas (CGAR-EM)

CGAR-EM de los volátiles libres y de las agliconas: el análisis por CGAR-EM se hizo utilizando un cromatógrafo de gases Shimadzu QP5050 en las mismas condiciones utilizadas para el análisis por CGAR.

Ionización electrónica (IE): los espectros de masas en el modo de ionización electrónica se tomaron con una energía de ionización de 70 eV. El intervalo de masas para la adquisición fue 30-300 uma.

Ionización química positiva (IQP): los espectros de masas en el modo de ionización química positiva se tomaron empleando como gas reactivo isobutano con una presión en la cámara de ionización de $1,0 \times 10^{-2}$ Pa en un potencial de 70 eV y temperatura de la interfase de 300 °C. El intervalo de masas para la adquisición fue 60-350 uma.

Para la identificación de los compuestos se utilizó tanto el criterio cromatográfico (índices de retención calculados experimentalmente y comparados con los

obtenidos de muestras auténticas o los publicados en la literatura) como el criterio espectral (interpretación de los espectros de masas IE y determinación del peso molecular IQP). La cuantificación se realizó utilizando el método del estándar interno sin tener en cuenta la recuperación ni los factores de respuesta en el detector.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Volátiles libres

El extracto líquido-líquido del aroma de la piña perolera es dulce, fresco, ácido, acuoso. El análisis por CGAR y CGAR-EM estableció la presencia de 69 componentes (Tabla 1). Mediante los criterios cromatográfico (índices de retención) y espectral (determinación del peso molecular por IQP e interpretación del espectro de masas obtenido por IE) se lograron identificar 67 compuestos correspondientes a un 99,5% del extracto total y distribuidos en ésteres (87,4%), lactonas (5,1%), compuestos furánicos (3,0%), ácidos (1,7%), cetonas (1,1%) y alcoholes (0,2%). Los ésteres se distribuyen en acetoxiésteres (28,1%), ésteres lineales (22,3%), ésteres ramificados (17,7%), ésteres insaturados (11,5%), hidroxieésteres (5,8%) y ésteres aromáticos (0,4%).

Los constituyentes mayoritarios del extracto son ésteres metílicos de los ácidos 2-metil-butanoico, hexanoico, 4-acetoxi-hexanoico, 5-acetoxi-hexanoico y 3-metil-tiopropanoico de los cuales sólo los dos primeros tienen una nota olfativa que recuerda a la fruta fresca.

Algunos ésteres, como butanoato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo, acetato de butilo, acetato de 2-metilbutilo, E-3-hexenoato

de metilo, 2-hidroxi-2-metilbutanoato de metilo, 3-hidroxibutanoato de metilo y 3-acetoxi-2-metilbutanoato de etilo, presentes en concentraciones bajas ($< 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ de fruta) fueron descritos en el análisis por CGAR-O como compuestos con notas de piña, sin embargo, ninguno de ellos puede considerarse como compuesto impactante. (Ver Tabla 1).

Otros componentes olfativos importantes del aroma de la piña perolera son los compuestos furánicos y las lactonas como furaneol, γ -butirolactona, γ -hexalactona, γ -octalactona, δ -octalactona y γ -decalactona, a los que se atribuye la nota dulce, caramelo del aroma de la piña perolera. Así, en el aroma de esta variedad de piña se estableció la importancia sensorial de furaneol, algunos ésteres y lactonas como componentes responsables de las notas a piña, dulce-caramelo características del aroma de esta variedad.

El aroma de la piña perolera, como el de piñas cultivadas en otras latitudes (3-10), está constituido principalmente por ésteres, lactonas y furaneol. Es así como en la variedad perolera y en la variedad cayena lisa (6) los ésteres representan más del 80% de la composición del aroma, mientras que en piñas provenientes de la Polinesia Francesa estos componentes sólo constituyen el 45% del aroma total (10). Las lactonas y el furaneol, presentes en cantidades alrededor del 5-10% en las diferentes variedades, son constituyentes importantes en el aroma de la piña, no sólo por la cantidad en que se encuentran sino también por sus especiales características sensoriales (6,10).

Así, como en el caso de otras frutas tropicales, no se puede establecer una

composición típica del aroma de piña, haciendo difícil el desarrollo de formulaciones artificiales del aroma de esta fruta.

Volátiles enlazados

Mediante el análisis por CGAR, CGAR-EM de las agliconas volátiles generadas por hidrólisis enzimática del extracto glicosídico de la pulpa de piña perolera se identificaron 17 compuestos (Tabla 2) en una cantidad de 12,1 mg/kg de pulpa. Las agliconas identificadas fueron principalmente compuestos hidroxilados y ácidos carboxílicos siendo los constituyentes mayoritarios alcohol coniferílico (26,4%), ácido hexadecanóico (16,6%), furaneol (16,1%) y 4-vinilguayacol (9,5%).

La presencia de furaneol glicosídicamente enlazado ha sido establecida en estudios sobre el aroma enlazado en piña (7) y glucósidos de furaneol han sido aislados e identificados en jugo de fresa (17), en badea (18) y en mango (19, 20). (Ver Tabla 2).

Es la primera vez que en el aroma glicosídicamente enlazado de la piña se detectan algunos hidroxieésteres glicosidados como 3-hidroxi-2-metilbutanoato de metilo, 4-hidroxihexanoato de etilo, 3-hidroxioctanoato de etilo, 5-hidroxioctanoato de metilo, 4-hidroxioctanoato de etilo; estos compuestos han sido detectados en el aroma libre de piñas provenientes de Filipinas (9). Los hidroxieésteres son constituyentes comunes en el aroma libre de varias frutas tropicales, aunque los estudios sobre su presencia en la forma enlazada son escasos; se han aislado glucósidos de 3-hidroxibutanoato de etilo y de butilo de papayuela (21), y de uchuva se aislaron

Tabla 1. Composición del extracto L-L del aroma de piña (*Ananas comosus*) var. perolera

No	IR ^a	PM	Compuesto	Cantidad ^b	Descripción olfativa
1	<900	-	acetona	+	ND
2	<900	74	acetato de metilo	+	ND
3	980	88	acetato de etilo	+	ND
4	988	102	butanoato de metilo	++	Manzana, dulce, tostado
5	1020	116	2-metil-butanoato de metilo	+++	Rancio, piña
6	1027	116	3-metil-butanoato de metilo	+	ND
7	1044	116	butanoato de etilo	+	Piña
8	1060	130	2-metil-butanoato de etilo	+	Corazón de piña
9	1068	102	acetato de butilo	+	Frutal, dulce, piña
10	1096	116	pentanoato de metilo	+	ND
11	1131	130	acetato de 2-metil-butilo	+	Piña
12	1193	114	metil-amil-cetona	+	ND
13	1199	130	hexanoato de metilo	+++	Piña
14	1244	144	hexanoato de etilo	+	Frutal, piña, banano
15	1249	118	2-hidroxi-2-metil-propanoato de metilo	+	ND
16	1255	128	Z-4-hexenoato de metilo	+	Verde, frutal, rancio
17	1270	128	Z-3-hexenoato de metilo	+	ND
18	1274	128	E-3-hexenoato de metilo	+	Piña, frutal, húmedo
19	1299	132	2-hidroxi-2-metil-butanoato de metilo	++	Piña
20	1318	146	2-hidroxi-2-metil-butanoato de etilo	+	ND
21	1354	116	4-hidroxi-4-metil-2-pentanona	+	Manzana, carnoso, verde
22	1389	132	3-hidroxi-3-metil-butanoato de metilo	+	Coco, dulce
23	1401	158	octanoato de metilo	+	Frutal, vínica, naranja
24	1419	118	2-butoxi-etanol	+	Piña
25	1444	156	Z-4-octenoato de metilo	+	Papa cruda
26	1446	126	2,4-hexadienoato de metilo	+	Papa cruda
27	1477	192	furfural	+	Caramelo, tostado
28	1498	118	3-hidroxi-butanoato de metilo	+	Piña, fermentada
29	1523	132	malonato de dimetilo	++	ND
30	1537	160	2-acetoxi-butanoato de metilo	+	ND
31	1542	134	3-metil-tiopropoato de metilo	+++	Penetrante, cebolla
32	1552	160	3-acetoxi-butanoato de metilo	++	ND
33	1571	174	3-acetoxi-2-metil-butanoato de metilo	+	Caramelo
34	1577	188	3-acetoxi-2-metil-butanoato de etilo	+	Piña
35	1580	148	3-metil-tiopropoato de etilo	+	ND
36	1584	146	2-hidroxi-hexanoato de metilo	+	ND
37	1588	174	3-acetoxi-butanoato de etilo	+	Metálica
38	1591	146	3-hidroxi-pentanoato de etilo	+	Champiñón, terrosa
39	1613	142	metoxi-furaneol	+	Cereza
40	1624	174	3-acetoxi-2-metil-butanoato de metilo	+	Caramelo
41	1643	136	benzoato de metilo	+	ND

Continuación Tabla 1

No	IR ^a	PM	Compuesto	Cantidad ^b	Descripción olfativa
42	1659	100	γ -butirolactona	+	Coco, dulce
43	1667	146	3-hidroxi-hexanoato de metilo	+	Desagradable
44	1670	188	3-acetoxi-hexanoato de metilo	+	ND
45	1677	160	3-hidroxi-hexanoato de etilo	+	ND
46	1685	174	no identificado	+	ND
47	1701	188	4-acetoxi-hexanoato de metilo	+++	ND
48	1729	114	γ -hexalactona	+	Dulce, caramelo, tostado
49	1737	202	4-acetoxi-hexanoato de etilo	+	Coco
50	1748	188	5-acetoxi-hexanoato de metilo	++	Ácida, metálica
51	1782	148	no identificado	+	ND
52	1787	202	5-acetoxi-hexanoato de etilo	+++	Miel
53	1821	114	δ -hexalactona	+	Miel
54	1831	128	γ -heptalactona	+	ND
55	1841	146	5-hidroxi-hexanoato de metilo	+	Piña verde
56	1857	202	5-acetoxi-heptanoato de metilo	+	Coco
57	1861	116	ácido hexanoico	+	Piña
58	1880	216	4-acetoxi-octanoato de metilo	+	Piña
59	1910	128	δ -heptalactona	+	ND
60	1921	216	5-acetoxi-octanoato de metilo	+	ND
61	1932	230	4-acetoxi-octanoato de etilo	+	ND
62	1942	142	γ -octalactona	+	Caramelo, roja
63	1964	230	5-acetoxi-octanoato de etilo	+	Caramelo, roja
64	1997	142	δ -octalactona	+	Dulce, caramelo
65	2058	128	furaneol	+	Dulce, caramelo, tostado
66	2077	144	ácido octanoico	+	ND
67	2217	170	γ -decalactona	+	Frutal, dulce, durazno
68	2225	170	δ -decalactona	+	ND
69	2526	180	alcohol coniferilico	+	Balsámica, floral

^a Índices de retención determinados en columna DB-Wax.

^b Cantidad ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de pulpa): + = ≤ 50 ; ++ = 50-100; +++ = 100-150.

ND: no detectado olfativamente

3-hidroxibutanoato de butilo y 3-hidroxi-octanoato de etilo enlazados a disacáridos (22).

La presencia de 3-hidroxihexanoato de metilo, 3-hidroxihexanoato de etilo, 5-hidroxihexanoato de metilo, ácido hexanoico, furaneol y alcohol coniferilico en el aroma libre de la piña perolera y como agliconas

sugiere que estos compuestos provienen de la hidrólisis de precursores glicosídicos.

AGRADECIMIENTOS

Al International Program in Chemical Sciences (IPICS) de la Universidad de Uppsala (Suecia), al programa BID-Col-

Tabla 2. Compuestos volátiles liberados por hidrólisis enzimática del extracto glicosídico de pulpa de piña (*Ananas comosus L.*) var. perolera

No.	IR ^a	Compuesto	Cantidad ^b
1	1161	2,3-butanodiol	++
2	1424	ácido acético	++
3	1515	3-hidroxi-2-metilbutanoato de metilo	++
4	1642	3-hidroxi-hexanoato de metilo	+
5	1660	3-hidroxi-hexanoato de etilo	+
6	1820	4-hidroxi-hexanoato de etilo	++
7	1839	5-hidroxi-hexanoato de metilo	+
8	1851	alcohol bencílico	++
9	1887	3-hidroxi-octanoato de etilo	+
10	1990	5-hidroxi-octanoato de metilo	+
11	2018	4-hidroxi-octanoato de etilo	++
12	2050	furaneol	++++
13	2160	4-vinil-guayacol	++++
14	2295	2-alil-fenol	++
15	2348	4-vinil-fenol	++
16	2526	alcohol coniferílico	++++
17	2856	ácido hexadecanoico	++++

^a Índices de retención determinados en columna DB-Wax.

^b Cantidad ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de pulpa): + = ≤ 50 ; ++ = 50-500; +++ = 500-1000; ++++ > 1000.

ciencias y a la empresa Lucta Grancolombiana por el apoyo financiero. Las autoras agradecen especialmente a Tatiana Osorio y a Víctor Armando Rincón de Lucta Grancolombiana por su apoyo en los análisis olfatométricos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Corporación Colombia Internacional (2002). Precios de la piña en Estados Unidos y en la Unión Europea. *Inteligencia de mercados*. **33**, 1.
2. DANE (1999). Exportaciones por partidas arancelarias según países de destino.
3. Pickenhagen W.; Velluz A.; Passerat J-P.; Ohloff G. (1981). Estimation of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone (Furaneol) in cultivated and wild satrawberries, pineapples and mangoes. *J. Sci. Food Agric.* **32**, 1132.
4. Berger, R.; Drawert, F.; Nitz, S. (1983). Sesquiterpene hydrocarbons in pineapple fruit. *J. Agric. Food Chem.* **31**, 1237.
5. Berger, R.; Drawert, F.; Kollmannsberger H.; Nitz, S.; Schraufstetter B. (1985). Novel volatiles in pineap-

- ple fruit and their sensory properties. *J. Agric. Food Chem.* **33**, 232.
6. Takeoka, G.; Buttery, R.; Flath, R.; Teranishi, R.; Wheeler, F.; Wiczorek, R.; Guenter, M. (1989). Volatile constituents of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). En: Flavor Chemistry; Trends and Developments, A.C.S Symposium series; Washington D.C.: American Chemical Society, p. 223.
 7. Wu, P.; Kuo, M.; Hartman, T.; Rosen, R.; Ho, C. (1991). Free and glycosidically bound aroma compounds in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *J. Agric. Food Chem.* **39**, 170.
 8. Takeoka, G.; Buttery, R.; Teranishi, R.; Flath, R.; Günter, M. (1991). Identification of additional pineapple volatiles. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 1848.
 9. Umamo, K.; Hagi, Y.; Nakahara, K.; Shoji, A.; Shibamoto, T. (1992). Volatile constituents of green and ripened pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) *J. Agric. Food Chem.* **40**, 599.
 10. Teai, T.; Claude-Lafontaine, A.; Schippa, C.; Cozzolino, F. (2001). Volatile compounds in fresh pulp of (*Ananas comosus* [L.] Merr.) from French Polynesia. *J. Essential Oil Res.* **13**, 314.
 11. Morales, A. L.; Duque, C. (2002). Free and glycosidically bound volatiles in mammea apple (*Mammea Americana*) fruit. *Eur. Food Res. Technol.* **215**, 221.
 12. Morales, A. L.; Duque, C.; Bautista, E. (2000). Identification of free and Glycosidically Bound Volatiles and Glycosides by capillary GC and Capillary GC-MS in "Lulo del Chocó" (*Solanum tojiro*). *J. High Res. Chromatogr.* **23**, 379.
 13. Osorio, C.; Duque, C.; Suárez, M.; Salamanca L.; Urueña F. (2002). Free, glycosidically bound and phosphate bound flavor constituents of badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp. *J. Sep. Sci.* **25**, 147.
 14. Ministerio de agricultura, publicación interna, 1998.
 15. Drawert, F.; Rapp, A. (1968). Gas chromatographische Untersuchung Pflanzlicher Aromen I. Anreicherung, Trennung und Identifizierung von flüchtigen aromastoffen in traubenmosten und weinen. *Chromatographia* **1**, 446.
 16. Gunata, Y. Z.; Bayonove, C. L.; Baumes, R. L.; Cordonier, R. E. (1985). The aroma of grapes. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some aroma components. *J. Chromatogr.* **331**, 83.
 17. Mayerl, F.; Naf, R.; Thomas, A. F. (1989). 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanone glucoside: isolation from strawberries and synthesis. *Phytochemistry* **37**, 631.
 18. Osorio, C.; Duque, C.; Fujimoto, Y. (2000). Oxygenated monoterpenoids from badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp. *Phytochemistry* **53**, 97.

19. Sakho, M.; Chassagne, D.; Crouzet, J. (1997). African mango glycosidically bound volatile compound, *J. Agric. Food Chem.* **45**, 883.
20. Castaño, P.; Morales, A. L.; Duque, C. (2004). Free and glycosidically bound volatile components from mango (*Mangifera indica L.*) var. Azúcar. *Food Chem.* Sometido.
21. Krajewski, D.; Duque, C.; Schreier, P. (1997). Aliphatic β -D-glucosides from fruits of *Carica pubescens*. *Phytochemistry* **45**, 1627.
22. Mayorga, H.; Duque, C.; Knapp, H.; Winterhalter, P. (2002). Hydroxyester disaccharides from fruits of cape gooseberry (*Physalis peruviana*). *Phytochemistry* **59**, 439.