

## **COMPUESTOS ACTIVOS DEL AROMA DE LA PIÑA CV. ESPAÑOLA ROJA DETERMINADOS POR EXTRACCIÓN LÍQUIDA-LÍQUIDA**

*Jorge A. Pino<sup>1,2\*</sup> y Yojhansel Aragüez<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3½, La Habana, Cuba, C.P. 19200.*

<sup>2</sup>*Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. Calle 222 No. 2317, CP 13600, La Habana, Cuba.*

*Recibido: 09-03-2020 / Revisado: 25-04-2020 / Aceptado: 10-04-2020 / Publicado: 05-05-2020*

### **RESUMEN**

La aplicación de la extracción líquida-líquida combinada con la cromatografía de gases-espectrometría de masas y los valores de actividad del olor fueron usadas para analizar los compuestos volátiles de la piña cv. Española Roja y para estimar los compuestos más activos del aroma. El análisis permitió la identificación de 80 compuestos, 25 de los cuales fueron compuestos activos del aroma. Entre ellos, (3*E*,5*Z*,8*Z*)-1,3,5,8-undecatetraeno, 2-metilpropanoato de etilo, 3-(metiltio)propanoato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo, 2-metilbutanoato de metilo y 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2*H*)-furanona fueron los mayores contribuyentes al aroma.

**Palabras clave:** piña, compuestos volátiles, aroma, cromatografía de gases-espectrometría de masas.

### **ABSTRACT**

#### **Odor-active compounds in pineapple cv. Española Roja determined by liquid-liquid extraction**

Application of liquid-liquid extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and odor activity value was used to analyze volatile compounds from pineapple cv. Red Spanish and to estimate the most aroma-active compounds. The analyses led to the identification of 80 compounds, from which 25 of them were aroma-active compounds. Among them, (3*E*,5*Z*,8*Z*)-1,3,5,8-undecatetraene, ethyl 2-methylpropanoate, ethyl 3-(methylthio)propanoate, ethyl 2-methylbutanoate, methyl 2-methylbutanoate and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanone were the most aroma contributors.

**Keywords:** pineapple, volatile compounds, aroma, gas chromatography-mass spectrometry.

### **INTRODUCCIÓN**

La piña (*Ananas comosus* [L.] Merrill) es una de las frutas tropicales más populares, principalmente debido a su atractivo aroma y sabor, así como su refrescante balance azúcar-ácido. Numerosos cultivares crecen en varias regiones del mundo y se conoce que se diferencian notablemente en sus características sensoriales (1). Alrededor de 380 compuestos volátiles se han identificado en productos frescos y procesados (2-5); sin embargo, sólo algunos de ellos se han reconocido como contribuyentes del aroma de la piña.

---

\***Jorge A. Pino-Alea:** Investigador titular del Departamento de Aromas del IIIA. Doctor en Ciencias Técnicas (CNIC, La Habana, 1980) y Doctor en Ciencias (IFAL, La Habana, 2011). Miembro titular de la Academia de Ciencias de Cuba. Investiga en la química y tecnología del aroma de los alimentos y aceites esenciales.

El aroma de una fruta, como en muchos otros alimentos, es el resultado de una mezcla específica de los componentes volátiles. Por esta razón, es necesario lograr la apropiada separación e identificación de contribuyentes al aroma y sabor en combinación con la evaluación sensorial de la fruta y los compuestos individuales. Se ha demostrado para un número considerable de alimentos que todos sus compuestos volátiles no interactúan recíprocamente con el olfato humano y solo unos pocos son los que participan en la creación de la impresión del aroma. Una estrategia para discriminar los compuestos olfativamente importantes del conjunto de compuestos volátiles aislados es mediante el cálculo de los valores de actividad del olor (VAO), el cual relaciona la concentración del compuesto en el alimento con su umbral de detección de olor (6).

La mayoría de estudios de aroma de piña se han centrado en la identificación y cuantificación de los compuestos volátiles y sólo unos pocos los han relacionado con la evaluación sensorial. Así, en la var. Smooth Cayenne se informaron como componentes de impacto del aroma al 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2*H*)-furanona, 2-metilbutanoato de metilo, 2-metilbutanoato de etilo, acetato del etilo, hexanoato de etilo, butanoato de etilo, 2-metilpropanoato de etilo, hexanoato de metilo y butanoato de metilo (7). En la piña cv. Flhoran41 se reportaron al 2-metilbutanoato de metilo, 2-metilbutanoato de etilo, 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2*H*)-furanona, 3-(metiltio)propanoato de metilo y 3-(metiltio)propanoato de etilo (8), mientras que en la piña cv. Super Sweet se reportaron al 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2*H*)-furanona, 2-metilpropanoato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo, 2-metilbutanoato de metilo, b-damascenona y (3*E*,5*Z*)-1,3,5-undecatrieno (9). En la piña cv. Gold se informaron al 2-metilbutanoato de metilo, 4-metoxi-2,5-dimetil-3(2*H*)-furanona, 2-metilbutanoato de etilo, hexanoato de etilo, 2-metilpropanoato de metilo, butanoato de metilo, hexanoato de metilo, 3-(metiltio)propanoato de metilo y acetato de 3-metilbutilo (10). Recientemente, se reportaron los 20 principales contribuyentes del aroma y sabor del cv. Española Roja, entre los que destacan el 2-metilbutanoato de etilo, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2*H*)-furanona, (3*E*,5*Z*,8*Z*)-1,3,5,8-undecatetraeno, 3-(metiltio)propanoato de etilo, (3*E*,5*Z*)-1,3,5-undecatrieno, hexanoato de etilo y hexanoato de metilo (11). Estos compuestos fueron aislados mediante destilación-extracción simultáneas, técnica que en

los últimos años ha caído en desuso debido a la posibilidad de cambios en la composición por efecto del calor (12).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el perfil de compuestos volátiles aislado por extracción líquida-líquida y los principales compuestos activos del aroma en la piña cv. Española Roja.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las piñas cv. Española Roja, seleccionadas con similar estado de madurez, fueron recolectadas de un campo de producción en Alquizar e inmediatamente llevadas al laboratorio. Se hicieron tres grupos, de cinco frutas cada uno, que fueron peladas y las partes medias cortadas en cubos de aproximadamente 8 cm<sup>3</sup>, una vez eliminados los centros. Los tres grupos fueron usados para los análisis. Las características generales de la pulpa fueron las siguientes: sólidos solubles 9,0 % (S = 0,1 %); acidez total 0,88 % (S = 0,02 %, como ácido cítrico) y pH 3,27 (S = 0,01).

Las determinaciones de sólidos solubles, acidez y pH se hicieron por los métodos estandarizados (13).

Los compuestos volátiles se aislaron por extracción líquido-líquido. Los cubos de frutas (200 g) se mezclaron con 400 mL de agua destilada y homogeneizaron en una licuadora comercial por 5 min. El líquido resultante se trasvasó, a través de una malla de acero inoxidable de 100 mm, a un extractor líquido-líquido continuo. Se adicionó 1 mL de nonanoato de metilo como estándar interno y se sometió a la extracción con 25 mL de *n*-pentano/éter etílico (1:1 v/v) por 6 h (14). El extracto fue secado sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró por destilación fraccionada con un equipo Kuderna-Danish hasta 1 mL y después, hasta 0,2 mL con una corriente suave de nitrógeno.

El análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas se hizo en un equipo Hewlett-Packard 6890N serie II (Agilent, Palo Alto, CA, USA) con una columna capilar de 30 m x 0,25 mm x 0,25 mm del tipo HP-5 ms (Agilent, Palo Alto, CA, USA). El programa de temperatura usado fue 50 °C por 2 min, después hasta 280 °C a 4 °C min/min e isotérmico final por 10 min. El gas portador helio se mantuvo a 1 mL/min. Las condiciones del detector de masas fueron: energía de ionización 70 eV, temperaturas de la fuente iónica y

conexiones 250 °C. La adquisición fue en modo barrido ( $m/z$  35 a 400 u). Los compuestos se identificaron por comparación de los índices de retención lineales (determinados con una serie homóloga de  $n$ -parafinas) y espectros de masas de sustancias patrones, así como las reportadas en bases de datos comerciales (NIST05, Wiley 6, NBS 75 k y Adams, 2001). La cuantificación se hizo por el método de estándar interno y los resultados se expresaron como mg, equivalente de nonanoato de metilo por kg de fruta fresca.

Los valores de actividad del olor (VAO) se calcularon a partir de la relación entre la concentración y el umbral de detección de olor del compuesto. Los umbrales fueron tomados de una base de datos del Departamento de Aromas del Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos del aroma de piña fueron evaluados olfativamente por tres expertos a partir de una gota aplicada a una tira de papel de filtro. Después de evaporado los disolventes, los expertos coincidieron en que el olor del extracto se asemejaba a las características frutales y dulce de la fruta, por lo que se concluyó que el método de aislamiento usado fue adecuado.

Un total de 80 compuestos volátiles de la piña fueron aislados e identificados (Tabla 1). La composición del extracto está constituida por ésteres (51), aldehídos (7), alcoholes (5), ácidos (3), terpenos (2), furanos (3) y otros de distinta naturaleza química (9). Los constituyentes mayoritarios (> 4 % en el extracto) fueron hexanoato de metilo, acetato de etilo, octanoato de metilo, 3-acetoxihexanoato de metilo, 2-metil-3-oxobutanoato de metilo, 3-(metiltio)propanoato de etilo, 3-metilbutan-1-ol y 2-metilbutanoato de metilo. Estos compuestos han sido reportados en trabajos anteriores (7-11, 15, 16).

La Tabla 2 presenta los VAO calculados a partir de la concentración absoluta y el umbral de detección de olor de cada compuesto. Merece señalarse que para algunos compuestos no se encontró información de sus umbrales. Los resultados sugieren que 25 compuestos deben contribuir al aroma característico de la piña cv. Española Roja, pues sus concentraciones exceden a sus umbrales de detección de olor. El odorante con mayor VAO fue el (3*E*,5*Z*,8*Z*)-1,3,5,8-undecatetraeno,

con su olor característico a piña. Otros odorantes con altos valores de VAO fueron el 2-metilpropanoato de etilo, 3-(metiltio)propanoato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo, 2-metilbutanoato de metilo y 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2*H*)-furanona, la mayoría con olores que recuerdan a la piña. Sin embargo, otros 19 odorantes tuvieron VAO > 1 y probablemente también contribuyan al aroma de este cultivar.

Al comparar los resultados del presente trabajo con los antes reportados con el empleo de la destilación-extracción simultáneas (11), se aprecia que cinco compuestos: octanoato de metilo, acetaldehído, 3-metilbutan-1-ol, acetato de 2-metilpropilo y octanoato de etilo, no habían sido encontrados como odorantes activos en el estudio anterior.

Debe mencionarse que para completar este estudio se hace necesario realizar estudios sensoriales con las mezclas de los odorantes detectados para poder confirmar la contribución real al cv. Española Roja, que incluyen experimentos modelos y de omisión.

## CONCLUSIONES

Se identificaron 80 compuestos volátiles, aislados por extracción líquida-líquida, de la piña cv Española Roja. Los componentes mayoritarios fueron hexanoato de metilo, acetato de etilo, octanoato de metilo, 3-acetoxihexanoato de metilo, 2-metil-3-oxobutanoato de metilo, 3-(metiltio)propanoato de etilo, 3-metilbutan-1-ol y 2-metilbutanoato de metilo. El estudio reveló que 25 compuestos son activos del aroma de este cultivar a partir del cálculo de los valores de actividad del olor, donde se sobresalen el (3*E*,5*Z*,8*Z*)-1,3,5,8-undecatetraeno, 2-metilpropanoato de etilo, 3-(metiltio)propanoato de etilo, 2-metilbutanoato de etilo, 2-metilbutanoato de metilo y 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2*H*)-furanona como los mayores contribuyentes del aroma típico de este cultivar.

**Tabla 1. Compuestos identificados en la piña cv. Española Roja**

Compuesto	IRL	Área (%)	Concentración (µg/kg)
acetaldehído	528	0,1	13
etanol	537	1,7	174
acetato de metilo	559	0,5	52
2-metilpentano	574	0,6	56
3-metilpentano	581	0,2	17
<i>n</i> -hexano	600	0,0	2
acetato de etilo	612	6,2	638
2-metilpropan-1-ol	625	0,4	46
propanoato de metilo	645	1,0	106
3-metilbutanal	654	0,5	47
2-metilbutanal	658	0,1	13
2-metilpropanoato de metilo	690	0,2	22
acetato de propilo	707	0,0	4
propanoato de etilo	717	0,1	15
3-hidroxi-2-butanona	718	0,0	0
butanoato de metilo	730	1,7	173
3-metilbutan-1-ol	741	4,4	446
2-metilbutan-1-ol	742	0,8	80
2-metilpropanoato de etilo	751	0,1	10
acetato de 2-metilpropilo	768	0,8	81
2-metilbutanoato de metilo	772	4,2	426
carbonato de dietilo	775	0,0	4
hexanal	802	0,0	0
butanoato de etilo	805	0,2	25
pentanoato de metilo	828	0,2	23
2-furfural	832	0,2	22
ácido 3-metilbutanoico	836	0,0	0
2-metilbutanoato de etilo	851	0,3	34
2-hidroxi-2-metilbutanoato de metilo	865	0,6	64
acetato de 3-metilbutilo	880	0,5	55
acetato de 2-metilbutilo	884	0,2	24
malonato de dimetilo	917	0,2	16
hexanoato de metilo	925	34,9	3565
3-hidroxi-2-metilbutanoato de metilo	932	0,1	7
benzaldehído	960	0,0	1
fenol	980	0,4	39
hexanoato de etilo	998	0,5	54
ácido hexanoico	1000	0,0	0
3-(metiltio)propanoato de metilo	1023	1,2	126
limoneno	1029	0,5	54
3-acetoxibutanoato de metilo	1040	0,8	87

Tabla 1 (cont.)

Compuesto	IRL	Área (%)	Concentración (µg/kg)
3-hidroxihexanoato de metilo	1049	0,2	16
( <i>E</i> )-β-ocimeno	1050	1,5	156
fenilacetaldehído	1055	0,2	21
γ-hexalactona	1059	0,0	0
2,5-dimetil-4-metoxi-3(2 <i>H</i> )-furanona	1061	0,7	75
2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2 <i>H</i> )-furanona	1070	0,2	900
2-metil-3-oxobutanoato de metilo	1072	4,6	466
3-metil-3-oxobutanoato de metilo	1083	0,6	56
benzoate de metilo	1090	0,0	0
3-(metiltio)propanoato de etilo	1098	4,6	470
( <i>Z</i> )-4-octenoato de metilo	1115	0,0	3
octanoato de metilo	1125	6,1	622
2-feniletanol	1127	0,0	0
3-hidroxihexanoato de etilo	1130	0,1	14
2-metil-3-oxobutanoato de etilo	1144	0,1	11
(3 <i>E</i> ,5 <i>Z</i> )-1,3,5-undecatieno	1171	0,0	0
benzoato de etilo	1175	0,2	24
(3 <i>E</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> )-1,3,5,8-undecatetraeno	1177	0,1	10
octanoato de etilo	1197	1,0	99
3-acetoxihexanoato de metilo	1206	5,6	568
4-acetoxihexanoato de metilo	1237	0,8	77
5-acetoxihexanoato de metilo	1247	1,8	183
acetato de 2-feniletilo	1258	0,4	38
3-acetoxihexanoato de etilo	1266	0,2	17
nonanoate de etilo	1318	0,0	2
5-acetoxihexanoato de etilo	1322	0,1	6
decadienoato de metilo	1324	0,1	8
decanoato de metilo	1326	0,1	14
3-acetoxioctanoato de metilo	1350	0,0	1
( <i>E</i> )-4-decenoato de etilo	1382	0,1	11
decadienoato de etilo	1389	0,3	28
decanoato de etilo	1396	0,5	49
5-acetoxioctanoato de metilo	1413	0,8	78
5-acetoxioctanoato de etilo	1455	0,2	18
ácido dodecanoico	1568	0,0	3
dodecanoato de etilo	1595	0,1	6
<i>cis</i> -dihidrojasmonato de metilo	1656	0,1	7
pentadecanal	1709	0,0	0
hexadecanoato de etilo	1993	0,0	0
hexadecanoato de 2-metiletilo	2025	1,5	155

IRL: índice de retención lineal.

**Tabla 2. Valores de unidades de olor para los compuestos identificados**

Compuesto	UDO	VAO	Olor <sup>1</sup>
(3 <i>E</i> ,5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> )-1,3,5,8-undecatetraeno	0,002	4972	piña
2-metilpropanoato de etilo	0,02	478	frutal, dulce
3-(metiltio)propanoato de etilo	1	470	frutal, piña
2-metilbutanoato de etilo	0,15	227	frutal, piña
2-metilbutanoato de metilo	2	213	piña
2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2 <i>H</i> )-furanona	10	90	piña cocida
hexanoato de etilo	1,0	54	piña, frutal
hexanoato de metilo	70	51	piña, frutal
butanoato de metilo	5	35	frutal, dulce
acetato de 3-metilbutilo	2	27	frutal
butanoato de etilo	1	25	frutal
3-metilbutanal	2	23	frutal
(3 <i>E</i> ,5 <i>Z</i> )-1,3,5-undecatrieno	0,02	19	piña
acetato de 2-metilbutilo	5	5	frutal
limoneno	10	5	cítrico
fenilacetaldehído	4	5	floral, dulce
2-metilbutanal	3	4	frutal
2-metilpropanoato de metilo	6,3	3	frutal, dulce
octanoato de metilo	200	3	frutal
propanoato de etilo	10	2	frutal
acetaldehído	17	1	pungente
3-metilbutan-1-ol	300	1	frutal
acetato de 2-metilpropilo	66	1	fermentado
3-(metiltio)propanoato de metilo	180	1	piña al diluirse
octanoato de etilo	92	1	frutal, vinoso
Compuestos con VAO < 1			
etanol, acetato de etilo, 2-metil-1-propanol, 3-hidroxi-2-butanona, 2-metilbutan-1-ol, hexanal, 2-furfural, ácido 3-metilbutanoico, benzaldehído, fenol, ácido hexanoico, $\gamma$ -hexalactona, 2,5-dimetil-4-metoxi-3(2 <i>H</i> )-furanona, benzoato de metilo, 2-feniletanol, benzoato de etilo, acetato de 2-feniletilo, nonanoato de etilo, decanoato de etilo, ácido dodecanoico, hexadecanoato de etilo			

UDO: umbral de detección de olor. VAO: valor de actividad de olor.

<sup>1</sup>Descripción tomada de la referencia 16.

## REFERENCIAS

- Rohrbach KG, Leal F, d'Eeckengbrudde GC. History, distribution and world production. En: Bartholomew D, Pauli RE, Rohrbach KG, Eds. The Pineapple: Botany, Production and Uses. Cambridge, MA: CABI Publishing; 2003. pp. 1-12.
- Engel K-H, Heidlas J, Tressl R. The flavour of tropical fruits (banana, melon, pineapple). En: Morton ID, MacLeod AJ, Eds. Food Flavours. Part C. Flavour of Fruits. Amsterdam: Elsevier; 1990. pp. 195-219.
- Berger R. Pineapple. En: Maarse H, Ed. Volatile Compounds in Foods and Beverages. New York: Marcel Dekker Inc; 1991. pp. 283-304.
- Nijssen LM, Visscher CA, Maarse H, Willemsems L, Boelens MH. Volatile Compounds in Foods. Qualitative and Quantitative Data, pp 14.1–14.8. Zeist: TNO Nutrition and Food Research Institute; 1996. pp. 14.1-14.8.
- Montero-Calderón M, Rojas-Graü A, Martín-Belloso O. Pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merrill) flavor. En: Hui YH, Ed. Handbook of Fruit and Vegetable Flavors, Hoboken. NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2010. pp. 391-414.
- Schieberle P. Recent developments in methods for analysis of flavor compounds and their precursors. En: Goankar A, Ed. Characterization of Food: Emerging Methods. Amsterdam: Elsevier; 1995. pp. 403-31.

7. Takeoka G, Buttery RG, Flath RA, Teranishi R, Wheeler EL, Wieczorek RL, Guentert M. Volatile constituents of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). En: Teranishi R, Buttery RG, Shahidi F, Eds. Flavor Chemistry: Trends and Developments. Washington DC, USA: American Chemical Society; 1989. pp. 221-37.
8. Brat P, Thi Hoang LN, Soler A, Reynes M, Brillouet JM. Physicochemical characterization of a new pineapple hybrid (FLHORAN41 Cv.). *J Agric Food Chem* 2004; 52:6170-7.
9. Tokitomo Y, Steinhaus M, Büttner A, Schieberle P. Odor-active constituents in fresh pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) by quantitative and sensory evaluation. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69(7):1323-30.
10. Montero-Calderón M, Rojas-Graü A, Martín-Belloso O. Aroma profile and volatiles odor activity along Gold cultivar pineapple flesh. *J Food Sci* 2010; 75:506-12.
11. Pino JA. Odour-active compounds in pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merril cv. Red Spanish). *Int J Food Sci Technol* 2013; 48:564-70.
12. Munafó JP, Didzbalis J, Schnell RJ, Schieberle P, Steinhaus M. Characterization of the major aroma-active compounds in mango (*Mangifera indica* L.) cultivars Haden, White Alfonso, Praya Sowoy, Royal Special, and Malindi by application of a comparative aroma extract dilution analysis. *J Agric Food Chem* 2014; 62:4544-51.
13. AOAC. Official Methods of Analysis. Gaithersburg, Maryland: Association of Official Analytical Chemists; 2019.
14. Quijano CE, Pino JA. Analysis of volatile compounds of camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mcvaugh) fruit isolated by different methods. *J Essent Oil Res* 2007; 19:527-3.
15. Wu P, Kuo MC, Hartman TG, Rosen RT, Ho CT. Free and glycosidically bound aroma compounds in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). *J Agric Food Chem* 1991; 39:170-2.
16. Umamo K, Hagi Y, Nakahara K, Shoji A, Shibamoto T. Volatile constituents of green and ripened pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *J Agric Food Chem* 1992; 40:599-603.
17. Burdock GA. Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group; 2010.