



Untargeted Metabolomic Analysis by LC-MS for the Differentiation of Arazá (*Eugenia stipitata*) Subspecies

Análisis metabolómico no dirigido por LC-MS para la diferenciación de subespecies de arazá (*Eugenia stipitata*)

Paula GALEANO^{1*,2}, Jose MENDIOLA², Alberto VALDES², Elena IBÁÑEZ², Alejandro CIFUENTES².

1 Grupo de Investigación en Productos Naturales Amazónicos (GIPRONAZ), Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de la Amazonia, Florencia 180001, Colombia. * p.galeano@udla.edu.co

2 Laboratory of Foodomics, Institute of Food Science Research, CIAL, CSIC, Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, Spain.

Presentación Oral 57

ABSTRACT

Eugenia stipitata (arazá) is a perennial tree belonging to the Myrtaceae family that is native to the Amazon rainforest. It was characterized by McVaugh in 1956 based on samples collected in Peru, Brazil, Bolivia, and Colombia. Two subspecies have been identified: *E. stipitata*, a medium-sized shrub with a greater number of stamens, as well as larger leaves, flowers, and fruits, and *E. sororia*, which is distinguished by having fewer stamens, along with smaller leaves, flowers, and fruits ^[1]. The fruit exhibits an intense canary yellow color, and its juiciness, high acidity, unique sensory characteristics, and pectin content make it suitable to produce juices, nectars, jams, and jellies ^[2]. Arazá is rich in volatile terpenes, fibers, essential minerals, and pharmacologically relevant compounds, particularly vitamins A, B1, B2, and C, along with a high concentration of bioactive compounds. It has strong antioxidant activity and is high in phenolic compounds and carotenoids ^[3]. Arazá may play a protective role and help prevent pathological processes caused by oxidative stress, thereby reducing chronic human diseases ^[4]. Thus, it is a potential functional food with beneficial health effects. In Colombia, interest in this fruit has grown in recent years, driven by the search for new products and exotic flavors, its applications in traditional medicine, and its export potential ^[2]. Arazá is gaining presence in the local market, both in its fresh and processed forms, and is considered a promising economic alternative in the Amazon region. To establish the metabolic variability of the arazá subspecies and conduct a comprehensive characterization of bioactive metabolites and antioxidant activity, an untargeted metabolomic analysis was performed using liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS) on *E. stipitata* and *E. sororia* at different ripening stages. The initial phase focused on optimizing the extraction of bioactive compounds using US-assisted extraction (US) and pressurized liquid extraction (PLE). In both cases, an EtOH:H₂O mixture with an 8:2 ratio



was used as the extraction solvent. For PLE extraction, different temperatures (50 °C, 115 °C, and 180 °C) were tested. Finally, to determine the optimal extraction conditions, the phenolic compound content and antioxidant activity of the extracts were evaluated using ABTS, DPPH, and ORAC assays. The results indicated that the hydroalcoholic extracts obtained by PLE at 180 °C exhibited the best extraction yield and highest antioxidant potential. Additionally, LC-MS analyses identified 31 metabolites present in arazá subspecies extracts, including kaempferol-4-methyl ether, ethyl gallate, gallic acid, naringenin, dihydrokaempferol, among others.

Key words:

Eugenia stipitata, untargeted Metabolomics, LC-MS, PLE extraction.

RESUMEN

La especie *Eugenia stipitata* (arazá) es un árbol perenne de la familia de las Mirtáceas y originario de la selva amazónica; fue caracterizada por McVaugh en 1956 a partir de muestras recolectadas en Perú, Brasil, Bolivia y Colombia. Se han identificado dos subespecies: *E. stipitata*, que es un arbusto de tamaño mediano con mayor cantidad de estambres, así como hojas, flores y frutos de mayor tamaño; y *E. sosoria*, que se distingue por presentar menos estambres, además de hojas, flores y frutos más pequeños ^[1]. La fruta tiene un intenso color amarillo canario, y su jugosidad, alta acidez, características sensoriales únicas y contenido en pectina la hacen adecuada para producir zumos, néctares, mermeladas y jaleas ^[2]. El arazá es una fruta rica en terpenos volátiles, fibra, minerales esenciales, compuestos de interés farmacológico como vitaminas, principalmente como las vitaminas A, B₁, B₂ y C y alta concentración de compuestos bioactivos. Posee una buena actividad antioxidante y alto contenido fenólico y carotenoides ^[3]. El arazá puede desempeñar un papel protector y prevenir procesos patológicos provocados por el estrés oxidativo en el organismo, disminuyendo enfermedades crónicas del ser humano ^[4]. Esto lo convierte en un alimento potencial para ejercer efectos benéficos en la salud. En Colombia, el interés por esta fruta ha crecido en los últimos años, impulsado por la exploración de nuevos productos y sabores exóticos, sus usos en la medicina tradicional y su viabilidad para la exportación ^[2]. El arazá está ganando presencia en el mercado local, tanto en su forma fresca como procesada, y se considera una alternativa con alto potencial económico para la región amazónica. Por tanto, con el objetivo de establecer la variabilidad metabólica de las subespecies de arazá y realizar una caracterización exhaustiva de los metabolitos bioactivos y la actividad antioxidante, se realizó un análisis metabolómico no dirigido mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de (LC-MS) de las subespecies de *E. stipitata* y *E. sosoria* en diferentes estados de maduración. Para ello, la etapa inicial consistió en la optimización en la extracción de los compuestos bioactivos, para lo cual se realizó extracción asistida por Ultrasonido (US) y extracción con líquidos presurizados (PLE). En ambos casos se usó la mezcla EtOH:H₂O en proporción 8:2 como solvente de extracción. En la extracción PLE se ensayaron diferentes temperaturas (50 °C, 115 °C y 180°C). Finalmente, para establecer las mejores condiciones de extracción, se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los extractos obtenidos,



empleando las metodologías de ABTS, DPPH y ORAC. Los resultados indican que los extractos hidroalcohólicos obtenidos por PLE a 180 °C presenten mejor rendimiento de extracción y mayor potencial antioxidante. Además, los análisis LC-MS permitieron identificar 31 metabolitos presentes en los extractos de las subvariedades de arazá, entre ellos kaempferol-4-metil éter, galato de etilo, ácido gálico, naringenina, dihidrokaempferol, entre otros.

Palabras clave:

Eugenia stipitata, metabolómica no dirigida, LC-MS, extracción PLE.

Agradecimientos/Acknowledgements

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL-CSIC.

Programa de Embajadores de la Universidad de la Amazonia.

Referencias/References

- [1] BARRERA, J. A., *et al.* *Arazá*. 1 Ed. Bogotá, Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas - Sinchi, (2006). 146 p. [URL](#)
- [2] GARZÓN, G. A., *et al.* (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**(18): 4709-4717. [\[DOI\]](#)
- [3] DE ARAÚJO, F. F., *et al.* (2021). Chemical Characterization of *Eugenia Stipitata*: A Native Fruit from the Amazon Rich in Nutrients and Source of Bioactive Compounds. *Food Research International* **139**: 109904. [\[DOI\]](#)
- [4] NERI-NUMA, I. A., *et al.* (2013). Evaluation of the Antioxidant, Antiproliferative and Antimutagenic Potential of Araçá-Boi Fruit (*Eugenia Stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. *Food Research International* **50**(1): 70-76. [\[DOI\]](#)