Calidad de frutos vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) procedente de la Huasteca Potosina, México

Quality evaluation of *Vanilla planifolia* (Jacks. ex Andrews) beans from the Huasteca Potosina, México

Adán Cervantes Castillo¹, Mónica Lima Morales², Adriana Delgado Alvarado², Braulio E. Herrera Cabrera², Gustavo A. Arévalo Galarza³, Ramón M. Soto Hernández¹, Cecilia García Osorio¹ y Ma. de Lourdes Arévalo Galarza¹

Palabras clave: compuestos aromáticos; beneficio; compuestos volátiles

Keywords: aromatic compounds; curing; volatile compounds

Recepción: 12-07-2018 / Aceptación 09-09-2018

Resumen

Introducción: La vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), es una orquídea cuyo fruto beneficiado presenta características organolépticas sobresalientes, siendo la segunda especia más costosa después del azafrán y utilizada como saborizante y aromatizante. Debido a cambios en el patrón climático en la región productora del Totonacapan, en Veracruz, México, la productividad de la vainilla ha disminuido, pero en otras regiones como la Huasteca Potosina, la producción comercial representa una opción para los productores locales. Por lo anterior en este estudio se evaluó la calidad de la vainilla procedente de 14 sitios de once localidades, pertenecientes a ocho municipios de la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México.

Método: Se cosecharon frutos de vainilla de cada localidad, en madurez fisiológica de 32 semanas de edad (224 días después de polinización), y se sometieron a un mismo proceso de beneficio y posteriormente se evaluaron variables como dimensión, porcentaje de humedad, actividad de agua, contenido de azúcares solubles totales y compuestos del aroma en el fruto beneficiado.

Resultados: Se encontró que el azúcar predominante en frutos de vainilla beneficiado fue la glucosa, con 1.55-4.28 %. Los frutos provenientes del 60% de los lugares de colecta cumplieron con la norma de longitud mínima. El ácido vanílico fue el componente del aroma con mayor variación. El contenido de vainillina de los frutos provenientes de todos los municipios tuvieron más de 1.2 %, y solo las muestras de fruto de dos sitios (Tixcuayuca³ y Tamala) cumplieron con el mínimo de 2.0 % que exige la NOM-182-SCFI-2011.

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Recursos Genéticos y Productividad-Fisiología Vegetal. E-mail: larevalo@colpos.mx

² Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Programa de Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional

³ Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Suelos, área de recursos Naturales

© Universidad De La Salle Bajío (México)

Discusión y conclusión: Existe una variación significativa en el contenido de compuestos aromáticos, con una baja relación entre los compuestos del aroma (*p*-hidroxibenzóico, ácido vanílico y *p*-hidroxibenzaldehído) y vainillina de 6.97-11.87 de los frutos de vainilla beneficiadas procedentes de 14 sitios de la Huasteca Potosina, México. Estas diferencias se consideran el resultado de la interacción del medio con la especie, condiciones del cultivo, nutrición, entre otras. A pesar de esto se pueden encontrar frutos que sobresalen por su calidad organoléptica, principalmente por el contenido de vainillina, como los frutos procedentes de los municipios de Matlapa, Xilita y Tamazunchale.

Abstract

Introduction: Vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews), is an orchid, whose fruit has outstanding organoleptic characteristics, being the second most expensive spice after saffron and used as flavoring. Due to changes in the climate pattern in the Totonacapan producing region, in Veracruz, Mexico, the productivity of vanilla has decreased, but in other regions such as the Huasteca Potosina, commercial production represents an option for local producers. Therefore, in this study the quality of the vanilla from 14 sites of eleven localities, belonging to eight municipalities of the Huasteca Potosina, San Luis Potosí, Mexico, was evaluated.

Method: Vanilla fruits were harvested from each locality, in physiological maturity at 32 weeks of age (224 days after pollination), and they were subjected to the same process of curing and variables such as size, humidity percentage water activity, total soluble sugars and aroma compounds in the cured fruit were evaluated.

Results: It was found that the predominant sugar in vanilla fruits was glucose, with 1.55-4.28%. The fruits from 60 % of the collect sites achieve the minimum standard length. Vanillic acid was the component of the aroma with the greatest variation. The vanillin content of the fruits from all the municipalities had more than 1.2 %, and only the fruit samples from two sites (Tixcuayuca³ and Tamala) achieve the minimum of 2.0 % required by NOM-182-SCFI-2011.

Discussion and conclusion: There is a significant variation in the content of aromatic compounds, with a low ratio between the aroma compounds (*p*-hydroxybenzoic, vanillic acid and *p*-hydroxybenzaldehyde) and vanillin from 6.97-11.87 of the vanilla cured fruits from 14 sites of the Huasteca Potosina, Mexico. These differences are considered the result of the interaction of the environment with the species, culture conditions, nutrition, among others. Despite this it was found

several fruits which stand out for their organoleptic quality, mainly for the vanillin content, such the ones grown at the municipalities of Matlapa, Xilita and Tamazunchale.

Introducción

El género *Vanilla* pertenece a una de las familias de plantas más antiguas: la Orchidaceae con más de 800 géneros y más de 25,000 especies. Existen cerca de 107 especies de este género, distribuidas en todos los continentes excepto en Oceanía; gran parte (52 especies) se encuentra en América tropical. *V. planifolia* una de las especies de mayor importancia en el mundo debido a que su fruto beneficiado se utiliza como saborizante y aromatizante (Bory *et al.* 2008; Soto-Arenas y Dressler, 2010).

El beneficio de la vainilla puede tener una duración de cuatro a seis meses, durante el cual los frutos se someten a cuatro procesos: marchitamiento, sudado, secado y acondicionamiento, todos estos pasos se realizan con el fin de favorecer las reacciones bioquímicas y enzimáticas que generan la formación de aproximadamente 200 compuestos volátiles, que incluyen ácidos, éteres, alcoholes, ésteres y compuestos fenólicos. Sólo veinte de estos compuestos se producen en concentraciones superiores a 1 mg kg⁻¹ (Pérez-Silva *et al.* 2006, Sharma *et al.* 2006, Frenkel *et al.* 2011). De forma comercial, se consideran cuatro compuestos importantes, debido a su concentración e influencia sobre el aroma, que son: *p*-h idroxibenzaldehído (4-hidroxibenzaldehído) (2000 mg kg⁻¹), ácido vanilílico (ácido 4-hidroxi-3-metobenzóico) (2000 mg kg⁻¹), ácido *p*-hidroxibenzóico (ácido 4-hidroxibenzóico (200 mg kg⁻¹) y el compuesto mayoritario, la vainillina (4-hidroxi-3-metilprotocatéquico) en concentraciones de (10,000 - 20,000 mg kg⁻¹) (Ranadive 1992, Sostaric *et al.* 2000, Betazzi *et al.* 2006).

La principal zona de producción de la vainilla en México es la región del Totonacapan, que abarca el norte del estado de Puebla y el centro norte de Veracruz, pero la productividad en esa zona se ha reducido considerablemente debido a cambios en el patrón climático, pues existen periodos de sequía más prolongados que provoca la caída de fruto (Villareal-Manzo y Herrera-Cabrera, 2018). Por lo anterior es necesario establecer nuevas zonas de producción de vainilla. En este sentido el estado de San Luis Potosí, al noroeste del estado de Veracruz, en particular la zona de la Huasteca Potosina es una zona en donde se ha cultivado la vainilla (CESPVSLP, 2012). La región donde los vainillales están distribuidos se encuentran en elevaciones que van de los 61 a 678 m, con clima predominantemente del tipo semicálido (A) C (m) (w). La precipitación oscila

entre 1,540 y 2,740 mm anuales con una temperatura media anual que va de los 22 a 25 °C (Reyes-Hernández *et al.*, 2018). En esta zona la planta de vainilla se ha adaptado a las condiciones agroforestales, en donde las especies arbóreas sirven de sostén y sombra para mantener su hábito de crecimiento epífita y su intolerancia a la plena exposición solar. Estas condiciones han permitido que la producción de vainilla se incremente en los últimos años (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012; CESPV-SLP, 2012). Sin embargo no existen estudios que reporten datos del contenido medio de los compuestos del aroma que definan la calidad de los frutos producidos en esta zona, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar las características biofísicas y bioquímicas de la vainilla beneficiada procedente de diversas áreas de producción de la Huasteca Potosina.

Método

Material vegetal

Se utilizaron frutos de *Vanilla planifolia* procedentes de 14 sitios, de 11 localidades pertenecientes a ocho municipios ubicados en la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México (Figura 1), donde la mayor parte de estos se ubican en un sistema de toposformas de Sierra alta escarpada. Se escogieron plantas de vainilla creciendo bajo un sistema de casa malla sombra (M) y sistema agroforestal tradicional, constituido por un conjunto de especies nativas e introducidas, que son manejadas por los habitantes de la región de forma moderada (A). Las plantas estaban en floración y se polinizaron entre 20 y 30 flores por sitio, durante el mes de abril del 2013 y se cosecharon en diciembre del mismo año, cuando los frutos tenían 32 semanas de edad (224 días después de polinización) (Tabla 1 y 2).

Figura 1. Sitios de la Huasteca Potosina considerados en el estudio y puntos de colecta.

Para evitar la variación provocada por el tratamiento de curado, todos los frutos se beneficiaron en el Beneficio La Alternativa en el ejido Primero de Mayo, en Papantla, Veracruz. Este proceso consiste primero en sumergir el fruto en agua hirviendo a fin de introducir humedad y parar el desarrollo del fruto, posteriormente se somete a un proceso cíclico de exposición al sol y sudado para promover reacciones bioquímicas y microbiológicas que resultan en obtener un fruto beneficiado entero sin daños físicos, flexible, color café rojizo a café oscuro brillante, con 25 a 30 % de humedad y aroma agradable (Mariezcurrana *et al.*, 2008). Este proceso de beneficio puede durar hasta 150 días dependiendo de las condiciones climatológicas de la región (Figura 2).

Tabla 1. Características geográficas de los municipios donde se llevó a cabo la obtención del material vegetal en la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México.

Municipio	Coordenadas geográficas	Altitud (msnm)	Clima temperatura anual (°C)	Precipitación media (mm)	Tipos de Suelo
Aquismón	21° 28' - 22° 01' 98° 57' - 99° 16'	100	Semicálido húmedo. Temperatura media anual: 24.7 °C.	2350	Leptosol húmico
Axtla de Terrazas	21° 26' 98° 52'	349	Semicálido húmedo; con lluvias en verano y sin cambio térmico invernal bien definido. Temperatura media anual: 24.8 °C.	2330	Leptosol dístico con Vertisol húmico
Coxcatlán	21° 32' 98° 54'	160	Cálido húmedo, sin cambio térmico invernal bien definido. Temperatura media anual: 24.5 °C.	2488	Leptosol dístico
Matlapa	21° 20' 98° 50'	120	Semicálido húmedo; con lluvias en verano y sin cambio térmico invernal bien definido. Temperatura media anual: 25 °C.	1780	Leptosol dístico, lítico con Regosol dístico
Tamazunchale	98°48' 21°16'	140	Semicálido húmedo, con abundante lluvia en verano; al sur. Temperatura media anual: 25.5 °C.	2168	Leptosol húmico
Tampacán	21° 24' 98° 44'	120	Cálido húmedo; con lluvias en verano y sin cambio térmico invernal bien definido. Temperatura media anual es de 28 °C.	2231.3	Fluvisol calcárico con Phaeozem
Xilitla	21°23'08" de latitud norte 98°59'25" de longitud oeste	600	Clima semicálido húmedo; en el centro semicálido húmedo con lluvias todo el año y al norte templado húmedo. La temperatura media anual es de 22° C.	2075.3	Leptosol dístico con Vertisol húmico

Fuentes: <http://www.inafed.gob.mx/> y <http://www.inegi.gob.mx/> (Consultados en diciembre del 2017).

Tabla 2. Municipios y localidades de la Huasteca Potosina, México donde se realizó la cosecha de los frutos.

Municipio	Localidad	Clasificación	Municipio	Localidad	Clasificación
Aquismón	Jomté	Sitio 4 (A)	Tampacán	La Ceiba	Sitio 12 (M)
Axtla de Terrazas	Ejido Jalpilla	Sitio 2 (M)			
Coxcatlán	Ejido Ajuatitla	Sitio 3 (M)	Xilitla	La Herradura	Sitio 14 (M)
Matlapa	Cuichapa ^{1†}	Sitio 1 (M)	Tamazunchale	Tixcuayuca ^{1†}	Sitio 5 (M)
	Cuichapa ^{2†}	Sitio 9 (M)		Tixcuayuca ^{2†}	Sitio 6 (M)
				Tixcuayuca ^{3†}	Sitio 7 (A)
	Tamala	Sitio 11(A)		Axhumol	Sitio 8 (M)
	Providencia	Sitio 13 (M)		Rancho Alegre	Sitio 15 (M)

†: Cuichapa^{1,2} y Tixcuayuca^{1,2,3}, el superíndice indica que en estos sitios se tomaron dos o tres muestras respectivamente. Sistema de casa malla sombra (M) y sistema agroforestal tradicional, (A).

Figura 2. a) Frutos de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) en madurez fisiológica y b) frutos de vainilla beneficiados.

Evaluación de calidad

Se tomaron diez frutos beneficiados por sitio, a los que se les midió sus dimensiones, de éstos se tomaron tres frutos para el evaluar el resto de las variables. Cada fruto se consideró una repetición.

Dimensiones: Se midieron la longitud (cm), ancho (mm) y grosor (mm) de diez frutos con un vernier digital (Digimatic Caliper Mitutoyo/ZEROABS. CD-6C).

Humedad: Se pulverizaron 500 mg de fruto completo empleando un triturador, posteriormente la muestra fue distribuida homogéneamente en una charola seca y dispuesta en una termobalanza (Ohaus MB45). Se registró la pérdida de peso y el porcentaje de humedad una vez que no se observó variación en la lectura del equipo.

Azúcares solubles totales: Se cuantificaron mediante cromatografía de líquidos HPLC de acuerdo con la metodología modificada de Mustafa *et al.* (2003). Se tomaron 50 mg de fruto molido y se colocaron en un tubo de ensayo con 3 ml de etanol (80 %), posteriormente se colocaron en baño maría (80°C/10 min), transcurrido ese tiempo se retiró el extracto y se pasó a un frasco de vidrio de 20 ml, realizando tres extracciones sucesivas hasta que la muestra quedo sin pigmentación. Posteriormente los extractos se llevaron a sequedad en estufa de aire forzado a 55°C/24 h, el residuo se re-suspendió con 2 ml de agua destilada y se mantuvo en refrigeración. Los extractos se filtraron en un acrodisco (Titan, 0.045 µm) y se colocó en un vial de 2 ml con tapa y septa. Una vez filtrados 10 µl de extracto se inyectó en el automuestreador del HPLC (Perkin Elmer, Series 200). Se utilizó una columna Pinnacle II Amino 5 µm 150 x 4.6 mm (RestekTM), utilizando como fase móvil acetonitrilo/agua en la proporción 80/20 (v/v). Las condiciones del cromatógrafo fueron: detector de índice de refracción, temperatura en el horno de 40 °C, flujo de 1 ml min⁻¹. Se inyectaron soluciones estándar de fructosa, glucosa y sacarosa (Sigma-Aldrich, USA).

Contenido de los compuestos aromáticos: Se utilizó la técnica modificada de Cicchetti y Chaintreau (2009), que consistió en tomar tres frutos por sitio, que se molieron en un molino Custom GrindTM Deluxe, (Hamilton BeachTM); posteriormente se pesaron 50 mg por cada repetición y se colocaron en frascos de vidrio de 20 ml con tapa de rosca. Se agregaron 18 ml de solución fría de etanol-agua destilada (1:1), (alcohol etílico absoluto, grado HPLC). La mezcla se

agitó por 30 min en una parrilla digital de agitación (Thermo Scientific™, Cimarec™, USA), y se colocó en refrigeración por 24 h. Posteriormente las muestras se agitaron nuevamente por 5 min, y se tomó un mililitro, que se filtró con un acrodisco (Titan™, 0.045 µm) y se colocó en un frasco de vidrio de 2 ml con tapa de rosca con septa. Los extractos de las muestras se colocaron en el automuestreador del HPLC (HPLC: High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™). Las condiciones del cromatógrafo fueron a 254 nm, 30 °C y de 25 a 30 min de tiempo de retención total, la fase móvil fue de una solución de ácido fosfórico (H₃PO₄) al 0.01 M con metanol (75:25); la columna utilizada fue una C18 de 5 µm de dimensión de partícula y medidas de 250 x 4.6 mm, serie 08010034K (Perkin Elmer™), y un detector ultravioleta (Series 200, Perkin Elmer™). Las soluciones estándar fueron de: 500 µg de vainillina y 100 µg de cada uno de los otros tres compuestos principales: ácido *p*-hidroxibenzóico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido vaníllinico todas en solución con etanol: agua (1:1) (Sigma-Aldrich, USA).

Análisis estadístico

Los datos de las variables fisicoquímicas y bioquímicas se analizaron mediante un diseño completamente al azar balanceado (PROC ANOVA, SAS, 2002). La comparación de medias se calculó con la prueba de Tukey (SAS, 2002). También se realizó un análisis de componentes principales (ACP) y la gráfica con el programa SPSS 15 (SPSS 2006) para el agrupamiento de las variables de calidad aromática.

Resultados y discusión

Los frutos de vainilla de la región de la Huasteca Potosina tuvieron una longitud entre 108 y 192 mm, solo los frutos de nueve sitios cumplieron con la longitud establecida en la NOM-182-SCFI-2011, que es mayor a 150 mm, destacando los frutos del ejido de Ajuatitla del municipio de Coxcatlán. El cumplimiento de este requisito es fundamental para el establecimiento del precio de venta de la vainilla. Por otro lado, no se mostraron diferencias significativas en el grosor de los frutos; esta variable generalmente está asociada con la humedad, que para frutos gourmet debe estar entre 25 y 38 %, siendo los frutos provenientes de la Herradura, Jomte y Tixcuayuca¹, los que tuvieron significativamente mayor humedad y grosor, mientras que los frutos de menor contenido fueron los de Cuichapa² con 23.1 %, únicos frutos que no cumplieron con la norma (Tabla 3).

Odoux y Grisoni (2011), reportan un contenido de azúcares del 10 % en frutos de vainilla procedente de Madagascar, constituido por el 8.0 % sacarosa, 1.5 % glucosa y 0.5 % fructosa, sin embargo la proporción de los azúcares obtenidos en este estudio es diferente: glucosa (1.55-4.28 %), sacarosa (0.35-1.27%) y fructosa (0.32-1.05%). El contenido total de los azúcares solubles totales varió entre 2.2-6.6 %, entre los sitios de Tixcuayuca² y Cuichapa¹. Estos contenidos son inferiores a los de vainillas procedentes de San Rafael, Veracruz, México con contenidos de glucosa, sacarosa y fructosa de 8.06, 6.62 % y 2.14 % respectivamente (Sánchez-Galindo *et al.*, 2018). De la misma forma Zamora-Flores *et al.* (2016) reportan que el azúcar dominante en frutos procedentes de la región del Totonacapan, Veracruz, también es la glucosa, seguida de sacarosa y en menor proporción la fructosa con valores de 0.5 a 1.3 %. La variabilidad en el contenido de azúcares puede atribuirse a diversos factores, entre los que destacan la edad del fruto, clima, que afectan la temperatura y humedad, que afectan las reacciones enzimáticas, además de la experiencia del maestro beneficiador.

En cuanto a los componentes volátiles asociados al aroma de los frutos, se puede observar una alta variabilidad en los contenidos de tres de los cuatro compuestos principales, con excepción de la vainillina, y que no están dentro de lo establecido en la NOM-182-SCFI-2011. Existen diferencias significativas en el contenido de ácido *p*-hidroxibenzóico (C1) que varió de 143 mg kg⁻¹ en los frutos provenientes de Cuichapa² hasta 398 mg kg⁻¹ en los provenientes del Ejido Jalpilla, concentraciones arriba de la norma. El ácido vanílico (C2) tuvo concentraciones de 349 mg kg⁻¹ en el ejido Jalpilla, de 781 mg kg⁻¹ en los del sitio Axhumol, concentraciones dentro de la norma (Tabla 4). El ácido vanílico se ha considerado como uno de los más compuestos más fluctuantes, Ranadive (1992), reporta amplias variaciones de ácido vanílico en vainilla procedente de diferentes regiones geográficas, mostrando que su biosíntesis está muy influenciada por las condiciones ambientales.

En el presente trabajo no se encontraron relaciones entre este compuesto y las condiciones locales de topografía, orientación de la pendiente y su gradiente, así como la influencia edáfica del sitio.

Tabla 3. Medias para cada una de las 16 variables de calidad evaluadas en frutos beneficiados de *Vanilla planifolia* J. de 14 sitios de la Huasteca Potosina, México.

Sitio	Longitud (mm)	Grosor (mm)	Humedad (%)	Azúcares (%)			
				Glucosa	Fructosa	Sacarosa	Totales
1. Cuichapa ¹	108 ^{gz}	5.5 ^b	35.5 ^{abc}	4.28^a	1.27^a	1.05^a	6.61^a
2. Ejido Jalpilla	139 ^{ef}	6.2 ^{ab}	36.4 ^{ab}	3.20 ^{ab}	0.91 ^{ab}	0.925 ^{ab}	5.00 ^{ab}
3. Ejido Ajuatitla	192^a	6.3 ^{ab}	32.4 ^{abcde}	3.10 ^{ab}	0.69 ^{bc}	0.70 ^{ab}	4.49 ^{abc}
4. Jomté	175 ^{abc}	8.6^a	37.3 ^a	3.10 ^{ab}	0.56 ^{bc}	0.55 ^{ab}	4.22 ^{abc}
5. Tixcuayuca ¹	188 ^{ab}	7.6 ^{ab}	37.5 ^a	2.60 ^{bc}	0.50 ^{bc}	0.525 ^{ab}	3.59 ^{bc}
6. Tixcuayuca ²	187 ^{ab}	6.3 ^{ab}	28.9 ^{bcdef}	1.55 ^c	0.35 ^c	0.325 ^b	2.26 ^c
7. Tixcuayuca ³	138 ^{ef}	7.0 ^{ab}	25.6 ^{ef}	2.85 ^{abc}	0.60 ^{bc}	0.625 ^{ab}	4.07 ^{bc}
8. Axhumol	149 ^{de}	6.4 ^{ab}	35.4 ^{abc}	2.70 ^{bc}	0.48 ^{bc}	0.475 ^{ab}	3.68 ^{bc}
9. Cuichapa ²	161 ^{cd}	6.6 ^{ab}	23.1 ^f	1.93 ^{bc}	0.30 ^c	0.30 ^b	2.53 ^c
11. Tamala	129 ^{ef}	8.1 ^{ab}	26.0 ^{def}	2.25 ^{bc}	0.58 ^c	0.60 ^{ab}	3.39 ^{bc}
12. La Ceiba	180 ^{abc}	6.2 ^{ab}	27.5 ^{cdef}	2.95 ^{abc}	0.64 ^{bc}	0.65 ^{ab}	4.24 ^{abc}
13. Providencia	127 ^{fg}	6.6 ^{ab}	26.2 ^{def}	2.23 ^{bc}	0.49 ^{bc}	0.50 ^{ab}	3.21 ^{bc}
14. La Herradura	171 ^{bc}	7.3 ^{ab}	37.6^a	2.45 ^{bc}	0.62 ^{bc}	0.60 ^{ab}	3.68 ^{bc}
15. Rcho. Alegre	168 ^{bcd}	5.8 ^{ab}	34.3 ^{abcd}	2.53 ^{bc}	0.66 ^{bc}	0.67 ^{ab}	3.82 ^{bc}
Intervalo	108-192	5.5-8.6	23.1-37.6	1.55-4.28	0.3-1.2	0.3-1.05	2.2-6.61

^zMedias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (n=3) (Tukey, $P \leq 0.05$).

La concentración de *p*-hidroxibenzaldehído en frutos de Jomté fue la más baja con 528 mg kg⁻¹, mientras que la concentración mayor se encontró en los frutos de la Ceiba 915 mg kg⁻¹; este compuesto después de la vainillina es el que se biosintetiza en mayor cantidad pocos días después del curado (Havkin-Frenkel *et al.* 2004). Finalmente, la concentración máxima de vainillina se encontró en los frutos de Tixcuayuca³ con 20573 mg kg⁻¹ (2.05 %); y como promedio de 1.37 %, similar a lo reportado en frutos recién curados, procedentes de la región del Totonacapan, entre 1.0-1.7 % de vainillina (Salazar-Rojas *et al.* 2011) (Tabla 4).

Un parámetro importante a considerar en la calidad es la suma de los compuestos menores entre el contenido de vainillina (sumatoria CM/C4) x100 en los frutos de sólo dos sitios de colecta (Tamala y Tixcuayuca³) está dentro del porcentaje que indica la norma (NOM-182-SCFI-2011), pues son los sitios en donde los frutos tuvieron mayor contenido de vainillina; sin embargo en los doce sitios de colecta restantes, el contenido de compuestos menores es superior, llegando a

representar el 11.8 % del contenido de vainillina, como el caso de los frutos de Cuichapa¹. Estudios previos que evaluaron los frutos de vainilla de diferentes regiones productoras, del Totonacapan y uno de la Huasteca Potosina (Tamazunchale) mostrando un contenido promedio de 347 y 695 mg kg⁻¹ de ácido *p*-hidroxibenzóico, respectivamente, de 722 y 731 mg kg⁻¹ para ácido vanílico, de 949 y 731 mg kg⁻¹ de *p*-hidroxibenzaldehído y 1.65 y 2.0 % de vainillina, con una relación de compuestos menores:vainillina ($\sum CM/C4$) de 12.23 y 14.59 % (Xochipa-Morante *et al.*, 2016). En este estudio esta relación fue del 8.9 % indicando menor contenido en todos los compuestos aromáticos, incluyendo la vainillina (Tabla 4). Un factor que puede estar influenciando la variabilidad en los contenidos de los compuestos aromáticos en vainilla es la madurez fisiológica. Generalmente, los frutos se cosechan cuando la punta o parte distal se torna amarilla, pero aparte de esto no existen otros cambios aparentes. Sagrero-Nieves y Schwartz (1988) investigaron la influencia del punto de cosecha y la concentración de los compuestos fenólicos, encontrando que éstos compuestos incrementan conforme los frutos maduran, sin embargo no se reportó ninguna correlación entre el color de los frutos y el contenido de glucovainillina. Asimismo van Dick *et al.* (2010) encontraron que los frutos cuya parte distal empieza a tornarse amarilla, no estaban completamente maduras y tenía una concentración baja y diferencial de glucovainillina dentro del mismo fruto (parte distal: 0.417 %; media: 0.563 %; proximal: 0.683 %), por lo cual es posible que la falta de cambios en la apariencia de este explique en parte, porque la calidad de la vainilla curada varía considerablemente, pues es posible que el estado de madurez a la cosecha no sea el mismo a pesar de tener la misma edad, posiblemente a causa de las diferencias en el patrón climático que influye en el proceso de maduración de los frutos, así como el tipo de suelo y manejo en donde se cultivó la vainilla. Este hecho lo corroboran Sánchez-Galindo (2018) quienes encontraron una correlación significativa (0.773) entre el contenido de materia seca y vainillina, independientemente de la edad de cosecha.

Tabla 4. Medias para las variables de compuestos aromáticos evaluados en frutos beneficiados de *Vanilla planifolia* J. de 14 sitios de la Huasteca Potosina, México.

Sitio	Componentes del aroma (mg kg ⁻¹)					
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	ΣCM	(ΣCM/C ₄) x 100
1. Cuichapa ¹	296 ^{bz}	905^a	608 ^{cd}	15239 ^{def}	1809 ^a	11.870^a
2. Ejido Jalpilla	398^a	349 ^e	553 ^d	12631 ^g	1300 ^{de}	10.29 ^{abcd}
3. Ejido Ajuatitla	180 ^f	477 ^{cde}	645 ^{cd}	15243 ^{def}	1302 ^{de}	8.54 ^{defg}
4. Jomté	181 ^e	631 ^{bc}	528 ^d	16042 ^{cdef}	1340 ^{de}	8.35 ^{efg}
5. Tixcuayuca ¹	305 ^b	903 ^a	671 ^{bcd}	18016 ^{bc}	1879^a	10.43 ^{abc}
6. Tixcuayuca ²	177 ^f	387 ^e	675 ^{bcd}	14702 ^{efg}	1239 ^e	8.43 ^{efg}
7. Tixcuayuca ³	230 ^d	587 ^{cd}	618 ^{cd}	20573^a	1435 ^{cde}	6.97 ^g
8. Axhumol	270 ^c	781 ^{ab}	663 ^{bcd}	16057 ^{cdef}	1714 ^{ab}	10.67 ^{ab}
9. Cuichapa ²	143 ^f	584 ^e	834 ^{ab}	16134 ^{cdef}	1561 ^{de}	9.67 ^{efg}
11. Tamala	152 ^f	584 ^{cd}	645 ^{cd}	19595 ^{ab}	1381 ^{cde}	7.05 ^g
12. La Ceiba	240 ^c	408 ^{de}	915 ^a	17472 ^{bcd}	1563 ^{bcd}	8.94 ^{cdef}
13. Providencia	166 ^f	450 ^{cde}	603 ^{cd}	14092 ^{fg}	1219 ^e	8.65 ^{defg}
14. La Herradura	182 ^e	376 ^e	756 ^{abc}	16797 ^{cde}	1314 ^{de}	7.82 ^{fg}
15. Rcho. Alegre	256 ^c	635 ^{bc}	754 ^{abc}	16970 ^{cde}	1645 ^{abc}	9.69 ^{bcd}
Intervalo	143-398	349-905	528-915	1.2-2.0%	1.2-1.9	
NOM-182-SCFI	58-100	411-861	219-498	20000	0.6-1.4	

C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, **C2:** ácido vanílico, **C3:** *p*-hidroxibenzaldehído, **C4:** vainillina; CM=C₁+ C₂+C₃. ΣCM: Sumatoria de compuestos menores. (n=3). ¹Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05).

Análisis por componentes principales (ACP) de los compuestos del aroma

El análisis multivariado de componentes principales mostró que los componentes del aroma, explicaron en conjunto 90.5 % de la variabilidad total. El primer componente principal (CP1) que explicó 49 % de toda la variación, y se asoció con la relación compuestos menores/ vainillina. El segundo componente (CP2) explicó el 25 %, asociando la relación *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina. Finalmente, el tercer componente principal (CP3) se asoció con contenido de *p*-hidroxibenzaldehído y explicó el 17 % de la variación total (Tabla 5). De acuerdo con la distribución espacial de los primeros tres componentes principales, se distinguieron cinco grupos de la vainilla procedente de la Huasteca Potosina (Figura 2). El grupo 1 (G-I), representado por tres sitios (1: Cuichapa¹, 5: Tixcuayuca¹ y 8: Axhumol) con el mayor índice en la relación ácido *p*-hidrobenzoico+ ácido vanilínico/vainillina.

Odoux (2011) menciona que compuestos como *p*-hidroxibenzóico, ácido vanílicico, guayacol y ácido nonanoico están altamente correlacionados con el criterio ahumado/fenólico, en otras palabras, un descriptor aromático no tan agradable. El grupo 2 (G-II) señalados por los dos sitios (12: Ceiba y 15: Rancho Alegre) manifiestan características aromáticas uniformes por la estructuración de sus componentes. Para el grupo 3 (G-III) distinguido por cinco sitios (3: Ajuatitla, 6: Tixcuayuca², 9: Cuichapa², 13:Providencia y 14: la Herradura) las relaciones aromáticas por la estructuración de sus componentes, hace que se consideren con un buen equilibrio en la calidad aromática; además el grupo 4 (G-IV), con tres sitios (4: Jomté, 7:Tixcuayuca³ y 11:Tamala) presenta características similares, debido que sus frutos beneficiadas presentan bajo contenido de *p*-hidroxibenzóico y cantidades intermedias de ácido vanílicico; siendo los sitios de Tixcuayuca³ y Tamala los sitios con mayor concentración de vainillina.

El grupo 5 (G-V) solo con el sitio Ejido Jalpilla, presento el contenido más bajo de vainillina y ácido vanílicico, con valores intermedios de *p*-hidroxibenzaldehído que de acuerdo a Havkin-Frenkel *et al.*, (2004), este compuesto es intermediario en la biosíntesis de la vainillina, por lo tanto, los frutos de este sitio no tuvieron un proceso pleno, causando un desbalance de su composición. Es evidente que existe una gran variabilidad en la composición y características de calidad de la vainilla, en donde el aroma responde a la existencia de un balance entre el contenido de compuestos menores con relación a la vainillina. Estos valores oscilan entre 6.97 y 11.87, que indica menor concentración de compuestos menores que los reportados por Sánchez-Galindo *et al.*, (2018) con una relación $\sum \text{CM}/\text{vainillina}$ de entre 10.4-16.6. En general los frutos procedentes de la región de

la Huasteca Potosina tienen un contenido similar de ácido *p*-hidroxibenzóico ($143\text{--}398\text{ mg kg}^{-1}$) que las reportadas para la región de Veracruz ($103\text{--}226\text{ mg kg}^{-1}$), poco menores de vainillina (y vainillina ($0.7\text{--}2.0\%$ vs $2.09\text{--}2.5\%$), respectivamente, mientras que un contenido considerablemente más bajo de ácido vanílico (65%), entre los frutos la Huasteca Potosina y los de San Rafael, Veracruz (Sánchez-Galindo *et al.*, 2018). Toth *et al.* (2011) mencionan que el contenido de ácido vanílico siempre es muy variable debido a que es un compuesto transitorio, esto no ocurre con la vainillina debido a que es un compuesto final de la biosíntesis, por lo que su contenido es poco variable.

Cabe concluir como lo menciona Lubinsky *et al.* (2008), que existe afinidad genética entre las vainillas de diferentes lugares, incluso tan lejanas como las regiones del Océano Índico con la vainilla procedente de Papantla, México, lo que permite sugerir que pertenecen a un mismo clon, con mutaciones somáticas que se presentan entre los diferentes genotipos. Además, el contraste de la variación aromática entre diferentes materiales de vainilla puede atribuirse en parte a variaciones genéticas por adaptación al ambiente y en parte por la selección humana, además de las condiciones de manejo del cultivo (riego, nutrición, incidencia de enfermedades) y estado nutricional del fruto.

Figura 2. Dispersión de los sitios de colecta de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México, basada en los tres componentes principales de análisis de los componentes del aroma evaluadas en los sitios de colecta.

Tabla 5. Valores propios, vectores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable en las primeras tres dimensiones de las 10 variables evaluadas en los sitios de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México.

Variables		Componentes		
Componentes		CP1	CP 2	CP 3
C1	ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	0.3971	0.1931	-0.0411
C2	ácido vanílico	0.3191	-0.4249	0.1092
C3	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	-0.1603	0.1340	0.6959
C4	vainillina	-0.1076	-0.4768	0.2160
Σ CM	Σ Compuestos Menores	0.3354	-0.2456	0.4227
Σ CM/C ₄	Proporción Σ CM/vainillina	0.4061	0.1369	0.1780
C ₁ /C ₄	ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico/vainillina	0.3558	0.3392	-0.1669
C ₂ /C ₄	ácido vanílico/vainillina	0.3670	-0.2814	0.0412
C ₃ /C ₄	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído/vainillina	-0.0805	0.4754	0.4622
C ₁ +C ₂ /C ₄	ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico + ác. vanílico/vainillina	0.3971	0.1931	-0.0411
Valores Propios de la Matriz de Correlación				
	Valor Propio	4.86	2.52	1.65
	Proporción de la variación total (%)	48.67	25.25	16.59
	Variación Acumulada (%)	48.87	73.92	90.51

Conclusiones

Existe una variación significativa en el contenido de compuestos aromáticos y calidad en los frutos de vainilla beneficiadas procedentes de 14 sitios de la Huasteca Potosina, México, sin embargo, es comparable a las variaciones que existen aun dentro de los frutos procedentes del Totonacapan. Aunque también es posible que a través de los años se haya desarrollado un grado de polimorfismo químico en el aroma por adaptaciones al ambiente, proceso de selección humana y condiciones de cultivo (fertilización, riego, etc.), así como en el índice de cosecha utilizado relacionado con el contenido de materia seca. Pese a esta variabilidad, los resultados de este trabajo son importantes para caracterizar la calidad de vainilla de los diferentes sitios de producción de la Huasteca Potosina y ubicarla como una región potencial para el cultivo y beneficiado de vainilla mexicana.

Agradecimientos

Al Subproyecto (SP-14): “Estudio del contenido y propiedades nutraceuticas de los fitoquímicos presentes en las hojas, tallos y frutos de *Vanilla spp.* en poblaciones silvestres y cultivadas de México” perteneciente al Macroproyecto (2012-04-190442) SAGARPA-CONACyT: Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México”.

Referencias

- Bettazzi, F., Palchetti, I., Sisalli, S. and Mascini, M. (2006). A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica. Acta* 555:134-138. doi:10.1016/j.aca.2005.08.069
- Bory, S., Grisoni, M., Duval, M.F., Besse, P. 2007. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55(4): 551–571. doi: 10.1007/s10722-007-9260-3
- CESPVSLP. (2012). Comité Estatal del Sistema Producto Vainilla de San Luis Potosí, A. C. (2009-2012). Plan Rector para la Competitividad del Sistema Producto. SAGARPA 53 p.
- Cicchetti, E. y Chaintreau, A. (2009). Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural Vanilla flavors. *J. Sep. Sci.* 32:1957-1964. doi: 10.1002/jssc.200800650.
- Frenkel, O.H., Brown, A.H.D. and Burdon, J.J. (2011). The conservation of plant biodiversity. Cambridge University Press, Cambridge. 299 p.
- Havkin-Frenkel, D., French, J., Graft, N.M., Joel, D.M., Pak, F.E. and Frenkel, C. (2004). Interrelation of curing and botany in vanilla (*Vanilla planifolia*). *Acta Horticulturae* 629: 93-102doi: 10.17660/ActaHortic.2004.629.12
- Herrera-Cabrera, B.E., Salazar-Rojas, V.M., Delgado-Alvarado, A., Campos-Contreras, J. and Cervantes-Vargas, J. (2012). Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region México. *European Journal of Environmental Sciences* 2(1): 43-50.
- Lubinsky, P., Bory, S., Hernández-Hernández, J., Kim, S.C. and Gómez-Pompa, A. (2008). Origins and dispersal of cultivated vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks.). *Economic Botany* 62 (2): 127-138.

- Mariezcurrana, M. D., Zavaleta, H. A., Waliszewski, K. N., & Sánchez, V. (2008). The effect of killing conditions on the structural changes in vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) pods during the curing process. *International Journal of Food Science and Technology*. 43(8), 1111-1365. doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01691.x
- Mustafa, K.; Mustafa, E.; Mustafa, K.U. and Mehmet, A. (2003). Comparison of different extraction y detection methods for sugar using amino-bonded phase HPLC. *Journal of Chromatographic Science* 41: 331-333. doi: 10.1093/chromsci/41.6.331.
- NOM-182-SCFI-2011. (2011). Vainilla de Papantla, extractos y derivados- Especificaciones, información comercial y métodos de ensayo (prueba). 9 p.
- Odoux, E. (2011). Vanilla curing. Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles. Vanilla Ed. Odoux E. and Grisoni M. Florida. 173 p.
- Odoux, E. and Grisoni, M. (2011) Vanilla. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. Taylor and Francis Group. EUA. 368 p. ISBN: 13:978-1-4200-8338-5 (Ebook-pdf).
- Pérez-Silva, A., Odoux, E., Brat, P., Ribeyre, F., Rodríguez-Jiménez, G., Robles-Olvera, V., García-Alvarado, M.A. and Günata, Z. (2006). GC–MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jack.) beans. *Food Chemistry* 99: 728–735. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.08.050
- Ranadive, A.S. (1992). Vanillin and related flavor compounds in vanilla extracts made from beans of various global origins. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1922–1924.
- Reyes-Hernández, H., Trinidad-García, K.L., Herrera-Cabrera, B.E. (2018). Caracterización del ambiente de los vainillales y área potencial para su cultivo en la Huasteca Potosina. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. XX (3): 49-57.
- Salazar-Rojas, V.M., Herrera-Cabrera, B.E., Delgado-Alvarado, A., Soto-Hernández, M., Castillo-González, F. and Cobos-Peralta, M. (2011). Chemotypical variation in *Vanilla planifolia* Jack. (Orchidaceae) from the Puebla-Veracruz Totonacapan region. *Genetic Research and Crop Evolution*. 59(5): 875-887. doi: 10.1007/s10722-011-9729-y
- SAS. SAS/STAT Users guide version 9. SAS Institute Inc., North Carolina. 2002.
- Sagrero-Nieves, L. and Schwartz, S.J. (1988). Phenolic content of *Vanilla planifolia* as affected by harvest period. *J. Food Compos. Anal.* 1: 362–365.

- Sánchez-Galindo, M., Arévalo-Galarza, M.L., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, E., Osorio-García, C. (2018). Calidad de fruto verde y beneficiado de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) con relación a su edad a la cosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 24(3): 203-213. doi: 10.5154/r.rchsh.2018.02.004
- Sharma, A., Verma, S., Saxena, N., Chadda, N., Singh, N. and Sinha, A. (2006). Microwave and ultrasound assisted extraction of vanillin and its quantification by high performance liquid chromatography in *Vanilla planifolia*. *J. Separation Sci.* 29: 613–619. doi: 10.1002/jssc.200500339
- Soto-Arenas, M. and Dressler, R.L. (2010). A revision of the Mexican and Central American species of *Vanilla plumier* ex Miller with a characterization of their region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana* 9(3): 285-354.
- Sostaric, T., Boyce, M. and Spickett, E. (2000). Analysis of the volatile components in vanilla extracts and flavorings by solid-phase microextraction and gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5802–5807. 2000. doi: 10.1021/jf000515+
- SPSS. (2006). Version 15.0 IBM Company Headquarters. Institute Inc., Illinois USA.
- Toth, S., Lee, K. J., Havkin-Frenkel, D., Belanger, F. C., Hartman, T. G. (2011). Volatile compounds in vanilla. In: Havkin-Frenkel, D., & Belanger, F. C. (Eds). *Handbook of vanilla science and technology*. USA: Wiley-Blackwell Pub. pp. 183-219.
- Van Dyk, S., McGlasson, W.B., Williams, M. and Gair, C. (2010). Influence of curing procedures on sensory quality of vanilla beans. *Fruits* 65:1-13. 2010. doi:10.1051/fruits/2010033
- Villareal-Manzo, L.A. y Herrera-Cabrera, B.E. 2018. Requerimiento hídrico en el sistema de producción vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. Ex Andrews)-naranja (*Citrus sinensis* L.) en la Región del Totonacapan Veracruz, México. *Agroproductividad* 11 (3): 29-36.
- Xochipa-Morante, R., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B.E., Escobedo-Garrido, J.S. y Arévalo-Galarza, L. (2016). Influencia del proceso de beneficiado tradicional mexicano en los compuestos del aroma de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. *Agroproductividad* 9(1):55-62. 2016.
- Zamora Flores, A.L., Arévalo-Galarza, L, García-Osorio, C., Ramírez-Guzmán, M.R., Valle-Guadarrama, S. (2016). Calidad de vainilla (*Vanilla planifolia* J.) empacada bajo diferentes películas plásticas. *Agroproductividad* 9 (1): 18-25.