



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

---

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FISIOLOGÍA VEGETAL

## Estudio del Contenido de Compuestos Aromáticos y Fitoquímicos de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México

ADÁN CERVANTES CASTILLO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2017

La presente tesis titulada **Estudio del Contenido de Compuestos Aromáticos y Fitoquímicos de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México**, realizada por el alumno: **Adán Cervantes Castillo** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**FISIOLOGÍA VEGETAL**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERA:

  
DRA. MA. DE LOURDES C. ARÉVALO GALARZA

DIRECTORA:

  
DRA. ADRIANA DELGADO ALVARADO

ASESOR:

  
DR. BRAULIO EDGAR HERRERA CABRERA

ASESOR:

  
DR. R. MARCOS SOTO HERNÁNDEZ

ASESORA:

  
M.C. CECILIA GARCIA OSORIO

# ESTUDIO DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS AROMÁTICOS Y FITOQUÍMICOS DE *Vanilla planifolia* J. DE LA HUASTECA POTOSINA, MÉXICO.

Adán Cervantes Castillo

Colegio de Posgraduados, 2017

## RESUMEN

México posee una gran variedad de especies de orquídeas, dentro de las que destaca *Vanilla planifolia* J., única especie que forma fruto, y poseedora de caracteres organolépticos importantes en su fruto beneficiado. Recientemente se han realizado estudios con posibilidad de aprovechar los principios activos útiles como compuestos nutraceuticos en diversas especies vegetales. Tradicionalmente algunas partes de la planta de vainilla son utilizadas para contrarrestar algunos malestares, sin embargo no existen estudios que muestren la composición de tallos, hojas y fruto en verde que identifiquen y cuantifiquen su composición fitoquímica. Por lo anterior, se seleccionó la región de la Huasteca Potosina, una zona con potencial para el cultivo de esta especie vegetal, para realizar el estudio que se dividió en dos etapas. En la primera se evaluó la calidad y contenido de compuestos aromáticos de las vainas beneficiadas procedentes de 15 sitios de la Huasteca, se cuantificó el contenido de los cuatro compuestos aromáticos principales a través de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™). Los resultados mostraron gran variabilidad en la concentración de los compuestos del aroma, para la región de estudio, sin embargo estos valores se ubican dentro de los que establece la Norma Oficial Mexicana: NOM-182-SCFI-2011 así como de los valores reportados de la vaina producida en la región del Totonacapan, Veracruz. En la segunda etapa se identificó y cuantificó el contenido de compuestos fitoquímicos de la planta (flor, tallo, hoja y fruto verde) de *Vanilla planifolia* J. utilizando agentes cromógenos y cromatografía de capa fina para su detección y técnicas espectrofotométricas para su cuantificación. Los resultados mostraron presencia de terpenoides en los sitios de Tamala y Cuichapa; se identificaron flavonoides en hojas en el sitio de Tamala, y se identificaron ácidos fenólicos y flavonoides en el fruto verde de vainilla en el sitio de Jomté.

Este es uno de los primeros estudios sobre la composición de la vainilla beneficiada e identificación de fitoquímicos en *Vanilla planifolia* J. procedente de la Huasteca Potosina, México.

**Palabras clave:** Flavonoides, saponinas, compuestos volátiles, caracterización.

**STUDY OF THE CONTENT OF AROMATIC COMPOUNDS AND  
PHYTOCHEMICALS ON *Vanilla planifolia* FROM THE HUASTECA POTOSINA  
MEXICO.**

Adán Cervantes Castillo

Colegio de Posgraduados, 2017

**ABSTRACT**

Mexico has a great variety of species of orchids, inside of which highlights *Vanilla planifolia* J., only species that can produced fruit, and with particular organoleptic characteristics in its cured fruit. Recently there have been studies with the possibility to take advantage of the content of nutraceutic compounds in various plant species. Traditionally some parts of the vanilla plant are used to counteract some discomforts, however there are no studies that show the composition and quantify of the phytochemicals compounds from the stems, leaves and green fruit. In this perspective, it was selected the Huasteca Potosina region, with a commercial potential for the cultivation; the research was divided in two stages. In the first one the quality and content of aromatic compounds of the cured beans from 15 sites in the Huasteca was evaluated, following the methodology for aromatic compounds through HPLC (High Performance Liquid Chromatography) technics (200 Series, Perkin Elmer™). The results showed a great variability in the concentration of the aroma compounds, for the region of study, however the values are similar to the reported in the Mexican Official Norm: NOM-182-SCFI-2011 and similar to the content from the cured vanilla produced in the Totonacapan region. In the second stage the phytochemical compounds of the plant (flower, stem, leaf and green fruit) of *Vanilla planifolia* J. were identified using chromogenic agents to detect the presence of phytochemicals, thin layer chromatography and quantification with spectrophotometry. The results showed the presence of terpenoids in Tamala and Cuichapa sites; flavonoids in leaves of the site of Tamala and phenolic acids and flavonoids in the green fruit from Jomté site. This is one of the first studies that provides a diagnosis of the variation of the aromatic components of *Vanilla planifolia* J. and the identification of the phytochemical from the vegetative parts from the Huasteca, Potosina, Mexico.

**Keywords:** Flavonoids, saponins, volatile compounds, characterization.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo en la realización de la Maestría.

Al Colegio de Postgraduados *campus* Montecillo y al Postgrado en Fisiología Vegetal, por permitirme formar parte de sus alumnos y conocer a grandes maestros.

Al Subproyecto (SP-14): “Estudio del contenido y propiedades nutracéuticas de los fitoquímicos presentes en las hojas, tallos y vainas 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”, por el apoyo para la realización de esta tesis.

A mis proferores Dra. Ma. de Lourdes Arévalo Galarza, Dra. Adriana Delgado Alvarado, Dr. B. Edgar Herrera Cabrera, Dr. Marcos Soto Hernández y a la M. C. Cecilia García Osorio; miembros del Consejo Particular de la presente investigación por orientarme, brindarme siempre sabio consejo y enseñarme a aceptar disciplina (Proverbios 19:20), palabras de motivación, corrección y paciencia; para mi mejor preparación profesional y personal, gracias por permitirme ser su alumno.

Al equipo de trabajo y amigos de los laboratorios del Colegio de Posgraduados de los *campus* Montecillo y Puebla, Don Arturo López Veloz, Don Domingo del laboratorio de fitoquímica, Dra. Patricia Ramírez, Maestro Rubén, Maestra Paulina, Ing. Lupita, Maestro Diego Ibarra y Maestra Reyna Xochipa; por formar parte de esta experiencia, gracias por todo y nunca dejar que olvidara el camino.

## DEDICATORIA

*“Regocijense siempre. Con relación a todo, den gracias” (Tesalonicenses 5:16, 18).*

**A mis Ángeles: Abuelita Ma. de Jesús, Abuelita Ma. de la Luz, Abuelito Félix, Efraín y Adoración Cervantes, que siempre estarán presentes porque su energía forma parte de nosotros.**

**A mi Papá, Mamá y Hermana, que son un gran ejemplo de lucha, superación y guía; gracias por estar siempre en mi vida y mostrarme que el amor está presente de muchas maneras en el camino.**

**A mis amores Elia, Brian Adrián y Mitzia Nahomi, gracias por inspirarme en todo reto y peregrinación en las cuales emprendo; son mis angelitos en la tierra que me bendicen con su abrazo y sonrisa encerrando ese instante mágico, son mi razón para nunca detenerme, para no desistir, los AMO PSPS.**

**Podemos creer que todo lo que la vida  
Nos ofrecerá mañana es repetir lo que hicimos ayer y hoy.  
Pero, si prestamos atención, percibiremos  
Que ningún día es igual a otro. Cada mañana trae  
Una bendición escondida; una bendición que solo sirve  
Para este día y que no puede guardarse o desaprovecharse.  
Si no usamos este milagro hoy, se perderá.  
Este milagro está en los detalles de lo cotidiano;  
Es preciso vivir cada segundo porque allí encontramos  
La salida de nuestras confusiones, la alegría  
De nuestros buenos momentos, la pista correcta  
Para la decisión que ha de ser tomada.  
No podemos dejar nunca que cada día parezca igual al anterior  
Porque todos los días son diferentes.  
Presta atención a todos los momentos, porque la oportunidad, el  
“instante mágico”, está a nuestro alcance.**

## CONTENIDO

	Página
<b>CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>1</b>
Justificación	2
Objetivos	3
Literatura citada	4
<b>CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
2.1. Importancia de la vainilla	5
2.2. Distribución mundial	6
2.3. Distribución en México	8
2.4. Producción de vainilla en San Luis Potosí	8
2.5. Características geográficas de la Huasteca Potosina	9
2.6. Constituyentes aromáticos en vainilla	11
2.7. Importancia de los grupos fitoquímicos en las orquídeas	12
2.8. Literatura citada	14
<b>CAPITULO III. CALIDAD DE VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex <i>Andrews</i>) BENEFICIADA PROCEDENTE DE LA HUASTECA POTOSINA, MÉXICO.</b>	<b>18</b>
3.1. Introducción	20
3.2. Materiales y métodos	21
3.3. Resultados y discusión	26
3.4. Conclusiones	35
3.5. Literatura citada	35
<b>CAPITULO IV. COMPUESTOS FITOQUÍMICOS EN TALLO, HOJA, FLOR Y FRUTO VERDE DE (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex <i>Andrews</i>) PROCEDENTES DE LA HUASTECA POTOSINA, MÉXICO</b>	<b>39</b>
4.1. Introducción	41
4.2. Materiales y métodos	43
4.3. Resultados y discusión	45
4.4. Conclusiones	53
4.5. Literatura citada	54
<b>CAPITULO V. CONCLUSIONES GENERALES</b>	<b>56</b>
<b>CAPITULO VI. ANEXOS</b>	<b>57</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Distribución de la vainilla ( <i>Vanilla planifolia</i> Jack ex Andrews) en el mundo.	7
Figura 2.2. Ubicación de la región de la Huasteca Potosina, México y municipios de colecta de material vegetal de <i>Vanilla planifolia</i> J.	10
Figura 3.1. Ubicación de la región de la Huasteca Potosina, México y municipios de colecta de material vegetal de <i>Vanilla planifolia</i> J.	23
Figura 3.2. Dispersión de 15 sitios de colecta de <i>Vanilla planifolia</i> J. de la Huasteca potosina, México, basada en los primeros tres componentes principales de análisis de las 10 variables evaluadas en los sitios de colecta.	33
Figura 3.3. Dendograma de 14 sitios de la Huasteca Potosina y componentes aromáticos de vainas beneficiadas, con base en 10 variables evaluadas en los sitios de colecta y agrupamiento de similitud.	34
Figura 4.1. Marcas representativas de terpenoides en cromatografía de capa fina en diferentes estructuras de <i>Vanilla planifolia</i> J. procedentes de la Huasteca Potosina, México.	48
Figura 4.2. Marcas representativas de flavonoides en cromatografía de capa fina en diferentes estructuras de <i>Vanilla planifolia</i> J. procedentes de la Huasteca Potosina, México.	49
Figura 4.3. Dispersión de los compuestos fitoquímicos de diferentes estructuras vegetales de <i>Vanilla planifolia</i> J. basados en el análisis de los primeros dos componentes principales.	52



## LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1. Países importantes en la producción de vainilla en el mundo, 2010.	8
Cuadro 3.1. Características geográficas de los municipios donde se llevó a cabo la obtención del material vegetal en la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México.	22
Cuadro 3.2. Municipios y localidades de la Huasteca Potosina, México.	23
Cuadro 3.3. Medias para cada una de las 13 variables de calidad evaluadas en vainas beneficiadas de <i>Vanilla planifolia</i> J. de 15 sitios de la Huasteca Potosina, México.	27
Cuadro 3.4. Medias para las variables de compuestos aromáticos evaluados en vainas beneficiadas de <i>Vanilla planifolia</i> J. de quince sitios de la Huasteca Potosina, México.	29
Cuadro 3.5. 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 15 sitios de <i>Vanilla planifolia</i> J. de la Huasteca Potosina, México.	31
Cuadro 4.1. Pruebas fitoquímicas preliminares en <i>Vanilla planifolia</i> J., por agentes cromógenos en tubo, en diferente municipio y sitio de la Huasteca Potosina, México.	46
Cuadro 4.2. Análisis de varianza de variables fitoquímicas de estructuras vegetales de <i>Vanilla planifolia</i> J. procedente de la Huasteca Potosina, México.	50
Cuadro 4.3. Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable, en los dos primeros componentes principales (CP).	51

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

En el mundo la familia Orchidaceae es una de las más grandes, contando con alrededor de 1260 especies y 170 géneros de los cuales 60 % son epifitas (Soto-Arenas, 2006), donde el género *Vanilla* incluye 110 especies de orquídeas que se distribuyen en diferentes regiones tropicales, siendo las de mayor importancia económica *Vanilla planifolia* y *Vanilla tahitensis* (Damiron, 2004).

La vainilla es una orquídea de crecimiento hemiepifito, con tallo cilíndrico y hoja lanceolada, ambos son suculentos; presenta un sistema radical fasciculado con amplitud exploratoria menor a 30 cm de profundidad, además desarrolla raíces adventicias con funciones de soporte y adsorción de nutrientes; las regiones tropicales y los bosques de niebla son ecosistemas favorables para su desarrollo, pero en las regiones de América tropical es donde existe en mayor número, con excepción de las zonas muy áridas (Damiron, 2004; Hågsater *et al.*, 2005).

La vainilla (*Vanilla planifolia* J.), se considera nativa de México, y se encuentra distribuida en los estados de Veracruz, Puebla, Hidalgo, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Quintana Roo y San Luis Potosí (COVECA, 2010). En este último estado, la vainilla se encuentra en la Huasteca Potosina, una zona con clima tropical cálido húmedo ((A)C(m)(w)) (CONABIO, 2012). Clima en el que coinciden los reportes sobre vainilla de Childers *et al.* (1959); Ranadive (1992) y Anandaraj *et al.* (2005). A pesar de que existen las condiciones climáticas favorables y culturales para su cultivo en México, la producción de partes vegetativas es abundante y la obtención de frutos verdes que se cosechan para beneficiarse, no es suficiente para impactar en el mercado (Herrera-Cabrera *et al.*, 2010). Además se han reportado algunos beneficios del uso de partes de la planta en la medicina tradicional sin embargo no existe información disponible que sustente lo anterior, ni que identifique los compuestos fitoquímicos presentes en las partes vegetativas y fruto de la planta de vainilla.

Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue identificar y cuantificar los compuestos fitoquímicos presentes en diversas estructuras de la planta. Asimismo conocer la variación de los compuestos aromáticos en las vainas beneficiadas de diversas poblaciones de *Vanilla planifolia* J. procedentes de la Huasteca Potosina, México. Los resultados de esta investigación contribuirán a tener un diagnóstico de la variación de sus compuestos y optimizar el uso de las partes vegetativas de las poblaciones de *Vanilla planifolia* J.

## JUSTIFICACIÓN

México es reconocido como centro de origen de la vainilla (*Vainilla planifolia* J.) (Salazar-Rojas, 2011). Sin embargo, la producción de frutos de esta especie se ha reducido, principalmente por la baja productividad que presentan los sistemas de cultivo, ante los problemas de caída de fruto, altas temperaturas, escasa precipitación pluvial, incidencia de plagas y enfermedades. Del total de la producción el estado de Veracruz produce más de 90% de la vainilla nacional, aunque también se cultiva en Puebla, Oaxaca, Chiapas, Tabasco y San Luis Potosí. En los últimos años el estado de San Luís Potosí ha comenzado a figurar como estado productor de vainilla, al igual que Hidalgo, Oaxaca y Chiapas (CONAVAI, 2007); de allí la importancia de la presente investigación, teniendo contemplada como región de estudio la zona productora de vainilla de la Huasteca Potosina, en donde se ha identificado heterogeneidad en las unidades de producción, prevaleciendo productores de baja escala, con técnicas de manejo tradicional. Con esta investigación se conocerá la variabilidad en la composición de compuestos fitoquímicos de diversas partes de la planta, además de evaluar la calidad de vainilla beneficiada procedente de diversos sitios de cultivo, y compararla con la calidad de vainilla, de la región del Totonacapan, Veracruz.

Puesto que en la Huasteca Potosina el volumen de producción y capacidad de beneficio e industrialización del sistema producto vainilla está en etapas incipientes, a través de los resultados obtenidos en este trabajo se podrán establecer ajustes de calidad y estrategias de comercialización del producto.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Identificar la variación de los compuestos fitoquímicos en los frutos beneficiados y estructuras de la planta en poblaciones de *Vanilla planifolia* J. pertenecientes a la Huasteca Potosina, México.

### **Objetivos particulares**

Cuantificar la variación de compuestos aromáticos de frutos beneficiados de *Vanilla planifolia* J. producidos en la Huasteca Potosina, México.

Identificar y cuantificar en tallo, hoja, flor y fruto verde, la variación del contenido de compuestos fitoquímicos de la planta de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México.

## LITERATURA CITADA

- Anandaraj, M., Rema, J., Sasikumar, B., Susseela, B.R. 2005. Vainilla. Recuperado 11 Diciembre 2014 y consultado en la página: <http://www.spices.res.in/pdf/package/vanilla.pdf>
- COVECA. Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria. 2010. Monografía de la vainilla. Veracruz Gobierno del Estado, México pág. 2-6.
- Consejo Nacional de Productores Vainilleros. CONAVAI, 2007. Recuperado en septiembre 2014 de la página: <http://www.conavai.com.mx/>
- Childers, N.F., Cibes, H.R., Hernández, M.E. 1959. Vanilla- The orchid of commerce. In *The Orchids. A Scientific Survey*. (C.L. Withner, ed.), Ronald Press Co. New York. Pag. 477-508.
- CONABIO. 2012. Portal de Geoinformación. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> Fecha de consulta: Agosto 2015.
- Damiron, V.R. 2004. La vainilla y su cultivo. Veracruz agrícola, Dirección General de Agricultura y Fitosanitaria. Gobierno del estado de Veracruz, México 50 p.
- Hágsater, E., Soto, M.A., Salazar, G.A., Jiménez, R., López, M.A., Dressler, R.L. 2005. Las orquídeas de México. Instituto Chinoin, A.C., México, D.F. 92 p.
- Herrera-Cabrera, B.E., Miranda-Trejo, J., Delgado-Alvarado, A. 2010. Conocimiento tradicional, predictores climáticos y diversidad genética. Lambert Academic Publishing Germany. 54 p.
- Ranadive, A.S. 1992. Vanillin and related flavor compounds in vanilla extracts made from beans of various global origins. *Journal Agrícola and Food Chemistry* 40: 1922–1924.
- Salazar-Rojas, V. 2011. Estrategia de uso y conservación del germoplasma de *Vanilla planifolia* Jack. en la región Totonacapan Puebla-Veracruz. Tesis Doctorado. Colegio de Postgraduados, Puebla, México. 123 p.
- Soto-Arenas, M.A. 2006. La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. CONABIO. *Biodiversitas* 66: 1-9.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### **Importancia de la vainilla**

Las orquídeas forman parte de la familia Orchidaceae, se presentan con un número aproximado de 25 000 especies en el mundo, donde el fruto del género *Vanilla* se utiliza como aromatizante y saborizante de alto valor comercial (Fabienne *et al.*, 2011). En particular *Vanilla planifolia* Jack ex Andrews, es la principal especie cultivada por aroma y sabor de sus frutos beneficiados, cuyo centro de origen se considera a México. Los frutos beneficiados, se emplean en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética y artesanal (Havkin-Frenkel *et al.* 2005; Hágsater *et al.*, 2005).

Se considera que el cultivo de la vainilla tiene efectos ecológicos, económicos y sociales, ya que presenta influencia cultural desde tiempo prehispánico y aún ligado a tradiciones y costumbres siguen vigentes (Havkin-Frenkel *et al.*, 2007). Este cultivo fuente de empleo durante etapas como: polinización, beneficio y comercialización, con un período de alrededor de un año desde la polinización hasta la obtención de vainilla beneficiada, por lo cual el precio de venta se eleva considerablemente (Licon, 2008). En la cadena agroindustrial de la vainilla, la mayoría de los eslabones han sido estudiados, sobre todo la producción.

El proceso de beneficiado de la vaina verde permite mediante una serie de reacciones bioquímicas la obtención de las características demandadas por el mercado (Salazar-Rojas, 2011). A través del curado se desarrolla una serie de reacciones bioquímicas en las vainas verdes, que producen un aroma y sabor característico, aunque cada país maneja distintos métodos de beneficiado, en la mayoría de casos se lleva a cabo en cuatro etapas: matado (marchitado), sudado, secado y acondicionado (Mariezcurrana *et al.*, 2008).

Los principales compuestos involucrados en aroma y sabor son los compuestos volátiles tales como alcoholes aromáticos, esteroides, ácidos, fenoles, lactonas, alcoholes alifáticos; la combinación de todos estos componentes proporcionan el gusto organoléptico de la vainilla (Ramachandra Rao y Ravi Shandar, 2000).

A pesar de los múltiples compuestos que componen a la vaina beneficiada, solo cuatro son aquellos que presentan mayor impacto en la respuesta organoléptica y son reconocidos como indicadores de calidad comercial y son: (a) vainillina (3-metoxi-4-hidroxibenzaldehído) en concentraciones de 1,000 - 20,000 ppm, (b) *p*-hidroxibenzaldehído (2,000 ppm), (c) ácido vaníllico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico) (2,000 ppm) y (d) ácido *p*-hidroxibenzóico (200 ppm) (Bütehorn y Pyell, 1997; Cicchetti y Chaintreau, 2009; Salazar-Rojas, 2011; Kumar y Balamohan, 2013), los cuales se encuentran en forma de glucósidos sin aroma en los frutos verdes por lo que es necesaria su hidrólisis para lograr su desarrollo aromático que se realiza en el curado (Odoux y Grisoni, 2011).

Un aspecto complejo de cuantificar en la vainilla, se vincula con la concentración de vainillina (preferentemente mayor a 2.0 %) y la humedad mayor al 20 %, sin pasar por alto que la combinación de sus compuestos bioquímicos generan distintas apreciaciones organolépticas (Ramachandra Rao y Ravishankar, 2000).

### **Distribución mundial**

El género *Vanilla* tiene distribución pantropical (entre los 27° de latitud norte y sur) (Soto-Arenas, 2003). La mayoría de la vainilla se encuentran en regiones de América tropical, seguido por el sudeste de Asia y Nueva Guinea, África, las islas del Océano Índico y el Pacífico (Bory *et al.*, 2007) (Figura 2.1).



**Figura 2.1.** Distribución de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jack ex Andrews) en el mundo.

Fuente: tomado de ficha técnica del Consejo Estatal de Productores de Vainilla A.C.

La especie de mayor importancia comercial que se distribuye desde México hasta el sur de Sudamérica es *Vanilla planifolia* (Gretzinger y Dean, 2010); otra especie menos conocida es la vainilla de las Indias Occidentales *V. pompona* Schiede que también tiene potencial en la extracción de vainilla comercial pero en muy baja cantidad, no todas las especies de *Vanilla* son aromáticas, pues solo se reconocen unas 35 especies con esta característica, la mayoría de ellas con origen en América tropical (Guzmán, 2004).

Hasta hace algunos años Madagascar, era el principal país productor de vainilla natural, pero ha ido perdiendo su posición frente a Indonesia. Es interesante el surgimiento de nuevas zonas de producción en países que no tenían la tradición del cultivo como China y varios países de África. Aunque México, fue el primer país productor de vainilla, hoy día está dentro de los 10 principales países productores, con importantes zonas productoras en la región del Totonacapan (Veracruz) (Cuadro 2.1).



**Cuadro 2.1.** Países importantes en la producción de vainilla en el mundo, 2010.

<b>Región</b>	<b>Producción (Ton)</b>
Indonesia	2400
Madagascar	1900
México	395
Tonga	200
Polinesia Francesa	60

Fuente: FAO (2014)

Aunque hasta el momento, los estudios realizados del género *Vanilla* se encuentran centrados hacia la parte de producción y manejo en cultivo bajo condiciones de malla sombra, así como el curado o beneficiado de los frutos (Dignum *et al.*, 2004, Odoux y Grisoni, 2011). Sin embargo es necesario generar conocimiento con relación a básicos de su fisiología, variación genética, respuesta al estrés, nutrición, resistencia a patógenos y presencia de micorrizas asociadas al cultivo.

### **Distribución en México**

La producción de vainilla en México se encuentra, en los estados de Veracruz, Puebla, Hidalgo, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Quintana Roo y San Luis Potosí; estimándose que se han cultivado alrededor de 2 mil hectáreas repartidas entre mil productores y solo 600 de éstas se encuentran en producción. Veracruz aporta 90 % de la producción nacional mientras que el 10 % restante se distribuyen entre los estados de Puebla, Tabasco, Chiapas, San Luis Potosí, Oaxaca y Quintana Roo (FAO, 2014). Con relación a las exportaciones, México ocupa el lugar 21 con 24 toneladas y valor de 0.4 millones de dólares, que representa 1 % de la producción de Madagascar (SIAP, 2010).

### **Producción de vainilla en San Luis Potosí**

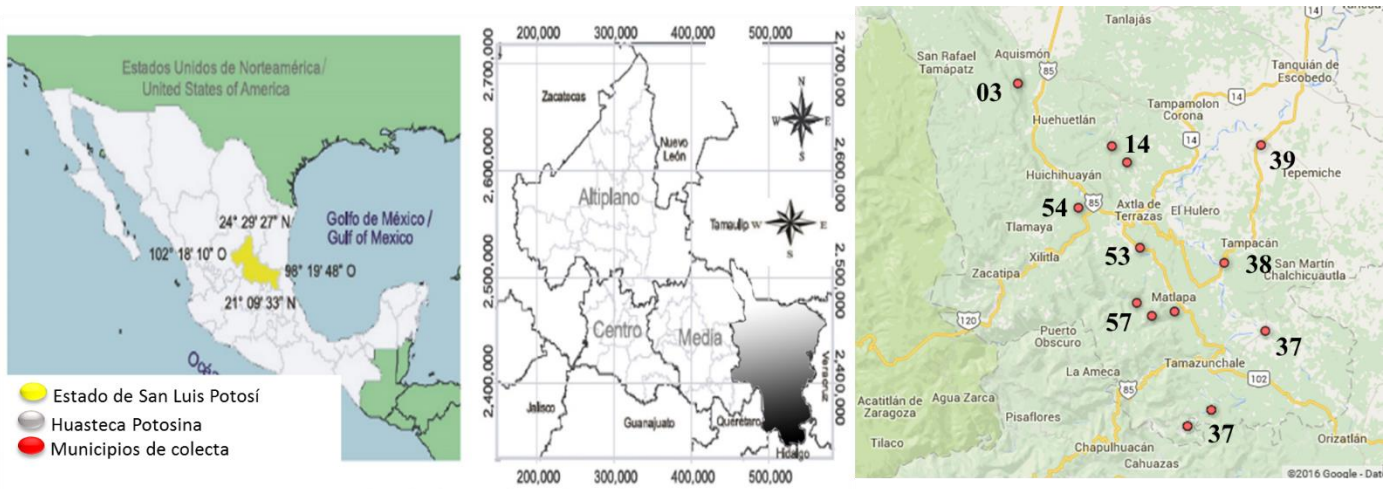
La superficie dedicada a la producción de vainilla se incrementó en 400 % en San Luis Potosí en seis años, al pasar de 23.50 hectáreas del año 2003 a 96.00 hectáreas en el 2010 (SIAP, 2010). El sistema producto vainilla tiene identificados 972 productores distribuidos en 13 municipios de la Huasteca Centro y Sur, los cuales son: Tamazunchale, Matlapa, Axtla de

Terrazas, Coxcatlán, Huehuetlán, Tancanhuitz, Aquismón, San Martín Chalchicautla, Xilitla, Tanlajás, San Antonio, Tampacán y Tampamolón. Los habitantes de los municipios de Xilitla, Axtla de Terrazas, Matlapa y Huehuetlán, consideran rentable la producción de vainilla y se han integrado en 11 organizaciones legalmente constituidas, cuyo objeto principal es gestionar en conjunto subsidios para la producción primaria, así como para sumar volumen de producción y capacidad de compra de insumos (SIAP, 2010).

### **Características geográficas de la Huasteca Potosina**

De las quince provincias fisiográficas en las que se divide el país, dos de ellas se encuentran en el estado de San Luis Potosí. Específicamente en el territorio que compone la Huasteca Potosina, están presentes las provincias fisiográficas de la Sierra Madre Oriental y la llanura Costera del Golfo Norte (Figura 2.2). El estado cuenta con 58 municipios, distribuidos en tres zonas geográficas principales: Región Huasteca, Región Media y Altiplano Potosino.

La Huasteca Potosina se subdivide en dos amplias regiones: la planicie o huasteca norte, que colinda con Veracruz y Tamaulipas, y la Serrana o Huasteca Sur, que colinda con Querétaro e Hidalgo. Está conformado por 20 municipios los cuales son: Aquismón, Axtla de Terrazas, Ciudad Valles, Coxcatlán, Ébano, El Naranjo, Huehuetlán, Matlapa, San Antonio, San Martín Chalchicautla, San Vicente Tancuayalab, Tamasopo, Tamazunchale, Tampacan, Tampamolón, Tamuín, Tancanhuitz de Santos, Tanlajás, Tanquián de Escobedo, Xilitla. Siendo los municipios más grandes y de mayor importancia, Cd. Valles y Tamazunchale. Esta es una región de tierras cálidas y bajas que se extiende frente a la costa del Golfo de México, con una suave inclinación hacia el oriente por lo que abarca algunas porciones de la Sierra Madre Oriental, su nombre se deriva de los Huastecos, habitantes de esta zona en la época prehispánica (INAFED, 2014).



Entidad: San Luis Potosí

Clave Nombre de Municipio

03	Aquismón	39	Tampamolón Corona
14	Coxcatlán	53	Axtla de Terrazas
37	Tamazunchale	54	Xilitla
38	Tampacán	57	Matlapa

**Figura 2.2.** Ubicación de la región de la Huasteca Potosina, México y municipios de colecta de material vegetal de *Vanilla planifolia* J.

Fuente: modificado de INEGI y Coordinación Estatal de San Luis Potosí para el fortalecimiento de los municipios.

El clima predominante en la Huasteca Potosina es el semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano, (A)C(m)(w), con una precipitación del mes más seco menor a los 42 mm y con precipitación en el invierno menor a 5 % de la anual. De este grupo encontramos también al clima (A)C(w1)(w), aunque su predominancia se ejerce en una porción menor del territorio de la Huasteca Potosina. Las precipitaciones más abundantes en San Luis Potosí se presentan en la Huasteca Potosina, de los 3000 a 3500 mm. La parte más seca de la Huasteca es en la porción noreste, y aun así está presente un precipitación anual de 800-1000 mm, superior a otras zonas de San Luis Potosí como en la región noreste (Arredondo *et al.*, 2012). En la Huasteca Potosina no existe una unidad de suelo dominante, hay presencia de los suelos regosol, litosol, vertisol, rendzina, feozem y luvisol. Gracias al papel que juegan el clima y la vegetación en la formación del suelo, en esta región los suelos son ricos en materia orgánica a causa de que sostienen exuberante vegetación, destacando las comunidades vegetales de selvas, bosque de encino y pino, pastizales y matorral submontano. En la llanura

Costera del Golfo Norte, los suelos son profundos, de origen residual y coluvio-aluvial, se desarrollan sobre los lomeríos suaves con bajadas constituidas por lutitas y llanuras con lomeríos constituidos por lutita-arenisca. Son suelos de textura fina, lenta permeabilidad y difíciles de trabajar cuando están húmedos a causa de su alto contenido de arcilla (Hernández *et al.*, 2013).

### **Constituyentes Aromáticos en Vainilla**

En las plantas aromáticas y medicinales se ha detectado que dentro de la misma especie hay subpoblaciones con variaciones en la composición típica y la concentración de los metabolitos secundarios que determinan su calidad fitoquímica; por lo tanto este reconocimiento de las subpoblaciones con polimorfismo son identificadas como quimiotipos, definidas por sus adaptaciones fitoquímicas locales basado en un control genético y relacionado con la interacción de la especie con su hábitat (Lebot y Levesque, 1996).

Un aspecto valorado por productores y empleado para la selección ha sido el aroma, criterio que ha contribuido a la generación de quimiotipos y cultivares de recursos genéticos como la vainilla, mango y algunas especias (Lebot y Levesque, 1996; Fitzgerald *et al.*, 2009).

El sabor y aroma característicos de las vainas de vainilla beneficiada es el resultado de la mezcla compleja de los compuestos volátiles se han identificado alrededor de 200 compuestos volátiles entre los que se encuentran ácidos, éteres, alcoholes, heterocíclicos, esteres y compuestos carbonílicos (Sinha *et al.*, 2008). También se ha identificado que la variación organoléptica en la calidad aromática se ve influenciado por el tipo de beneficiado (Lubinsky *et al.*, 2006; Bory *et al.*, 2007), aunque Salazar-Rojas, (2011), menciona que el origen geográfico, la madurez de la fruta y el método de beneficiado también influye en la concentración de vainillina y ácido vainílico, pero no el contenido de *p*-hidroxibenzaldehído o ácido *p*-hidroxibenzóico.

## Importancia de los Grupos Fitoquímicos en las Orquídeas

En los últimos años las plantas, en específico aquellas con potencial medicinal han tenido gran demanda en estudios fitoquímicos y farmacológicos con objeto de encontrar productos naturales para realizar terapias y tratamientos. En esta área se han utilizado las orquídeas, ya que presentan grandes cantidades de flavonas y flavonoles en sus hojas (Saxena *et al.*, 2012), aunque son pocos los estudios fitoquímicos en orquídeas se ha reportado su uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas, problemas relacionados con el aparato digestivo, alivio del dolor y para reducir la fiebre (Téllez-Velasco, 2001; citado en Neira, 2009).

En México desde épocas prehispánicas se ha utilizado a las especies de la familia Orchidaceae como medicinal y artesanal (Théodose, 1973). Por ejemplo en Veracruz se encontró que *Oncidium cavendishianum* (orejas de burro) es empleada como antihistamínico (González-Díaz *et al.*, 2011) en Yucatán se utiliza a *Brassavola digbyana* (munida de chicote) para el dolor cabeza, a *Catasetum maculatum* (zapatito) para el control de abscesos e hinchazón; a *Epidendrum xipheres* para inflamaciones y *Catasetum* sp. (cebolleta) empleada como anticonceptivo, a *Laelia speciosa* (flor de mayo) para controlar la tos y se reporta el uso de especies como *Isochilus* sp., *Arpophyllum spicatum* y *Prosthechea citrina* como cataplasma para heridas (Hágsater *et al.*, 2005).

Además de sus usos culinarios, *Vanilla planifolia* J. se emplea para reducir el dolor (Aguilar *et al.*, 1994), como tónico (Bruman, 1948), además de que el ácido vainílico presenta actividad antimicrobiana (Dignum *et al.*, 2004). A pesar de que en años recientes se han realizado estudios de los fitoquímicos de componentes del aroma del fruto beneficiado de *Vanilla planifolia* J. que se cultiva en la región del Totonacapan (Salazar-Rojas, 2011.), no se conoce la composición que tienen las vainillas de otras regiones de México donde se cultiva esta especie, como es el caso de las poblaciones de la Huasteca Potosina. Además, la gran cantidad de biomasa que produce la planta de vainilla y que actualmente no tiene algún aprovechamiento conocido, hace necesario la identificación de sus compuestos fitoquímicos de las diferentes estructuras vegetales, las cuales pueden incluir sustancias bioactivas, que pueden proporcionar un beneficio a la salud tras su consumo (Ho *et al.*, 1993), o bien, tener aplicación en otras industrias.

En la Huasteca Potosina la vainilla representa para los productores y demás agentes de la entidad una oportunidad de ingreso económico, además de seguir colaborando en la conservación y en la variación genética y asegurar la sustentabilidad del cultivo (SIAP, 2010). El sistema producto vainilla como estrategia de diversificación, tiene una posición en la región como actividad económica viable; sin embargo, se debe intensificar el desarrollo, además de su difusión de las técnicas de conservación y producción primaria, así como su potencial económico. Este trabajo pretende evaluar si la calidad de la vainilla beneficiada procedente de la Huasteca Potosina tiene características organolépticas deseables y comparables con las producidas en la región productora por excelencia del Totonacapan. Asimismo se plantea identificar y cuantificar los compuestos fitoquímicos en las diversas estructuras vegetales de poblaciones de *Vanilla planifolia* J. para ver la posibilidad de incursionar en nuevos mercados de productos con actividad biológica, funcional y nutracéutica.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, A., Camacho, J., Chino, S., Jácquez, P., López, M. 1994. Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información etnobotánica. México. 218 pp.
- Arredondo, G.A., Ávila, A.G.R., Muñoz, G.L. 2012. Diagnóstico del viverismo en la Huasteca Potosina. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Folleto técnico pág. 1-41.
- 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.
- Butehorn U., Pyell, U. 1997. Simultaneous use of urea and acetonitrile as organic modifiers for optimization of resolution in micellar electro kinetic chromatography. *Journal of Chromatography* 792(1):157-163.
- Bruman, H. 1948. The culture history of Mexican vanilla. *The Hispanic American Historical Review* 28(3): 360-376.
- Cicchetti, E., Chaintreau, A. 2009. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural Vanilla flavors. *Journal of Separation Science* 32:1957-1964.
- Dignum, M.J.W., Heijden, R., Kerler, J., Winkel, C., Verpoorte, R. 2004. Identification of glucosides in green beans of *Vanilla planifolia* Andrews and kinetics of vanilla  $\beta$ -glucosidase. *Food Chemistry* 85: 199-205.
- FAO STAT. 2014. Production Crops-vanilla. Recuperado en Junio 2014 y consultado en la página: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx>
- Fabienne, L.M.F., Conejéro, G., Jean-Luc, V., Odoux, E. 2011. Anatomy and Biochemistry of Vanilla Bean Development (*Vanilla planifolia* G. Jackson). En: Odoux, E., Grisoni, M. (eds). *Vanilla. Medicinal and Aromatic Plants*. CRC Press Boca Raton Florida. pag. 149-171.

- Fitzgerald, M.A., McCouch, S.R., Hall, R.D. 2009. Not just a grain of rice: the quest for quality. *Trends in Plant Science* 14(3): 133–139.
- González-Díaz, S., Cuevas-Guzmán, R., Rivera-Cervantes, L.E., Solis- Magallanes, A.J., Santana-Michel, F.J. 2011. *Oncidium cavendishianum* (Bateman), nuevo reporte para la estación científica Las Joyas. Guadalajara, Jalisco, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 17(1): 145-150.
- Gretzinger, N., Dean, D. 2010. Vanilla Production in the Context of Culture, Economics, and Ecology of Belize. *Handbook of Vanilla Science and Technology* 4: 50.
- Guzmán, C.C. 2004. Vanilla. En: Peter KV (ed). *Handbook of herbs and spices– wood head pub.* Cambridge, England. pag. 322-352.
- Hágsater, E., Soto, M.A., Salazar, G.A., Jiménez, R., López, M.A., Dressler, R.L. 2005. Las orquídeas de México. Instituto Chinoin, A.C., México, D.F. 92 p.
- Havkin-Frenkel, D., French, J., Pak, F., Frenkel, C. 2005. Inside vanilla, *Vanilla planifolia*'s botany, curing process and future market prospects. *Perfumer and Flavorist* 30: 36-40.
- Havkin-Frenkel, D., Belanger, C.F. 2007. Application of Metabolic Engineering to vanillin biosynthetic pathways in *Vanilla planifolia*. Verpoorte, R., Alfermann, A.W., Johnson, T.S. (Eds). Springer. Pag. 175-196.
- Hernández, C.G.A., Avalos, L.J.A., Cruz, M., Izaguirre, J., García, S.G.C. 2013. Los usos del suelo en la Huasteca Potosina, un análisis de alta resolución con perspectiva de escala local. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. *Agenda Ambiental* pág. 1-5.
- Ho, M.N., Hill, K.J., Lindorfer, M.A., Stevens, T.H. 1993. Isolation of vacuolar membrane H (+)-ATPase-deficient yeast mutants; the VMA5 and VMA4 genes are essential for assembly and activity of the vacuolar H (+)- ATPase. *Journal of Biological Chemistry* 268: 221-227.



- INAFED. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 2014. Recuperado en septiembre 2014 y consultado en la página: <http://www.inafed.org.mx/contenidos>
- Kumar, R.B., Balamohan, T.N. 2013. Factors affecting the quality of Vanilla. Research and reviews: Journal of Agriculture and Allied Sciences 2(3): 1-5.
- Lebot, V., Levesque, J. 1996. Genetic control of Kavalactones chemotypes in *Piper methysticum* cultivars. Phytochemistry 43: 397–403.
- Licona, M. 2008. Vainilla mexicana, otra posibilidad de negocio. Agronegocios. pág. 1-29.
- Lubinsky, P., Van Dam, M., Van Dam, A. 2006. Pollination of vanilla and evolution in Orchidaceae. Orchids 75: 926-929.
- Mariezcurrena, 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 10: 1111-1365.
- Neira, G.A.M. 2009. Aislamiento e identificación de los compuestos con actividad antioxidante del extracto de cloroformo de la orquídea comestible *Prosthechea michuacana*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas sección de estudios de posgrado e investigación departamento de graduados e investigación en alimentos. 142 p.
- Odoux, E., 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).
- Ramachandra Rao, S., Ravi Shankar, G.A. 2000. Vanilla flavor production by conventional and biotechnological routes. Journal of the Science of Food and Agriculture 80: 289-304.

- Saxena, M., Saxena, J., Pradhan, A. 2012. Flavonoids and Phenolic Acids as Antioxidants in Plants and Human Health. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 28:130-134.
- Salazar-Rojas, V. 2011. Estrategia de uso y conservación del germoplasma de *Vanilla planifolia* Jack. en la región Totonacapan Puebla-Veracruz. Tesis Doctorado. Colegio de Postgraduados, Puebla, México. 123 p.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2010. Estadísticas de producción anual por cultivo 2010. Recuperado en junio 2014 y consultado en la página: <http://www.siap.gob.mx/index>
- Sinha, A.K., Sharma, U.K., Sharma, N. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal Food Sciences Nutrition* 59(4): 299-326.
- Soto-Arenas, M.A. 2003. Vanilla. En: Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W., Rasmussen, F.N. (eds). *Genera Orchidacearum, Orchidoideae (Part 2) Vanilloideae*. Oxford University Press, London. Pp. 321-334.
- Téllez-Velasco, M. 2001. La etnobotánica de la familia Orchidaceae en México. Libro de resúmenes del IV Congreso Mexicano de Etnobiología, Huejutla, Hidalgo.
- Théodose, R. 1973. Traditional methods of vanilla preparation and their improvement. *Tropical Science* 15:47-57.

## CAPÍTULO III

### **CALIDAD DE VAINILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) BENEFICIADA PROCEDENTE DE LA HUASTECA POTOSINA, MÉXICO**

#### **RESUMEN**

México posee una gran variedad de especies de orquídeas, dentro de las que destaca la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), y presenta características organolépticas sobresalientes en su fruto beneficiado o curado. Debido a cambios en el patrón climático en la región productora del Totonacapan, en Veracruz, México, la productividad de la vainilla se ha visto disminuida. Sin embargo, se ha observado que existen plantas de vainilla en otras zonas, entre las que destaca la región Huasteca del estado de San Luis Potosí. Por lo anterior el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad del aroma de la vainilla beneficiada procedente de 15 sitios de la Huasteca. Los resultados basados en características fisicoquímicas y aromáticas de las vainas beneficiadas mostraron que aunque existe una alta variabilidad en la calidad de las vainas, ésta es comparable con la vainilla producida en la región del Totonacapan, Veracruz, con valores promedio en el contenido de vainillina del 1.3 %, de humedad del 30 % y 15 cm de largo. Este es el primer estudio que muestra la variación en la calidad de la vainilla beneficiada procedente de la Huasteca Potosina, México.

**Palabras clave:** Compuestos aromáticos; calidad organoléptica; beneficio; compuestos volátiles; polimorfismo químico

**QUALITY EVALUATION OF CURED *VANILLA PLANIFOLIA* (*Vanilla planifolia* Jacks. Ex Andrews) BEANS FROM THE HUASTECA POTOSINA, MÉXICO.**

**ABSTRACT**

Mexico has a great variety of species of orchids, but vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), has a particular organoleptic characteristics when is cured. Due to changes in the climate pattern in the production region of the Totonacapan, in Veracruz, Mexico, the productivity of the vanilla plant has been decreased. However, it has been observed that the vanilla plant has adapted to other areas like the Huasteca region, on the state of San Luis Potosí. Therefore in this study assessed the quality of vanilla pods from 15 localities in the Huasteca Potosina, Mexico. The results showed that although there is a high variability in the quality of vanilla, this is comparable with the vanilla produced in the region of the Totonacapan, Veracruz, with an average values of vanillin of 1.3%, 30% moisture and 15 cm of length. This is the first study that shows the variation in the quality of cured vanilla from the Huasteca Potosina, Mexico

**Keywords:** Aromatic compounds; organoleptic quality, curing; volatile compounds; chemical polymorphism.

## 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 (Bory *et al.*, 2008). Sin embargo varias especies mexicanas y centroamericanas de *Vanilla* están relacionadas con: *V. planifolia* y *V. pompona*, ampliamente cultivadas, pero *Vanilla planifolia* J. es la más comercial, destacando su importancia por su valor y usos como saborizante y aromatizante en diversas industrias (Soto-Arenas, 2006; Soto-Arenas y Dressler, 2010).

Aunque las vainas verdes no tienen sabor, contienen una gran cantidad de glucósidos de diversos compuestos. El sabor característico se desarrolla durante el proceso de “curado” o beneficiado de las vainas. Sin embargo, dependiendo de las condiciones del cultivo, manejo, fertilización, índice de cosecha, condiciones de curado y almacenamiento, la concentración de estos compuestos será variable lo que determinará su calidad final y en consecuencia el precio de mercado, principalmente determinado por el contenido de vainillina.

El beneficio de la vainilla puede tener una duración de cuatro a seis meses, durante el cual las vainas 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, incluyendo ácidos, éteres, alcoholes, ésteres, fenoles, de los cuales veinte de estos compuestos se producen en concentraciones superiores a  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  (1 ppm) (Pérez-Silva *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2006; Frenkel *et al.*, 2011). Sin embargo de forma comercial, se consideran cuatro compuestos importantes, debido a su concentración y acción sobre el aroma, que son: *p*-hidroxibenzaldehído (2000 ppm), ácido vanílico (ácido 4-hidroxibenzóico) (2000 ppm), ácido *p*-hidroxibenzoico (200 ppm) y el compuesto mayoritario, la vainillina (4-hidroxibenzaldehído-3 metilprotocatéuico) en concentraciones de (10,000 - 20,000 ppm) (Ranadive 1992; Sostaric *et al.*, 2000; Betazzi *et al.*, 2006).

La zona de producción por siglos de vainilla en México ha sido la región del Totonacapan, ubicada al norte de Veracruz, sin embargo, la productividad en esa zona se ha reducido considerablemente por cambios en el patrón climático. 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, presenta un clima tropical cálido húmedo, con temperaturas de 20° a 30°C (Ranadive, 1992), en el cual la planta de vainilla se ha adaptado a las condiciones agroforestales, en donde las especies arbóreas sirven de sostén y sombra para su hábito de crecimiento epifito 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 existe ningún estudio que reporte la calidad de las vainas producidas en esta zona, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar las características fisicoquímicas y fitoquímicas de la vainilla beneficiada procedente de diversas áreas de producción de la Huasteca Potosina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

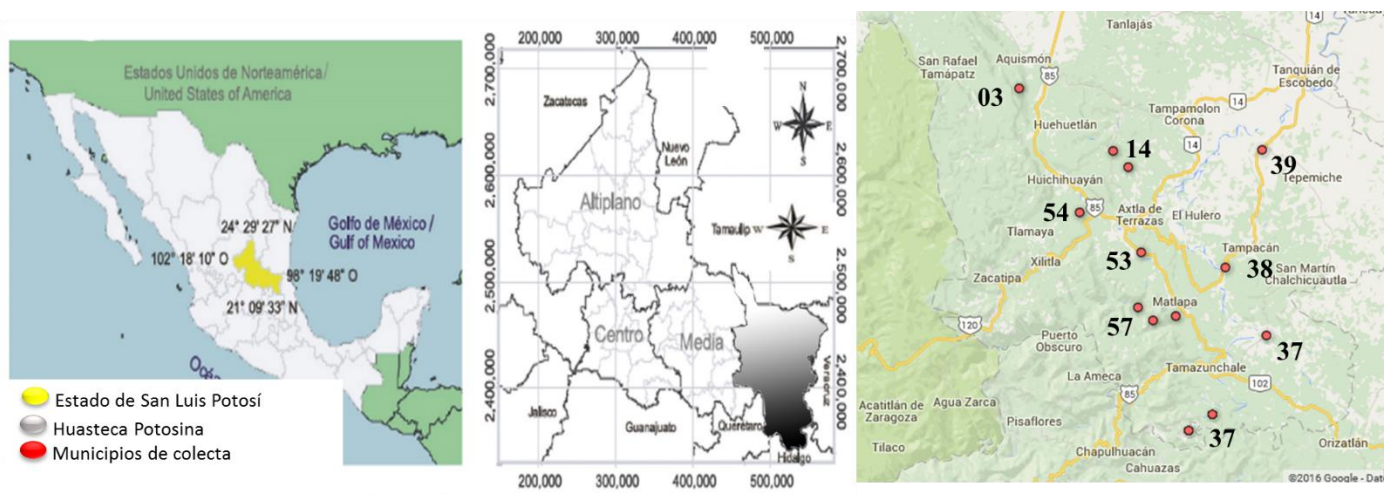
### **Material vegetal**

Se utilizaron vainas de *Vanilla planifolia* procedentes de 15 localidades de ocho municipios ubicados en la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México (Figura 3.1, Cuadro 3.1 y 3.2). En los sitios de colecta se seleccionaron las plantas de vainilla, con manejo tradicional y se polinizaron entre 20 y 30 flores durante el mes de abril del 2013 y se cosecharon en diciembre del mismo año. Los sitios de colecta fueron previamente seleccionados y ubicados por la bióloga Mónica Lima Morales quien también realizó la polinización de las flores. Para evitar la variación provocada por el tratamiento de curado, todas las vainas fueron beneficiadas por el maestro beneficiador Don Veremundo Rodríguez en el ejido Primero de Mayo, en Papantla, Veracruz.

**Cuadro 3.1.** Características geográficas de los municipios de la Huasteca Potosina, San Luis Potosí, México donde se obtuvo el material vegetal.

Municipio	Coordenadas geográficas (Long y Lat)	Altitud (msnm)	Clima temperatura anual (°C)	Precipitación media (mm)
Aquismón	21° 28' - 22° 01' 98° 57' - 99° 16'	100	Semicálido húmedo. Temperatura media anual: 24.7 °C.	2,350
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.	2,330
Coxcatlán	21° 32' 98° 54'	160	Cálido húmedo, sin cambio térmico invernal bien definido. Temperatura media anual: 24.5 °C.	2,488
Matlapa	21° 20' 98° 50'	120	Semi cálido húmedo; con lluvias en verano y sin cambio térmico invernal bien definido. Temperatura media anual: 25 °C.	1,780
Tamazunchale	98°48' 21°16'	140	Semi cálido húmedo, con abundante lluvia en verano; al sur. Temperatura media anual: 25.5 °C.	2,168
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.	2,231.3
Xilitla	21°23'08" 98°59'25"	600	Semi cálido húmedo; en el centro semi cálido húmedo con lluvias todo el año y al norte templado húmedo. La temperatura media anual es de 22 C.	2,075.3

Fuentes: <http://www.inafed.gob.mx/> y <http://www.inegi.gob.mx/>; revisado Septiembre 2014.



Entidad: San Luis Potosí

Clave Nombre de Municipio

03	Aquismón	39	Tampamolón Corona
14	Coxcatlán	53	Axtla de Terrazas
37	Tamazunchale	54	Xilitla
38	Tampacán	57	Matlapa

**Figura 3.1.** Ubicación de la región de la Huasteca Potosina, México y municipios de colecta de material vegetal de *Vanilla planifolia* J.

Fuente: Modificado de INEGI y Coordinación Estatal de San Luis Potosí.

**Cuadro 3.2.** Municipios y localidades de la Huasteca Potosina, México.

Clave	Nombre de Municipio	Localidad	Clasificación	Clave	Nombre de Municipio	Localidad	Clasificación
03	Aquismón	Jomté	Sitio 4	38	Tampacán	La Ceiba	Sitio 12
53	Axtla de Terrazas	Ejido Jalpilla	Sitio 2				
14	Coxcatlán	Ejido Ajuatitla	Sitio 3	54	Xilitla	La Herradura	Sitio 14
57	Matlapa	Cuichapa <sup>1†</sup>	Sitio 1	37	Tamazunchale	Tixcuayuca <sup>1†</sup>	Sitio 5
		Cuichapa <sup>2†</sup>	Sitio 9			Tixcuayuca <sup>2†</sup>	Sitio 6
		Cuichapa <sup>3†</sup>	Sitio 10			Tixcuayuca <sup>3†</sup>	Sitio 7
		Tamala	Sitio 11			Axhumol	Sitio 8
		Providencia	Sitio 13			Rancho Alegre	Sitio 15

†: Cuichapa<sup>1,2,3</sup> y Tixcuayuca<sup>1,2,3</sup>, el superíndice indica que en estos sitios se tomaron dos o tres muestras respectivamente. Colectas realizadas por Bióloga Mónica Lima Morales.



## **Evaluación de Calidad**

Se tomaron por lo menos diez vainas por sitio, a las que se les midieron diferentes variables. Con excepción de la dimensión, en donde se midieron las 10 vainas; en el resto de variables se tomaron tres repeticiones (vainas) por sitio de colecta.

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

*Humedad:* Se colocaron 500 mg de vaina, en una termobalanza (Ohaus MB45), para evaluar el porcentaje de humedad.

*Aw (actividad de agua):* Se tomaron aproximadamente 3 cm de la parte media de la vaina y colocaron en el equipo Aqualab (Emintech 3TESerial No. 09069391B) y se registró la lectura de Aw.

*Flexión:* Se determinó con Texturómetro (Texture Technologies TA.XTPlus), para lo cual se usó una punta SMS P/0.5 de 4 cm de largo por 1.2 cm de diámetro, con la base cilíndrica hueca de 3.5 cm de alto por 2.1 cm de diámetro interno. Los resultados se expresaron en gramos fuerza (gf).

*Azúcares solubles totales:* Se cuantificaron mediante HPLC la glucosa, fructosa y sacarosa, de acuerdo a la metodología de Mustafa *et al.* (2003), con algunas modificaciones. Para la obtención de los extractos se pesó 1 g de vaina molida y se agregaron 60 ml de etanol al 80 % en un matraz de 250 ml con tres perlas de ebullición. Se calentó en una parrilla hasta reducir su volumen a 15 mL. Se filtró y se refrigeró hasta su análisis. Los extractos se pasaron por cartuchos de limpieza (Cromabond®C<sub>18</sub>ec, 3mL/500mg, 60Å, 45µm, Macherey-Nagel, Alemania). Acondicionando primero con 5 mL de metanol grado HPLC, 5 mL de agua destilada y finalmente 1 ml de extracto, con lo cual se recuperó en un matraz de 10 ml. La muestra se llevó al aforo, después 1 mL de éste extracto se pasó por acrodisco (Titan, 0.045 µm) y se colocó en un vial de 2 mL especial para el automuestreador. Los viales con las

muestras se colocaron en la gradilla del automuestreador del HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™) para su análisis. Las condiciones del cromatógrafo fueron 40 °C, flujo de 1 mL/min, un volumen de inyección de 10 µL y un detector de índice de refracción (Perkin Elmer Series 200). La fase móvil fue una solución de acetonitrilo:agua (80:20) y se empleó una columna Brownlee Analytical Amino 5 µm 150 x 4.6 mm (Perkin Elmer, USA). Para los estándares se pesaron por separado 50 mg de fructosa, glucosa y sacarosa al 99.5% (todos de Sigma-Aldrich, USA) en balanza analítica (Voyager® Pro, Modelo VP114CN, Ohaus, Suiza). Se colocó cada azúcar en un matraz de 10 mL y se aforaron con metanol:agua (1:9). Se realizaron diluciones de 0.2 a 4.0 mg mL<sup>-1</sup> para las curvas de calibración y finalmente por medio de una regresión lineal se obtuvieron las fórmulas para determinar los porcentajes de cada azúcar, los cuales en su conjunto se tomaron como los azúcares totales.

*Contenido de los Compuestos Aromáticos:* Se utilizó la técnica modificada de Pérez-Silva (2006), que consistió en tomar tres vainas por sitio y se molieron en un molino Custom Grind™ Deluxe, (Hamilton Beach™); posteriormente se pesaron 0.05 g por cada repetición y se colocaron en frascos de vidrio de 20 mL con tapa de rosca. Se agregaron 18 mL de solución etanol-agua destilada (1:1), (alcohol etílico absoluto, grado HPLC), la cual se preparó 24 h antes y se mantuvo en refrigeración (4°C). La mezcla se agitó por 30 min en una parrilla digital de agitación (Thermo Scientific™, Cimarec™, USA), y posteriormente se colocaron en refrigeración por 24 hrs. Transcurrido este tiempo las muestras se agitaron nuevamente por 5 min. Posteriormente se tomó un mililitro, que se filtró con un acrodisco (Titan™, 0.45 µm) y se colocó en un vial de 2 mL con tapa de rosca y septa. Los extractos se colocaron en el automuestreador del HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™). Las condiciones del cromatógrafo fueron a 254 nm, 35 °C y de 26 min de tiempo de corrida, la fase móvil fue de una solución de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 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™). La solución estándar se preparó con fase fueron de: 500 µg de vainillina y 100 µg de cada uno de los otros tres compuestos principales: ácido

4-hidroxibenzóico, 4-hidroxibenaldehído y ácido vanílico todas en solución con etanol: agua (1:1) (Sigma-Aldrich, USA), se realizaron diluciones para la curva de calibración.

### **Análisis estadístico**

Los datos de las variables fisicoquímicas y bioquímicas se analizaron con una prueba de comparación de medias. También 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 (SAS 2002).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El contenido de azúcares totales en las vainas procedentes de la Huasteca Potosina, es similar a lo reportado por Odoux y Grisoni (2011), quienes reportaron 10 % en vainas de Madagascar en base seca; 80 % del total, correspondió a sacarosa, 15 % a glucosa y 5 % a fructosa. Estos valores son aproximados con los obtenidos en esta investigación, haciendo una conversión a peso seco, que sería del alrededor del 12 %, sin embargo la distribución entre los azúcares es diferente, pues la mayor concentración correspondió a glucosa (1.55-4.28 %), fructosa (0.35-1.27 %) y finalmente sacarosa (0.32-1.05 %). Los valores de azúcares solubles totales variaron entre 2.2-6.61 %, entre los sitios de Tixcuayuca<sup>2</sup> con el valor más pequeño y Cuichapa<sup>1</sup> con el mayor contenido (Cuadro 3.3). Zamora-Flores *et al.* (2016) reportan que el azúcar dominante en vainas procedentes de la región del Totonacapan, es la glucosa, seguida de sacarosa y en menor proporción la fructosa con valores de 0.5 a 1.3 %. Éstas diferencias, pueden ser atribuidas a que durante el proceso de beneficiado tradicional mexicano el matado (agua a temperatura de ebullición por periodos cortos de tiempo), permite que la sacarosa se hidrolice en mayor proporción, derivando mayor concentración de glucosa; mientras que en Madagascar el proceso de marchitado se lleva a cabo a menor temperatura (65 °C), por periodos de 2-3 minutos (Xochipa *et al.*, 2016). (Anexo 1).

**Cuadro 3.3.** Medias para cada una de las 13 variables de calidad evaluadas en vainas beneficiadas de *Vanilla planifolia* J. de 15 sitios de la Huasteca Potosina, México.

Sitio	Variable												
	Azúcares Solubles	Glucosa	Fructosa	Sacarosa	pH	Humedad	Aw	Chroma	Hue	Flexión	Largo	Diámetro	Grosor
1. Cuichapa <sup>1</sup>	6.61 <sup>a</sup>	4.28 <sup>a</sup>	1.27 <sup>a</sup>	1.05 <sup>a</sup>	4.2 <sup>f</sup>	35.5 <sup>abc</sup>	0.86 <sup>cde</sup>	2.4 <sup>h</sup>	222 <sup>s</sup>	27.1 <sup>e</sup>	108 <sup>g</sup>	5.5 <sup>b</sup>	2.5 <sup>bc</sup>
2. Ejido Jalpilla	5.00 <sup>ab</sup>	3.20 <sup>ab</sup>	0.91 <sup>ab</sup>	0.925 <sup>ab</sup>	4.6 <sup>cdef</sup>	36.4 <sup>ab</sup>	0.88 <sup>a</sup>	12.6 <sup>c</sup>	245 <sup>a</sup>	126.5 <sup>bcd</sup>	139 <sup>ef</sup>	6.2 <sup>ab</sup>	3.6 <sup>ab</sup>
3. Ejido Ajuatitla	4.49 <sup>abc</sup>	3.10 <sup>ab</sup>	0.69 <sup>bc</sup>	0.7 <sup>ab</sup>	5.1 <sup>abc</sup>	32.4 <sup>abcde</sup>	0.86 <sup>de</sup>	11.8 <sup>dc</sup>	240 <sup>abcd</sup>	86.0 <sup>d</sup>	192 <sup>a</sup>	6.3 <sup>ab</sup>	3.6 <sup>ab</sup>
4. Jomté	4.22 <sup>abc</sup>	3.10 <sup>ab</sup>	0.56 <sup>bc</sup>	0.55 <sup>ab</sup>	5.3 <sup>a</sup>	37.3 <sup>a</sup>	0.86 <sup>bcd</sup>	10.9 <sup>de</sup>	234 <sup>de</sup>	86.1 <sup>d</sup>	175 <sup>abc</sup>	8.6 <sup>a</sup>	3.3 <sup>abc</sup>
5. Tixcuayuca <sup>1</sup>	3.59 <sup>bc</sup>	2.60 <sup>bc</sup>	0.50 <sup>bc</sup>	0.525 <sup>ab</sup>	4.9 <sup>abcde</sup>	37.5 <sup>a</sup>	0.85 <sup>c</sup>	7.74 <sup>g</sup>	243 <sup>abc</sup>	170.7 <sup>b</sup>	188 <sup>ab</sup>	7.6 <sup>ab</sup>	3.0 <sup>abc</sup>
6. Tixcuayuca <sup>2</sup>	2.26 <sup>c</sup>	1.55 <sup>c</sup>	0.35 <sup>c</sup>	0.325 <sup>b</sup>	5.3 <sup>ab</sup>	28.9 <sup>bcd</sup>	0.85 <sup>de</sup>	12.4 <sup>c</sup>	244 <sup>abc</sup>	159.6 <sup>bc</sup>	187 <sup>ab</sup>	6.3 <sup>ab</sup>	3.4 <sup>abc</sup>
7. Tixcuayuca <sup>3</sup>	4.07 <sup>bc</sup>	2.85 <sup>abc</sup>	0.60 <sup>bc</sup>	0.625 <sup>ab</sup>	4.9 <sup>abcde</sup>	25.6 <sup>ef</sup>	0.85 <sup>de</sup>	15.6 <sup>a</sup>	245 <sup>ab</sup>	375.5 <sup>a</sup>	138 <sup>ef</sup>	7.0 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>bc</sup>
8. Axhumol	3.68 <sup>bc</sup>	2.70 <sup>bc</sup>	0.48 <sup>bc</sup>	0.475 <sup>ab</sup>	4.5 <sup>def</sup>	35.4 <sup>abc</sup>	0.86 <sup>cde</sup>	14.5 <sup>b</sup>	225 <sup>fg</sup>	126 <sup>bcd</sup>	149 <sup>de</sup>	6.4 <sup>ab</sup>	3.3 <sup>abc</sup>
9. Cuichapa <sup>2</sup>	2.53 <sup>c</sup>	1.93 <sup>bc</sup>	0.30 <sup>c</sup>	0.3 <sup>b</sup>	4.7 <sup>bcd</sup>	23.1 <sup>f</sup>	0.86 <sup>bcd</sup>	9.98 <sup>ef</sup>	239 <sup>abcd</sup>	82.18 <sup>d</sup>	161 <sup>cd</sup>	6.6 <sup>ab</sup>	2.6 <sup>bc</sup>
10. Cuichapa <sup>3</sup>	2.89 <sup>bc</sup>	2.18 <sup>bc</sup>	0.36 <sup>c</sup>	0.35 <sup>b</sup>	4.8 <sup>abcde</sup>	33.4 <sup>abcde</sup>	0.86 <sup>bcd</sup>	11.9 <sup>c</sup>	245 <sup>ab</sup>	114.9 <sup>cd</sup>	185 <sup>ab</sup>	6.5 <sup>ab</sup>	3.7 <sup>ab</sup>
11. Tamala	3.39 <sup>bc</sup>	2.25 <sup>bc</sup>	0.58 <sup>c</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	5 <sup>abcd</sup>	26 <sup>def</sup>	0.86 <sup>cbd</sup>	10.6 <sup>ef</sup>	238 <sup>bcd</sup>	112.5 <sup>cd</sup>	129 <sup>ef</sup>	8.1 <sup>ab</sup>	2.4 <sup>c</sup>
12. La Ceiba	4.24 <sup>abc</sup>	2.95 <sup>abc</sup>	0.64 <sup>bc</sup>	0.65 <sup>ab</sup>	5 <sup>abcd</sup>	27.5 <sup>cdef</sup>	0.87 <sup>cbd</sup>	12 <sup>f</sup>	241 <sup>abc</sup>	123.2 <sup>bcd</sup>	180 <sup>abc</sup>	6.2 <sup>ab</sup>	4.2 <sup>a</sup>
13. Providencia	3.21 <sup>bc</sup>	2.23 <sup>bc</sup>	0.49 <sup>bc</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	4.3 <sup>ef</sup>	26.2 <sup>def</sup>	0.87 <sup>bc</sup>	8.4 <sup>g</sup>	237 <sup>cde</sup>	134.3 <sup>bc</sup>	127 <sup>fg</sup>	6.6 <sup>ab</sup>	2.9 <sup>bc</sup>
14. La Herradura	3.68 <sup>bc</sup>	2.45 <sup>bc</sup>	0.62 <sup>bc</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	4.8 <sup>bcd</sup>	37.6 <sup>a</sup>	0.88 <sup>ab</sup>	11.6 <sup>dc</sup>	243 <sup>abc</sup>	144.2 <sup>bc</sup>	171 <sup>bc</sup>	7.3 <sup>ab</sup>	2.48 <sup>bc</sup>
15. Reho. Alegre	3.82 <sup>bc</sup>	2.53 <sup>bc</sup>	0.66 <sup>bc</sup>	0.675 <sup>ab</sup>	4.8 <sup>bcd</sup>	34.3 <sup>abcd</sup>	0.88 <sup>ab</sup>	12.1 <sup>c</sup>	231 <sup>ef</sup>	153.5 <sup>bc</sup>	168 <sup>bcd</sup>	5.8 <sup>ab</sup>	2.49 <sup>bc</sup>
<b>Intervalo</b>	2.2-6.61	1.55-4.28	0.3-1.2	0.3-1.05	4.2-5.3	23-37.6	0.85-0.88	2.4-15.6	222-245	27.1-375.5	108-192	5.5-8.6	2.5-4.2

La NOM-182-SCFI-2011, describe algunas de las características que definen la calidad gourmet de la vainilla: humedad (25-38 %) y longitud (> 15 cm); las vainas de Cuichapa<sup>2</sup> tuvieron la menor humedad con 23.1 %, mientras que en tamaño, en promedio, las vainas de nueve de los quince sitios fue mayor a 15 cm, con un mínimo de 10.8 cm de las de Cuichapa<sup>1</sup> y un máximo de 19.2 cm de Ajuatitla (Cuadro 3.3). Asimismo las vainas procedentes de los sitios Ajuatitla, Tixcuayuca<sup>1,2</sup>, Cuichapa<sup>3</sup> y la Ceiba fueron las de mayor tamaño (18 -19 cm), mientras que las procedentes del Cuichapa, Jomté, Tixcuayuca<sup>1,2</sup> y la Herradura tuvieron una humedad superior al 35 %.

Con relación a la  $A_w$  no se presentaron diferencias significativas en la mayor parte de las muestras. Datos con alta variabilidad se presentaron en la saturación (Chroma) y color de vainas (Hue) con valores muy bajos en las vainas procedentes de Cuichapa<sup>1</sup> lo cual indica que las vainas no reunían las características que denotan un color chocolate intenso, de la misma forma estas vainas también tuvieron la firmeza ó flexibilidad más baja (Cuadro 3.3).

Lo anterior confirma lo observado también en la región del Totonacapan, en donde se muestra una alta variabilidad en la calidad de las vainas, aun procedentes de la misma región de producción, resaltando que la calidad de la vainilla beneficiada, es el resultado de factores genéticos, manejo del cultivo e índice de cosecha, además de todos los aspectos que involucra el beneficiado.

Existen diferencias significativas en el contenido de los cuatro compuestos principales, iniciando por el ácido *p*-hidroxibenzoico (C1) que varió de 143 ppm en Cuichapa<sup>2</sup> hasta 398 ppm en el Ejido Jalpilla, concentración arriba de lo que establece la NOM-182-SCFI-2011. El ácido vanílico (C2) tuvo concentraciones de 349 ppm en el ejido Jalpilla, y de hasta 781 ppm, en el sitio Axhumol, concentración que está dentro de la norma (Cuadro 3.4). El ácido vanílico se ha considerado como uno de los 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 (Anexo 2).

La concentración de *p*-hidroxibenzaldehído en vainas de Jomté fue la más baja con 528 ppm; 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 de vainillina máxima se encontró en las vainas de Tixcuayuca<sup>3</sup> con 20573 ppm (2.05 %); y como promedio de 1.37 % (Cuadro 3.4), similar a lo reportado en vainas recién curadas, procedentes de la región del Totonacapan, entre 1.0-1.7 % de vainillina (Salazar-Rojas *et al.*, 2011).

Respecto a la relación del contenido de los compuestos menores y la vainillina ( $\sum\text{CM}/\text{C4}$ ), sólo en dos sitios de colecta (Tamala y Tixcuayuca<sup>3</sup>) el porcentaje está dentro de la NOM-182-SCFI-2011, pues son los sitios en donde las vainas tuvieron mayor contenido de vainillina; sin embargo, en los doce sitios de colecta restantes, el contenido de compuestos menores es superior, llegando a representar hasta 11.8 % como el caso de Cuichapa<sup>1</sup>.

**Cuadro 3.4.** Medias para las variables de compuestos aromáticos evaluados en vainas beneficiadas de *Vanilla planifolia* J. de 14 sitios de la Huasteca Potosina, México.

Sitio	Variables de componentes aromáticos									
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	$\sum\text{CM}$	$\sum\text{CM}/\text{C}_4$	C <sub>1</sub> /C <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub>	C <sub>3</sub> /C <sub>4</sub>	C <sub>1</sub> + C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub>
1. Cuichapa <sup>1</sup>	296 <sup>b</sup>	<b>905<sup>a</sup></b>	608 <sup>cd</sup>	15239 <sup>def</sup>	1809 <sup>a</sup>	<b>0.11870<sup>a</sup></b>	0.01942 <sup>b</sup>	<b>0.05938<sup>a</sup></b>	0.03989 <sup>bcd</sup>	<b>0.07881<sup>a</sup></b>
2. Ejido Jalpilla	<b>398<sup>a</sup></b>	349 <sup>e</sup>	553 <sup>d</sup>	12631 <sup>g</sup>	1300 <sup>de</sup>	0.10292 <sup>abcd</sup>	<b>0.03150<sup>a</sup></b>	0.02763 <sup>cd</sup>	0.04378 <sup>abcd</sup>	0.05914 <sup>b</sup>
3. Ejido Ajuatitla	180 <sup>f</sup>	477 <sup>ode</sup>	645 <sup>cd</sup>	15243 <sup>def</sup>	1302 <sup>de</sup>	0.08541 <sup>defg</sup>	0.01180 <sup>ef</sup>	0.0312 <sup>bcd</sup>	0.04231 <sup>abcd</sup>	0.04310 <sup>abd</sup>
4. Jomté	181 <sup>e</sup>	631 <sup>bc</sup>	528 <sup>d</sup>	16042 <sup>def</sup>	1340 <sup>de</sup>	0.08353 <sup>efg</sup>	0.01128 <sup>ef</sup>	0.03933 <sup>b</sup>	0.03291 <sup>de</sup>	0.05061 <sup>ab</sup>
5. Tixcuayuca <sup>1</sup>	305 <sup>b</sup>	903 <sup>a</sup>	671 <sup>bcd</sup>	18016 <sup>bc</sup>	<b>1879<sup>a</sup></b>	0.10429 <sup>abc</sup>	0.01692 <sup>bc</sup>	0.05012 <sup>a</sup>	0.03724 <sup>cde</sup>	0.06705 <sup>a</sup>
6. Tixcuayuca <sup>2</sup>	177 <sup>f</sup>	387 <sup>e</sup>	675 <sup>bcd</sup>	14702 <sup>efg</sup>	1239 <sup>e</sup>	0.08427 <sup>efg</sup>	0.01203 <sup>de</sup>	0.02632 <sup>d</sup>	0.04591 <sup>de</sup>	0.03836 <sup>abc</sup>
7. Tixcuayuca <sup>3</sup>	230 <sup>d</sup>	587 <sup>cd</sup>	618 <sup>cd</sup>	<b>20573<sup>a</sup></b>	1435 <sup>cde</sup>	0.06975 <sup>g</sup>	0.01117 <sup>ef</sup>	0.02853 <sup>cd</sup>	0.03003 <sup>e</sup>	0.03971 <sup>ab</sup>
8. Axhumol	270 <sup>c</sup>	781 <sup>ab</sup>	663 <sup>bcd</sup>	16057 <sup>def</sup>	1714 <sup>ab</sup>	0.10674 <sup>ab</sup>	0.01681 <sup>bc</sup>	0.04863 <sup>a</sup>	0.04129 <sup>abcde</sup>	0.06545 <sup>a</sup>
9. Cuichapa <sup>2</sup>	143 <sup>f</sup>	584 <sup>c</sup>	834 <sup>ab</sup>	16134 <sup>def</sup>	1561 <sup>de</sup>	0.09675 <sup>efg</sup>	0.00886 <sup>fg</sup>	0.03619 <sup>d</sup>	0.05169 <sup>ab</sup>	0.04506 <sup>de</sup>
11. Tamala	152 <sup>f</sup>	584 <sup>cd</sup>	645 <sup>cd</sup>	19595 <sup>ab</sup>	1381 <sup>cde</sup>	0.07047 <sup>g</sup>	0.00775 <sup>g</sup>	0.0298 <sup>bcd</sup>	0.03291 <sup>de</sup>	0.03756 <sup>abd</sup>
12. La Ceiba	240 <sup>c</sup>	408 <sup>de</sup>	915 <sup>a</sup>	17472 <sup>bcd</sup>	1563 <sup>bcd</sup>	0.08945 <sup>cdef</sup>	0.01373 <sup>de</sup>	0.02335 <sup>d</sup>	0.05236 <sup>a</sup>	0.03708 <sup>abc</sup>
13. Providencia	166 <sup>f</sup>	450 <sup>cde</sup>	603 <sup>cd</sup>	14092 <sup>fg</sup>	1219 <sup>e</sup>	0.08650 <sup>defg</sup>	0.01177 <sup>ef</sup>	0.0319 <sup>bcd</sup>	0.04279 <sup>abcd</sup>	0.04371 <sup>bc</sup>
14. La Herradura	182 <sup>e</sup>	376 <sup>e</sup>	756 <sup>abc</sup>	16797 <sup>ede</sup>	1314 <sup>de</sup>	0.07822 <sup>fg</sup>	0.01083 <sup>ef</sup>	0.02238 <sup>d</sup>	0.04500 <sup>abcd</sup>	0.03322 <sup>abc</sup>
15. Rcho. Alegre	256 <sup>c</sup>	635 <sup>bc</sup>	754 <sup>abc</sup>	16970 <sup>cde</sup>	1645 <sup>abc</sup>	0.09693 <sup>bcd</sup>	0.01508 <sup>cd</sup>	0.03741 <sup>bc</sup>	0.04443 <sup>abcd</sup>	0.05250 <sup>ab</sup>
Intervalo	143-398	349-905	528-1000	0.7-2.0%	1.2-1.9					
NOM-182-SCFI	58-100	411-861	219-498	20000	0.6-1.4					

C1: ácido *p*-hidroxibenzoico, C2: ácido vanílico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina; C1+ C2/C4: ácido *p*-hidroxibenzoico + ácido vanílico /vainillina.  $\sum\text{CM}$ : Sumatoria de compuestos menores. \*: ppm= mg kg<sup>-1</sup> de vainilla beneficiada. Letras diferentes indican diferencia estadística, Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Estudios previos que evaluaron las vainas de vainilla de diferentes regiones productoras, del Totonacapan y Huasteca Potosina muestran un contenido promedio de 314 ppm de ácido *p*-hidroxibenzoico, 748 ppm para ácido vanílico, 924 ppm de *p*-hidroxibenzaldehído y 1.81 % de vainillina, y 11 % en la relación de los compuestos minoritarios (Xochipa, 2015) con respecto a la vainillina ( $\sum\text{CM}/\text{C4}$ ). Mientras que en este estudio la media fue del 8.9 %, indicando menor contenido en todos los compuestos aromáticos, incluyendo la vainillina (Cuadro 3.4). Un factor que puede estar influenciando la variabilidad en los contenidos de

los compuestos aromáticos en vainilla es el índice de cosecha. Generalmente, las vainas 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 las vainas maduran, sin embargo no se reportó ninguna correlación entre el color de las vainas y el contenido de glucovainillina. Asimismo Van Dick *et al.*, (2014) encontraron que las vainas cuya parte distal empieza a tornarse amarilla, no estaban completamente maduras y tenía una concentración baja y diferencial de glucovainillina dentro de la misma vaina la parte distal: 0.417 %; media: 0.563 %; proximal: 0.683 %, por lo cual es posible que la falta de cambios en la apariencia de la vaina 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 que la punta de la vaina se haya tornado amarilla, pues la floración y amarre son asincrónicos.

### **Componentes Principales: Compuestos del aroma**

El análisis multivariado de componentes principales mostró que los componentes del aroma, explicaron en conjunto 91% de la variabilidad total. El primer componente principal (CP1) explicó 49 % de toda la variación, y se asoció con las relaciones ácido *p*- hidroxibenzoico, ácido *p*-hidroxibenzoico+ác.vaníllico/vainillina y  $\sum$ Compuestos Menores/vainillina. El segundo componente (CP2) explicó 25%, asociado a las relaciones ác. vaníllico, vainillina y *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina. Finalmente el tercer componente principal (CP3) se asoció con los contenidos de *p*-hidroxibenzaldehído y  $\sum$ Compuestos Menores, explicando 17 % de la variación total (Cuadro 3.5).

**Cuadro 3.5.** 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 14 sitios de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México.

Variables		Componentes		
Componentes		CP1	CP 2	CP 3
C1	ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	<b>0.3971</b>	0.1931	-0.0411
C2	ácido vanílico	0.3191	<b>-0.4249</b>	0.1092
C3	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	-0.1603	0.1340	<b>0.6959</b>
C4	vainillina	-0.1076	<b>-0.4768</b>	0.2160
$\Sigma$ CM	$\Sigma$ Compuestos Menores	0.3354	-0.2456	<b>0.4227</b>
$\Sigma$ CM/C <sub>4</sub>	Proporción $\Sigma$ CM/vainillina	<b>0.4061</b>	0.1369	0.1780
C <sub>1</sub> /C <sub>4</sub>	ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico/vainillina	0.3558	<b>0.3392</b>	-0.1669
C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub>	ácido vanílico/vainillina	0.3670	-0.2814	0.0412
C <sub>3</sub> /C <sub>4</sub>	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído/vainillina	-0.0805	0.4754	0.4622
C <sub>1</sub> +C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub>	ácido <i>p</i> - hidroxibenzoico + ác. vanílico/vainillina	<b>0.3971</b>	0.1931	-0.0411
<b>Valores Propios de la Matriz de Correlación</b>				
	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

De acuerdo con la distribución espacial de los primeros tres componentes principales, se distinguieron cinco grupos de vainilla procedente de la Huasteca Potosina (Figura 3.2), donde tres de ellos agruparon 11 sitios.

El grupo 1 (GI) conformado por los sitios 1: Cuichapa<sup>1</sup>, 5: Tixcuayuca<sup>1</sup> y 8: Axhumol, presentan tendencia positiva en su relación de ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-hidroxibenzoico + ácido vanílico/vainillina, componentes minoritarios/vainillina, *p*-hidroxibenzaldehído y componentes minoritarios; y con inclinación negativa en la relación ác. vanílico, vainillina y *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina, lo cual describe características no gratas en la composición aromática de la vainilla beneficiada, Odoux (2011) menciona que compuestos como *p*-hidroxibenzoico, ácido vanílico, guayacol y ácido nonanoico están



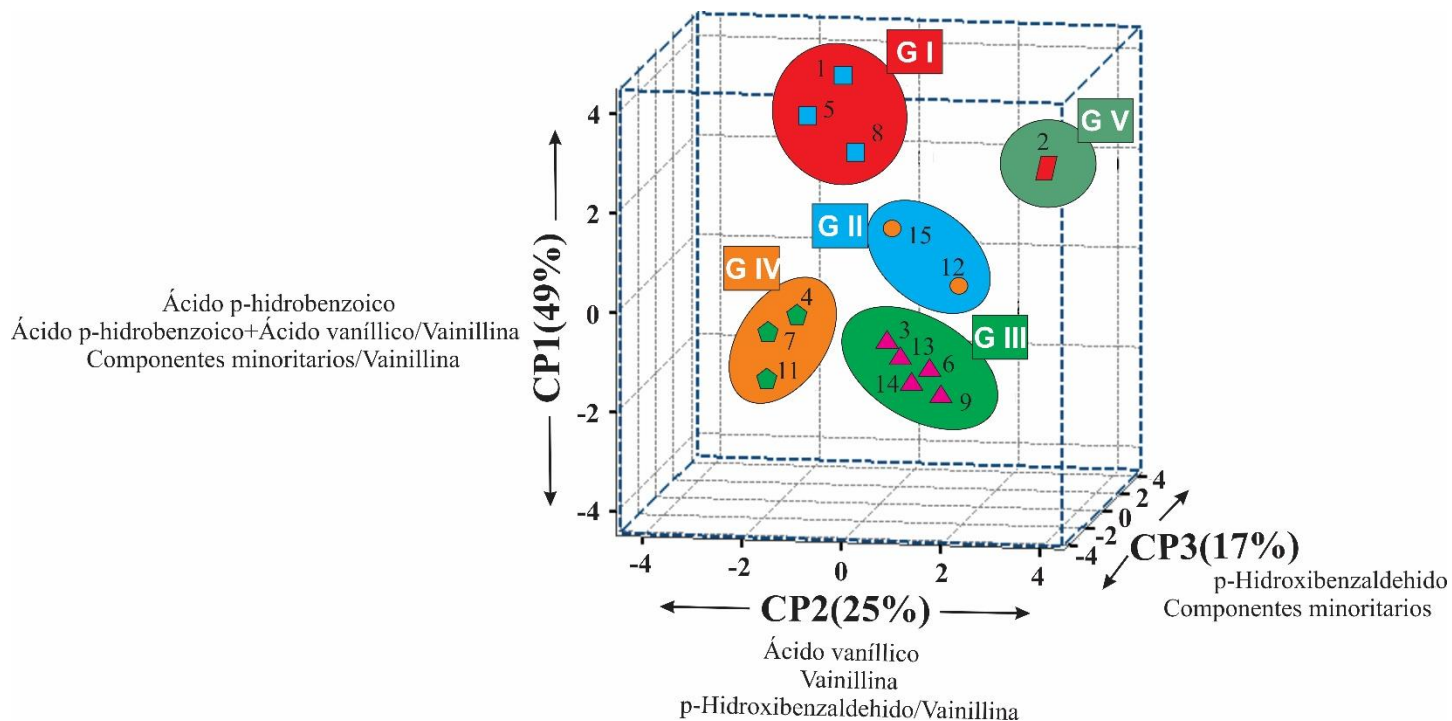
altamente correlacionados con el criterio ahumado/fenólico, es decir un descriptor no tan agradable, es importante resaltar que las vainas de estos sitios presentaron el contenido más alto de ácido vanílico.

En el Grupo 2 (GII) correspondiente al sitio 12: La Ceiba y el sitio 15: Rancho Alegre; tuvieron valores positivos, aunque el sitio La Ceiba tiene un valor negativo su relación de ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-hidroxibenzoico + ácido vanílico/vainillina, componentes minoritarios/vainillina; en cierto modo se pueden considerar uniformes sus características aromáticas por la estructuración de sus componentes.

Los sitios agrupados en Grupo 3 (GIII) conformado por los sitios 3: Ajuatitla, 6: Tixcuyuca<sup>2</sup>, 9: Chuichapa<sup>2</sup>, 13: Providencia y 14: La Herradura, donde todos tuvieron una relación negativa de ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-hidroxibenzoico + ácido vanílico/vainillina, componentes minoritarios/vainillina y todos los sitios son positivos en la relación ác. vanílico, vainillina y *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina, lo cual es una referencia que presenta vainas beneficiadas de mayor calidad, pues las vainas procedentes de estos sitios tuvieron los valores más bajos de ácido *p*-hidroxibenzoico y de intermedio a bajos de ácido vanílico. Este tipo de relaciones de este grupo permite que sea considerado con un producto con buena calidad aromática.

Con características similares se encuentran las vainas de los sitios 4: Jomté, 7: Tixcuyuca<sup>3</sup> y el sitio 11: Tamala, pertenecientes al Grupo 4 (GIV), pues sus vainas presentaron bajo contenido de *p*-hidroxibenzóico e intermedio de ácido vanílico, siendo los sitios 7 y 11 los de mayor contenido de vainillina. Finalmente el Grupo 5 (GV) correspondiente al sitio 2: Ejido Jalpilla, único sitio, con valores positivos en sus relaciones de ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-hidroxibenzoico + ácido vanílico/vainillina, componentes minoritarios/vainillina, ác. vanílico, vainillina, *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina; pero negativo en su relación *p*-hidroxibenzaldehído y componentes minoritarios, cuya vaina beneficiada presentó el contenido más bajo de vainillina y más alto de *p*-hidroxibenzóico, bajo en ácido vanílico e intermedio en *p*-hidroxibenzaldehído. Havkin-Frenkel *et al.*, (2004), mencionan que el *p*-hidroxibenzaldehído es un intermediario de la biosíntesis de vainillina que necesita ser hidroxilado y metilado para poder formar la vainillina, por lo que es posible que este proceso no se halla llevado a cabo plenamente, dando como resultado este desbalance en la composición. Como se ha mostrado anteriormente existe una gran

variabilidad en el contenido de compuestos del aroma, sin embargo se encuentran dentro de lo que establece la NOM-182-SCFI-2011 y no existe diferencia con relación a la calidad de las vainas producidas en el Totonacapan.



**Figura 3.2.** Dispersión de 14 sitios de colecta de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México, basada en los tres componentes principales de análisis de las 10 variables evaluadas en los sitios de colecta.

Lubinsky *et al.*, (2008), mencionan que existe afinidad genética entre las vainillas de diferentes lugares, incluso tan lejanas como las regiones del Océano Indico 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. Por lo cual, si se presume que las vainas de vainilla procedentes de regiones distantes del mundo proceden de Papantla, el centro comercial de la vainilla por siglos, una propuesta es que los genotipos de vainilla que se cultivan en la Huasteca Potosina, proceden del mismo origen. De tal forma que las diferencias encontradas en la concentración de los compuestos aromáticos, podría ser atribuida al manejo del cultivo (riego, nutrición, incidencia de enfermedades) e índice de cosecha.

En la figura 3.3 se representa el dendograma con la distribución de los sitios de colecta de la Huasteca Potosina, con 10 variables relacionadas con las propiedades aromáticas de vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. que muestra el comportamiento de los cinco grupos con base en los valores medios de cada variable.

Las vainas procedentes de los sitios del GI muestran una tendencia en la acumulación de ácido vanílico y mayor contenido de compuestos minoritarios, que se refleja en vainas de menor calidad organoléptica. Las vainas del GII tienen mayor acumulación de *p*-hidroxibenzaldehído e intermedia de vainillina, con dos sitios de colecta. Mientras que GIII es el grupo más numeroso con cinco sitios y cuyas vainas tuvieron un contenido bajo de *p*-hidroxibenzóico, medio de ácido vanílico y *p*-hidroxibenzaldehído.

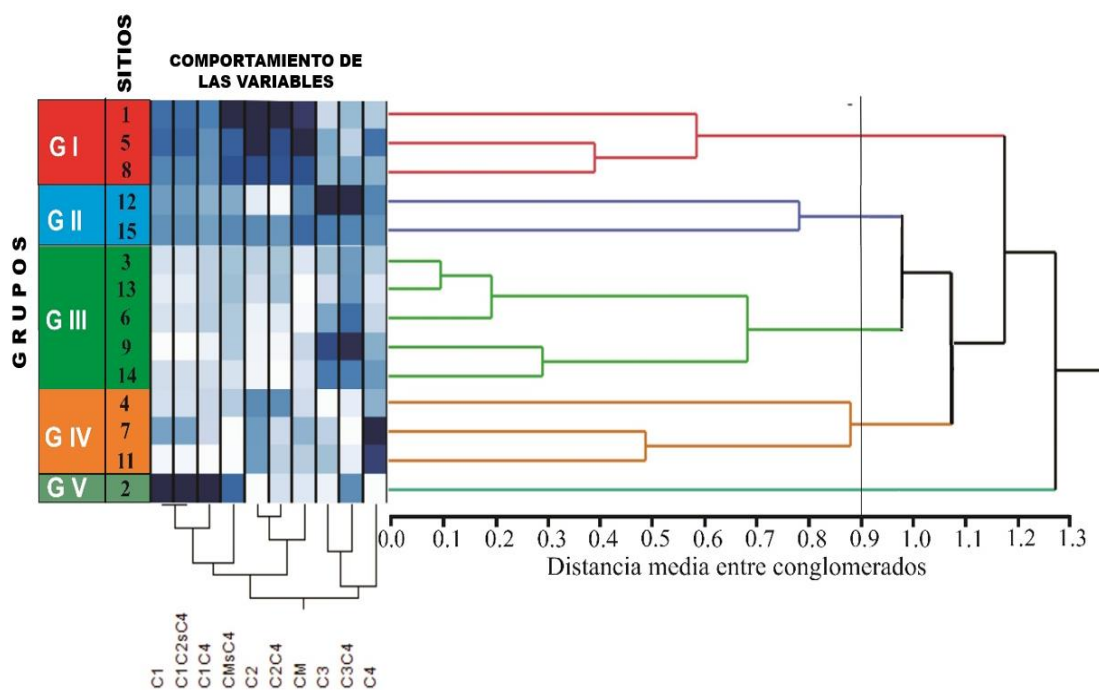


Figura 3.3. Dendrograma de 14 sitios de la Huasteca Potosina y componentes aromáticos de vainas beneficiadas, con base en 10 variables evaluadas en los sitios de colecta y agrupamiento de similitud.

Las vainas de los sitios agrupados en el GIV, son las de mayor contenido de vainillina y baja acumulación de compuestos menores. Finalmente las vainas del GV representado por solo un sitio tuvieron la menor calidad, al acumular muy poca vainillina y *p*-hidroxibenzaldehído, compuestos relacionados con la calidad organoléptica de la vainilla.

Es importante mencionar que dentro de la misma especie o población, hay subpoblaciones con variaciones en la composición típica y concentración de los principales metabolitos secundarios que determinan su calidad aromática; estas subpoblaciones polimórficas son reconocidas como quimiotipos, cuando la planta como consecuencia del ambiente y respuesta genética tiene una adaptación fitoquímica local, asimismo existen diversas condiciones como sería nichos climáticos, tipo de suelo, manejo y finalmente índice de cosecha, que pudiese haber afectado las características propias de la vainilla (Lebot y Levesque, 1996; Ruiz *et al.*, 2007; Gross *et al.*, 2009).

## CONCLUSIONES

Existe una variación significativa en el contenido de compuestos aromáticos y calidad en los frutos de vainilla beneficiadas procedentes de 15 sitios de la Huasteca Potosina, México. Sin embargo es comparable a las variaciones que existen aun dentro de las vainas 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 el índice de cosecha, condiciones que se pueden presentar en prácticamente todas las regiones productoras de vainilla. Los resultados de este trabajo son importantes para caracterizar la calidad de vainilla de los diferentes sitios de producción de la región de la Huasteca Potosina.

## LITERATURA CITADA

- Bettazzi, F. ; Palchetti, I. ; Sisalli, S. and Mascini, M. 2006. A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta* 555:134-138.
- CESPV-SLP. Comité Estatal del Sistema Producto Vainilla de San Luis Potosí, A. C., 2012. Recuperado en Octubre 20b14 y consultado en la página: <http://dev.pue.itesm.mx/sagarpa/estatales>
- Frenkel, O.H.; Brown, A.H.D. and Burdon, J.J. 2011. *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge University Press, Cambridge. 299 p.

- Gross, M., Lewinsohn, E., Tadmor, Y., Bar, E., Dudai, N., Cohen, Y., Friedman, J. 2009. The inheritance of volatile phenylpropenes in bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*, *Apiaceae*) chemotypes and their distribution within the plant. *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 308–316.
- 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: 93-102.
- 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): 43-55.
- Lebot, V., Levesque, J. 1996. Genetic control of Kavalactones chemotypes in *Piper methysticum* cultivars. *Phytochemistry* 43: 397–403.
- 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.
- 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.
- 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.

- Ranadive, A.S. 1992. Vanillin and related flavor compounds in vanilla extracts made from beans of various global origins. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 40: 1922–1924.
- Ruiz, C., Tunarosa, F., Martínez, J., Stashenko, E. 2007. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia origanoides* H. B. K., obtenidos por diferentes técnicas de extracción. *Scientia et Technica* 3: 325–328.
- 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
- SAS. 2002. SAS/STAT Users guide version 9. SAS Institute Inc, North Carolina.
- Sagrero-Nieves, L. and Schwartz, S.J. 1988. Phenolic content of *Vanilla planifolia* as affected by harvest period. *Journal of Food Composition and Analysis* 1: 362–365.
- 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*. *Journal of Separation Science* 29: 613–619.
- Soto-Arenas, M.A. 2006. La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. *CONABIO. Biodiversitas*. 66: 1-9.
- 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5802–5807.
- SPSS. 2006. versión 15.0 IBM Company Headquarters. Institute Inc, Illinois USA.
- 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.
- Xochipa, M.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.
- Xochipa, M.R. 2015. Influencia del proceso de beneficiado tradicional mexicano en los compuestos del aroma de *Vanilla planifolia* J. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. 170 p.
- 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.

## CAPÍTULO IV

### COMPUESTOS FITOQUÍMICOS EN TALLO, HOJA, FLOR Y FRUTO VERDE DE *Vanilla planifolia* J. PROCEDENTES DE LA HUASTECA POTOSINA, MÉXICO.

#### RESUMEN

Las plantas son una fuente de metabolitos secundarios, estudios previos muestran que la planta de *Vanilla planifolia* J., presenta en algunas de sus estructuras vegetales (hojas, tallos y vainas), una acción microbiana, sin embargo no existen reportes de la composición fitoquímica de estas estructuras, y con excepción del fruto beneficiado, la información es escasa sobre los usos de la planta. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue identificar y cuantificar los compuestos fitoquímicos presentes en las estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. procedentes de diferentes localidades de la Huasteca Potosina. Los resultados de este trabajo mostraron que existe variabilidad en el contenido de compuestos fitoquímicos en tallo, hoja y flor. Los compuestos que se identificaron en mayor cantidad fueron los flavonoides en un promedio de 0.73721 mg g<sup>-1</sup>, en tallo, hoja, fruto verde y flor. También se identificaron terpenoides en un promedio de 0.699 mg g<sup>-1</sup>, en tallo y hoja.

Este es el primer estudio que muestra la variación e identificación en el contenido de compuestos fitoquímicos en distintas estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. procedente de la Huasteca Potosina, México.

**Palabras clave:** compuestos fitoquímicos; flavonoides; terpenoides; estructuras vegetales.



## ABSTRACT

Plants are a source of secondary metabolites, previous reports show that *Vanilla planifolia* J., has antimicrobial activity compounds from their leaves, stems and fruit, however there are no other available information around the phytochemical composition of these structures, except for the cured fruit. Also there is no information about the quality of the cured bean produced in the Huasteca Potosina region. Therefore the aim of this study was to identify and quantify the phytochemicals present in plant structures of *Vanilla planifolia* J. from different localities of the Huasteca Potosina.

The results showed that there is variability in the content of phytochemicals in plant structure, flavonoid compounds were identified by an average of  $0.73721 \text{ mg g}^{-1}$ , in stems, leaves and green fruit and flower, terpenoid compounds were identified by an average of  $0.699 \text{ mg g}^{-1}$ , in stems and leaves.

This is the first study showing the variation and identification of the phytochemical compounds from the plant structures of *Vanilla planifolia* J. produced in the Huasteca Potosina, Mexico.

**Keywords:** phytochemicals; flavonoids; terpenoids; plant structures

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo a estimaciones de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México cuenta con una riqueza florística que comprende entre 22 mil y 31 mil especies. En la obra, *Capital Natural de México* (2009), se informa que existen 23,424 plantas vasculares; en el caso de plantas con flores, México ocupa el quinto lugar mundial en especies (sexto en número de endemismos), además de cuatro mil especies vegetales con atributos medicinales (Ocegueda *et al.*, 2005). En los últimos años el consumo de alimentos de origen vegetal se ha incrementado con el fin de ayudar al mantenimiento y prevención de la salud (IMSS, 2014); con lo que se pretende que el alimento pueda minimizar el daño oxidativo que al parecer es la causa de diversas enfermedades, debido a su alto contenido de metabolitos secundarios. Éstos por su naturaleza bioquímica, se pueden clasificar como: compuestos fenólicos, terpenoides y alcaloides.

Compuestos fenólicos: se caracterizan por tener un anillo aromático en su estructura, con uno o más grupos hidroxilos, presentan una cadena lateral de tres átomos de carbono, que se sintetizan a partir del ácido shikimico. Debido a su fitotoxicidad, son almacenados en forma glucosilada en las vacuolas, o conjugados con otros compuestos de la pared celular (Edwards y Gatehouse, 1999). Dentro de los compuestos fenólicos se encuentran los fenilpropanoides, que presentan múltiples funciones dentro de la planta, pueden actuar como mecanismo de defensa ante herbívoros y patógenos, proveen soporte mecánico, atraen polinizadores, algunos de ellos son pigmentos que absorben la radiación ultravioleta y otros actúan como agentes alelopáticos, reduciendo por ejemplo el crecimiento de plantas competidoras (Taiz y Zeiger, 2006). Los compuestos fenólicos se encuentran en frutas, vegetales, cereales y algunas bebidas como el té, café, vino y cerveza; y son por lo tanto constituyentes integrales de la dieta humana. En los alimentos de origen vegetal, los compuestos fenólicos contribuyen a la estabilidad oxidativa y son responsables en parte de algunas propiedades organolépticas, como amargor, astringencia, color, sabor y olor (Dai y Mumper, 2010).

Terpenoides: Compuestos importantes en la respuesta en defensa de las plantas, por ejemplo, algunos monoterpenos actúan como antimicrobianos (mentol), repelentes de insectos (citronelal), incluso afectando el sistema nervioso central de insectos (piretrinas). Algunos diterpenos actúan como antifúngicos (casbeno), algunos triterpenos actúan como nematicida (cucurbitacinas) y algunos sesquiterpenos tienen actividad antibacteriana (capsidiol) o inhiben el apetito de insectos herbívoros (poligodial) (Paiva, 2000).

Alcaloides: compuestos orgánicos que generalmente se sintetizan a partir de aminoácidos, usualmente de sabor amargo y con un alto poder fisiológico, ejemplos de alcaloides son la morfina, cocaína, atropina, quinina, nicotina y cafeína. El efecto tóxico de los alcaloides radica en su capacidad de bloquear los neuroreceptores, intermediarios de la transducción de la señal neural y canales iónicos de vertebrados e insectos. Mientras que su efecto inhibitorio del crecimiento de microorganismos patógenos está dado por su capacidad de intercalarse en el ADN, detener la síntesis de proteínas, inducir apoptosis e inhibir las enzimas del metabolismo de carbohidratos (Wink y Schimmer, 1999).

Puesto que las plantas son una fuente de metabolitos secundarios, que pueden actuar como microbicidas, plaguicidas o drogas de uso farmacológico. Estudios previos en *Vanilla planifolia* J. han identificado que en hojas, tallos y frutos en estado verde, parecen tener amplio espectro de acción antimicrobiana (Shanmugavalli *et al.*, 2009), dentro de este estudio se observó que bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* resistente a drogas sintéticas, fue susceptible al extracto foliar de esta planta. Existen pocos reportes de la composición fitoquímica de estas estructuras, un ejemplo es el caso de un bioensayo empleando hojas y tallos de *Vanilla fragans* cuyo componente fitoquímico, el 4-butoximetilfenol afecta a las larvas de mosquito (Sun *et al.*, 2001). Sin embargo la información sobre otros usos potenciales, aparte del cultivo y beneficiado de la vaina en *Vanilla planifolia* es muy escasa. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue identificar y cuantificar los compuestos fitoquímicos presentes en las estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. procedentes de diferentes localidades de la Huasteca Potosina. Los resultados de esta investigación permitirán conocer la variabilidad del contenido de los compuestos fitoquímicos de los sitios de producción de la Huasteca Potosina, México y su posible utilización.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Vegetal

El trabajo se realizó entre abril 2014 y agosto 2015, empleando material vegetal (hojas, tallo, flor y frutos de vainilla en estado verde) de *Vanilla planifolia* J. procedentes del municipio de Matlapa, particularmente de las localidades de Cuichapa<sup>1</sup> y Tamala, y del municipio de Aquismón, de la localidad de Jomté. El material vegetal, se colectó durante el periodo de floración de las plantas y se trasladó al laboratorio donde se mantuvo en congelación (-20°C).

### Preparación de extractos

Con la finalidad de realizar la extracción y realizar las pruebas previas de presencia o ausencia de los compuestos, se realizó el troceado de 1g del material vegetal y se sometió a extracción con 5 ml de solventes de diferente polaridad (hexano, cloroformo, metanol y agua), en un baño ultrasónico, por 30 minutos con un descanso intermedio de 5 minutos (Soto-Hernández, 2013).

Por su efectividad y rapidez, se realizaron pruebas preliminares de detección de compuestos fitoquímicos, por medio de agentes cromógenos en diferentes estructuras vegetales: tallo, hoja, flor y fruto verde de *Vanilla planifolia* J.

Las pruebas se realizaron para detectar la presencia de: saponinas, flavonoides, taninos, alcaloides y ácidos fenólicos (Anexos 3). En las muestras en donde se detectó algún compuesto se procedió a confirmar su presencia por medio de cromatografía de capa fina (Soto-Hernández, 2013).

### Cromatografía de capa fina (CCF)

Se empleó la cromatografía en capa fina (CCF), de acuerdo a las metodologías de Wagner y Blant (2001) y Soto-Hernández (2013), en el cual se aplica el extracto de muestra en placas de silica gel (Sigma-Aldrich silica gel matrix), que se colocan en una cámara de cromatografía para su corrimiento con una mezcla de solventes para lograr la separación de los metabolitos y posteriormente se asperjan con agentes químicos o reveladores (Anexo 4). En las muestras donde se detectó la presencia significativa de cierto compuesto, se procedió a realizar el proceso de cuantificación.

## Cuantificación de compuestos fitoquímicos

**Flavonoides totales:** se utilizó el método colorimétrico de cloruro de aluminio. Las muestras secas de material vegetal (500 mg) de *V. planifolia* J. se incubaron con metanol al 80 %, durante 1 h (70°C), posteriormente la mezcla se centrifugó a 2,264 g durante 13 min. Del sobrenadante se tomaron alícuotas de 150 µL a las que se agregaron 37 µL de metanol (80 %), 100 µL de acetato de potasio (1 M) y 100 µL de cloruro de aluminio (10 %) y luego se aforó a 5 mL con agua destilada. La solución se dejó reposar durante 40 min en obscuridad y finalmente se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS (Multiskan Thermo Scientific) a 415 nm.

Para obtener la curva de calibración se disolvieron 10 mg de quercetina como estándar, en metanol (80 %) y se tomaron concentraciones: 2.5, 5, 10,25, 50 y 100 µg mL<sup>-1</sup>. Estas soluciones diluidas del estándar se mezclaron por separado con 1.5 mL de metanol (80 %), 100 µL de acetato de potasio 1M, 100 µL de cloruro de aluminio (10 %). Las mezclas se incubaron por 30 min a temperatura ambiente y se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS (Multiskan Thermo scientific) a 415 nm.

**Terpenoides:** El método que se utilizó es el propuesto por Hiai *et al.*, (1976) modificado, para lo cual se pesó 1 g de la muestra y se añadieron 5 mL de hexano. Se sometió la muestra dos veces a ultrasonido por 10 min con descanso de 5 min. Posteriormente se tomaron 3 mg del extracto y se disolvió en 1 mL de agua desionizada. De esta solución se tomaron 5 µL, depositándolos en un tubo de ensaye. Se añadieron además 95 µL de agua, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, 100 µL de una solución fresca de vainillina (8 %) en etanol. Posteriormente se incubó a 60 °C durante 20 min y luego se colocaron los tubos en baño con hielo, ya fríos se midió su absorbancia a 544 nm en un espectrofotómetro UV/VIS (Multiskan Thermo scientific).

Para obtener la curva de calibración se disolvieron 10 mg de saponina de soya en agua y se tomaron concentraciones de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 µg L<sup>-1</sup>. Estas soluciones se mezclaron por separado con 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, 100 µL de una solución de vainillina

(8 %) en etanol. Posteriormente se incubó a 60 °C durante 20 min y luego se colocaron los tubos en baño con hielo, se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro (Multiskan Thermo scientific) a 544 nm.

### **Análisis estadístico**

Los datos de las variables fitoquímicas se analizaron con una prueba de comparación de medias. También realizó un análisis de componentes principales (ACP) y la gráfica con el programa SPSS 15 (SPPS 2006) para el agrupamiento de las variables fitoquímicas (SAS 2002).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la prueba con agentes cromógenos en tubo, se observó que ninguno de los extractos de las diferentes estructuras vegetales de las plantas de vainilla procedente de los diferentes sitios, contenía taninos, ya sea porque estos fitoquímicos están ausentes en o que sus concentraciones son notablemente bajas y por lo tanto, son indetectables con esta metodología (Cuadro 4.1).

**Cuadro 4.1.** Pruebas fitoquímicas preliminares en *Vanilla planifolia* J., por agentes cromógenos en tubo, en diferente municipio y sitio de la Huasteca Potosina, México.

<b>Municipio Matlapa, sitio Cuichapa</b>						
<b>Compuesto</b>	<b>Prueba</b>	<b>Solvente</b>	<b>Hoja</b>	<b>Tallo</b>	<b>Flor</b>	<b>Vaina Verde</b>
<b>Saponinas</b>	Fehling	Metanol	-	+	++	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Flavonoides</b>	HCl+Mg <sup>+2</sup>	Metanol	+	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Taninos</b>	FeCl <sub>3</sub>	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Ácidos Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Terpenos</b>	Liebermann	Metanol	-	-	+	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-

<b>Municipio Matlapa, sitio Tamala</b>						
<b>Compuesto</b>	<b>Prueba</b>	<b>Solvente</b>	<b>Hoja</b>	<b>Tallo</b>	<b>Flor</b>	<b>Vaina Verde</b>
<b>Saponinas</b>	Fehling	Metanol	+	+	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	++	++	++	-
<b>Flavonoides</b>	HCl+Mg <sup>+2</sup>	Metanol	-	+	-	++
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Taninos</b>	FeCl <sub>3</sub>	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Ác. fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	Metanol	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
<b>Terpenos</b>	Liebermann	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-

Municipio Aquismón, sitio Jomté						
Compuesto	Prueba	Solvente	Hoja	Tallo	Flor	Vaina Verde
<b>Saponinas</b>	Fehling	Metanol	++	-	+	-
		Cloroformo	+	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Flavonoides</b>	HCl+Mg <sup>+2</sup>	Metanol	+	-	++	+
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Taninos</b>	FeCl <sub>3</sub>	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-
<b>Ácidos Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Agua	-	-	-	++
<b>Terpenos</b>	Liebermann	Metanol	-	-	-	-
		Cloroformo	-	-	-	-
		Hexano	-	-	-	-

Simbología: ++ presencia moderada, + presencia mínima, - ausencia

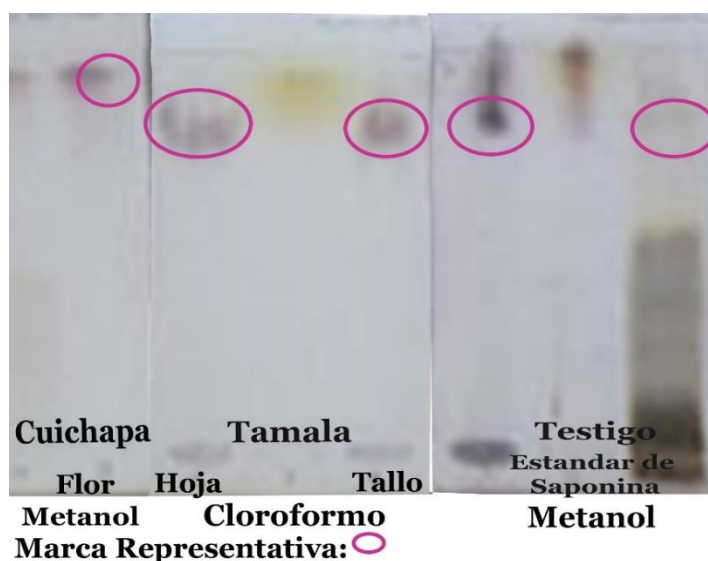
Los compuestos detectados con mayor frecuencia en las muestras de Cuichapa fueron: terpenoides en flor y tallo, flavonoides en hoja y terpenos en flor. Para el sitio de Tamala se detectaron: terpenoides en tallo y hoja, alcaloides en hoja tallo y flor, y flavonoides en tallo y fruto verde. En el sitio de Jomté, Aquismón, se encontraron terpenoides en hoja, flavonoides en hoja, flor y fruto verde, y ácidos fenólicos en fruto verde. Estos resultados son un tanto inconsistentes sobre todo en la detección de compuestos fenólicos, sin embargo esto pudiera deberse a que la mayoría de los compuestos aromáticos de la vainilla están en forma glucosilada en el fruto verde, por lo cual el método de detección no fue adecuado para su identificación.

### Cromatografía de capa fina

**Terpenoides.** Este compuesto se presentó en las estructuras vegetales de hoja, tallo y flor que mostraron marcas representativas de este compuesto (Figura 4.1). El grupo de los terpenos incluye hormonas (giberelinas y ácido abscísico), pigmentos carotenoides (carotenos y xantofilas), esteroides (ergosterol, citosterol, colesterol), glucosidos cardiacos, látex y aceites

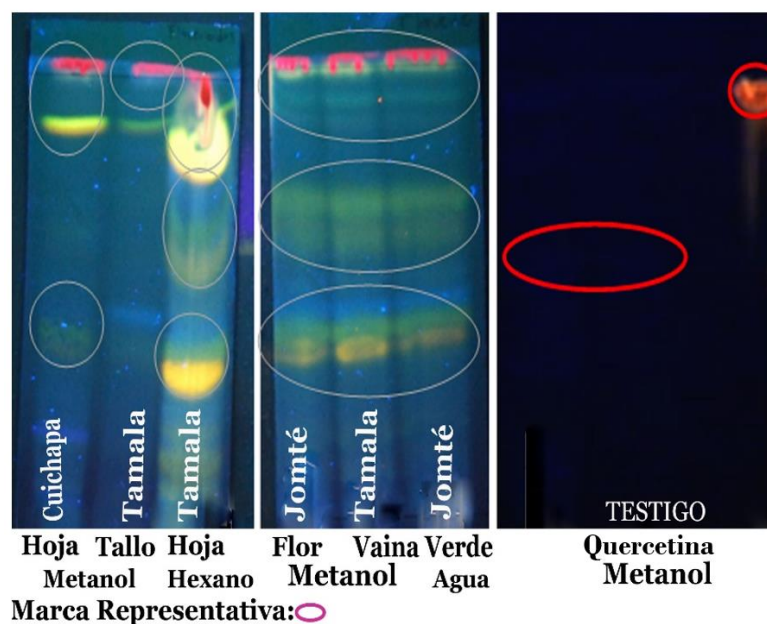


esenciales (proporcionan el olor y el sabor característico de las plantas), por lo tanto tienen un valor fisiológico y comercial (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).



**Figura 4.1.** Marcas representativas de terpenoides en cromatografía de capa fina en diferentes estructuras de *Vanilla planifolia* J. procedentes de la Huasteca Potosina, México.

**Flavonoides:** La extracción con metanol fue la más adecuada para extraer flavonoides como se observa en la Figura 4.2. La diversidad que se presenta en las placas es amplia aunque para este estudio no se realizó la clasificación de estos compuestos. En este grupo de numerosos flavonoides hubo coincidencia con el estándar empleado, lo que permitió confirmar su presencia en las estructuras vegetales. Los flavonoides tienen la capacidad de proteger al organismo del daño producido por agentes oxidantes como los rayos ultravioleta y la contaminación ambiental. También han demostrado poseer efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos, así como propiedades de agente quimiopreventivo. Entre otras funciones presenta regulación del crecimiento celular y se le han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer y cardiopatías (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).



**Figura 4.2.** Marcas representativas de flavonoides en cromatografía de capa fina en diferentes estructuras de *Vanilla planifolia* J. procedentes de la Huasteca Potosina, México.

### Cuantificación de compuestos fitoquímicos

La cuantificación de compuestos fitoquímicos se realizó para flavonoides y terpenoides, ya que estos grupos fueron confirmados en repetidas ocasiones en pruebas preliminares (Cuadro 4.2).

**Cuadro 4.2.** Análisis de varianza de variables fitoquímicas de estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. procedente de la Huasteca Potosina, México.

Compuesto Fitoquímico	Sitio	Estructura vegetal	Media (mg g <sup>-1</sup> )	Coeficiente Variación	Cuadrados de la media	
					Modelo	Error
Flavonoides	Cuichapa	hoja	0.72983	8.75	0.4677**	0.0011
	Jomté	flor	0.78377	9.36	0.4677**	0.0011
	Tamala	tallos	0.69067	9.36	0.4677**	0.0011
	Tamala	vaina verde	0.74457	9.36	0.4677**	0.0011
Terpenoides	Jomté	hoja	0.68860	3.43	0.3668**	0.00008
	Tamala	tallos	0.67860	3.43	0.3668**	0.00008
	Tamala	tallos	0.72980	3.43	0.3668**	0.00008

Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). \*\*:  $P < 0001$ .

En la cuantificación de compuestos fitoquímicos de diferentes estructuras de *Vanilla planifolia* J., los flavonoides se encuentran en tres sitios; Cuichapa con flavonoides en hoja (0.72983 mg g<sup>-1</sup>), Jomté con flavonoides identificados en flor (0.78377 mg g<sup>-1</sup>) y en Tamala se presentaron flavonoides en tallo (0.69067 mg g<sup>-1</sup>) y en vaina verde (0.74457 mg g<sup>-1</sup>); aunque estas cantidades se encuentran por debajo del intervalo de 2.263 mg g<sup>-1</sup> a 72.078 mg g<sup>-1</sup> que es considerado para uso medicinal y farmacológico (García, 2007).

Es importante considerar que los flavonoides obtenidos de las estructuras vegetales de *V. planifolia*, pertenecientes al grupo de compuestos fenólicos, dependen del grado de oxidación y sustitución del anillo pirano central, pueden subdividirse en flavones, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos y antocianinas (Soto-Hernández, 2013); además puede presentarse agliconas libres e interacciones entre los componentes del extracto (Rizner *et al.*, 2000).

El contenido de terpenoides identificados en el sitio Tamala en el tallo (0.72 mg g<sup>-1</sup>) y en el sitio de Jomté en las hojas (0.68 mg g<sup>-1</sup>), es considerablemente bajo, con relación a especies como lavándula (*Lavandula agustifolia*) (28.45 mg g<sup>-1</sup>) o cilantro (*Coriandrum sativum* L.) (31.07 mg g<sup>-1</sup>). Este grupo incluye reguladores del crecimiento (giberelinas y ácido abscísico), pigmentos (carotenos y xantofilas), esteroides (ergosterol, citosterol, colesterol), glucosidos cardiacos, látex y aceites esenciales (proporcionan el olor y el sabor característico

de las plantas). Aunque las citoquininas y las clorofilas no son terpenos, contienen en su estructura una cadena lateral que es un terpeno. A la vista de esta variedad de compuestos, es evidente que muchos terpenos tienen un importante valor fisiológico y comercial (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

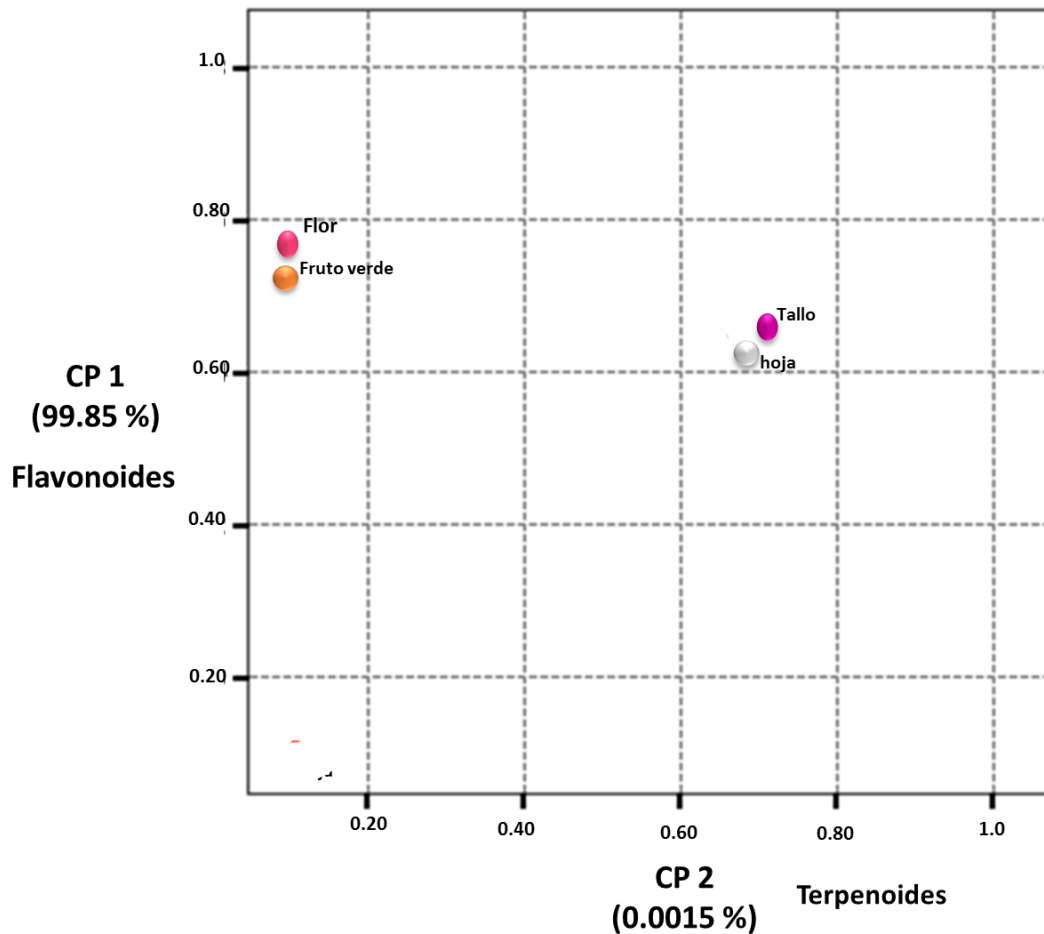
### Distribución de la diversidad

El análisis de componentes principales de las estructuras vegetales de tallo, hoja, flor y fruto verde, de los tres sitios (Cuichapa, Tamala y Jomté), representado por los dos primeros componentes principales, explicó en conjunto 100 % de la variación total. El primer componente principal aportó 99.85 % y el segundo componente principal 0.15 % (Cuadro 4.3).

**Cuadro 4.3.** Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable, en los dos primeros componentes principales (CP).

Variables fitoquímicas	CP1	CP2
Flavonoides	<b>0.7071</b>	0.7071
Terpenoides	- 0.7071	<b>0.7071</b>
Valores propios	1.9969	0.0030
Proporción variación total	99.85	0.15
Variación acumulada	99.85	1.00

En el primer componente (CP1) sobresalen las variable fitoquímica de flavonoides (0.7071) y el segundo componente (CP2) la variable relevante fue terpenoides (0.7071). Las características fitoquímicas de las distintas estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, y su distribución se muestra en la figura 4.3.



**Figura 4.3.** Dispersión de los compuestos fitoquímicos de diferentes estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. basados en el análisis de los primeros dos componentes principales.

Como se puede observar en la figura 4.3, la mayor fuente de terpenoides se ubica en tallo y hoja, mientras que la flor y vaina son fuente de flavonoides. Sin embargo no se detectó una concentración significativa de compuestos fenólicos lo cual puede explicarse por la falta de pericia en el desarrollo de las metodologías, o mal manejo de la muestra, pues no coincide con los resultados de otros estudios, en donde la concentración de compuestos fenólicos debe ser abundante.

También es posible que las variaciones en la concentración de los compuestos fitoquímicos pueden derivarse de su adaptación fitoquímica local que tienen control genético y vinculado a su hábitat (Lebot y Levesque 1996; Ruiz *et al.*, 2007; Gross *et al.*, 2009). Los compuestos fitoquímicos cumplen una función ecológica específica, como por ejemplo son los responsables de atraer a los polinizadores, sintetizadores por daño en algún tejido, o para comunicación simbiótica con microorganismos (Dixon y Paiva, 1995).

## CONCLUSIONES

Se demostró la presencia y diversidad de metabolitos de interés medicinal y nutraceútico en estructuras vegetales de *Vanilla planifolia* J. procedente de la Huasteca Potosina, México, tales como flavonoides, terpenoides y ácidos fenólicos, pero en las concentraciones muy por debajo de lo reportado para otras especies de interés medicinal. Sin embargo este estudio es uno de los primeros en donde se identifican y cuantifican los compuestos fitoquímicos de la planta de *Vainilla planifolia* J. procedente de la Huasteca Potosina, México.

## LITERATURA CITADA

- Ávalos, G.A., Pérez-Urria, C. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Serie Fisiología Vegetal 2(3): 119-145.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2012. Estrategia Mexicana para la conservación vegetal, 2012-2030. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad México. 98 p.
- Dai, J., Mumper, R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer. Journal Molecules 15: 7313-7352.
- Dixon, R.A., Paiva, N.L. 1995. Stress-Induced phenylpropanoid metabolism. American society of plant physiologist. Plant Cell 7: 1085-1097.
- Edwards, R., Gatehouse, J.A. 1999. Secondary metabolism. In: P.J. Lea., and R.C. Leegood (eds.). Plant Biochemistry and Molecular Biology. John Wiley and Sons Ltd. Maryland, USA. pp. 193-218.
- García, N.M. 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Memorias de investigación. Universidad Autónoma de Querétaro. Recuperado en junio 2015 y consultado en la página: [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56\\_1UAQGarcíaNava.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_1UAQGarcíaNava.pdf).
- Gross, M., Lewinsohn, E., Tadmor, Y., Bar, E., Dudai, N., Cohen, Y., Friedman, J. 2009. The inheritance of volatile phenylpropenes in bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*, Apiaceae) chemotypes and their distribution within the plant. Biochemical Systematics and Ecology 37: 308–316.
- Hiai, S., Oiera, H., Nakajima, T. 1976. Color reaction of some sapogenins and saponins with vainillin and sulfuric acid. Planta Medica 29(2): 116-122.
- IMSS. Instituto Mexicano del Seguro Social. 2014. Unidad Médica Rural No. 139 Régimen de oportunidades. Estrategias de Salud 104 p.
- Martinez-Floréz, S., González, G.J., Culebras, J.M., Tuñon, M.J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Departamento de fisiología, Universidad de León, España. Nutrición Hospitalaria 6: 271-278

- Lebot, V., Levesque, J. 1996. Genetic control of Kavalactones chemotypes in *Piper methysticum* cultivars. *Phytochemistry* 43: 397–403.
- Ocegueda, S., Moreno, E., Koleff, P. 2005. Plantas utilizadas en la medicina en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas*. 62: 12-15.
- Paiva, N.L. 2000. An introduction to the biosynthesis of chemical used in plant microbe communication. *Journal Plant Growth Regulation* 19:131-143.
- Rizner, H.A., Hadolin, M., Knez, Z., Baumann, D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extraction with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry* 71: 229-333.
- Ruiz, C., Tunarosa, F., Martínez, J., Stashenko, E. 2007. Estudio comparativo por GC-MS de metabolitos secundarios volátiles de dos quimiotipos de *Lippia origanoides* H. B. K., obtenidos por diferentes técnicas de extracción. *Scientia et Technica* 3: 325–328.
- SAS. 2002. SAS/STAT Users guide version 9. SAS Institute Inc, North Carolina.
- Shanmugavalli, N., Umashankar, V., y Raheem. 2009. Antimicrobial activity of *Vanilla planifolia*. *Indian Journal Science Technology* 2(3): 37-40.
- Soto-Hernández, R.M. 2013. Fitoquímica: Manual de prácticas. Programa de Postgrado en Botánica. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. Pp. 1-75.
- SPSS. 2006. versión 15.0 IBM Company Headquarters. Institute Inc, Illinois USA.
- Sun, R., J.N. Sacalis, C.K. Chin, y C.C. Still. 2001. Bioactive aromatic compounds from leaves and stem of Vanilla. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49:5161-5164.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2006. Fisiología Vegetal. Volumen 2: Crecimiento y desarrollo. Publicacions de la Universitat Jaume I. Castelló de la Plana. Pp. 583-699.
- Wagner, H., Blant, S. 2001. Plant drug analysis second edition. A thin layer chromatography atlas. Munich, Alemania. 368 p.
- Wink M., Schimmer, O. 1999. Modes of action of defensive secondary metabolites. *In*: M. Wink. (ed.) *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*. Sheffield Academic Press. Sheffield, England. 304 p.



## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES GENERALES

Las vainas beneficiadas de *Vanilla planifolia* J. procedentes de la Huasteca Potosina presentan diferencias dentro de las poblaciones en el contenido de compuestos aromáticos de los frutos beneficiados, atribuyendo estas diferencias al resultado de la interacción del medio con la especie, así como las condiciones de cultivo e índice de cosecha.

Con relación al contenido de compuestos fitoquímicos, contrario a lo que se esperaba, la concentración de compuestos como terpenoides y flavonoides, fue baja con relación a otras especies vegetales. Por lo cual su explotación comercial no es viable, aunque representa una opción para su utilización en la medicina tradicional, puesto que es un recurso accesible en esta zona geográfica donde se le maneja en la Huasteca Potosina, México.

## CAPITULO VI

### ANEXOS

#### ANEXO 1.

Análisis de varianza de variables fisicoquímicas de vainas beneficiadas de *Vanilla planifolia* J. procedente de la Huasteca Potosina, México.

Variable	Media	Coeficiente de Variación	Cuadrados de la media	
			Modelo	Error
<b>Fisicoquímicas</b>				
Azúcares totales (B.H.)	3.84	24.87	4.46**	0.9142
Glucosa	2.65	22.88	1.66**	0.3699
Fructosa	0.59	29.46	0.23**	0.0312
Sacarosa	0.59	42.91	0.16**	0.0641
pH	4.81	4.618	0.40**	0.0494
Humedad (%)	31.80	10.43	102.86**	11.0215
Aw	0.86	0.60	0.0003**	0.00002
Chroma	10.81	3.71	38.46**	0.1611
Hue	238.17	1.10	210.33**	6.8836
Flexibilidad (g <sub>f</sub> )	134.82	14.07	23017.99**	359.9633
Largo (mm)	159.76	5.24	2774.83**	70.1111
Diámetro (mm)	6.77	16.84	2.89**	1.3027
Grosor (mm)	3.11	16.09	1.29**	0.2505
Flexibilidad/Largo	0.86	19.06	1.28**	0.0272
Flexibilidad/Diámetro	20.33	26.30	491.93**	28.6121
Flexibilidad/Grosor	45.88	22.63	3348.92**	107.9158

\*\* :  $P < 0001$ .

## ANEXO 2.

Medias y coeficientes de variación de las 10 variables evaluadas en 15 sitios de *Vainilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México.

Variables		Media (ppm <sup>a</sup> )	Coeficiente de Variación	Cuadrado de la Media	
Componentes				Modelo	Error
C <sub>1</sub>	Ácido Hidroxibenzoico	230	6.6	0.0002***	0.000002
C <sub>2</sub>	Ácido Vanílico	560	13.6	0.0014***	0.000058
C <sub>3</sub>	4-Hidroxibenzaldehido	680	10.6	0.0004***	0.000051
C <sub>4</sub>	Vainillina	16400	5.9	0.1762***	0.009590
<b>Proporción de CM/Contenido de Vainillina</b>					
$\sum$ CM (C <sub>1</sub> +C <sub>2</sub> +C <sub>3</sub> )	$\sum$ Compuestos Menores	1470	7.1	0.0018***	0.000110
C <sub>1</sub> /C <sub>4</sub>	Ácido Hidroxibenzoico/Vainillina	0.0140	8.2	0.0001***	0.000001
C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub>	Ácido Vanílico/Vainillina	0.0341	12.0	0.0005***	0.000017
C <sub>3</sub> /C <sub>4</sub>	4-Hidroxibenzaldehido/Vainillina	0.0414	11.7	0.0001***	0.000024
C <sub>1</sub> + C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub>	Ácido Hidroxibenzoico+ Ácido Vanílico/Vainillina	0.0481	8.5	0.0002***	0.057546
$\sum$ CM/C <sub>4</sub>	Proporción $\sum$ CM/Vainillina	0.0896	7.5	8.8036***	0.470318

ppm<sup>a</sup>: mg kg<sup>-1</sup> de vainilla beneficiada; \*\*\* : P < 0001.

### ANEXO 3. METODOS PARA DETERMINAR PRESENCIA DE FITOQUÍMICOS

Metodología empleada para determinar presencia de fitoquímicos por pruebas cromógenas.

Fitoquímico	Prueba	Metodología
Saponinas	Fehling	Preparación de reactivos para 25 ml de reactivo de Fehling Solución A: disolver 6.4 g de sulfato de cobre en 50 ml de agua. Solución B: disolver 176 g de tartrato sódico potásico y 77g de NaOH en 500ml de agua. Para usarse se juntan soluciones A y solución B (1:1). Se colocan 150 µl del extracto. Se prepara el testigo de saponina. En otro tubo con la mezcla 1:1, tomo 1ml y después agrego 0.5 ml de Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> a 5%, se colocan en baño maria (cuando este al punto de ebullición) por 30 minutos. El positivo presenta color rosa.
Alcaloides	Dragendorff	Se coloca 100µL del extracto. Como testigo se utiliza Lupinus. A cada tubo que contiene el extracto se le adicionara 2 ml de HCl al 1% en H <sub>2</sub> O Se colocan los tubos a baño maria por 20 minutos. Se dejan enfriar los tubos a temperatura ambiente, para después agregarle 3 gotas del reactivo de Dragendorff. De ser positiva la prueba presentara coloración naranja intenso.
Terpenos	Lieberman-Burchard	Se coloca 100µL del extracto. Como testigo se utiliza ácido masticadienoico. En 100µL del extracto, se agrega 100µL de cloroformo además de 100µL de anhídrido acético se reposa en frio. Posteriormente adicionar 18µL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . La presencia de coloración verde azulado indica presencia de triterpenos
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	En 100µL del extracto, se agrega 40µL de FeCl <sub>3</sub> al 5%. Como testigo se utilizó ácido tánico 0.5mg/ml La presencia de color azul oscuro a negro verdoso indica presencia de taninos
Ácidos fenólicos	FeCl <sub>3</sub> 5% °/H <sub>2</sub> O	En 100µL del extracto, se agrega 200µL de FeCl <sub>3</sub> al 5%. Como testigo se utilizó ácido gálico 1.65 mg/ml La presencia de color negro azulado indica presencia de ácidos fenólicos
Flavonoides	FeCl <sub>3</sub> 5% °/H <sub>2</sub> O HCl+Mg <sup>+2</sup>	En 100µL del extracto, se agrega 200µL de ácido clorhídrico concentrado, después se adiciona un trozo de cinta de magnesio.  Como testigo se utilizó quercitina 2.5 mg/ml  La formación de espuma rojiza es indicativa de la presencia de flavonoides.

## ANEXO 4. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

### **Reactivo Rosenthaler**

A 1 gr de vainillina se añaden 10 mL de etanol.

### **Reactivo Wagner**

Se agregan 0.127 gr de I<sub>2</sub> y 0.2 gr de KI en 2 mL destilada y se aforan a 10 mL.

### **Reactivo de Libermann-Burchard**

Se añade cuidadosamente 5 mL de anhídrido acético y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a 50 mL de etanol absoluto previamente enfriado en hielo. El reactivo se usa fresco.

### **Reactivo de Dragendorff**

Solución “a” Se disuelven 0.85g de nitrato básico de bismuto en 10 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua (con calentamiento y filtración si es necesario).

Solución “b” Se disuelven 8g de ioduro de potasio en 30 mL de agua.

Solución stock. Solución a y b se mezclan 1:1.

### **Reactivo de vainillina – Ácido sulfúrico**

Solución 1. Vainillina al 1% en etanol.

Solución 2. Ácido sulfúrico al 10% en etanol.

### **Revelador Anisaldehído.**

Anisaldehído, ácido sulfúrico, ácido acético glacial. Se mezclan en la siguiente proporción: 10:0.2:0.1 mL.

## ANEXO 5. METODOLOGÍA EMPLEADA PARA DETERMINAR PRESENCIA DE FITOQUÍMICOS POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

### Saponinas

- 1.-Se aplican las muestras de extractos de cada sitio en forma lineal.
- 2.-Se utiliza un estandar de saponina como control
- 3.-Se emplea una placa de silica gel de 5x10 cm Sigma-Aldrich silica gel matrix.
- 4.-Se introduce la placa en una cámara cromatografía, usando un sistema de corrimiento:  
cloroformo:acetato de etilo:metanol:agua (11:6:2:1)
- 5.-Retirar las placas hasta que el sistema desplace nuestra muestra hasta 1cm antes del final de la placa.
- 6.-Dejar secar la placa de silica gel y asperjar el revelador anisaldehido, vainillina con ácido sulfúrico, en la placa, la placa se calienta a 110 °C por 5 minutos.

### Alcaloides

- 1.- Se aplican las muestras de extractos de cada sitio en forma lineal.
- 2.- Como testigo se tomara a *Lupinus* que nos dará positivo a alcaloides.
- 3.-Se aplicaran en forma de banda en una placa de silica gel de 5x10 cm Sigma-Aldrich silica gel matrix.
- 4.-Se introduce la placa en una cámara cromatografía usando un sistema de corrimiento:  
metanol:diclorometano (9:1)
- 5.-Retirar las placas hasta que el sistema desplace nuestra muestra hasta 1 cm antes del final de la placa.
- 6.-Dejar secar la placa de silica gel y asperjar el revelador Reactivo de Dragendorff, se debe calentar la placa a 100 °C por 5 minutos.

### Flavonoides

- 1.- Se aplican las muestras de extractos de cada sitio en forma lineal.
- 2.- Como testigo se tomara al té verde que nos dará positivo a flavonoides.
- 3.-Se aplicaran en forma de banda en una placa de silica gel de 5x10cm Sigma-Aldrich silica gel matrix
- 4.-Se introduce la placa en una cámara cromatografía, usando un sistema de corrimiento:  
acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua (14:2:2:2)
- 5.-Retirar las placas hasta que el sistema desplace nuestra muestra hasta 1cm antes del final de la placa.
- 6.-Dejar secar la placa de silica gel y asperjar el revelador NP-PEP sobre la placa y se debe observar las placas a luz UV, se caracteriza por medio de la presencia de coloración verde o amarillenta indica presencia de flavonoides

## **Taninos**

- 1.- Se aplican las muestras de extractos de cada sitio en forma lineal.
- 2.- Como testigo se tomara al té verde que nos dará positivo a en taninos.
- 3.-Se aplicaran en forma de banda en una placa de silica gel de 5x10 cm Sigma-Aldrich silica gel matrix.
- 4.-Se introduce la placa en una cámara cromatografía, usando un sistema de corrimiento: acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua (6:6:6:2)
- 5.-Retirar las placas hasta que el sistema desplace nuestra muestra hasta 5 cm antes del final de la placa.
- 6.-Dejar secar la placa de silica gel y asperjar el revelador FeCl, sin aplicar calor, se caracteriza por medio de la presencia de coloraciones azules indica presencia de taninos.

## **Terpenos**

- 1.- Se aplican las muestras de extractos de cada sitio en forma lineal.
- 2.- Como testigo se tomara al té verde que nos dará positivo a en taninos.
- 3.-Se aplicaran en forma de banda en una placa de silica gel de 5x10 cm Sigma-Aldrich silica gel matrix.
- 4.-Se introduce la placa en una cámara cromatografía, usando un sistema de corrimiento de acuerdo a las características con las cuales se encuentre el extracto:
  - 4.1. Muestras extraídas con hexano: hexano:acetato de etilo (8:2)
  - 4.2. Muestras extraídas con metanol: metanol:acetato de etilo (9:1)
  - 4.1. Muestras extraídas con diclorometano: hexano:acetato de etilo (6:4)
- 5.-Retirar las placas hasta que el sistema desplace nuestra muestra hasta 5 cm antes del final de la placa.
- 6.-Dejar secar la placa de silica gel y asperjar el revelador vainillina-ácido sulfúrico, se aplica calor a 110 °C por 5 minutos.

## **Ácidos fenólicos**

- 1.- Se aplican las muestras de extractos de cada sitio en forma lineal.
- 2.- Como testigo se tomara al té verde que nos dará positivo a en taninos.
- 3.-Se aplicaran en forma de banda en una placa de silica gel de 5x10 cm Sigma-Aldrich silica gel matrix.
- 4.-Se introduce la placa en una cámara cromatografía, usando un sistema de corrimiento: acetato de etilo: metanol (9:1)

- 5.-Retirar las placas hasta que el sistema desplace nuestra muestra hasta 5 cm antes del final de la placa.
- 6.-Dejar secar la placa de silica gel y asperjar el revelador Folin Ciocalteu, después se le aplican vapores de amonio, sin aplicar calor.