



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**INFLUENCIA DEL PROCESO DE BENEFICIADO EN LA CALIDAD DE
LOS COMPUESTOS DEL AROMA DE *Vanilla planifolia* J.**

REYNA CONCEPCIÓN XOCHIPA MORANTE

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2015



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

CAMPUE- 43-2-03

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Reyna Concepción Xochipa Morante**, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección de la Profesora **Dra. Adriana Delgado Alvarado**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Influencia del proceso de beneficiado en la calidad de los compuestos del aroma de *Vanilla planifolia* J.**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, 20 de noviembre del 2015.

Reyna Concepción Xochipa Morante

Nombre completo y Firma

Dra. Adriana Delgado Alvarado

Vo. Bo. Profesora Consejera
Nombre completo y Firma

La presente tesis, titulada: **Influencia del proceso de beneficiado en la calidad de los compuestos del aroma de *Vanilla planifolia* J.**, realizada por la alumna: **Reyna Concepción Xochipa Morante**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:



DRA. ADRIANA DELGADO ALVARADO

ASESOR:



DR. BRAULIO EDGAR HERRERA CABRERA

ASESOR:



DR. JOSÉ SERGIO ESCOBEDO GARRIDO

ASESORA:



DRA. MARÍA DE LOURDES ARÉVALO GALARZA

Puebla, Puebla, México, 9 de diciembre del 2015

INFLUENCIA DEL PROCESO DE BENEFICIADO EN LA CALIDAD DE LOS COMPUESTOS DEL AROMA DE *Vanilla planifolia* J.

Reyna Concepción Xochipa Morante, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2015

El control de calidad durante el beneficio de la vainilla es un proceso complejo, ya que la realización de cada paso depende de la madurez de la vaina, condiciones climáticas, cantidad de vainas a beneficiar, experiencia y capacidad de la mano de obra, entre otros factores. El trabajo tuvo como objetivo describir las etapas y variantes que se consideran en el proceso de curado de vainas de una plantación de vainilla, procesadas en cinco beneficios de la región del Totonacapan Puebla-Veracruz y uno de la Huasteca Potosina. Asimismo se evaluó el efecto del beneficiado en la calidad de vainilla, con base en el contenido de los componentes del aroma, características fisicoquímicas y microbiológicas, para entender los puntos críticos de control en el proceso de curado de la vainilla mexicana. El estudio se hizo en dos fases: Etapa I, aplicación de una entrevista a los responsables de cinco beneficios de Veracruz y uno de San Luis Potosí, acerca de los pasos del proceso de beneficio de la vainilla. A cada beneficiador (B1-B6) se le otorgaron vainas de un mismo clon de 32 semanas de edad, para beneficiarse junto con vainas del mismo beneficiador (vainas de referencia, R1-R6). Etapa II, se realizó una evaluación de los componentes más abundantes del aroma (componentes menores, CM = ácido *p*-hidroxibenzóico, C1; ácido vanílico, C2; *p*-hidroxibenzaldehído, C3; y vainillina, C4), propiedades fisicoquímicas (color, A_w , pH, humedad, firmeza, y azúcares solubles) y composición microbiológica (bacterias, coliformes, hongos, y levaduras) de las vainas después de tres meses de beneficio. Se realizaron análisis de varianza y mediante la prueba de Tukey se compararon las medias de los tratamientos de cada uno de las variables evaluadas, además se realizaron análisis de componentes principales y conglomerados. Los resultados de la Etapa I evidenciaron que el beneficiado comprende siete etapas generales con variaciones entre beneficios, principalmente en las primeras etapas (lavado y marchitado). En la Etapa II todas las variables evaluadas en los compuestos del aroma registraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$), lo que indica amplia variabilidad en los procesos de curado entre beneficiadores. Mediante el análisis de componentes principales se clasificaron los seis beneficiados de *V. planifolia* J., representado por los tres primeros componentes principales (CP), derivado del análisis de 27 variables, explicó 68.80 % de la variabilidad total. En el CP1 con 36.34 %, las variables de mayor importancia fueron las del aroma (CM/C4, CM, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4); en el CP2, dos variables microbiológicas (levaduras, bacterias) y tres aromáticas (C2/C4, C2, C4) explicaron 18.94 %; y en el CP3 cuatro variables fisicoquímicas (firmeza/ancho, firmeza/largo, pH y humedad) con 13.52 %. Los tratamientos se agruparon en cinco grupos y dentro de ellos el GII integrado por B2, R2, B3 y B5 tuvieron características uniformes en cuanto al aroma, atributos fisicoquímicos y microbiológicos. Se concluye que independientemente de que las vainas de vainilla sean del mismo clon, estado de madurez y sitio de producción, las diferentes actividades realizadas durante el beneficiado impactan en la concentración de los componentes más abundantes del aroma, en los atributos fisicoquímicos y composición microbiológica de las vainas beneficiadas, lo que denota la influencia que tiene el beneficiado.

Palabras clave: atributos fisicoquímicos, beneficio, composición microbiológica, compuestos aromáticos, vainilla beneficiada.

INFLUENCE OF TRADITIONAL CURING PROCESS ON QUALITY AROMA COMPOUNDS OF *Vanilla planifolia* J.

Reyna Concepción Xochipa Morante, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2015

Quality control for the curing of vanilla is a complex process, since carrying out each step depends on the bean maturity, weather conditions, number of beans to cure, experience and labor ability among other factors. Hence, this study aimed to describe stages and variations, which are envisaged in the curing process of beans from a vanilla plantation processed in five curing enterprises of the Totonacapan Puebla-Veracruz region, and one of the Huasteca Potosina. In order to assess the final quality of curing vanilla beans based on the content of aroma components, physicochemical and microbiological characteristics, to understand the critical control points in the curing process of the Mexican vanilla. The study was done in two phases: Phase I, an interview was applied to the heads of five curing enterprises from Veracruz and one from Tamazunchale, San Luis Potosí, about the steps of the curing process. Vanilla pods of the same clone of 32 weeks old were assigned to each benefit (B1-B6) for curing together vanilla pods of the same benefit (reference pods, R1-R2). Phase II, evaluation of the most abundant aroma components (minor components, MC = *p*-hydroxybenzoic acid, C1; vanillic acid, C2; *p*-hydroxybenzaldehyde, C3; and vanillin, C4), physicochemical properties (color, Aw, pH, moisture, firmness, soluble sugars) and microbiological composition (bacteria, coliforms, fungi and yeasts) of pods after three months of benefit. ANOVA was performed and by Turkey's test each of the variables measured were compared. In addition cluster analysis and principal components were performed. Results of Phase I showed that the cured process has seven general steps with variations between benefits, mainly in the early stages (washing and killing). In Phase II all variables in the aroma compounds had highly significant differences ($p < 0.001$), indicating wide variability in the curing processes among benefits. By analyzing the distribution of principal components of the six benefits from *V. planifolia* J. represented by the first three principal components (PC), resulting from analysis of 27 variables, 68.80% of the total variability was explained. Within the PC1 with 36.34%, the most important variables were those of the aroma (MC/C4, MC, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4); at PC2 two microbiological variables (yeasts, bacteria) and three aromatic variables (C2/C4, C2, C4) explained 18.94%; and PC3 had four physicochemical variables (firmness/width, firmness/long, pH and humidity) with 13.52%. Treatments were grouped into five groups and within them the GII composed of B2, R2, B3 and B5 were similar in regard to aroma, physicochemical and microbiological attributes. We conclude that irrespective of vanilla pods are of the same clone, ripeness and production site, the different activities during the benefit impact on the concentration of the most abundant aroma components, in the physicochemical attributes and microbiological composition of cured beans, reflecting the influence of the benefit.

Keywords: aromatic compounds, benefit, cured vanilla, microbiological composition, physicochemical attributes.

DEDICATORIA

A Dios por ayudarme y guiarme para culminar esta nueva etapa de mi vida

A mis padres: Lucina Morante y José Xochipa por el apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.

A mis hermanos: José Roberto Xochipa Morante y Miguel Ángel Xochipa Morante.

Al regidor Zeferino Martínez Rodríguez, por ser mi ejemplo de lucha y compromiso a favor de las causas justas del pueblo.

A *Petus* por su lealtad, amor y paciencia.

A la Dra. Adriana Delgado, Dr. Sergio Escobedo, Dr. Edgar Herrera, Dr. Mario Valadez, Dr. Luciano Aguirre, Dr. Ignacio Ocampo, Dr. Francisco Calderón, Dr. Néstor Estrella, Dr. Samuel Vargas, Dr. Antonio Macías, Dr. Mario Tornero, Dr. Filemón Parra, Dr. Higinio López, Dr. Javier Cruz, Dra. Patricia Ramírez, Dr. Benjamín Peña por su amistad y apoyo.

A toda la comunidad del Colegio de Postgraduados *campus* Puebla (académicos, compañeros estudiantes, administrativos y trabajadores) por darme la oportunidad de trabajar y aprender de todos ustedes porque con sus muestras de cariño y apoyo han hecho que el Colegio sea mi segunda casa.

De manera especial este trabajo se lo dedico al pueblo mexicano, que con su apoyo económico he podido superarme y a cambio de eso manifiesto mi voluntad de trabajar en beneficio de nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Posgraduados *campus* Puebla por darme la oportunidad de prepararme y ser mejor persona.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por apoyarme económicamente, porque sin su apoyo no me hubiera sido posible realizar mi postgrado.

Agradezco enormemente a mi consejera y amiga a la Dra. Adriana Delgado Alvarado quien siempre ha estado ahí para ayudarme en lo que haga falta; para ella infinitas gracias por sus consejos y apoyo, por ser mi guía durante más de cuatro años, gracias por estar siempre presente para esclarecer ideas, por realizar acertadas observaciones y por fomentar en mi la responsabilidad, disciplina, y deseo de superación, simplemente por apoyarme para poder concluir lo que un día empecé a su lado.

Al Dr. Edgar Herrera Cabrera por brindarme su amistad y por el apoyo académico que me brindo el cual fue fundamental para el avance y culminación de este proyecto.

Al Dr. Sergio Escobedo Garrido quien desde un inicio se involucró y fue parte importante en el desarrollo de esta investigación con sus valiosas recomendaciones para mejorar la calidad de la misma, pero sobre todo por su dedicación, amabilidad en todo momento, profesionalismo y calidad humana.

A la Dra. Lourdes Arévalo Galarza por su colaboración, apoyo y sus valiosas sugerencias en la revisión de la tesis.

Un agradecimiento especial a:

Don Veremundo Rodríguez propietario del vainillal de donde se obtuvieron las muestras representativas de este estudio, al Ing. Juan Pérez Atzin por facilitar material de apoyo que enriqueció el contenido de esta tesis, de igual manera a Don Miguel Acosta y a su esposa, a la Mtra. Cándida, Don Cesar Arellano, al Biólogo Carlos, Don Crispín, quienes también proporcionaron sus vainas beneficiadas para su evaluación en laboratorio, por abrirme las puertas de su hogar y darme la oportunidad de poder documentar sus experiencias y conocimientos entorno al beneficiado de la vainilla. Esta hermosa experiencia me ayudó a madurar y a ser más humana, platicar con ustedes me preparó para una vida profesional con mayores opciones, pues ahora soy más responsable.

Al Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo: en especial a la M.C. Cecilia García Osorio, por su disponibilidad y apoyo durante en las actividades realizadas en el laboratorio.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Facultad de Ingeniería Química–Laboratorio de Análisis de Alimentos): Por el apoyo otorgado para los análisis fisicoquímicos especialmente a la M.C. Madai Gizeh Sánchez, así como a la Dra. Lorena Luna Guevara por ayudarme en el análisis microbiológico.

Al personal administrativo del Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla por su apoyo: al Lic. Levis M. Cortes Rosales, en servicios académicos a Javier Esquivel Santos, Margarita Méndez, Alma Hernández, Roberto Reyes, en la sala de cómputo a Dionicio Martí, y a Lulú Rivas en la biblioteca por brindarme su amistad y apoyo.

Esta investigación fue financiada por:



Colegio de Postgraduados



Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT; Beca Maestría)



Proyecto 2012-04-190442 “Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México”

ÍNDICE GENERAL

	Página
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 JUSTIFICACIÓN	4
1.2 ANTECEDENTES	5
1.3 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	21
1.4 OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	22
1.5 LITERATURA CITADA	25
CAPÍTULO II. CARACTERIZACIÓN DEL MÉTODO MEXICANO DE BENEFICIADO DE LA VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> J.) REGIÓN TOTONACAPAN PUEBLA-VERACRUZ Y HUASTECA POTOSINA	31
2.1 INTRODUCCIÓN	31
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS	34
2.3 RESULTADOS	37
2.4 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	59
2.5 CONCLUSIONES	62
2.6 LITERATURA CITADA	63
CAPÍTULO III. CALIDAD MEXICANA DE LA VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> J.) BENEFICIADA TRADICIONALMENTE	67
3.1 INTRODUCCIÓN	67
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	70
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	80
3.4 CONCLUSIONES	117
3.5 LITERATURA CITADA	118
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS	121
4.1 RESULTADOS GENERALES	121
4.2 CALIDAD MEXICANA DE LA VAINILLA BENEFICIADA	122
4.3 LITERATURA CITADA	135
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES	137
CAPÍTULO VI. RECOMENDACIONES	139
ANEXOS	140

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 Formación de la vainillina y glucosa a partir de la glucovainillina por acción de la -glucosidasa	11
Figura 1.2 Fruto de vainilla plenamente desarrollada	11
Figura 1.3 Estructura interna de la vaina verde	11
Figura 1.4 Ruta biosintética de la vainillina propuesta por Lecomte (1901,1913) y Goris (1924)	12
Figura 1.5 Ruta biosintética de la vainillina (Zenk 1965; Negishi <i>et al.</i> 2009)	13
Figura 1.6 Ruta biosintética de la vainillina propuesta por Kanisawa <i>et al.</i> (1994) a partir del ácido 4-cumárico	13
Figura 1.7 Ruta de biosíntesis de la glucovainillina propuesta por Kanisawa (1994)	14
Figura 1.8 Ruta de biosíntesis de la vainillina a partir del ácido 4-cumárico. Havkin-Frenkel <i>et al.</i> (1999) y Pak <i>et al.</i> (2004).....	15
Figura 1.9 Ruta de biosíntesis de los fenilpropanoides a partir del ácido shikímico y fenilalanina	15
Figura 2.1 Puntos de venta de la vainilla beneficiada por los seis beneficiadores participantes	59
Figura 3.1 Lectura de color por paquetes de dos vainas.....	72
Figura 3.2 Determinación de actividad de agua (A_w).....	72
Figura 3.3 Penetración de la punta del texturómetro en medio de la vaina.....	73
Figura 3.4 Medición de la longitud, ancho y grosor de las vainas beneficiadas	73
Figura 3.5 Lectura del contenido de humedad	74
Figura 3.6 Medición del pH.....	74
Figura 3.7 Extracto filtrado con acrodisco	75
Figura 3.8 Sistema HPLC.....	76
Figura 3.9 Diluciones de las muestras inoculadas en medio de cultivo	77
Figura 3.10 Incubación de las cajas petri	78

Figura 3.11 Dispersión de los tratamientos (B1-B6) y vainas de referencia (R1-R6) de los seis beneficiados de <i>V. planifolia</i> J., basado en el análisis de los primeros tres componentes principales de la evaluación de 10 variables del aroma.....	86
Figura 3.12 Dendrograma de los beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en 10 variables del aroma y agrupamiento de similitud	93
Figura 3.13 Perfil de los componentes del aroma de las vainas beneficiadas de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados	94
Figura 3.14 Dispersión de los beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R), basado en el análisis de los tres primeros componentes principales del análisis de 13 variables fisicoquímicas.....	100
Figura 3.15 Dendrograma de los beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en 13 variables fisicoquímicas y agrupamiento de similitud.....	106
Figura 3.16 Perfil de variables fisicoquímicas de las vainas beneficiadas de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados	107
Figura 3.17 Dispersión de los beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R), basado en el análisis de los primeros tres componentes principales del análisis de cuatro variables microbiológicas	112
Figura 3.18 Dendrograma de los beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en cuatro variables microbiológicas y agrupamiento de similitud	116
Figura 3.19 Perfil de variables microbiológicas de las vainas beneficiadas de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados	117
Figura 4.1 Esquema general del proceso mexicano de beneficio de la vainilla (<i>V. planifolia</i> J.): Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina.....	121
Figura 4.2 Dispersión de los beneficiado de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R), basado en el análisis de los primeros tres componentes principales del análisis de 10 variables del aroma, 13 variables fisicoquímicas y 4 microbiológicas	125
Figura 4.3 Dendrograma de los beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) y vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en 10 variables del aroma, 13 variables fisicoquímicas, 4 microbiológicas y agrupamiento de similitud	134

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1.1 Características de la vainilla según la norma oficial mexicana (NOM-182-SCFI-2011).....	17
Cuadro 1.2 Especificaciones microbiológicas para la vainilla beneficiada	18
Cuadro 2.1 Información sobre la ubicación de los beneficiados de vainilla participantes (B1 B6)	35
Cuadro 2.2 Información general de los beneficiadores entrevistados.....	39
Cuadro 2.3 Información sobre el origen y características de las vainas de vainilla (vainas de referencia) utilizadas en el proceso de beneficiado por los beneficiadores participantes	40
Cuadro 2.4 Actividades durante el acopio de las vainas de referencia (R) a beneficiar	43
Cuadro 2.5 Condiciones del marchitado de la vaina de vainilla en función del volumen, estado de madurez y clima que realizan los beneficiadores bajo estudio.....	47
Cuadro 2.6 Numero de soles para secar la vainilla que realiza cada beneficiador	50
Cuadro 2.7 Empaquetado de las vainas beneficiadas.....	53
Cuadro 2.8 Selección de vainas por tamaño, calidad y humedad	56
Cuadro 3.1 Principales características aromáticas del quimiotipo seis (Q6) de <i>V. planifolia</i> J. de la Región Totonacapan Puebla-Veracruz. C1: ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico, C2: ácido vanílico, C3: <i>p</i> -hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, MC/C4: proporción de los compuestos de menor importancia en relación con el contenido de vainillina	71
Cuadro 3.2 Medias, coeficientes de variación y cuadrados medios de 10 variables evaluadas en los compuestos del aroma de las vainas del Q6 (B) y las vainas de referencia (R), de seis beneficiados de vainilla, en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina. ...	81
Cuadro 3.3 Medias de los cuatro compuestos principales del aroma de vainas de <i>V. planifolia</i> J de seis beneficiados (B1-B6) y las vainas de referencia (R1-R6) de la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina	84
Cuadro 3.4 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable de los compuestos del aroma en los tres primeros componentes principales (CP)	85
Cuadro 3.5 Parámetros del marchitado del fruto	89

Cuadro 3.6 Medias, coeficientes de variación y cuadrados medios de 13 variables evaluadas en las propiedades fisicoquímicas de seis procesos de beneficiado de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) con su referencia (R) en la en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina..	96
Cuadro 3.7 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable de las propiedades fisicoquímicas, en los tres primeros CP*	99
Cuadro 3.8 Numero de soles que se realizan en cada beneficiado durante la etapa del secado	102
Cuadro 3.9 Medias, coeficientes de variación y cuadrados medios de cuatro variables evaluadas en el contenido microbiológico de seis beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) con su referencia (R) en la en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina	108
Cuadro 3.10 Medias de las cuatro variables evaluadas en el contenido microbiológico de seis beneficiados de <i>V. planifolia</i> J. Q6 (B) con su referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina	110
Cuadro 3.11 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable del contenido microbiológico, en los tres primeros componentes principales (CP)	111
Cuadro 4.1 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable, en los tres primeros componentes principales	123

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

Vainilla es un cultivo que está históricamente ligado a la cultura indígena Totonaca (Toussaint-Samat 2002), pertenece a la familia Orchidaceae y forma parte del género *Vanilla*, en él se incluyen poco más de 100 especies (Portères 1954; Soto-Arenas 2003), aunque con fines comerciales solo se cultivan tres: *Vanilla planifolia* G. Jackson (comúnmente llamada *Vanilla planifolia* Andrews o *Vanilla fragans*), *Vanilla pompona* Schiede y *Vanilla tahitensis* J.W. Moore, siendo *V. planifolia* la de mayor importancia por sus propiedades organolépticas y por qué representa 98% de la producción mundial (Besse 2004).

Durante mucho tiempo, Madagascar fue el principal país productor mundial de vainilla natural; actualmente, ha sido desplazado por Indonesia, mientras que México del quinto lugar ascendió al tercero en 2013. De acuerdo con la FAOSTAT (2015), en 2013 Indonesia produjo 3,200 ton lo que representa 38.3% de la producción total a nivel mundial, seguido por Madagascar con 3,100 ton (37.1%), y después México con alrededor de 463 ton (5.5%) superando a Papúa Nueva Guinea con 433 ton (5.1%) y a China con 335 ton (4.0%). A nivel nacional cuatro estados de la república producen la mayor parte de la vainilla: Veracruz (57.4%), Oaxaca (17.9%), San Luis Potosí (16.2%) y Puebla (8.5%) (SIAP-SAGARPA 2012).

Vainilla es considerada el saborizante de mayor importancia en el mercado local e internacional, se utiliza en las industrias agroalimentaria, refresquera, licorera, farmacéutica, cosmética, tabacalera y artesanal (Smith *et al.* 1992). Y también, su cultivo tiene un gran impacto en el ámbito social, económico, cultural y ecológico en las zonas que la producen (Gretzinger y Dean 2010). Sin embargo, para que las vainas maduras de la vainilla se puedan comercializar, es necesario darle valor agregado a través de un proceso de curado o beneficiado (Jaramillo *et al.* 2013). En este proceso las vainas verdes sin olor ni sabor son sometidas a una serie de choques térmicos, que provocan reacciones químicas, bioquímicas, enzimáticas y actividades microbianas, a fin de desarrollar las características que determinan el perfil aromático y la calidad de las vainas, con un color achocolatado brillante, adquiriendo un olor suave y delicado (Ranadive 1994; Havkin-Frenkel 2005; Reyes *et al.* 2008).

Karthik y Balamohan (2013) reportan que la calidad de las vainas de vainilla beneficiada depende de diferentes factores como origen geográfico, especie, madurez de las vainas, condiciones y procesos de beneficiado. En México, el cultivo de la vainilla se lleva a cabo en diferentes ambientes y también el beneficiado se realiza con distintas variantes durante su proceso. Por ejemplo, en las principales zonas de producción como es la región del Totonacapan y en la Huasteca Potosina, los maestros beneficiadores practican diferentes metodologías de beneficiado de acuerdo a las condiciones climáticas, disponibilidad del producto, destino o uso de la vainilla a comercializar. Sin embargo, aunque cada beneficiador tiene su propio sistema de beneficiado, en general existen cuatro etapas dentro de este proceso siendo estas: marchitamiento, sudoración, secado y acondicionamiento (Ramachandra-Rao y Ravishankar 2000), aunque, no todos los beneficiadores las llevan a cabo de la misma manera, esto es en parte debido a las condiciones climáticas propias de los diferentes sitios donde se localizan los beneficiados, a la variabilidad del estado de madurez de las vainas, a los diferentes volúmenes de vainas a procesar, a los recursos disponibles, a la mano de obra, pero sobre todo a las modificaciones inducidas en las condiciones del método a utilizar en cada etapa (Curtí 1995; Odoux 1998; Odoux 2011).

Existen diversos métodos para beneficiar las vainas que incluyen el secado al sol, proceso lento a temperatura ambiente y al horno (Havkin-Frenkel 1997). No obstante, independientemente del tipo de secado que se utilice, debido a la variación natural del estado de maduración de las vainas (8-10 meses), no se deshidratan a la misma velocidad, aun cuando se cosechen y se empiece el beneficiado en la misma fecha (Odoux 2011), por lo que requieren distintos número de asoleados o soles (días de exposición al sol) y tiempo, los cuales varían por la temperatura que se presente ese día y por el estado en el que se encuentren las vainas (crudas, blandas y entresecas).

Es importante tener en cuenta que por la gran heterogeneidad de tratamientos térmicos y las distintas temperaturas a los que pueden ser sometidas las vainas antes y después de la fermentación, características como el color y la textura difieren notablemente entre vainas, el secado ayuda a homogeneizar el aspecto final de la vainilla (Odoux 2011). El beneficiado de la vainilla es el acondicionamiento que podría ser comparado con el añejamiento del vino, debido a que el desarrollo del aroma y sabor se logran en esta etapa. La duración del acondicionamiento puede variar, pero por regla general, se necesitan al menos 90 días para el

desarrollo de aroma y humedad adecuada se logren (Arana 1944).

Como resultado de la interacción conjunta de todas estas variantes que cada beneficiador enfrenta y aplica al proceso, resulta una gran variabilidad en la calidad de las vainas beneficiadas, e impacta significativamente en su perfil de aroma, en los atributos fisicoquímicos, en la carga microbiológica y en general en la calidad del producto final (Toth 2012). Por tanto, la diversificación en los procesos de beneficiado da lugar a vainas con diferentes características en el aroma y sabor, lo que ocasiona que no tengan una calidad estándar, la cual comercialmente está definida por cuatro compuestos fenólicos: vainillina (4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído) cuyas concentraciones generalmente son alrededor de 10.000 a 20,000 ppm, ácido vanílico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico) (2000 ppm), *p*-hidroxibenzaldehído (2000 ppm), y ácido *p*-hidroxibenzóico (200 ppm), reconocidos como los principales compuestos que contribuyen al aroma de la vainilla, por estar presentes en altas concentraciones (Wescott *et al.* 1994; Sharma *et al.* 2006). Estas concentraciones pueden variar considerablemente, por lo que dependen de la calidad del producto y del proceso de beneficiado (Saltron *et al.* 2002; Gassenmeier *et al.* 2008).

En el entendido que el concepto de calidad es el conjunto de atributos deseables que cumple un producto en los requisitos solicitados por el consumidor (Guzmán 2004). La Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011 indica que los atributos de calidad que debe poseer la vainilla beneficiada de Papantla para la comercialización y para satisfacer las necesidades de los consumidores son: vaina entera (>15 cm), equilibrada en cuando al aroma con un contenido en estado seco de vainillina (2.0 %), ácido hidroxibenzóico (58-100 ppm), ácido vanílico (411-861 ppm) e hidroxibenzaldehído (219-498 ppm), humedad del 25 al 38%, con un color de café oscuro a negro, brillante de extremo a extremo debido al contenido del aceite y flexibilidad sin quiebre al enrollar la vaina. Además debe ser estable microbiológicamente con un contenido máximo de bacterias mesofílicas aerobias 100 UFC/g, hongos y levaduras 10 UFC /g y debe estar libre de coliformes y *Salmonella*.

Por lo anterior, el enfoque del presente trabajo se centró en conocer a detalle las etapas y pasos en el proceso de los diferentes procesos de beneficiado sobre *Vanilla planifolia* J. que realizan los beneficiadores tradicionales de la región del Totonacapan y de la Huasteca Potosina, a fin de relacionar esta información con los atributos de sus vainillas beneficiadas en función del

perfil del aroma, características fisicoquímicas y calidad microbiológica. De tal forma que el estudio aporte información de utilidad para lograr una calidad estándar y homogénea tipificando los procesos de beneficiado mexicano en función de los atributos de la vainilla beneficiada que resulte de cada uno de ellos.

1.1 JUSTIFICACIÓN

El proceso de beneficiado que se realiza en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz, México, es artesanal y tradicional por lo que alberga un importante acervo de experiencias, en torno a la obtención de uno de los saborizantes más apreciados por el paladar y olfato humano (ASERCA 2002). La vainilla al ser una aportación más de México para el mundo, es una de las especies altamente valoradas, con un mercado muy amplio por su excelente calidad aromática, por el desarrollo de nuevas aplicaciones, por la extensa gama de productos derivados y además, por sus propiedades como antioxidante, agente antimicrobiano, anticancerígeno, antiinflamatorio, antimutagénico y antipolimerizante (Rathnakar *et al.* 2012).

La producción de vainilla está muy por debajo de la demanda mundial, debido a la presencia de plagas, y enfermedades, caída prematura del fruto, nutrición deficiente y deficiencias en el control durante la transformación de vaina verde a beneficiada para la comercialización (Licona 2008). A pesar de que muchos países cultivan y benefician vainilla, México cuenta con la Denominación de Origen Vainilla de Papantla que comprende 39 Municipios de los Estados de Veracruz y Puebla (CONACYT-SAGARPA 2012). La región del Totonacapan, Veracruz, es reconocida por su producción y proceso de beneficiado (Pérez-Silva *et al.* 2006), por lo que posee ventajas excepcionales con relación a otros países productores, que desafortunadamente no se han sabido aprovechar (CONACYT-SAGARPA 2012).

Este proceso, mesoamericano, es dirigido por el maestro beneficiador quien tiene la experiencia y transmite sus conocimientos a las personas que intervienen en las actividades. Dicho proceso tiene una duración entre 3 y 6 meses que dependen del estado de madurez de las vainas así como de las condiciones ambientales durante la época en el que se desarrolla. A pesar de que el beneficiado se realiza con distintas variantes durante su proceso, consiste principalmente de cuatro pasos posteriores a la recepción y despezonado de las vainas: marchitado, sudado, secado y acondicionamiento (Damiron 2004; Van Dyk *et al.* 2010).

Las características de sabor y aroma únicos de la vainilla de Papantla se encuentran determinados por diversos factores naturales, así mismo el factor humano influye directamente en las características de calidad que se promueven mediante el proceso de beneficiado (IMPI 2003). Soto-Arenas (2006) menciona que el factor determinante en la calidad en la vainilla mexicana está en el proceso del beneficiado. Por lo que, para mantener dicho perfil en el aroma, es necesario cumplir con altos estándares de calidad y tener cierta uniformidad en el proceso de beneficiado (Herrera-Cabrera *et al.* 2010). Debido a que el proceso de beneficiado, tiene la función de agregar valor significativo al producto, y del cual depende significativamente el éxito de los siguientes niveles de la cadena (Jaramillo *et al.* 2013).

En función de lo anterior, resulta importante enfocar investigaciones, para conocer a detalle el proceso de beneficiado que se realiza tradicionalmente en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en la Huasteca Potosina. A fin de conocer las etapas y variables que se consideran en cada beneficio, para entender la función que desempeñan los procesos térmicos, reacciones enzimáticas y actividades microbianas en el sabor y en el desarrollo del aroma, y eventualmente relacionarlas con la calidad aromática, propiedades fisicoquímicas y microbiológica de la vainilla beneficiada. Con el propósito de conocer los detalles dentro del proceso de beneficiado que contribuyen a definir una calidad estándar de la vainilla con base en su aroma, características fisicoquímicas y sanidad.

1.2 ANTECEDENTES

1.2.1 Generalidades de la vainilla

El cultivo de *Vainilla planifolia* J. está históricamente ligado a la cultura Totonaca, quienes han conservado el germoplasma en sistemas tradicionales de producción, beneficiado y comercialización (Hágsater *et al.* 2005; Bory *et al.* 2007). Desde antes de la conquista, los Totonacos utilizaban la vainilla como cultivo para consumo y uso ritual.

Cuando los aztecas recibieron como tributo la vainilla, aprendieron a utilizar esta especia para dar sabor a las bebidas de chocolate caliente altamente valorado entre la nobleza azteca (Bruman 1948). Tras la llegada de Hernán Cortés a territorio mexicano, Moctezuma lo recibió con un brebaje de vainilla-cacao, "Chocolatl", elaborada a partir de granos de cacao, maíz molido, miel y vainilla, en náhuatl "Tlilxochitl" flor negra (Rivera-Espinoza y Muriel 2013).

Eso provocó que a inicios del siglo XIX, los españoles se llevaran la planta de vainilla a sus colonias en las islas del Océano Índico y Pacífico, donde tuvo una adaptación muy favorable debido al clima húmedo y que más tarde con la implementación de la fecundación manual, obtuvieron mejor productividad que el centro de origen (Soto-Arenas 2006); a pesar de esto el cultivo de la vainilla en México sigue perdurando, en su mayoría por los Totonacas, debido a que es parte de su arraigo histórico-cultural (Bruman 1948; Bory *et al.* 2008).

1.2.2 Proceso de beneficiado Mexicano

Por muchos años el beneficiado o curado de la vainilla en México ha sido un proceso artesanal de conservación del fruto, realizado mediante la deshidratación y fermentación de vaina verde sin aroma a fruto beneficiado, el cual cambia a un color achocolatado brillante y adquiere un olor suave y agradable ante el olfato y paladar (Reyes *et al.* 2008). ASERCA (2002) y IMPI (2004) señalan que dicho proceso lo inventaron los Totonacas precolombinos a partir de la experiencia que iban adquiriendo de exponer la vaina verde al sol y sudándolas alternadamente, quienes capitalizaron esas experiencias y las transformaron en conocimientos y a través de los años, este proceso ha formado parte de una tradición transmitida de generación en generación (Reyes *et al.* 2008).

En la actualidad en México, el beneficiado tradicional es un proceso muy complejo y multifacético que incluye secuencias de operaciones que requieren de mano de obra intensiva a lo largo de un periodo de tres a seis meses, dependiendo de los recursos disponibles y de las condiciones meteorológicas (Théodose 1973; Cid-Pérez y López-Malo 2011). Los dos sistemas de beneficiado de la vainilla utilizados en la región del Totonacapan es el tradicional o bajo sol, que consiste en exponer la vaina verde a radiación solar y posteriormente sudarla en cajones de madera. El segundo es el tecnificado el cual se realiza en un horno calorífico a una temperatura de 60 °C durante 8 horas por 45 días (Jaramillo *et al.* 2013).

1.2.3 Beneficiado de la vainilla en otros países

Con la introducción de la vainilla a Indonesia, Madagascar, Comores, la Isla Reunión y Tahití, el proceso de beneficiado adquirió modificaciones y adaptaciones propias de estos países (Curtí 1995). Sin embargo, se mantienen las cuatro etapas posteriores a la recepción y

despezonado de las vainas: marchitado o escaldado, sudado, secado y acondicionado (Van Dyk *et al.* 2010).

Hoy en día en el mercado internacional son reconocidos dos procesos de beneficiado; el *Mexicano* que identifica la calidad de *Vainilla Mexicana* y el método de *la Reunión*, el cuál define la calidad *Vainilla Borbón* (Herrera-Cabrera *et al.* 2012). Este método se lleva a cabo en la Isla Reunión, Madagascar y Comores, en el cual escaldan las vainas en agua caliente a 65 °C durante 2-3 minutos, posteriormente se sacan rápidamente y se envuelven en mantas negras para depositarlas en el cajón sudador durante 24 horas, transcurrido ese tiempo se exponen al sol de 2 a 3 horas, el proceso se repite de seis a ocho veces (menor repetitividad en comparación con el método *Mexicano*), después de la etapa de secado las vainas son colocadas en cajas herméticas durante aproximadamente tres meses (Ranadive 1994).

En la literatura hay otros procesos de beneficiado con menor importancia comercial entre los que se encuentran:

El beneficiado *Tahitiano*: no detiene la maduración del fruto como en el método *Mexicano* o de *la Reunión*. Los beneficiadores esperan a que maduren las vainas para recogerlas, una vez cosechas son amontonadas en cajones para que suden durante la noche, esta etapa se repite durante 2-3 semanas. El último paso es el secado realizado al aire libre (Ranadive 1994).

En el método de la *Isla Guadalupe* utilizan la escarificación para matar el fruto, es decir se realizan uno o dos cortes profundos y se envuelven en mantas antes de exponerlas al sol. Los ciclos de sudoración y secado lento son similares al método de beneficiado mexicano (Arana 1944).

En el método *Guyana*, una vez cosechadas las vainas son introducidas en las cenizas del fuego hasta que comiencen a marchitarse y se encojan, posteriormente se limpian con aceite de oliva y se secan al aire (Purseglove *et al.* 1981).

El beneficiado *Peruano* realiza un escaldo similar al método de *la Reunión*, secan al aire libre durante 20 días, para posteriormente cubrir las vainas con aceite de ricino (Adedeji *et al.* 1993).

Hasta ahora ninguno de los procesos de beneficiado antes mencionados ha permitido que la extracción de la vainillina sea completa, solo se ha logrado metabolizar del 1-2% que

representa menos de la mitad del porcentaje de vainillina de la que en teoría es posible producir y extraer, que es del 6-7% (Waliszewski 2007). Sin embargo, se realizan investigaciones para reducir el tiempo y aumentar la calidad de la vainilla beneficiada de manera tradicional y a nivel laboratorio.

1.2.4 Factores que afectan el proceso de beneficiado

A continuación se describen los diversos factores que influyen en el beneficiado:

Condiciones climáticas: Tochíhuatl (2007) menciona que el beneficiado es un proceso *lento* debido a que depende en gran medida de las condiciones climatológicas, por lo que los maestros beneficiadores, para desarrollar su actividad, están en función del estado del clima en cada año.

- En caso de que las condiciones climáticas sean desfavorables, debido a la presencia de frentes fríos, huracanes, ciclones, nortes, disminución de temperatura, el marchitado al sol no puede utilizarse por lo que se recomienda escaldar en agua caliente u horno.

- En la etapa del secado/asoleado. El principal problema es que depende estrechamente de los días soleados, por lo que al nublarse o llover, la actividad de tendidos y oreados de las vainas al sol se suspende, lo que ocasiona, entre otras cosas, que el proceso se alargue, los procesos bioquímicos cambien, el aroma y sabor se modifiquen y los costos de producción se incrementen.

Por otro lado, la velocidad del viento al ser muy variable, ocasiona que se nuble de manera inesperada y se afecte el secado de las vainas. Cabe mencionar que esta etapa coincide con periodos de abundantes lluvias en las principales zonas donde se realiza el beneficiado, lo que altera no solo el proceso de secado, sino que ocasiona problemas graves por la incidencia de hongos (Theodose 1973).

De manera que, los factores limitantes primarios para realizar un adecuado proceso de beneficiado y garantizar una calidad uniforme entre beneficiados, se relacionan con lo cambiante de las condiciones climáticas entre un beneficiado y otro.

Temperatura del marchitado. Odoux (2011) señala que la mayoría de los maestros beneficiadores no tienen forma de monitorear la temperatura y el tiempo en el que marchitan la vaina. Lo anterior ocasiona variaciones sustanciales en el tratamiento térmico, debido a la heterogeneidad de temperaturas y tiempos utilizados se debe tener un control estricto sobre los parámetros utilizados en el escaldado.

Por otro lado el volumen de vainas también varía considerablemente entre beneficiadores, a mayor volumen, la temperatura del agua disminuye rápidamente en comparación con un volumen pequeño, la cual se puede reutilizar.

Efecto de secado. Debido a la gran variabilidad del estado de madurez de las vainas no se deshidratan a la misma velocidad aun cuando se hayan cosechado y se beneficien en la misma fecha (Odoux 2011). Se debe recordar que existen vainas de diferentes tamaños, pesos y condiciones (*amarilla, rajada y zacatillo*). De manera que se recomienda a partir del sexto sudor clasificar por grueso (deshidratación) y tamaño, ya que a partir de aquí las vainas crudas, blandas y entresecas requieren diferente tiempo de secado. Ranadive (1994) menciona que un secado prolongado en vainas entresecas da como resultado bajo porcentaje de humedad, menor contenido de vainillina y de compuestos aromáticos volátiles, y menor flexibilidad. Mientras que un secado corto para vainas crudas resulta en mayor contenido de humedad aunque son más susceptibles a la contaminación por microorganismos.

En los espigueros. Si hace mal tiempo las vainas pueden permanecer sin ser asoleadas como máximo una semana en los espigueros, pero si no se remueven y ventilan al menos cada tercer día, se enmielan y se promueve la proliferación de microorganismos (Reyes *et al.* 2008).

Efecto del acondicionamiento y empaque. Cid-Domínguez (1988) señala que existen dos formas principales de empacar: en papel encerado y en bolsas de polietileno al alto vacío. Zarabal (2015) demostró que a los 50 días del acondicionamiento tradicional las vainas envueltas en papel encerado pierden 20% de humedad y 50% de la concentración de vainillina. Mientras que Zamora (2015) al evaluar diferentes materiales de empaque: polietileno de baja densidad, empaques al vacío y celofán (celofán, celofán doble, celofán-polietileno y celofán-vacío) encontró que el empaque que conservó mejor las características de

calidad de anaquel de la vaina beneficiada fue la combinación de celofán - polietileno. Por otra parte Havkin-Frenkel (2004) refiere tres factores que afectan la calidad de la vainilla al empaquetarlas al alto vacío: (1) El sellado hermético no permite la volatilización de compuestos indeseables lo que contribuye a malos sabores (2) Dentro del empaque se crea una atmósfera anaerobia, que favorece el crecimiento y la actividad de microorganismos, que pueden ser responsables de la desaparición del sabor y aroma de las vainas y (3) Una atmósfera pobre en oxígeno evita las reacciones oxidativas no enzimáticas, que también pueden contribuir al sabor durante el acondicionamiento y almacenamiento.

Todos estos factores así como la duración tienen impactos negativos sobre el proceso de beneficiado ya que afectan los principales atributos de calidad de la vainilla beneficiada. De manera que actualmente se han enfocado estudios para mejorar el control de los parámetros básicos (temperatura, humedad relativa, tiempo de procesamiento) dentro del proceso de beneficiado, que también tienen impacto en la calidad final de la vainilla, y también estudios para tratar de crear condiciones que concuerden con las condiciones del beneficiado tradicional.

1.2.5 Reacciones enzimáticas

El principal objetivo del beneficiado es el favorecer las reacciones enzimáticas y actividad de los microorganismos que están relacionadas con el sabor y aroma de la vainilla (Sinha *et al.* 2008). La hidrólisis de los glucósidos, precursores de los compuestos aromáticos, es la reacción más conocida en el desarrollo de la calidad aromática de la vainilla durante el curado, por lo que una aglicona con propiedades olfativas se deriva de un glucósido sin aroma. Esta reacción se logra a través de la actividad de la α -glucosidasa, sobre la glucovainillina durante el proceso de marchitamiento hasta formar vainillina y glucosa (Figura 1.1).

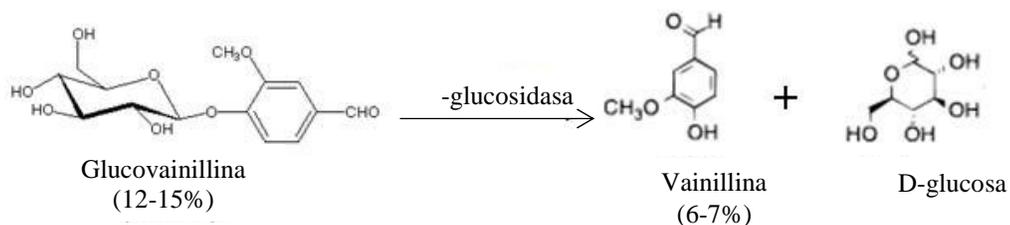


Figura 1.1 Formación de la vainillina y glucosa a partir de la glucovanillina por acción de la -glucosidasa

La glucovanillina es considerada como uno de los principales precursores del aroma que se encuentra acumulado en diferentes partes del fruto verde (Figura 1.2), y su actividad aumenta considerablemente a los seis o siete meses después de la polinización (Dignum *et al.* 2004; Odoux y Grisoni 2010).

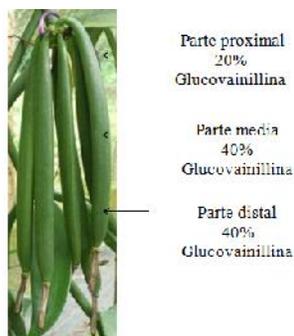


Figura 1.2 Fruto de vainilla plenamente desarrollada

Los precursores del aroma en forma glucosilada se localizan en el interior de la vaina verde, en donde miles de minúsculas semillas son secretadas de la región placentar (Figura 1.3), mientras las enzimas hidrolíticas, que catalizan la liberación de precursores de sabor, se localizan en el exterior.

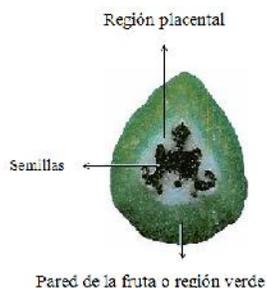


Figura 1.3 Estructura interna de la vaina verde

Debido a la importancia de la vainillina en el sabor y aroma de vainilla, la liberación y formación de este glucósido a partir de la β -glucosidasa es uno de los procesos más estudiados. La idea de que varios sistemas enzimáticos están involucrados en el desarrollo del aroma de la vainilla inicialmente fue declarada por Miller en 1754 citado por Janot (1954). Por mucho tiempo se pensó que el alcohol coniferílico y su glucósido estaban involucrados en la ruta biosintética de la vainillina (Lecomte 1901; Lecomte 1913; Goris 1924) (Figura 1.4).

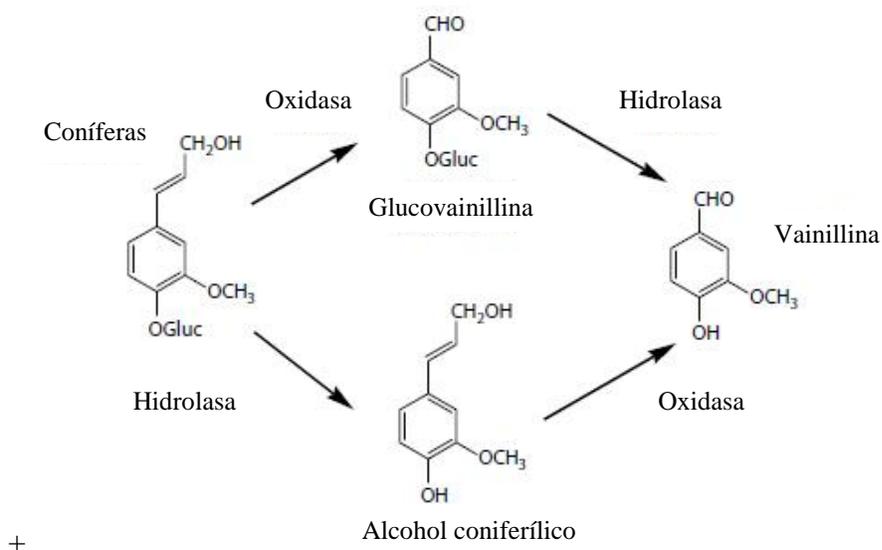


Figura 1.4 Ruta biosintética de la vainillina propuesta por Lecomte (1901,1913) y Goris (1924)

Sin embargo, tiempo después esta hipótesis se descartó tras varios estudios realizados para aclarar las etapas enzimáticas implicadas en la biosíntesis de la vainillina, tanto en la vaina (Zenk 1965; Kanisawa 1993; Kanisawa *et al.* 1994) como en cultivos celulares (Funk y Brodelius 1990; Funk y Brodelius 1992). A partir de la poca información que se generó de estos estudios se han propuesto diferentes rutas biosintéticas para la conversión a vainillina. Zenk (1965) sugiere que el precursor directo de la vainillina es el ácido ferúlico (Compuesto C6-C3), lo que significa que la cadena lateral C3 de la molécula es acortada más adelante para dar vainillina (compuesto C6-C1), este proceso se le denomina ruta del ferulato (Havkin-Frenkel y Belanger 2007). Actualmente confirmado por Negishi *et al.* (2009) (Figura 1.5).

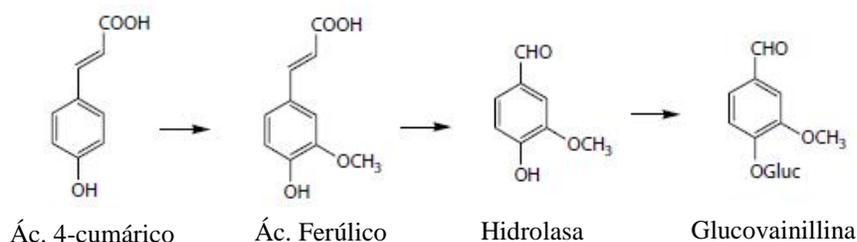


Figura 1.5 Ruta biosintética de la vainillina (Zenk 1965; Negishi *et al.* 2009)

En 1994, Kanisawa a partir de diferentes glucósidos que identificó en el fruto verde de *Vanilla planifolia* J, propuso la glucosilación del ácido 4-cumárico para dar *p*-hidroxibenzaldehído, y su posterior hidroxilación y metilación a vainillina (Figura 1.6).

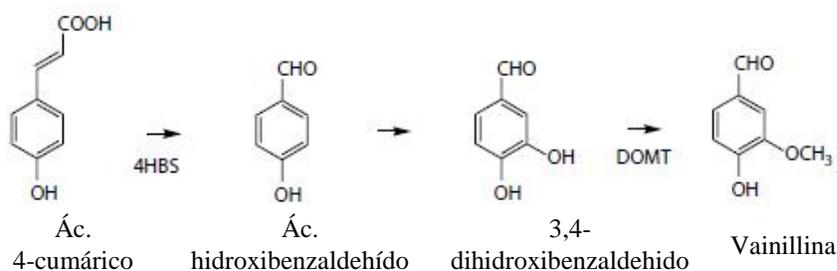


Figura 1.6 Ruta biosintética de la vainillina propuesta por Kanisawa *et al.* (1994) a partir del ácido 4-cumárico

El mismo autor a partir del glucósido *p*-hidroxibenzaldehído, sugirió dos posibles rutas para la biosíntesis de la glucovanillina, la primera comprende la formación del aldehído protocateico y la segunda implica la formación del alcohol *p*-hidroxibencílico y los glucósidos A (bis[4-(-D-glucopiranosiloxibencil] 2-tartrato de isopropilo) y B (bis[4-(-D-glucopiranosiloxi)-bencil] 2-tartrato de (1-metil-propil)) (Figura 1.7).

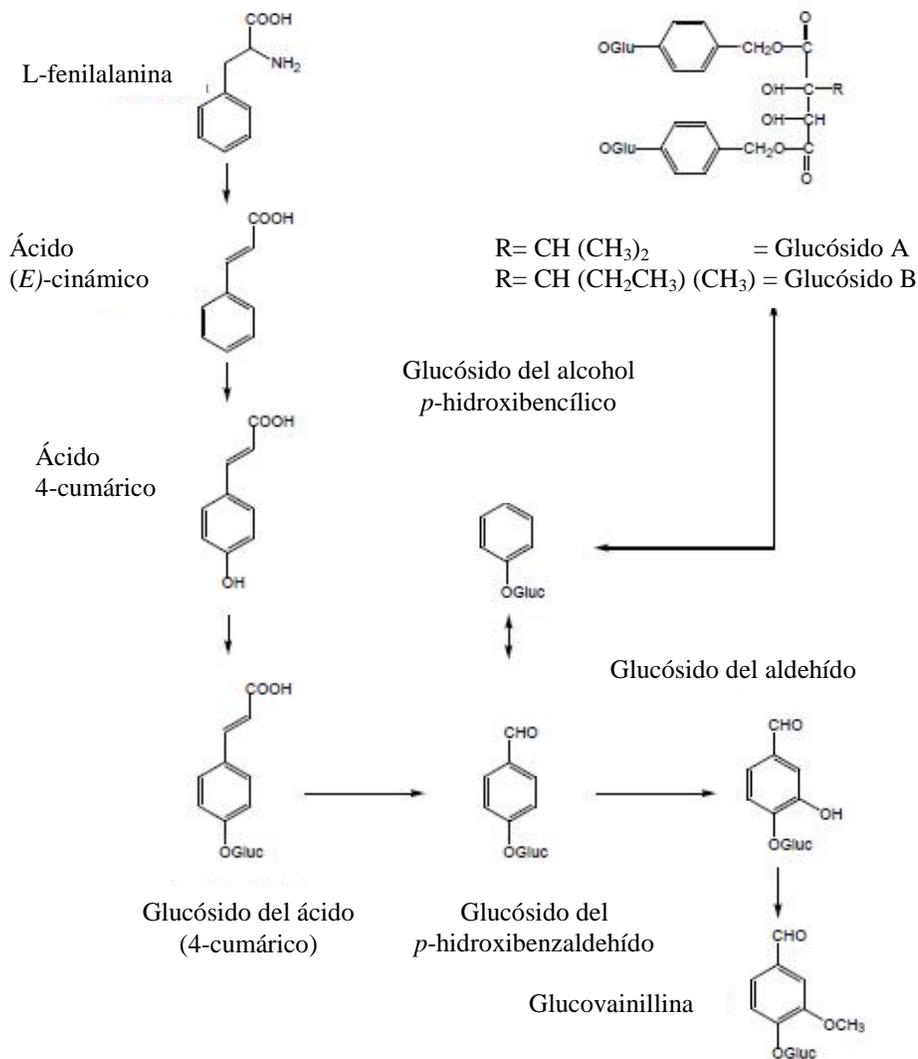


Figura 1.7 Ruta de biosíntesis de la glucovanillina propuesta por Kanisawa (1994)

Posteriormente se demostró la función que desempeñan los glucósidos: *p*-hidroxibenzaldehído y aldehído protocateico en la biosíntesis de la vainillina, vía ácido 4-hidroxifenil- -hidroxipropionico en forma de aglicona (Figura 1.8). Esta ruta enzimática está basada en la purificación de *p*-hidroxibenzaldehído sintasa (4HBS) y metiltransferasa (DOMT), que pueden catalizar, respectivamente, la conversión del ácido 4-cumárico a *p*-hidroxibenzaldehído y 3,4-dihidroxibenzaldehído (aldehído protocateico) a vainillina (Havkin-Frenkel *et al.* 1999; Podstolski *et al.* 2002; Park *et al.* 2004).

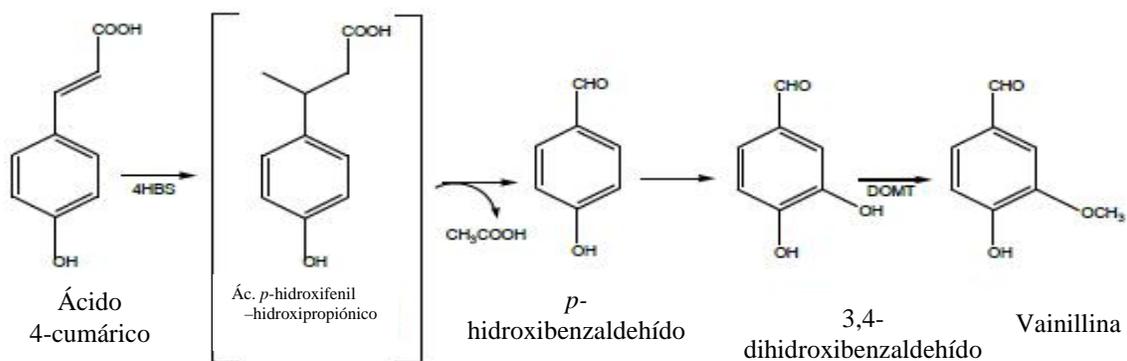


Figura 1.8 Ruta de biosíntesis de la vainillina a partir del ácido 4-cumárico. Havkin-Frenkel *et al.* (1999) y Pak *et al.* (2004)

Actualmente Havkin-Frenkel y Belanger (2007) reportan que la vainillina es producto de la ruta de biosíntesis del ácido shikímico, vía fenilalanina, que conduce a compuestos fenólicos fenilpropanoides (C6-C3) por medio de una desaminación enzimática, y principalmente ácido cinámico. Sucesivas hidroxilaciones y metilaciones enzimáticas que se muestran en el esquema de la Figura 1.9 conducen directamente a la formación de ácidos *p*-hidroxicinámicos y, en particular, ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico.

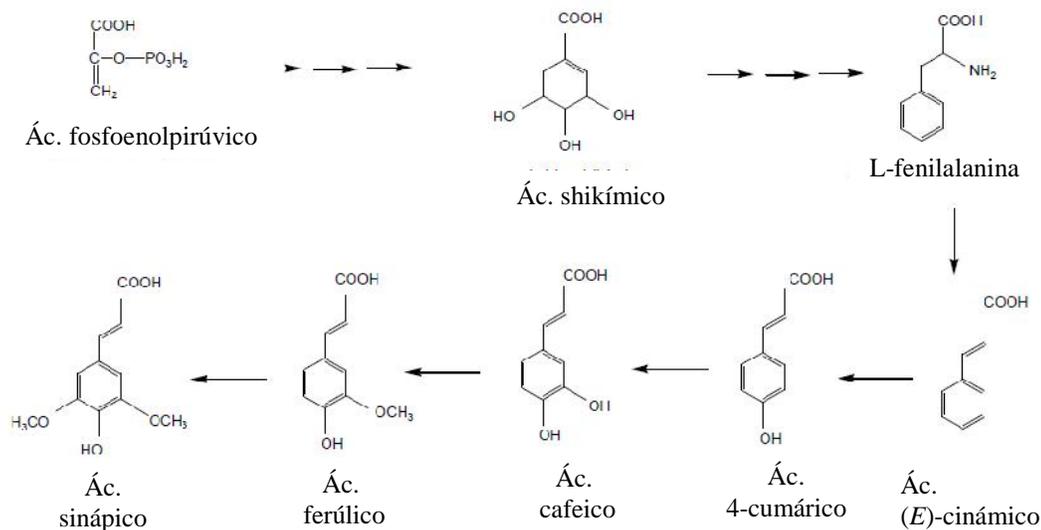


Figura 1.9 Ruta de biosíntesis de los fenilpropanoides a partir del ácido shikímico y fenilalanina

1.2.6 Calidad del aroma de la vainilla beneficiada

Ranadive (1992) señala que la gran complejidad entorno al aroma de la vainilla beneficiada, se debe a su origen geográfico, al estado de madurez, al proceso de beneficiado, y en parte al elevado número de compuestos volátiles que incluyen ácidos, éteres, alcoholes, heterocíclicos, ésteres, compuestos carbonílicos y fenólicos (Sinha *et al.* 2008; Hartman 2011). Dentro de los compuestos fenólicos se incluye principalmente a la vainillina parámetro analítico más importante en la vainilla beneficiada, así como el ácido vanílico, *p*-hidroxibenzóico y *p*-hidroxibenzaldehído que son reconocidos como parámetros de autenticidad (Gassenmeier *et al.* 2008). Por lo anterior la calidad aromática no se debe únicamente a unos pocos compuestos específicos, sino a las diversas combinaciones y concentraciones de alrededor de 300 compuestos, la mayoría de ellos presentes en cantidades traza (Sinha *et al.* 2008; Hartman 2011).

Normalmente, tanto consumidores como beneficiadores tienen gustos y preferencias muy definidas, sin embargo, la tendencia general está dirigida hacia el aroma que es la característica organoléptica más importante ligada a la calidad, y en muchas ocasiones constituye la causa de aceptación o rechazo (Pretorius y Bauer 2002). Para los beneficiadores el aroma ha sido una característica altamente valorada y ha funcionado como un criterio para la selección, que ha contribuido a incrementar la variación del aroma de la vainilla a través de variantes químicas (quimiotipo) y cultivares de vainilla (Lebot y Levesque 1996; Fitzgerald *et al.* 2009; Sagar *et al.* 2009). Recientemente se documentó que en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz, México, existe variación del aroma de vainilla (*V. planifolia* J.), los cuales con base en la participación de los componentes minoritarios del aroma (ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzóico) en relación con la vainillina en las vainas beneficiadas, originan perfiles aromáticos diferentes, que se caracterizan por sus notas que van desde un aroma dulce, suave y perfumado con notas florales (quimiotipo 1), hasta vainas con notas intensas a vainillina (quimiotipo 6) (Herrera-Cabrera *et al.* 2012).

1.2.7 Especificaciones organolépticas, físicas y químicas de la vainilla Mexicana

Tradicionalmente la apariencia, la flexibilidad y el tamaño se relacionan directamente con el aroma y el sabor de la vainilla beneficiada (Exley 2010). De manera que la Norma Oficial

Mexicana NOM-182-SCFI-2011 (Vainilla de Papantla, extractos y derivados-especificaciones, información comercial y métodos de ensayo prueba) (Cuadro 1.1), indica que los parámetros que definen la calidad de la vainilla beneficiada de Papantla están determinados por las siguientes características organolépticas: apariencia con forma entera sin cortes ni rajadas, color de café rojizo a café oscuro brillante, flexibilidad sin que se quiebre al enrollar la vaina, aroma y sabor agradable. En relación a las especificaciones físicas se encuentra: tamaño (longitud mayor a 15 cm) y contenido de humedad que va de 25% a 38%, este último parámetro es el principal factor en la conservación de las vainas beneficiadas, debido a que a un nivel adecuado es esencial para prevenir la proliferación microbiana (Havkin-Frenkel y Frenkel 2010), además influye en la calidad aromática ya que a menor contenido de humedad se obtiene mayor contenido de vainillina (Lepers-Andrzejewski 2011). Asociados a los atributos de composición física se encuentran las especificaciones químicas: vainillina (2,0 % en base seca), característica que es determinante para que el beneficiador reciba un mejor precio por su vainilla beneficiada, además debe tener un contenido de ácido hidroxibenzoico (58-100 ppm), ácido vanílico (411-861ppm) e hidroxibenzaldehído (219-498 ppm). Las cuales conjuntamente son requeridos para la comercialización y elección de la vaina por parte del consumidor.

Cuadro 1.1 Características de la vainilla según la norma oficial mexicana (NOM-182-SCFI-2011)

	Parámetros	Especificaciones
Organolépticas	Apariencia	Vaina entera sin cortes ni rajadas
	Flexibilidad	Sin quiebre al enrollar la vaina
	Color	Café rojizo a café oscuro brillante
	Aroma	Agradable, exento de olores extraños
Físicas	Longitud (cm)	> 15
	Humedad (%)	25-38
Químicas	Vainillina (% base seca)	2,0 mínimo
	Ác. Hidroxibenzoico (ppm)	58-100
	Ác. Vanílico (ppm)	411-861
	Hidroxibenzaldehído (ppm)	219-498

1.2.8 Sanidad e inocuidad de vainilla beneficiada

En las últimas dos décadas, debido a la globalización del comercio y a la repercusión de las diferentes enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), han aumentado las exigencias sociales en cuanto a la normatividad en materia de sanidad e inocuidad alimentaria, lo que genera estrictas restricciones en la exportación al mercado internacional con el propósito de garantizar la inocuidad de la granja a la mesa (Sarter 2011). Cada país ha establecido sus propias normas (REGLATEC 2009), por ejemplo, en México todas las categorías de calidad y en cualquier forma de presentación del fruto beneficiado, deben cumplir con las especificaciones microbiológicas indicadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011 (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2 Especificaciones microbiológicas para la vainilla beneficiada

	Parámetro	Especificaciones
Microbiológicas	Bacterias mesófilas aerobias (UFC/g)	100
	Hongos y Levaduras (UFC/g)	10
	Coliformes totales (UFC/g)	Negativo
	<i>Salmonella</i>	Negativo en 25 g muestra

Sin embargo, a pesar de las especificaciones establecidas en la norma es importante tener en cuenta que un recuento bajo de microorganismos no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, así mismo un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (Eskin y Robinson 2001). Lo que sí es un hecho es que para lograr asegurar la sanidad e inocuidad de la vaina beneficiada, se requiere efectuar adecuadas prácticas de higiene y manipulación por parte de los maestros beneficiadores responsables de la vaina en cada una de las etapas implicadas en el proceso de beneficiado. Debido a que las manos de los beneficiadores, guantes, mantas y utensilios contaminados utilizados pueden servir como vectores para la transmisión de microorganismos de persona a persona, de persona a superficies o viceversa, y del beneficiador a la vaina dado que la mayoría de los microorganismos se encuentran en la superficie del fruto (Sarter 2011).

La misma autora, también han reportado que existen una serie de factores que favorecen el crecimiento microbiano en las vainas beneficiadas destaca entre ellos:

Condiciones climáticas: la vainilla al ser beneficiada en un clima tropical húmedo, el ambiente podría poner en peligro su calidad, debido a que los hongos tienen la capacidad de reproducirse en dichas condiciones. En vainas beneficiadas de Madagascar y Comores, Bourriquet (1954) y Giffel *et al.* (1996) identificaron la presencia de los siguientes hongos: *Aspergillus niger*, *Penicillium lividum*, *Penicillium vanillae* y *Penicillium rugulosum*. Mientras que Bachman *et al.* (1995) demostraron que los principales hongos contaminaciones son *Penicillium glaucum*, *Trichoderma sp.*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus amstelodami*, y *Xanthochytrium sp.*

Factores intrínsecos: pH (ácido), actividad de agua (cantidad de agua que tienen disponible los microorganismos en el fruto deshidratado), temperatura y por supuesto su composición. Para evitar el crecimiento de la mayoría de hongos, la actividad de agua A_w necesita ser 0.70 y para bacterias 0.91 sin embargo es importante considerar que *Staphylococcus aureus* se ha encontrado que crece a una A_w de 0.84.

Prácticas de beneficiado: durante la postcosecha y el procesamiento de la vaina, los peligros microbiológicos pueden ocurrir en cualquier etapa y podrían poner en riesgo tanto la seguridad como los estándares de calidad de las vainas beneficiadas.

Varios estudios han encontrado que las vainas una vez cosechadas pueden contaminarse principalmente por hongos y bacterias debido a la manipulación, al contacto con el suelo, con áreas y/o superficies contaminadas, por lo que el área de recepción, el cuarto de depósito, el patio de secado y el área de almacenamiento deben estar limpias para evitar la acumulación de microorganismos e impedir la contaminación cruzada entre las áreas de la casa beneficiadora. Cuando las vainas se encuentran dañadas o rajadas incrementa la posibilidad y la tasa de deterioro, ya que los microorganismos invaden los tejidos internos del fruto. Giffel *et al.* (1996) encontraron en vainas abiertas y partidas los géneros *Xanthomonas*, *Cellulomonas*, *Vibrio*, *Staphylococcus* y *Bacillus subtilis* (incluye *Bacillus licheniformis*), tales microorganismos están relacionados con intoxicación alimentaria. Mientras que vainas

inmaduras son susceptibles a la infestación por *Penicillium* y especies de *Aspergillus* (Sasikumar *et al.* 1992). *Penicillium lividum* ha sido reportado por producir citrinina y ácido penicillico (Frisvad 1986), mientras que *Aspergillus* y *Aspergillus oryzae* producen ocratoxina A y ácido 3-nitropropiónico, respectivamente. Por el contrario una vaina madura tiene actividad antimicrobiana contra hongos y levaduras.

Las medidas de control de sanidad e inocuidad, varían según la etapa en que se encuentre el proceso. Por ejemplo durante el marchitado sé que reduce eficientemente la población microbiana inicial sobre la superficie de las vainas verdes. En el secado debe haber buena ventilación para evitar la fermentación bacteriana, que conduce a sabores indeseables. Por lo que la medida de control microbiano más eficaz en el procesamiento de la vainilla es realizar un secado de tal manera que la actividad de agua (A_w) sea baja para evitar el desarrollo microbiano y, en particular, el crecimiento de hongos que promueven la producción de especies toxinógenos.

La FDA (2009) indica que entre los géneros más importantes que contienen aislamientos toxigénicos se encuentran: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, con la presencia de dichos microorganismos las medidas de prevención basadas en las Buenas Prácticas Agrícolas y de Manufactura, así como el sistema de control de la higiene en la manipulación se deben efectuar para mitigar las contaminaciones pre cosecha y post cosecha por micotoxinas. Las micotoxinas son metabolitos secundarios nocivos para la salud, generadas por el crecimiento de hongos en condiciones específicas. La presencia de una micotoxina implica la posible existencia de otras, ya que un solo hongo produce diferentes micotoxinas (FAO 2001). Los hongos toxigénicos pueden ser eliminados durante el procesamiento, mientras que su correspondiente micotoxina extracelular permanece en la vaina. Por esta razón varios autores recomiendan que las vainas con hongos deben desecharse de inmediato porque además de generar malos olores dan lugar a contaminaciones cruzadas entre los lotes (Sarter 2011).

Condiciones de almacenamiento y conservación: para controlar el crecimiento microbiano y producción de micotoxinas durante el almacenamiento, deben tomarse en cuenta parámetros como temperatura, humedad, composición del gas, y tipo de empaque.

1.3 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A pesar de que durante más de dos siglos, México fue el principal productor de vainilla a nivel mundial, en la actualidad su producción se ve limitada por una problemática compleja debido a: la presencia de plagas y enfermedades fungosas, caída prematura del fruto después de la polinización y antes de la cosecha, nutrición deficiente, baja rentabilidad, obtención de bajos volúmenes con altos costos de producción y bajo precio de la vaina verde, así como deficiencias en el beneficiado, lo que ocasiona que los productores se desanimen y abandonen su cultivo al no tener las ganancias esperadas. De manera que a pesar de que existe demanda para la vainilla mexicana, estas condiciones han repercutido para que México solo aporte 5.5 % de la producción mundial (FAOSTAT 2015) y sea comercializada en pequeñas cantidades, lo que le impide competir con los principales países productores de vainilla.

El perfil aromático de la vainilla Mexicana se encuentra determinado por diferentes factores como son: origen geográfico, especie y madurez de las vainas. Asimismo, el factor humano impacta en las características de calidad organoléptica, microbiológica y que promueve la formación de componentes aromáticos mediante el proceso de beneficiado (IMPI 2003; Karthik y Balamohan 2013), cuyo proceso es una actividad fundamental en el sistema producto vainilla (Jaramillo *et al.* 2013). Por lo que al realizarse con distintas variantes durante su proceso y con distintos beneficiadores que poseen un conocimiento muy diverso, genera que el aroma, composición fisicoquímica y microbiológica no esté estandarizada, lo que ocasiona heterogeneidad en las prácticas de beneficiado a nivel regional, y también en la calidad del producto (Damiron 2004; Herrera-Cabrera *et al.* 2010).

Por esta razón, el mantener un perfil aromático armonioso y equilibrado, requiere altos estándares de calidad y uniformidad en el proceso de beneficiado (Herrera-Cabrera *et al.* 2010). De tal forma que a pesar de que el proceso de beneficiado de las vainas verdes de vainilla, agrega valor significativo al producto, no ha sido muy estudiado, y la información sobre los factores que influyen en el beneficiado tradicional es escasa. Por lo anterior resulta importante y de gran utilidad conocer las etapas y variables que se consideran en el beneficiado, para entender la función que desempeñan los procesos térmicos, reacciones enzimáticas y actividades microbianas en el sabor y en el desarrollo del aroma que le dan la característica de reconocerla como vainilla Mexicana. De ahí que para el planteamiento del

problema de la presente investigación, se formuló la siguiente pregunta: ¿Qué pasos incluye el proceso(s) de beneficiado que desarrolla una calidad uniforme, con un perfil de aroma apegado a la Norma Oficial Mexicana, y adecuadas características fisicoquímicas y sanidad?

1.4 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Evaluar el efecto de seis procesos de beneficiado tradicional mexicano sobre el contenido de compuestos aromáticos, propiedades fisicoquímicas y microbiota de las vainas beneficiadas de un tipo de aroma de *Vanilla planifolia* J.

Objetivos particulares

1.- Generar información de carácter descriptivo sobre los procesos de beneficiado mexicano que se realizan en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en la Huasteca Potosina (Tamazunchale, San Luis Potosí) con el fin de identificar las etapas y variables que potencialmente influyen en la calidad final de las vainas beneficiadas.

2.- Determinar el contenido de los principales compuestos aromáticos en vainas beneficiadas (vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzóico), evaluar sus características fisicoquímicas (humedad, A_w , color, textura, pH y azúcares solubles), y calidad sanitaria (bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, hongos y levaduras), con el propósito de caracterizar y clasificar las vainas que se obtienen de diferentes procesos de beneficiado tradicional.

3.- Relacionar las etapas y pasos que realizan los diferentes beneficiadores con la calidad de vainas beneficiadas que obtienen, en función del perfil de aroma, características fisicoquímicas y sanidad, para establecer que aspectos del proceso de beneficiado contribuyen para lograr una calidad estándar y homogénea en las vainas beneficiadas.

Hipótesis general

Los procesos de beneficiado de las vainas de vainilla que se realizan de manera tradicional en la región del Totonacapan y en la Huasteca Potosina impacta en la calidad del aroma, características fisicoquímicas y sanidad independientemente del origen de las vainas.

Hipótesis particulares

- 1.- La información detallada de los procesos de beneficiado tradicional mexicano permitirá conocer las etapas y actividades que realizan e identificar puntos críticos que impactan en los atributos de calidad de las vainas beneficiadas.
- 2.- El análisis de vainas beneficiadas por diferentes beneficiadores en función de la concentración de los principales componentes del aroma, características fisicoquímicas y sanidad permitirá diferenciar los procesos de beneficiado tradicional.
- 3.- La correlación de las etapas y actividades que desarrollan los diferentes beneficiadores con los atributos de calidad que obtienen de su beneficiado en las vainas, permite detectar variables y/o puntos críticos que impactan en la calidad uniforme en cuanto al aroma, propiedades fisicoquímicas y contenido microbiológico.

El trabajo de investigación se abordó en dos etapas (Capítulo II y III) para el cumplimiento de los objetivos, y el manuscrito se estructuró por capítulos de la siguiente manera:

En el **Capítulo I**, se presenta la introducción general, justificación, antecedentes de estudios realizados previamente e información relevante acerca del beneficiado de la vainilla en el país y en el mundo, así como los factores que afectan su proceso, y la normatividad que debe cumplir la vainilla beneficiada, el planteamiento del problema con la pregunta de investigación que ayudó al desarrollo de la misma, el objetivo general, los objetivos particulares y finalmente la hipótesis general y las hipótesis particulares.

Los **Capítulos II y III** se documentan bajo formato de artículo.

El Capítulo II, “**Caracterización del método mexicano de beneficio de la vainilla (Vanilla planifolia J.): Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina**”, describe la metodología utilizada en la recopilación de datos, así como información acerca de los maestros beneficiadores, y la caracterización de los procesos de beneficiado que se realizan en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en la Huasteca Potosina (Tamazunchale, San Luis Potosí); donde se identificaron una serie de actividades y prácticas específicas que llevan

a cabo los beneficiadores.

En el Capítulo III, “**Calidad mexicana de la vainilla (*Vanilla planifolia* J.) Beneficiada tradicionalmente**”, se documentan los resultados obtenidos en la calidad aromática, fisicoquímica y microbiológica de las vainas beneficiadas que se obtiene de seis diferentes procesos de beneficiado mexicano tradicional, así como la discusión de los resultados encontrados en los atributos evaluados.

El **Capítulo IV, Discusión general de resultados**, integra y discute los resultados obtenidos de los capítulos II y III.

En el **Capítulo V** se establecen las **conclusiones generales** de la investigación.

En el **Capítulo VI**, se presentan algunas recomendaciones que se sugieren para prevenir o evitar fallas durante el proceso de beneficiado, que de acuerdo a los resultados del trabajo indica que impactan en los atributos del aroma, características fisicoquímicas y sanidad de las vainas beneficiadas.

1.5 LITERATURA CITADA

- Adedeji J, Hartman TG, Ho CT (1993) Flavor characterization of different varieties of vanilla beans. *Perfumer and Flavorist*. 18: 25–33
- Arana FE (1943) Action of a α -Glucosidase in the curing of vanilla. *Food Research*. 8: 343-351
- Arana FE (1944) Vanilla curing and its chemistry. Federal Experiment Station of the US Department of Agriculture, Mayaguez, Puerto Rico. Bulletin No 42. 17 p
- ASERCA (2002) De nuestra cosecha. La vainilla en México, una tradición con un alto potencial. *Claridades agropecuarias*. 101: 3-26
- Bachman S, Pietka M, Zegota H (1995) Studies on some microbiological and chemical aspects of irradiated vanilla beans. *Journal of Radio analytical and Nuclear Chemistry*. 189: 71–76
- Balls AK, Arana FE (1941) The Curing of Vanilla. *Industrial and Engineering Chemistry*. 33: 1073-75
- Besse P, Da Silva D, Bory S, Grisoni M, Le Bellec F, Duval MF (2004) RAPD Genetic diversity in cultivated vanilla: *Vanilla planifolia*, and relationships with *V. tahitensis* and *V. pompona*. *Plant Science*. 167: 379-385
- Bory S, Grisoni M, Duval MF, Besse P (2007) Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 55 (4): 551–571
- Bory S, Lubinsky P, Risterucci AM, Noyer JL, Grisoni M, Duval MF, Besse P (2008) Patterns of introduction and diversification of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) in Reunion Island (Indian Ocean). *American Journal of Botany*. 95: 805-815
- Bourriquet G (1954) Alterations et défauts de la vanille préparée. En: G. Bourriquet, ed. *Le vanillier et la vanille dans le monde*. Paul Lechevalier, Paris. 623–644
- Bruman H (1948) The culture history of Mexican vanilla. *The Hispanic American Historical Review*. 28: 360–376
- Challenger A (1998) Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, Presente y Futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento de la Biodiversidad. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Agrupación Sierra Madre, SC. México. 847 p
- Chávez-Hita A, González-Sierra J (1990) Papantla Veracruz: Imágenes de su historia. *Archivo General del estado de Veracruz* ISBN-968-6171-32-0. Litográfica Turmex. SA. de CV DF México. 45 p
- Cid-Domínguez M (1988) La vainilla, una perspectiva de desarrollo de la Chinantla Oaxaqueña. Secretaría de Desarrollo Rural, Tuxtepec Oaxaca. 1-29
- Cid-Pérez TS, López-Malo A (2011) Extractos de vainilla: una mezcla de componentes químicos de aromas y sabor. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 5: 51-63
- CONACYT-SAGARPA (2012) Mejoramiento de la productividad integral del cultivo de vainilla en México que fortalezca su competitividad. Convocatoria del Fondo Sectorial de Investigación en materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos

Fitogenéticos. 2-9

Curtí DE (1995) Cultivo y beneficiado de la vainilla en México. Folleto técnico para productores. Organización Nacional de Vainilleros Indígenas. Papantla, Veracruz. 96 p

Damiron VR (2004) La vainilla y su cultivo. Veracruz agrícola, Dirección General de Agricultura y Fitosanitaria. Gobierno del estado de Veracruz, México. 2-50

Dignum MJW, Heijden R, Kerler J, Winkel C, Verpoorte R (2004) Identification of glucosides in green beans of *Vanilla planifolia* Andrews and kinetics of vanilla α -glucosidase. Food Chemistry. 85: 199-205

Eskin M, Robinson D (2001). Food Shelf Life Stability: Chemical, Biochemical and Microbiological Changes. CRC Series, Washington, DC. Contemporary Food Science. 370 p

Fabienne Lapeyre-Montes F, Conéjéro 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 plants-industrial profiles). CRC Press. Boca Raton Florida. 149-171

FAO (2001) Manual on the Application of the HACCP System in Mycotoxin Prevention and Control. FAO Food and Nutrition Paper 73. 1-15

FAOSTAT (2015) Estadísticas datos agrícolas. Consultada octubre de 2015. <https://top5ofanything.com/list/eea69f22/Vanilla-Producing-Countries>.

FDA (Food and Drug Administration) (2009) Food Code FDA, Washington, DC 20204. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/RetailFoodProtection/FoodCode/FoodCode2009/default.html>

Fitzgerald MA, McCouch SR, Hall RD (2009) Not just a grain of rice: the quest for quality. Trends in Plant Science. 14(3):133–139

Frisvad JC (1986) Taxonomic approaches to mycotoxin identification (taxonomic indication of mycotoxin content in foods). En: Cole RJ (ed). Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation of Mycotoxins. Academic Press, London. 1-25

Funk C, Brodelius PE (1990) Influence of growth regulators and elicitor on phenylpropanoid metabolism in suspension cultures of *Vanilla planifolia*. Phytochemistry. 29: 845-848

Funk C, Brodelius PE (1992) Phenylpropanoid metabolism in suspension cultures of *Vanilla planifolia* Andr. IV. Induction of vanillic acid formation. Plant Physiology. 99: 256-262

Gassenmeier K, Riesen B, Magyar B (2008) Commercial quality and analytical parameters of cured vanilla beans (*Vanilla planifolia*) from different origins from the 2006–2007 crop. Flavour and Fragrance Journal. 23:194–201

Giffel MC, Beumer RR, Leijendekkers S, Rombouts FM (1996) Incidence of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* in foods in the Netherlands. Food Microbiology. 13:53–58

Goris MA (1924) Sur la composition chimique des fruits verts de vanille et le mode des formation du parfum de la vanille. Compte Rendu des Séances de l'Académie des Sciences de Paris. 179: 70-72

- 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 p
- Guzman CC (2004) Vanilla. En: Peter KV (ed). Handbook of herbs and spices– wood head pub. Cambridge, England. 322-352
- Hágsater, Soto EMA, Salazar GA, Jiménez RM. López A, Dressler RL (2005) Las orquídeas de México. Instituto Chinoin AC, México, DF. 92 p
- Hartman TG (2011) Composition of vanilla beans from different geographical regions. Presentation in Vanilla: November First International Congress, Princeton, New Jersey. 11–12
- Havkin-Frenkel D, Dorn R (1997) Flavor chemistry and antioxidant properties. En: Risch SJ (ed). Vanilla. American Chemical Society, Washington DC. 29-40
- Havkin-Frenkel D, Podstolki A, Witkowska E, Molecki P, Mikolajczyk P (1999) Vanillin biosynthetic pathways: an overview. En: Fu TJ, Singh G, Curtis WR (eds). Plant cell and tissue culture for the production of food ingredients. Kluwer Academic Publishers. New York USA. 35–43
- 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, Frenkel C (2010) Post-Harvest of Cured Vanilla Beans. The State University of New Jersey, NJ USA. 24 p.
- Herrera-Cabrera BE, Salazar-Rojas VM, Pierre-Alain G (2010) El beneficiado de vainilla en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz. Reporte de estancia en Colegio de Postgraduados Campus Puebla. 3-30 p
- IMPI (2003) Declaratoria general de Protección de la Denominación de Origen “Vainilla de Papantla”. 4 p
- Janot MM (1954) Formation du parfum de la vanille En: Bouriquet G (ed). Le vanillier et la vanille dans le monde. Paul Lechevalier. Paris Francia. 540–558
- Jaramillo VJL, Escobedo GJS, Barrera RA, Herrera CBE (2013) Eficiencia económica en el beneficiado de vainilla (*Vanilla planifolia* J.) en la región del Totonacapan, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 4 (3): 477-483
- Jones MN, Vincent GC (1949) Criteria for testing vanilla in relation to killing and curing methods. Journal of Agricultural Research. 78: 425-434
- Kanisawa T (1993) Flavor development in vanilla beans. Kouryou. 180: 113-123
- Kanisawa T, Toroko K, Kawahara S (1994) En: Kurihara K, Suzuki N, Ogawa H, (eds). Olfation Taste XI. Proceeding of the International Symposium, Springer. Tokyo. 268-270
- Karthik KRB y Balamohan TN (2013) Factors affecting the quality of Vanilla. Journal of Agriculture and Allied Sciences. 2: 37-4
- Lebot V, Levesque J (1996) Genetic control of Kavalactones chemotypes in Piper methysticum cultivars. Phytochemistry. 43:397–403
- Lecomte H (1901) Sur la formation du parfum de la vanille. Compte Rendu des Séances de l'Académie des Sciences de Paris T133. 745-748

- Lecomte H (1913) Formation de la vanilline dans la vanille. *Agriculture pratique pays chauds*. 13:3-14
- Lepers-Andrzejewski S, Brunshwig C, Collard FX, Dron M (2011) Morphological, Chemical, Sensory, and Genetic Specificities of Tahitian Vanilla. En: Odoux E, Grisoni M (eds). *Vanilla. (Medicinal and aromatic Plants plants-industrial profiles)*. CRC Press. Boca Raton Florida. 206-225
- Licona (2008) Vainilla mexicana, otra posibilidad de negocio. *Agronegocios*. 1-29
- Negishi O, Sugiura K, Negishi Y (2009) Biosynthesis of vanillin via ferulic acid in *Vanilla planifolia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:9956–9961
- NOM-182-SCFI-2011 (2011) Norma Oficial Mexicana, Vainilla de Papantla, extractos y derivados-Especificaciones, información comercial y métodos de ensayo (prueba). 9 p
- Odoux E (1998) Projet Fed-Stabex de Relance des Cultures d'Exportation dans la region du SAVA: Volet Vanille. Rapport de missions a Madagascar (du 01/07 au 27/07/98 et du 15/09 au 22/10/98). 16 p
- Odoux E (2011) Vanilla Curing. En: Odoux E, Grisoni M (eds). *Vanilla. (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles)*. CRC Press. Boca Raton Florida. 173-185
- Park FE, Gropper S, Dai WD, Havkin-Frenkel D, Belanger FC (2004) Characterization of a multifunctional methyltransferase from the orchid *Vanilla planifolia*. *Plant Cell Reports*. 22:966-969
- Pérez-Silva A, Odoux E, Brat P, Ribeyre F, Rodríguez-Jiménez G, Robles-Olvera V, García-Alvarado M, Günata Z (2006) GC–MS and GC–Olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla Planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chemistry*. 99: 728-735
- Pretorius IS, Bauer FF (2002) Meeting the consumer challenge through genetically customized wine yeast strains. *Trends of Biotechnology*. 20:426-432
- Podstolski A, Havkin-Frenkel D, Malinowski J, Blount J, Kourteva G, Dixon R (2002) Unusual 4-hydroxybenzaldehyde synthase activity from tissue cultures of the vanilla orchid *Vanilla planifolia*. *Phytochemistry*. 61: 611-620
- Portères R (1954) Le genre *Vanilla* et ses espèces En: Bouriquet G (ed). *Le vanillier et la vanille dans le monde*. Paul Lechevalier. Paris Francia. 94–290
- Purseglove JW, Brown EG, Green CL and Robbins SRJ (1981) *Spices*. Longman, London and New York. 2:644–735
- Ramachandra-Rao S, Ravishankar GA (2000) Vanilla flavour: Production by conventional and biotechnological routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 289–304
- Ranadive AS (1992) Vanillin and related flavour compounds in Vanilla extracts made from beans of various origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40:1922–1924
- Ranadive AS (1994) Vanilla cultivation, curing, chemistry, technology and commercial products. En Charalambous G (ed). *Developments in food science*. Elsevier Science Publishers. The Netherlands. 34: 517–577

Rathnakar UP, Srikanth D, Menezes VH, Shenoy AK, Acharya SD, Nishchal BS, Shivaprakash G, Udupa AL (2012) Evaluation of Antinociceptive Activity of Vanillin Mediated through Opioid Receptors. *Drug Invention Today*. 4(12): 674-676.

REGLATEC (Reglamentación Técnica Costarricense) (2009) Documento integrado: reglamento centroamericano sobre medidas y procedimientos sanitarios y fitosanitarios. San José, CR. Consultado octubre 2015. Disponible en:

http://www.reglatec.go.cr/descargas/ReglamentoMSFreunion_SJ-CR-23-11-2007.pdf

Reyes LD, Rodríguez MB, Kelso BHA, Huerta LM, Ibáñez MA (2008) Beneficiario tradicional de la vainilla. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. 27-43

Rivera-Espinoza y Muriel (2013) Vanilla. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*. 2(11): 203-210

Sagar SP, Chidley HG, Kulkarni RS, Pujari KH, Giri AP, Gupta VS (2009) Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. *Food Chemistry*. 114:363–372

Salazar-Rojas VM (2007) Variación morfológica de *Laelia anceps* subsp. *dawsonii* f. *chilapensis* Soto-Arenas (Orchidaceae) en solares tradicionales de Chilapa Guerrero Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla, México. 85 p

Salazar-Rojas VM, Herrera-Cabrera BE, Delgado-Alvarado A, Soto-Hernández M, Castillo-González F, 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

Saltron F, Langella C, Guerere M (2002) Evaluation de la qualite de la vanille malgache. Recolte 2000. *Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique*. 95:79–105

Sarter S (2011) Microbial Safety of Cured Vanilla Bean. En: Odoux E, Grisoni M (eds). *Vanilla. (Medicinal and aromatic Plants plants-industrial profiles)*. CRC Press. Boca Raton Florida. 229-235

Sasikumar B, Rema J, Ravindran PN (1992) Vanilla. *Indian Cocoa, Arecanut and Spices Journal*. 16:6–10

Sharma A, Verma SC, Saxena N, Chadda N, Singh NP, Sinha AK (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

SIAP-SAGARPA (2012) Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, recuperado en Junio de 2014 del Panorama de la Vainilla. Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. 1-2 p

Sinha AK, Sharma UK, Sharma N (2008) A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 59: 299–326

Smith NJH, Williams JT, Plucknet DL y Talbot JP (1992) *Tropical Forests and Their Crops*. Cornell University Press, Ithaca, Nueva York. 25 p

- Soto-Arenas MA (2003) Vanilla. En: Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN (eds). Genera Orchidacearum, Orchidoideae (Part 2) Vanilloideae. Oxford University Press, London. 321-334
- Soto-Arenas MA (2006) La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. CONABIO. Biodiversitas. 66: 2-9
- Théodose R (1973) Traditional methods of vanilla preparation and their improvement. Tropical Science. 15:47–57
- Tochíhuitl VJ (2007) Tecnología del Beneficiado de la Vainilla. Tesis de maestría Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 7-10
- Toth SJ (2012) Comparison and integration of analytical methods for the characterization of vanilla Chemistry. Thesis the Doctor. New Brunswick, New Jersey. 30 p
- Toussaint-Samat M (2002) La Vainilla, un “extracto” ampliamente utilizado por la industria de alimentos en el mundo. Claridades Agropecuarias. 101: 17-26
- Van DS, Barry MW, Williams M, Gair C (2010) Influence of curing procedures on sensory quality of vanilla beans. Fruits. 65: 387–399
- Waliszewski KN, Ovando SL, Pardo VT (2007) Effect of hydration and enzymatic pretreatment of vanilla beans on the kinetics of vanillin extraction. Journal of Food Engineering. 78: 1267- 1273
- Wescott RJ, Cheetham PSJ, Arraclough AJB (1994) Use of organized viable vanilla plant aerial roots for the production of natural vanillin. Phytochemistry. 35:135–138
- Zamora FAL (2015) Calidad de vainilla (*Vanilla planifolia*) empacada bajo diferentes condiciones de atmósferas modificadas. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados *campus* Montecillo, México. 3 p
- Zarabal TLR (2015) Efecto de las variables del proceso del beneficiado de la vainilla (*Vanilla planifolia*) sobre los parámetros de calidad. Tesis de Doctorado. Instituto Tecnológico de Veracruz. 25 p
- Zenk MH (1965) Biosynthese von vanillin in *Vanilla planifolia* Andr. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. 53:404–414

CAPÍTULO II

CARACTERIZACIÓN DEL MÉTODO MEXICANO DE BENEFICIADO DE LA VAINILLA (*Vanilla planifolia* J.) REGIÓN TOTONACAPAN PUEBLA-VERACRUZ Y HUASTECA POTOSINA

2.1 INTRODUCCIÓN

Durante varios siglos, los Totonacos han conservado la vainilla (*Vanilla planifolia* J.) en México, dándole valor agregado a través de un proceso artesanal de beneficiado o curado, dicho proceso es una actividad fundamental en el Sistema Producto Vainilla, debido a que permite el desarrollo de características organolépticas propias de la vaina que permiten su utilización en la industria agroalimentaria relacionada con la repostería, licorería, refresquera, tabacalera, elaboración de medicamentos y artesanías (Smith *et al.* 1992; Jaramillo *et al.* 2013).

La vainilla ha tenido gran importancia en el aspecto cultural, social, y económico desde épocas prehispánicas en la región del Totonacapan, al norte de Veracruz (Hágsater *et al.* 2005; Soto-Arenas 2006). De acuerdo con ASERCA (2002) en México, el sistema de producción y beneficiado de la vainilla se realiza con una infraestructura simple, en las propias parcelas o en los traspatios de las casas de los beneficiadores con la ayuda de sus familias, por lo que este proceso alberga un importante acervo de experiencias y conocimientos. La producción nacional promedio en 2012 fue de 390 ton de vaina de vainilla verde, que equivale a 78 ton de vainilla beneficiada, ya que por cada 5 kg de vainilla verde se obtiene 1 kg de vaina beneficiada. Esta producción constituye el 5.5% de la producción mundial (FAOSTAT 2015), la mayor parte de la producción de México se concentra en los estados de Veracruz (57.4 %), Oaxaca (17.9 %), San Luis Potosí (16.2 %) y Puebla (8.5 %) (SIAP-SAGARPA 2012). La producción nacional es muy baja con relación al contexto mundial, reflejando la difícil situación que hoy en día enfrenta el cultivo en México, como la presencia de plagas y enfermedades, caída prematura del fruto, nutrición deficiente, y escasa organización para la producción y transformación de vaina verde a vaina beneficiada para la comercialización (Licona 2008).

Si se considera que en el medio rural el precio pagado al productor por la vainilla verde alcanzó un promedio de casi \$54,000 por ton en 2012 (\$ 4,103.00 US), el precio de la vainilla beneficiada puede llegar a ser ocho veces mayor si se realiza un beneficio adecuado, lo que genera un gran margen de ganancia. Karthik y Balamohan (2013) indican que la calidad de las vainas de vainilla beneficiada depende de diferentes factores como son: origen geográfico, especie, madurez de las vainas, condiciones y procesos de beneficiado, por su parte Soto-Arenas (2006) señala que el secreto de la alta calidad de la vainilla mexicana se le atribuye al proceso de beneficio, por lo que la forma y pasos involucrados en el proceso influyen de manera importante en el aroma y calidad final, a tal nivel que la vainilla mexicana se diferencia de la del resto del mundo. Dicho proceso artesanal tiene una duración de 3 a 6 meses, y depende de las condiciones climáticas de las regiones donde se realice y de que la forma de hacerlo de los países productores (Ramachandra-Rao y Ravishankar 2000).

En México, el beneficiado de la vainilla se realiza con distintas variantes durante su proceso, porque los beneficiadores poseen un conocimiento tradicional diverso con diferentes niveles de información del beneficiado, y porque se lleva a cabo en diferentes ambientes, lo que genera heterogeneidad en las prácticas de beneficiado a nivel regional y por lo tanto también diferente aroma y sabor en la vainilla. Sin embargo, a pesar de que existen variantes, de acuerdo con algunos investigadores todos los procesos de beneficiado tienen en común cuatro etapas principales: marchitamiento, sudado, secado y acondicionamiento (Odoux 2006; Márquez y Walissewski 2008).

Los métodos modernos de marchitado se basan en el antiguo método Mexicano que consistía en deshidratar las vainas verdes al sol hasta que se cambiaban a color marrón (Balls y Arana 1941). En la actualidad existen diversos métodos para marchitar el fruto verde: al sol, inmersión en agua caliente, horno, y congelación (Odoux 2006; Dunphy y Bala 2011). En los reportes bibliográficos se menciona que Jones y Vincent (1949) encontraron que el marchitamiento de las vainas verdes por agua caliente (60°C a 70 °C) durante 3 minutos, ha dado los mejores resultados de buen aroma y calidad que los otros métodos usados para marchitar las vainas. Después del marchitado las vainas se deben de sudar, en esta etapa las vainas de color marrón desarrollan las características de sabor, aroma y color característico de la vainilla. El sudado consiste en exponer las vainas al sol a 45-65 °C, después se recogen y se colocan en cajas de madera cubiertas con mantas durante 24 h, este procedimiento se repite

entre 11 y 25 veces (Ruiz-Terán 2001; Reyes *et al.* 2008). Después continua el secado, que se realiza hasta que las vainas han perdido entre 60 y 70 % de su peso en fresco y se logre la homogenización de las vainas a un color achocolatado y consistencia elástica (Röling *et al.* 2001). Una vez concluido el secado se procede con la etapa del acondicionamiento, proceso de envejecimiento en el cual son colocadas las vainas en recipientes cerrados a temperatura ambiente. La duración del proceso de acondicionamiento varía, pero comúnmente se necesitan al menos tres meses para que la humedad, el aroma y el sabor característicos sean ideales (Arana 1944). Después las vainas beneficiadas se empaican en papel encerado o en bolsas de polietileno al alto vacío, para que conserven sus compuestos aromáticos, atributos fisicoquímicos como la humedad, flexibilidad, apariencia, e inocuidad microbiana (Cid-Domínguez 1988).

Cabe mencionar que la transformación del fruto verde a vaina beneficiada mediante el beneficiado es fundamental para definir el perfil aromático y distinguir el aroma de la vainilla mexicana frente a sus competidores. Por esta razón, para mantener la mejor calidad de vainilla beneficiada, caracterizada por ser uniforme en cuanto a sus características aromáticas, contenido de humedad, tamaño, y apariencia de color achocolatado, superficialmente brillante y aceitosa, consistencia flexible a lo largo de toda la vaina y estable microbiológicamente (Guzmán 2004; Odoux 2011), se requieren altos estándares de calidad y uniformidad en el proceso de beneficiado. De lo contrario, si los beneficiadores obtienen un producto que no satisfaga los estándares de calidad establecidos en la Norma Oficial Mexicana, perderán la oportunidad de vender su producto.

Estos problemas, aunados a la poca información disponible enfocada a estudiar la variación de los procesos del beneficiado, motivaron a documentar y entender cada etapa del proceso en diferentes empresas beneficiadoras, y relacionar la influencia que tiene el proceso de beneficio sobre el aroma y sabor final de la vaina beneficiada. Por lo que el presente trabajo se enfocó en generar información de carácter descriptivo sobre los diferentes procesos de beneficiado mexicano que se realiza tradicionalmente en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en la Huasteca Potosina (Tamazunchale, San Luis Potosí) y cómo repercute en la composición de la vainilla con relación a los componentes mayoritarios del aroma (vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzóico), las características fisicoquímicas y la microbiota presente en la vainilla beneficiada de un mismo Quimiotipo (Q6) de *V. planifolia*

J., previamente caracterizado por los componentes que definen comercialmente el aroma de la vainilla.

2.1.1 Objetivos

Objetivo general

Generar información de carácter descriptivo sobre los procesos tradicionales de beneficiado mexicano en *V. planifolia* J., que se realizan en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en la Huasteca Potosina (Tamazunchale, San Luis Potosí).

Objetivo particular

Conocer a detalle las actividades y los pasos que realizan durante el proceso de beneficiado de *V. planifolia* J., cada uno de los beneficiadores participantes (cinco beneficiados de la Región Totonacapan y uno de la Huasteca Potosina), a fin de eventualmente relacionar el impacto que tiene cada proceso de beneficiado con la calidad de la vainilla beneficiada que obtienen.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó a través de una metodología cualitativa, en la que se utilizó como instrumento de trabajo la entrevista. Mediante la cual fue posible obtener información a detalle de cinco procesos de beneficiado tradicional mexicano que realizan en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y uno en San Luis Potosí.

2.2.1 Entrevistas

Las entrevistas se realizaron a partir de un guion de entrevista, conformado por preguntas abiertas y temas a tratar, donde se mantuvo abierta la posibilidad del registro de información adicional, que permite conocer mayores detalles y obtener conclusiones generalizables de carácter descriptivo sobre la magnitud de problemas a nivel del proceso (Valles 1993).

2.2.2 Selección de beneficiadores

Se utilizó el método de muestreo por conveniencia, que consiste en seleccionar como unidades

de análisis, aquellos que ofrecen información relevante a los intereses de la investigación o sobre los indicadores que se exploran en los objetivos de la misma (Sánchez-Carrillo *et al.* 2003). En este estudio se consideraron informantes clave para la colecta de información, personas que tradicionalmente realizan el proceso de beneficiado de la vainilla. Se entrevistó a cinco beneficiadores (B1-B5), del estado de Veracruz y uno de la Huasteca Potosina (B6) (Cuadro 2.1). En algunos casos por ausencia de los beneficiadores se entrevistó a personas miembros del equipo de trabajo que pudieran proporcionar la información requerida.

Cuadro 2.1 Información sobre la ubicación de los beneficiados de vainilla participantes (B1-B6)

Beneficiador	Localidad/Nombre de las Organizaciones	Municipio
B1	Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos	Papantla, Veracruz
B2	Ejido Primero de Mayo	Papantla, Veracruz
B3	Rancho Santa Beatriz	Papantla, Veracruz
B4	Sociedad de Productores Rural (SPR) Rancho 20 Soles	Papantla, Veracruz
B5	Puntilla Aldama	San Rafael, Veracruz
B6	Sociedad de Productores Rural (SPR) Tlilixochitl	Tamazunchale, San Luis Potosí

2.2.3 Prueba piloto

Para estandarizar y elegir las preguntas adecuadas en el formato de entrevista, se efectuó una prueba con preguntas generales, para detectar preguntas mal formuladas o innecesarias, conceptos confusos o no especificados, y establecer los apartados y orden de las preguntas para lograr el desarrollo fluido de la entrevista, en febrero de 2014. La prueba piloto permitió el diseño de la encuesta definitiva y la selección de las variables a estudiar, la encuesta fue modificada solo una vez para lograr una mayor predisposición por parte del encuestado y el óptimo resultado de la salida a campo.

2.2.4 Trabajo de campo

Para aplicar las entrevistas y recolectar la información se realizaron salidas al campo con seis beneficiadores de las regiones del Totonacapan y San Luis Potosí, durante los meses de enero a abril de 2014, por ser los meses en los que se realiza el proceso de beneficiado. En las regiones de estudio se realizaron visitas a domicilio a cada uno de los beneficiadores, al momento de la entrevista se explicó el propósito y las razones que motivaron la recolección de

la información, para lograr la confianza, credibilidad y buena predisposición por parte de los beneficiadores. La documentación de la entrevista se realizó con el apoyo de una grabación de las respuestas a las preguntas, con previa autorización para grabar la entrevista y de esa manera tener toda la información valiosa. La entrevista tuvo una duración aproximada de 3 horas por cada beneficiador(a) entrevistado. Finalmente se agradeció a los beneficiadores por la buena disposición, amabilidad y el tiempo concedido, con el compromiso de regresar para compartir los resultados obtenidos.

2.2.5 Instrumentos utilizados

Como instrumento se diseñó una guía de entrevista para la recopilación de información, cuya estructura estuvo formada por seis apartados: 1. Datos de identificación, 2. Experiencia personal, 3. Materia prima utilizada en el beneficiado, 4. Etapas del proceso de beneficiado y 5. Producto final (Anexo 2.1A).

2.2.6 Obtención, análisis e interpretación de la información

La información se obtuvo mediante la aplicación de entrevistas, se utilizó una grabadora de audio que permitió grabar la información y las opiniones de los entrevistados. Con base en las grabaciones se transcribieron de forma inmediata las respuestas de las entrevistas, para detectar problemas en el audio o si surgían dudas en las respuestas de la grabación. Posteriormente las entrevistas se leyeron varias veces para concentrar las respuestas en una base de datos en excel. Así se transcribieron las principales etapas de cada beneficiado con una breve descripción de qué consistían, lo que ayudo en la elaboración de los diagramas de los procesos de beneficiado, para facilitar la identificación de las principales etapas de los beneficiadores evaluados.

Posteriormente se realizó el análisis del contenido de cada una de las entrevistas transcritas, a fin de reconocer las etapas y características principales que realizan los beneficiadores. Además, como referencia se tomó de la literatura, la descripción de cuatro procesos de beneficiado (Fontecilla 1898; Curtí 1995; Reyes *et al.* 2008; Herrera-Cabrera *et al.* 2010), para compararlos con los seis beneficios de las regiones del Totonacapan y San Luis Potosí y ubicar las diferencias y similitudes que existen entre ellos.

También se redactó a detalle la descripción de cada proceso de beneficiado para enriquecer la información cualitativa obtenida en las entrevistas, con los diagramas realizados de cada proceso, mismos que se presentaron a los beneficiadores entrevistados para que aprobaran y validaran la información que se había descrito en los diagramas.

2.2.7 Validación de las entrevistas

Para validar las entrevistas realizadas en la investigación se adoptó la tipología propuesta por Maxwell y Stake (2006), que plantea dos tipos de validez. La validez descriptiva: involucra la recopilación de datos, el resultado principal es la información que describe el objeto de interés, en este caso las etapas y características que se realizan durante el proceso de beneficiado y la validez interpretativa: la certeza en la interpretación es válida si los actores la confirman.

Así para validar la información relacionada a la descripción de los procesos de beneficiado y con ello asegurar la confiabilidad de los resultados obtenidos en las entrevistas previamente aplicadas, se realizó una segunda visita a las regiones de estudio y se les mostro a los beneficiadores entrevistados, y confirmar que la información interpretada fuera la que ellos proporcionaron o que quisieron transmitir. En los casos requeridos se complementó o modifíco la información de acuerdo al conocimiento de las personas entrevistadas, de tal forma que la información fuera consistente y congruente en cada paso que realizan durante el proceso de beneficiado.

2.3 RESULTADOS

La vainilla es una capsula verde que carece de sabor y aroma, y se cosecha en racimos, por lo que, para que se obtenga el sabor y aroma es necesario llevar a cabo un proceso de curado o beneficiado, que permita mediante la deshidratación del fruto y por la acción enzimática, obtener las características demandadas por el mercado.

Cada beneficiador tiene su propio proceso de beneficiado, en el caso de los seis beneficiadores participantes, todos practican el sistema tradicional el cual tiene una duración aproximada de tres a seis meses. De acuerdo con Sreedhar *et al.* (2007) esta duración tan prolongada se debe a la inestabilidad en las condiciones meteorológicas, lo que lo convierte en un proceso lento y delicado.

Cabe mencionar que los beneficiadores también son productores, por lo que cinco de las casas beneficiadoras están ubicadas en las zonas de producción del Totonacapan y una en la Huasteca Potosina, por lo tanto el proceso de beneficiado se realiza en el hábitat donde se cultiva la vainilla bajo las siguientes condiciones ambientales. El clima del Totonacapan es cálido húmedo, entre los 1,130 y 2,500 mm de precipitación, con una temperatura media anual de 22°C a 26°C (Curtí 1995), en esta región a finales y principios del año se presentan fuertes vientos conocidos como “*nortes*” los cuales perjudican el proceso de beneficiado (Damiron 2004). Mientras que en la Huasteca Potosina se encuentran climas semicálidos húmedos con abundantes lluvias todo el año, con una precipitación pluvial entre 4000 a 5000 mm, y una temperatura media anual de 24 °C (Comité Estatal del Sistema Producto Vainilla de San Luis Potosí, AC. 2009-2012). Por lo anterior, resulta importante conocer y documentar datos particulares sobre los beneficiadores y los detalles sobre los procesos de beneficiado que realizan (Figura 2.2 B, ver anexo).

2.3.1 Datos de identificación de los beneficiadores

El Cuadro 2.2 concentra la información personal de los seis beneficiadores, entre ellos una mujer, el beneficiador más joven tiene 33 años (B1) y el mayor 67 años (B2). Uno de ellos funge como presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos, ubicada la casa beneficiadora en la localidad del chote UAPPIT. Tres son beneficiadores independientes, el primero ubicado en el Ejido Primero de Mayo, otro en el Rancho Santa Beatriz, ambos de Papantla Veracruz, y el tercero corresponde a Puntilla Aldama, San Rafael, Veracruz, y dos que pertenecen directamente a la Sociedad de Producción Rural (SPR) Rancho 20 soles de Papantla Veracruz, y Tlixoxitl de Tamazunchale, San Luis Potosí quien es la representante del Comité.

2.3.2 Experiencia personal

El número de años dedicados al beneficiado de la vainilla varía entre los beneficiadores, se presentó un rango entre 2 (B6) y 60 (B2) años, este último beneficiador aprendió a deshidratar la vaina desde los 7 años, a partir del conocimiento transmitido por sus padres, lo que indica un amplio conocimiento de los aspectos relacionados con el beneficiado de la vainilla.

Mientras que los beneficiadores B1, B3, B4 y B5 a pesar de que le han dedicado años de su vida a realizar dicho proceso, comentan que no se consideran maestros beneficiadores, debido a que lo que hacen es coordinar el proceso (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2 Información general de los beneficiadores entrevistados

Entrevistado	Localidad/ Nombre de las Organizaciones	Edad (años)	Experiencia personal (años)	Importancia de la vainilla para el beneficiador
B1	Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos	33	5	Para tener trabajo, es un gusto trabajar con la vainilla.
B2	Ejido Primero de Mayo	67	60	Por su cultura y tradición, es la más valiosa herencia que me dejaron mis padres.
B3	Rancho Santa Beatriz	57	15	Porque es parte de mi trabajo, es uno de los cultivos más importantes de la región, la vainilla es originaria de Papantla y de aquí se ha distribuido a las diferentes partes del mundo.
B4	Sociedad de Productores Rural (SPR) Rancho 20 Soles	48	7	Para mí la vainilla es importante por cultura, tradición y porque me genera un ingreso.
B5	Puntilla Aldama	61	15	Porque es parte de lo que yo puedo producir y comercializar.
B6	Sociedad de Productores Rural (SPR) Tlilixochitl	52	2	La vainilla es importante porque es una alternativa de producción en esta zona.

Por otra parte, la mayoría de los beneficiadores coinciden que la importancia de la vainilla radica en ser uno de los cultivos más apreciados de la región, por su cultura, tradición y por ser una alternativa de producción que les permite tener ingresos adicionales (Cuadro 2.2).

2.3.3 Materia prima utilizada en el beneficiado

En el Cuadro 2.3 se describe información de la procedencia de las vainas, manejo del cultivo, características físicas y madurez de las vainas verdes que utilizan los beneficiadores en el proceso de beneficiado, las cuales en el Capítulo III se denominan como vainas de referencia (R1-R6).

Cuadro 2.3 Información sobre el origen y características de las vainas de vainilla (vainas de referencia) utilizadas en el proceso de beneficiado por los beneficiadores participantes

Vainas de Referencia						
	B1/R1	B2/R2	B3/R3	B4/R4	B5/R5	B6/R6
Lugar de Origen	Papantla, Ver. Tehuacán, Ver. Puntilla Aldama, San Rafael, Ver. Edo. de Puebla	Primero de mayo Locales de la región	Sierra de Papantla: San Rafael, Martínez De La Torre, Misantla. Edo de Puebla	Fuerte de Anaya, Tehuacán, Pantepec, Puebla	Puntilla Aldama, San Rafael	Veracruz y Oaxaca
Altura del cultivo	-----	220 msnm	0-350 msnm	30- 300 msnm	22 msnm	-----
Sistema de producción	Malla sombra <i>Pichoco</i>	Tradicional	Tradicional	Tehuacán: Cítricos Pantepec: Acahual Rancho 20 Soles: Acahual y casa sombra	Malla sombra con tutores vivos	Tradicional
Especie	<i>V. planifolia</i> J.	<i>V. planifolia</i> J.	<i>V. planifolia</i> J.	<i>V. planifolia</i> J.	<i>V. planifolia</i> J.	<i>V. planifolia</i> J. <i>V. odorata</i>
Características morfológicas u organolépticas	Color: verde- amarillenta Olor: Un poco a vainilla Flexibilidad: Dura	Color: verde- amarillenta Opaca Sin olor Flexibilidad: Dura Arriba de 15 cm	Color: verde- amarillento Sin olor Flexibilidad: Dura Arriba de 15 cm	Color: verde pálido amarillenta Ningún daño físico Forma de gancho en la punta	Color: verde- amarillenta Sin olor Flexibilidad: Gruesa	Color: verde- amarillenta Sin olor Flexibilidad: Dura
Estado de madurez	8 a 10 meses	8-9 meses	9 meses	8-9 meses	8-9 meses	8-9 meses

B1/R1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos

B2/R2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz

B3/R3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz

B4/R4 = Beneficiador del Rancho 20 soles

B5/R5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz

B6/R6 = Beneficiadora representante de Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

Lugar de Origen. El Cuadro 2.3 muestra los municipios de donde provienen las vainas a beneficiar. B1 compra vainas de Papantla, Tehuacán, San Rafael Puntilla Aldama y del Estado de Puebla, en cambio B2 y B5 utilizan vainas de su propio vainillar y de algunas localidades de Veracruz, B3 de Puntilla Aldama San Rafael, Martínez de la Torre, Misantla incluso parte del Estado de Puebla, B4 tiene dos proveedores: uno de la zona de Pantepec que pertenece al Estado de Puebla, y otro de la zona de Fuerte de Anaya municipio de Tehuacán, y B6 las adquieren de Veracruz y de Oaxaca. De la información obtenida se deduce que la procedencia de las vainas que utilizan los beneficiadores es muy diversa.

Altura del cultivo

En la Región del Totonacapan la vainilla crece adecuadamente desde el nivel del mar hasta los 600 msnm (Childers *et al.* 1959). El B3 presenta el gradiente altitudinal más amplio desde el nivel del mar hasta 350 msnm, mientras que B5 de Puntilla Aldama, San Rafael utiliza vainas que se desarrollan a 22 msnm (Cuadro 2.3).

Sistema de producción

El material vegetal que beneficia B1 lo cultivan en casa sombra en asociación con árboles de pichoco (*Erythrina coralloides*), mientras que la mayoría de los beneficiadores B2, B3, B4 y B6 por los lugares donde se desarrollan utilizan el sistema tradicional en el cual los productores siembran la vainilla en acahual. Aunque B4 también utiliza vainas que se cultivan en arboles de cítricos, proveniente del municipio de Tecolutla; el Rancho 20 soles (Sociedad de Productores Rural) cultiva vainilla en sistema de acahual y en casa sombra. Mientras que B5 cultiva sus vainas bajo el sistema de malla sombra con tutores vivos zapote reventador (*Pachira aquatica*) y pichoco (*Erythrina coralloides*), realiza podas frecuentes para llevar un control en el porcentaje de sombra y encauzamiento de la vainilla sobre el tutor, para limitar a dos metros la altura de las plantas y tener un mejor manejo del vainillal.

Especie

Se identificó que *V. planifolia* J. es la especie de vainilla que utilizan todos los beneficiadores. El beneficiador B6 menciona que además utiliza *V. odorata*.

Características físicas de las vainas

Para realizar el beneficiado de vainilla, las vainas deben ser carnosas casi cilíndricas de coloración verde-amarillenta opaca, tamaño arriba de los 12 cm y de 10 a 15 milímetros de diámetro, flexibilidad dura, fruto verde sin olor, sin embargo, B1 menciona que cuando la vaina está madura empieza a oler un poco a vainilla. Esta información concuerda con lo reportado por Ramachandra-Rao *et al.* (2000) y Sheedhar *et al.* (2007), quienes indican que para beneficiar las vainas deben alcanzar un color amarillo verdoso (que es el indicador de tener la máxima actividad de las enzimas precursoras del aroma durante el proceso de

beneficiado), con una longitud de 15-20 cm.

Estado de madurez

B2 asocia a la vainilla con una mujer por que su fruto madura hasta los 9 meses. De acuerdo con los demás beneficiadores, la madurez apropiada para cortar y beneficiar las vainas, es entre 8 y 10 meses de edad. Este aspecto es importante porque si se cosechan las vainas antes de madurar se reduce la cantidad de aroma que se puede obtener durante el beneficiado, pero si las vainas se cosechan demasiado tarde, estas se abren lo que afecta la calidad final del fruto beneficiado (Rivera-Espinoza y Muriel 2013). Por otro lado Dignum *et al.* (2001) mencionan que la calidad final de las vainas de vainilla depende principalmente del contenido de glucovainillina de las vainas verdes y si el beneficiado empieza con vainas maduras esta tendrá alto contenido de glucovainillina, por lo tanto el aroma será superior.

2.3.4 Descripción del método mexicano de beneficiado de la vainilla (*Vanilla planifolia* J.): Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina

Cada beneficiador tiene su propio sistema de beneficiado tradicional porque no es muy costoso y se apega a la infraestructura que tienen.

Con la descripción que se realiza de manera independiente para cada beneficiado, se aprecia que los procesos se hacen de manera secuencial y consta de varias etapas generales con la intersección de algunas subetapas o variantes particulares que son necesarias llevar a cabo para lograr la transformación del fruto verde sin aroma ni sabor hasta la condición de una vaina deshidratada con características tan peculiares en el aroma y sabor (Comunicación personal con cada uno de los beneficiadores 2014).

Los procesos de beneficiado realizados por los beneficiadores participantes se ilustran de manera resumida en forma de esquemas, de la Figura 2.2A a la Figura 2.7A. En los siguientes apartados se detallan los pasos y actividades que describieron los beneficiadores, en cada una de las etapas al realizar el beneficiado.

2.3.4.1 Etapas del proceso de beneficiado tradicional mexicano

Acopio (recepción)

Se realiza con la finalidad de controlar las entradas del volumen de vainilla que llega a la casa beneficiadora (Cuadro 2.4) y conocer su estado de madurez, de tal manera que 80% tengan de 8 a 10 meses de edad con un color verde-amarillento opaco. La beneficiadora B5 comenta que las vainas que se benefician en el mes de diciembre quedan opacas y carecen de sabor porque no han alcanzado la madurez adecuada, en contraste las vainas beneficiadas en la primera quincena de enero logran mejor calidad por tener un grado de madurez mayor y porque el sol es más constante. Aunado a esto Medinilla (1997) menciona que debido a la inestabilidad de la época en que se presenta la floración (principios de marzo a fines de mayo), cuando se llega la fecha de corte e inicio del beneficiado (15 de noviembre) puede haber diferencias en el estado de madurez de las vainas, de tal forma que se tiene que respetar la fecha de corte, y evitar que los ladrones cosechen. Por lo anterior, los productores al cosechar las vainas no consideran el grado de madurez de las vainas, lo que ocasiona que la calidad del producto no sea estable.

Cuadro 2.4 Actividades durante el acopio de las vainas de referencia (R) a beneficiar

Beneficio	Cantidad y edad de las vainas		Preselección de las vainas por tamaño y/o calidad				
	Volumen (kg)	Edad (ton)	Edad meses	V. grandes (cm)	V. chicas (cm)	V. pinta rajadas	V. zacatillo (cm)
B1		20	8-10	18-20	12-16		
B2	50	36	8-9	18-22	15-17	Mayor grado de madurez	< 14
B3		30-35	9	>12	<12	Abiertas de la punta	
B4	10	1	8-9	>18	<14	Rajadas	
B5	10	1	8-9	>15	<15		
B6	200		8-9			No realiza preselección	

- B1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos
- B2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz
- B3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz
- B4 = Beneficiador del Rancho 20 soles
- B5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz
- B6 = Beneficiadora representante de Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

Consiste en recibir la vainilla del productor, la cual como llega en bolsas se tienen que vaciar debido a que algunas llegan *apuradas* (vainas que cortaron con una o dos semanas con anterioridad); por lo tanto, el fruto se deteriora (dependiendo de la cantidad o se pudre, o se empieza a abrir), de ahí que dos de los beneficiadores (B1) y (B4) aprovechan para realizar

una primera selección del fruto por tamaño (Cuadro 2.4). El resto no realiza dicha clasificación en esta etapa.

Despezonado

Esta es una etapa crítica, realizada por personal con experiencia, que consiste en separar manualmente el pedúnculo floral oprimiendo la base del raquis, ejerciendo presión y girando el pedúnculo con la yema de los dedos, evitando romper la punta de la vaina, pues es vía de escape de los aceites y semillas del fruto, lo que demeritaría la calidad de la vainilla. El objetivo de un buen despezonado es mantener la integridad del fruto. Otro de los beneficiadores se refiere a esto como *si se quiebra la “patita de la vaina”* baja la calidad del producto final, ya que la vende por mazos, con las vainas acomodadas en paquetes circulares con la patita de la vaina bien acomodada.

Marchitado (Escaldado)

De acuerdo con Mariezcurrena *et al.* (2008) el marchitado es una de las etapas más importantes del beneficiado, por detener el desarrollo vegetativo de la vaina, posterior a la cosecha, y promover la actividad fisiológica para que las enzimas puedan estar en contacto directo con los sustratos e inicien las reacciones enzimáticas y provoque la liberación de compuestos precursores del aroma y sabor, acumulados en los tejidos de la placenta (Van Dyk *et al.* 2010). Se identificó que los beneficiadores priorizan el método tradicional mediante la inmersión en agua caliente, aunque deciden como marchitar el fruto verde en función de tres factores (Cuadro 2.5).

1. Volúmenes manejados

Cuatro beneficiadores realizan el marchitado del fruto en función del volumen:

B1: La capacidad promedio que marchita es de 20 toneladas de vainas verdes. Durante esta etapa calienta agua a punto de hervor en dos o tres tinas, emplea leña como combustible, posteriormente se elaboran paquetes de 5 kg colocándolas en arpillas y se sumergen una sola vez en el agua a punto de ebullición. Conforme baja la temperatura se deja un poco más de

tiempo, las vainas que entran primero se dejan por 5-6 segundos, las segundas de 8 a 9 segundos y las terceras de 13-14 segundos.

B2: Las condiciones recomendadas por volumen son las siguientes:

Volumen pequeño: Comprende una cantidad de 50 kg, se introducen las vainas en el agua caliente una vez que alcanza los 70 °C, si la vaina se encuentra mojada se sumergen de 5 a 10 minutos, pero si la vaina esta entreseca es menos tiempo entre 5 y 6 segundos.

Volumen intermedio: Cuando tienen un volumen de 70-100 kilos las somete a 90 °C durante 3 segundos.

Volumen grande: Se usa agua caliente a 100 °C por 1 segundo cuando se manejan grandes volúmenes de vainas.

B3: Se usan bolsas de nylon cuando son volúmenes menores a 30 kg. Reyes *et al.* (2008) mencionan que el marchitado del fruto con nylon es ideal para volúmenes pequeños, donde una de sus ventajas es la uniformidad del color café que presenta la epidermis del fruto.

Volumen intermedio: Se realiza cuando hay poco volumen y buen sol.

Volumen grande: Para matar de 30-35 ton primero en unas arpillas de plástico se colocan de 10-12 kg de vainas verdes para, posteriormente, sumergirlas en agua caliente a 75-80°C, dicha temperatura se mide con un termómetro y mentalmente se cuenta de 8-10 segundos. Como este proceso se desarrolla en la temporada de invierno, el agua se enfría rápidamente por lo que es necesario tener varios recipientes con agua a la misma temperatura.

B6: Este beneficiador maneja dos volúmenes:

Volumen pequeño: de 0.05 a 3 kg se colocan en bolsas de nylon negra para exponerse al sol a 50 °C de 2-5 días.

Volumen grande: Representa un volumen de 100 a 200 kg, se tiene que hacer rápido después de la cosecha porque el fruto tiende a abrirse, para lo cual con gas se pone a hervir agua a 100 °C (cuantificada con un termómetro), en un tambo de 100 L. En este método se requiere elaborar bolsas especiales llamadas *ayates*, con una capacidad de 4.5 kg, posteriormente se colocan en arpillas y se sumergen en el agua caliente por 10 segundos (contabilizado

mentalmente). Como la temperatura baja cada vez que se utiliza el agua, es recomendable utilizarla solo cuatro veces, de ahí se vuelve a calentar para repetir el proceso.

2. Madurez del fruto

B4: Considera que si las vainas están maduras no se despezonan y se escaldan con todo y raquis. Pero por el contrario, si tienen una madurez de 8 a 10 meses es necesario que las vainas al momento del marchitado del fruto, se encuentren despezonadas. Consiste en poner en un recipiente con capacidad de 100 litros, agua a fuego con leña, se colocan las vainas dentro de una arpilla y se sumergen en el agua caliente a las siguientes temperaturas controladas con termómetro y se contabiliza el tiempo con un cronometro: a 80-85 °C durante 10 segundos, aunque también se puede marchitar el fruto a 90 °C, si se dejan más de 2 segundos se corre el riesgo de quemarlas, es preferible que salgan un poco verdes y con el sol se completa el proceso. Una vez que estén bien cocidas no se logran rescatar, por esta razón es importante controlar estos ciclos porque si exceden los 90 °C las vainas se reblandecen excesivamente, esta condición no se aprecian inmediatamente pero después del encajonado a las 24 o 48 horas, salen con ampollas y mucho más flexibles, entonces esas vainas pierden el aroma tan delicado de la vainilla y tienden a oler mal.

3. Estado del clima

B5: Este beneficiador mata el fruto en función del estado del clima:

Si hay sol: las vainas se exponen al sol a 40 °C por 3 horas y se colocan encima de un polietileno para que estén más calientes y cuando estén bien calientes se meten al cajón, al otro día se vuelve a repetir el proceso hasta lograr otros dos soles para que al tercer día toda la vaina esta negra.

En caso de no haber sol, las vainas se matan en agua a punto de ebullición durante 5 segundos. Posteriormente se depositan en un cajón de madera dejándose reposar durante toda la noche. Al día siguiente cuando se sacan al sol, las vainas deben tener un color entre verde y café el cual es el indicador de un buen matado del fruto. Al respecto Jones y Vincent (1949) mencionan que el marchitado del fruto en agua caliente a 60-70 °C da mejores resultados de buen aroma y calidad que otros métodos.

Cuadro 2.5 Condiciones del marchitado de la vaina de vainilla en función del volumen, estado de madurez y clima que realizan los beneficiadores bajo estudio

Beneficio	Volumen	Estado del clima	Madurez del fruto	Forma	Temperatura	Tiempo
B1				Agua caliente	Punto de ebullición	1er ciclo 5-6 seg 2do ciclo 8-9 seg 3er ciclo 13-14 seg
B2	Pequeño (< 50 kg)				70 °C	V. mojada: 5- 10 min V. entreseca: 5-6 seg
	Intermedio (70-100 kg)			Agua caliente	90 °C	3 seg
	Grande (ton)				100 °C	1 seg
B3	Pequeño (< 30 kg)			Bolsas de nylon		
	Intermedio			Al sol		
	Grande			Agua caliente	75-80 °C	2 seg
B4			> 10 meses		80 °C (con raquis)	10 seg
			8-10 meses	Agua caliente	90 °C	1-2 seg
B5		Si hay sol		Al sol (tapadas con nylon)	40 °C	3 horas
		No hay sol		Agua caliente	Punto de ebullición	5 seg
B6	Pequeño (½-3 kg)	Si hay sol		Al sol (tapadas con nylon)	50 °C	2-5 días
	Grande (100 -200 kg)	No hay sol		Agua caliente	100 °C	10 seg

B1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos

B2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz

B3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz

B4 = Beneficiador del Rancho 20 soles

B5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz

B6 = Beneficiadora representante de Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

Sudado (Encajonado/enmaletado)

Es el proceso de almacenar las vainas en un cajón de madera de cedro o de pino con una dimensión aproximada 2.5 x 1.2 x 0.8 m de largo, ancho y alto respectivamente previamente lavado con agua caliente para matar los microorganismos que puedan contaminar las vainas, y se tapan con tres cobijas (de algodón, lana o poliéster), petates y una lona, para que las vainas se mantengan en sudoración, con la finalidad de perder humedad. Durante esta fase fermentativa ocurren una serie de sucesos que generan condiciones para que las enzimas puedan catalizar varios procesos hidrolíticos y oxidativos, también se llevan a cabo procesos

no enzimáticos que permiten la liberación de humedad y reducción del contenido de agua (Reyes *et al.* 2008).

Cada beneficiador durante el proceso de almacenar acomoda las vainas de diferente manera:

B1: El pezón de la vaina se acomoda del lado superior y la punta de la vaina hacia el lado inferior del cajón.

B2: Se acomodan las vainas por hilera de forma cuatrapeada en cajones con una dimensión de 2.5 x 1.2 x 0.8 m de largo, ancho y alto respectivamente (hasta llenar el cajón en el cual en la parte superior con las mismas se elabora una corona), se coloca por dentro un nylon para recuperar aproximadamente 20 litros de *jarabe* (líquido que sirve para curar las vainas de la posible contaminación de hongos, y que se desprende de las vainas en reposo).

B3: Las vainas son colocadas de manera transversal y longitudinal (cabeza y costilla, cuatrapeadas) para evitar que se quiebren y garantizar que la temperatura se mantenga, posteriormente se tapan con un plástico grueso al cual se le hacen orificios para que salga el agua que se llegue a generar en esta etapa de deshidratación, a partir del cuarto encajonado los *jugos* se utilizan para limpiar las vainas y provocar la expresión de una de las propiedades esenciales en la vainilla, el brillo.

B4: Al momento de depositar las vainas en el cajón sudador se deben de mover para que se acomoden de forma horizontal y se mantengan más calientes.

B5: El beneficiador levanta los grupos de vainas calientes, y las acomoda ordenadamente en el cajón sudador (el pezón del lado superior y la punta del lado inferior), también se utiliza una franela doblada para agarrar mayor cantidad de vainas, se sueltan las vainas y se extienden en el cajón. Se recomienda que las vainas estén como máximo tres días en los cajones porque con la humedad generada, pueden proliferar hongos blancos en la punta de la vaina, cuando llegan a honguarse se limpian con un trapo y alcohol.

B6: Es necesario forrar el cajón por dentro con nylon negro y tela satinada para evitar el contacto de la vaina porque se le pega la pelusa, y se cubren por fuera con cobijas de poliéster.

Las vainas se dejan reposar durante toda la noche para que se mantengan en sudoración, esta actividad se le conoce como primer sudor, y con 60-70% de humedad (Krushnamurthy *et al.*

2013), las vainas que siguen verdes se depositan en bolsas de nylon negras y se exponen al sol hasta que se oscurezcan y se homogeneicen con las demás. Los siguientes sudores se realizan a la par con el secado o soleado.

Secado (Asoleado)

El secado es la etapa más difícil en el proceso de beneficiado (Havkin-Frenkel *et al.* 2011), debido a que el secado y el sudado van juntos. Un sol o sudor es la acción mediante la cual las vainas alcanzan los 45-60°C para posteriormente encajonarlas y ahí pierdan dos terceras partes de su peso por deshidratación. Krushnamurthy *et al.* (2013) indican que las vainas necesitan deshidratarse para reducir su contenido de humedad con el fin de protegerlas del deterioro microbiano y permitir que otras reacciones se lleven a cabo para desarrollar la mayoría de las características de aroma, sabor y color. Durante la mañana que se sacan las vainas del cajón se tienden en el patio sobre lonas o tarimas expuestas al sol a 45-60 °C (estimado al tanteo) por periodos de media hora o 2 horas; puesto que la vaina tiende a un color oscuro absorbe más calor incrementando la temperatura muy rápido, por lo que si no cambios en el clima (lluvia), al medio día se empiezan a levantar para que por la tarde todas las vainas estén depositadas en el cajón sudador (hasta ese momento cuenta como segundo sudado). Se identificó que los métodos de secado comúnmente utilizados por los beneficiadores es al sol, pero uno de ellos también realiza el secado al aire (ventilados u oreados).

B1: Considera que este proceso se debe de realizar de dos a tres veces a la semana, en total las vainas tienen en promedio de 5-25 soles/sudores. Aunque el número de soles lo determina el beneficiador en función de la humedad y grosor que tengan las vainas (Cuadro 2.6). Por lo que con base en Röling *et al.* (2001) un secado desigual puede ser resultado de tener diferentes tamaños de vaina y diferencias en el contenido de humedad.

Cuadro 2.6 Numero de soles para secar la vainilla que realiza cada beneficiador

Beneficio	Soles (#)	Temperatura (°C)
B1	25	45 °C
B2	8-20	45 °C
B3	V. Maduras:18-20 V. Tiernas:<15	50-55 °C
B4	20	50-60 °C
B5	20-25	Al sol
B6	V. Gruesas:15-20 V. Delgadas:5-10	50 °C

* Para que cuente como un sol tuvo que haberse dado un sudor

B1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos

B2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz

B3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz

B4 = Beneficiador del Rancho 20 soles

B5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz

B6 = Beneficiadora representante de Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

B2: Este beneficiador maneja las vainas por lotes, primero trabaja con dos lotes, le da cinco sudores y los descansa por tres días en espigueros, durante esos días no se mueven, y se aprovecha para tratar los demás lotes, a los cuales les da el mismo tratamiento. De ahí se les da un enfriamiento, se descansan y guardan. En esta etapa se debe tener mucho cuidado por que brota el aceite que contienen las vainas, lo que ocasiona que queden pegajosas, eso no es conveniente porque no deja extender las vainas, se pegan entre si y se les pega el polvo. Cuando pasa eso, se lavan con agua caliente a 35 °C o se exponen al sol dándole 3 soles con oreadas de media hora. Una vez las vainas sin aceite, se guardan.

B3: Al momento de quitar las vainas del sol para encajonarlas se colocan separadores (telas con huecos para que el calor fluya) y no se revuelvan las vainas de diferentes tamaños. A los tres o cuatro sudores se tienen que pasar a los bancos para separar las vainas maduras de las tiernas, para saber cuántos soles son necesarios realizar. A las vainas maduras a la cosecha se les dan entre 18-20 sudores o soles y a las vainas tiernas, menos de 15 sudores.

En caso de no haber sol: En un cuarto se encamillan las vainas y se resguardan en galeras.

B4: Cuando tiende las vainas al sol las cubre con un plástico más grueso (denominado térmico) y con un termómetro de suelo corrobora que las vainas tengan 60 °C para posteriormente depositarla en los cajones. A partir de los 15 soles se debe tener cuidado, no dejar que se calienten por mucho tiempo ya que los últimos soles van a depender de quien

solicite las vainas, siempre solicitan de 20 soles hasta 25 soles, que es cuando alcanza un porcentaje de 20-30 % de humedad y son más flexibles. Cuando no hay sol a este proceso se le llama oreados o ventilados, en el cual de igual manera, las vainas se sacan al patio aunque el clima este nublado o fresco para que se oreen y pierdan gradualmente la humedad, si el clima es muy húmedo no se deben sacar, solo se cambian de camilla cada tercer día, en ese intercambio se detectan aquellas vainas que tengan hongos para ir separándolas y no contaminen a las demás. Se ha detectado la presencia de hongos de coloraciones blancas y negras, para lo cual se recomienda limpiar las vainas con un trapo u algodón con alcohol, o con bicarbonato de sodio diluido en agua porque no reseca las vainas, aunque es más recomendable separarlas de ese lote. Los hongos empiezan a crecer por el mal tiempo y, porque las vainas no se sacan asolear. A pesar de que sean vainas tiernas y haya sol se deben secar, aunque se deshidraten rápido, y tengan poco brillo, flexibilidad, menos aroma, pero al final de cuentas no se corre el riesgo de que se contaminen, aunque tendrán un aroma muy suave para extracto. Caso contrario cuando las condiciones del clima no permiten el asoleado, se realiza el oreado y ventilado para que no se echen a perder las vainas. Estudios realizados por Thomas y Bindumol (2005) y Sudharshan *et al.* (2006) mencionan que si las vainas de vainilla no se secan, son susceptibles a la contaminación por hongos como *Penicillium* y *Aspergillus*.

B5: Se exponen las vainas al sol sobre un plástico o lona aproximadamente tres horas (el tiempo que se exponen depende de la intensidad del sol). Es recomendable realizar entre 20-25 sudados, pero esto va a depender del grosor de la vaina y del porcentaje de humedad que pida el cliente.

B6: Si las vainas no alcanzan los 50°C, no se encajonan, se tienden a la sombra y diariamente se voltean porque de lo contrario generan hongos de color blanco o con un punto rosado, que por lo regular empiezan a salir por los extremos nunca empieza en medio. Esto afecta porque las vainas se ponen opacas y no emite el mismo aroma por la falta del sol, esos problemas se solucionan al momento del reposo, con el manipuleo se abren los poros de las vainas y el aceite que estaba encapsulado empieza a generar brillo en las vainas. Una vez concluida esta etapa las vainas deben quedar homogéneas, han perdido dos terceras partes de su peso, han desarrollado un color chocolate oscuro, y están brillosas, y con una textura rugosa (similar a una uva pasa). Eliminar el exceso de humedad evita el deterioro de las vainas durante las

siguiente etapa el acondicionamiento (Krushnamurthy *et al.* 2013). Estas características son similares a lo reportado por Ruiz-Terán (2001), quien menciona que para realizar esta fase se requieren temperaturas de 45-65 °C y se repite alrededor de 25 veces hasta que las vainas queden secas y se homogenicen a un color achocolatado y bajo una consistencia elástica.

Acondicionado (Empaquetado)

Esta etapa tiene una duración de un mes a varios meses. Waliszewski (2006) menciona que durante esta etapa se desarrollan reacciones químicas, tales como la eterificación, esterificación y degradación oxidativa, que permiten mejorar la calidad final del fruto. Consiste en acomodar y sellar uniformemente las vainas beneficiadas una vez que aparentemente cumplen con las características físicas que marca la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011.

Los beneficiadores en esta etapa clasifican las vainas beneficiadas conforme a los criterios de aspecto y longitud (Cuadro 2.7).

Se efectúan de dos formas:

1. Al vacío. Es la forma de empaquetar predominante entre los beneficiadores.

B1: Menciona que este proceso tarda 15 segundos para que succione el aire y logre sellar la bolsa de plástico transparente de polietileno.

B3: Hace paquetes de 25 o 30 kilos, posteriormente los deposita en cajas de madera y las mete en bolsas negras para que nos les pegue el sol y evitar que se *rayen*. 30 paquetes de a kilo se hacen por día, esta etapa se realiza cuando la temperatura no es muy fría, no es recomendable empaquetar cuando hay humedad porque entra agua en las bolsas y se genera hongos.

B4: Menciona que empaca al vacío porque no afecta las características que demanda el mercado, no se pierde el peso y no hay problemas de hongos, en cambio cuando las vainas se guardan en cajas con papel encerado se resecan y pierden peso.

B6: Con una báscula pesan 250 gramos y medio kilo de vainas, y las empacan en bolsas de nylon grueso, con sistema de cerrado tipo ziploc (alto vacío).

2. Envueltas con papel encerado.

B2: además de utilizar papel encerado, también usa hojas de lata, cartón, o bolsas de plástico, con un ticket que indique que tipo de calidad y los kilos que contiene.

B5: empaqa sus vainas con papel encerado para permitir el completo desarrollo del aroma y sabor debido a que en esta etapa todavía se desarrollan reacciones bioquímicas que producen diversos componentes aromáticos volátiles (Röling *et al.* 2001).

Cuadro 2.7 Empaquetado de las vainas beneficiadas

Beneficio	Clasificación										Empaquetado Forma	
	Aspecto Característica					Longitud Calidad						
	Aroma	Color	Brillo	Flexibilidad	Humedad (%)	1 (cm)	2 (cm)	3 (cm)	4 (cm)	5 (cm)		
B1	Suave	Negra	Brillosa	Flexible a lo largo de toda la vainas	22	18-20	13-17	< 12			Al vacío	
B2	Dulce con notas a chocolate	Achocolatada			20-25	18-22	15-17					Papel encerado
B3	Notas suaves	Café achocolatada			25-32	20-25	18-19.9	16-17.9	14-15.9	12-13.9		Al vacío
B4	Dulce con toque a anis, canela o achocolatada	Café oscuro achocolatada			27-30	> 18	14-17	< 14				Al vacío
B5	Suave	Café oscuro			20-25	> 15	< 15					Papel encerado
B6	Dulce	Achocolatada			25-30	> 18	16-17	< 15				Al vacío

B1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos

B2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz

B3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz

B4 = Beneficiador del Rancho 20 soles

B5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz

B6 = Beneficiadora representante de Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

Aunque la mayoría de los beneficiadores envasan al alto vacío, Havkin-Frenkel (2004) señala que existen tres factores que afectan la calidad de la vainilla con este tipo de empaque: (1) El sellado hermético no permite la volatilización de compuestos indeseables que se pudieran generar, (2) Dentro del empaque hay una atmósfera anaerobia, que favorece el crecimiento y la actividad de microorganismos anaerobios, que pueden ser responsables de la desaparición del sabor y aroma de las vainas y (3) Una atmósfera pobre en oxígeno evita las reacciones oxidativas no enzimáticas, que también pueden contribuir al sabor durante el acondicionamiento y almacenamiento.

Cabe mencionar que la relación de rendimiento normal de vaina verde a beneficiada es de 5:1, es decir por cada 5 kilos de vaina verde se obtiene 1 kilo o 1.25 kg de vainilla beneficiada. Havkin-Frenkel *et al.* (2011) reportan que esta relación varía según el peso, tamaño y madurez de la vaina verde y del porcentaje de humedad que demande el comprador de la vainilla

beneficiada. De acuerdo con los beneficiadores se pueden empaquetar conforme a los criterios de aspecto y longitud de vaina beneficiada.

2.3.4.2 ETAPAS PARTICULARES DEL PROCESO DE BENEFICIADO TRADICIONAL MEXICANO

Los beneficiadores durante todo el proceso artesanal conservan las siguientes diferencias y variantes en las prácticas de beneficiado (Comunicación personal con cada uno de los beneficiadores 2014).

Selección del tamaño

Los beneficiadores B2, B3, y B5 al momento de despezonar hacen una preselección del fruto en cuanto al tamaño y estado de madurez, con el fin de agrupar vainas uniformes la vaina y no dañar el fruto cuando las acomodan en las camillas o al depositarlas en el cajón (Cuadro 2.4).

Selección por lote

El B2 realiza una segunda selección por lote cuando el volumen es grande. El cual es un manejo estratégico para no perderse en los sudores. Consiste en repartir las vainas equitativamente en cuatro lotes.

Lavado del fruto

A diferencia de los demás beneficiadores, el B4 realiza un lavado del fruto antes del despezonado el cual consiste en someter las vainas en dos inmersiones en una solución de agua con cloro al 0.6% de concentración (10 mL de cloro comercial a 6% por cada 100 mL de agua). Como las vainas llegan con polvo y residuos, en la primera lavada remueven el polvo y en la segunda lavada toda la suciedad y si el agua aún queda sucia el agua se realiza un tercer lavado, o los que sean necesarios hasta que el agua quede clara. En el B6, la vaina se lava con agua después del despezonado.

Selección por textura

Inmediatamente después del secado, B2 selecciona las vainas *crudas*, *blandas* y *entresecas*, si están *crudas* se regresan al cajón sudador, pero si están *blandas* (mayor flexibilidad, color achocolatado y con 30% de humedad) requieren exponerse al sol por media hora, mientras que las vainas *entresecas*, ásperas y rígidas con 25 % de humedad se olean 3 o 4 minutos.

Observación

Después del secado en el B1, se seleccionan las vainillas que cumplen los requisitos y se colocan en un cajón para observarlas durante 5 a 10 días. El objetivo de este paso es verificar que las vainas no desarrollen hongos, mohos o liberen agua (sudar). Finalizado este tiempo, las vainas aumentan la liberación del aroma característico de la vainilla.

Descanso o enfriamiento

Consiste en extender las vainas a la sombra de tres a ocho días y en ciertos casos hasta un mes, con el objetivo de verificar que no se encuentren vainas gruesas o con hongo. Los beneficios B2, B5 y B6 depositan las vainas en tarimas forradas con tela para reducir su temperatura después del asoleado.

Selección por textura, humedad o tamaño

Dependiendo del criterio del beneficiador, en esta etapa las vainas se separan por humedad, tamaño o calidad, además se determina si continúan deshidratándose o están listas para empacarse (Cuadro 2.8).

B1: Esta etapa se realiza después de la observación, se miden las vainas con una regla, de 12 hasta 22 cm (vaina *gourmet*). Para seleccionarlas por tamaño y por calidad deben cumplir con las siguientes características: Vainilla recia, negrita, brillantes, opacas y con aceite, y por humedad las vainas tienen que parecerse a una uva pasa.

B2 y B3: Una vez que se concluye con la etapa de enfriamiento estos dos beneficiadores seleccionan las vainas que no están listas, para reposarlas en camillas guardándolas en lotes y marcándolas de tal manera que se identifiquen las vainas que necesitan sudor y las que no.

Cuadro 2.8 Selección de vainas por tamaño, calidad y humedad

Beneficio	Humedad (%)	Tamaño (cm)	Calidad
B1	Deshidratada como uva pasa	12-22	V. recia V. negrita V. brillantes V. opacas V. con aceite
B2	30		V. blanda (flexible, color achocolatada)
	25		V. entreseca (ásperas y rígidas)
B3	Deshidratada como uva pasa		
B4	> 25		
	< 25		
B5		> 15	
		< 15	
B6	> 30		
	< 30		

B1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos

B2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz

B3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz

B4 = Beneficiador del Rancho 20 soles

B5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz

B6 = Beneficiadora representante de Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

B4: Conforme realiza los soleados, selecciona las vainas más gruesas hasta obtener un 25 % de humedad, mientras que las delgadas se guardan bajo sombra y se revisan constantemente, que no se enlamen.

B6: Esta etapa la realiza posterior al secado, cuando las vainas alcanzan un 30% de humedad se separan del resto, se colocan en la sombra y constantemente se voltean. Las vainas con mayor porcentaje de humedad continúan el proceso de secado y tienen que estar en observación para ver si requieren uno o dos días más de sol. Posteriormente se hace el entresacado, que consiste en seleccionar las vainas largas, cortas, delgadas y gruesas e irlas guardando.

Deposito provisional

B2: Es el único que realiza el depósito provisional para separar el fruto con una textura rígida y seca, hace paquetes de 15 o 20 kilos de vainas y los deposita en cajones forrados con papel encerado. Esos frutos se dejan en el depósito provisional por 10 días.

Revisión

La revisión (revisos) es una subetapa del depósito provisional que realiza el B2. A los 10 días, el beneficio B2 saca las vainas del depósito provisional para hacer una revisión minuciosa, de no encontrar ningún agente de contaminación se regresan al depósito, y a los 15 y 20 días vuelve hacer otra revisión. Si en esas tres revisiones las vainas no se contaminaron o se dañaron, están listas para empaque y venta. Cuando hay un mal manejo de las vainas se presentan problemas en los revisos por la falta de higiene de los trabajadores, lo que genera la formación de hongos, o porque no se les da el oreado que requieren. López (2013) coincide que se deben realizar tres revisiones para observar la incidencia de plagas y enfermedades. Otro aspecto que es importante mencionar es que las vainas crudas no deben pasar al depósito normal, porque como están húmedas generan hongos y contaminan a las vainas que están sanas.

Deposito normal /curado

Se identificó que tres de los beneficiadores llevan a cabo el depósito normal:

B2: Es la etapa en la cual se destinan solo las vainas de calidad garantizada, libres de plagas y hongos, por eso la trabajan los profesionales, con experiencia en el depósito normal.

B4: Para vender las vainas se tienen que dejar como mínimo un mes en el depósito y revisar cada 15 días durante un mes, una vez que las venden, el comprador es responsable de su vaina.

B6: Se realiza con el fin de que las vainas generen el aroma característico de la vainilla. Consiste en depositar las vainas en tarimas forradas con tela para que se enfríen, y de ahí se retiran las vainas que tengan 25-30% de humedad para depositarse en otras cajas. Es necesario revisar cada 15 días o cada mes durante ocho meses, que las vainas no se enmielen o les salgan hongos.

2.3.4.5 Venta de la vainilla beneficiada

La calidad de la vainilla beneficiada que obtiene cada beneficiador es el resultado de un proceso artesanal laborioso y tardado a través del cual se obtienen atributos físicos y químicos particulares (Cuadro 2.8). Estas características relacionadas con el aroma, color, flexibilidad, tamaño e inocuidad, los beneficiadores las determinan basado en su experiencia de acuerdo

con los requisitos mínimos que marca la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011 y de esa manera satisfacer los gustos y necesidades del mercado. Por lo que algunas de las características que les gusta a los beneficiadores que tenga sus vainas beneficiadas son: el aroma y tamaño mientras más aroma y mayor longitud mejor calidad, con un color café oscuro achocolatado, brillo aceitoso, también la humedad relacionada con la flexibilidad de las vainas, una vaina es de buena calidad cuando se enrolla en el dedo y no se rompe, mientras que cuando el proceso para beneficiarlas no fue adecuado las vainas están secas y se quiebran con facilidad en las manos porque no cumple con el porcentaje de humedad del 20-32% y libre de microorganismos patógenos. En la Figura 2.1 se concentra el tipo de comercialización que realiza cada uno de los beneficiadores participantes, que varía de acuerdo a la calidad organoléptica que obtienen de la vainilla beneficiada.

De acuerdo con la información que proporcionaron los beneficiadores, además de vender directamente al mercado nacional el B1, B3 y B5 exportan al extranjero las vainas que benefician, aunque desconocen el uso que el consumidor les da. Los demás beneficiadores conforme el tamaño y calidad de las vainas que obtienen las destinan para la elaboración de artesanías, extractos, para venderlas individualmente o por kg.



Figura 2.1 Puntos de venta de la vainilla beneficiada por los seis beneficiadores participantes

B1 = Beneficiador presidente del Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos; B2 = Beneficiador ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz; B3 = Beneficiador del Rancho Santa Beatriz
 B4 = Beneficiador del Rancho 20 soles; B5 = Beneficiador ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz
 B6 = Beneficiadora representante de Tilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

2.4 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El proceso de beneficiado de la vainilla que elabora cada beneficiador en las Regiones del Totonacapan y la Huasteca Potosina, se apega al sistema de beneficiado tradicional y está basado en las experiencias y conocimientos que han generado a través de los años. Es importante mencionar que algunos beneficiadores, como el B5, detectan que las vainas menores de ocho meses, y que se benefician en diciembre, quedan opacas y no sueltan el aceite que contiene el fruto porque les falta madurar. Mientras que las vainas beneficiadas en la primera quincena de enero tienen mejor calidad por tener un grado de madurez mayor y

porque el sol es más constante. De tal forma que la mayoría de los beneficiadores coincide en que la madurez apropiada para cortar y beneficiar la vaina, es de 8 a 10 meses de edad de las vainas. Esto coincide con lo reportado por Havkin-Frenkel *et al.* (2011) quienes mencionan que la madurez adecuada para cosechar las vainas es cuando tienen de 8 a 10 meses de edad con un color verde-amarillento opaco, característica que se hace visible por una mayor acumulación de los precursores del aroma (principalmente glucovainillina) en la placenta del fruto y por la degradación de la clorofila (Odoux *et al.* 2006). Sin embargo, debido al “Decreto publicado en el Diario Oficial de la Federación el día 08 de marzo de 1943” fija la fecha de inicio y corte de la vainilla sin tomar en cuenta su madurez fisiológica, la cosecha se adelanta a finales de septiembre o principios de octubre, por lo que se corre el riesgo de que las vainas prematuras después del beneficiado alteren su sabor y aroma. En cambio una vaina madura con alto contenido de glucovainillina, una vez beneficiada queda negra, jugosa y plateada (indicador de alto contenido de vainillina) y por lo tanto su calidad es superior y se conserva por muchos años sin alterar sus características organolépticas (Niembro 1993; Dignum *et al.* 2002).

Los seis beneficiadores ponen mucha atención en que la etapa del despezonado lo realice gente capacitada y con experiencia para que elabore apropiadamente esta actividad, porque si daña al fruto deteriora su calidad desde esta etapa, aunque se desarrolle un excelente beneficiado. Curtí (1995) indica que el despezonado es una de las actividades que se deben realizar con mayor cuidado para evitar romper la vaina y pérdida de calidad, por lo que debe realizarse tan pronto llegue la vainilla a la casa beneficiadora. Sin embargo, en esta etapa se pierde 3% de la vaina verde acopiada, ya que el raquis no se aprovecha como el fruto (Bernáldez 2001). Mientras que Fontecilla (1898) comenta que la vaina despezonada necesita 24 horas para expeler la cantidad de agua que le sobra, esto no todas las personas que trabajan en el beneficiado lo saben, por lo que la persona que se encargue de realizar esta actividad debe tener sólidos conocimientos de cómo realizar el despezonado y que consideraciones son importantes tener en cuenta durante y después del despezonado.

Los beneficiadores B4 y B6 adicionan al proceso tradicional la etapa del lavado del fruto para obtener vainas libres de microorganismos, lo cual indica que existe un conocimiento sobre la importancia de tener buenas prácticas de aseo y limpieza de la vaina para evitar problemas de contaminación microbiológica y de esa manera garantizar la inocuidad de las vainas, pero

desconocen el impacto que esta práctica pueda tener en los atributos de la vaina beneficiada. Al respecto León (2005) describe que también lava y desinfecta las vainas por inmersión en agua con hipoclorito de sodio al 1%, antes de realizar el beneficiado. Por otra parte autores como De la Cruz *et al.* (2009) señalan que es importante inspeccionar las vainas antes de beneficiar para prevenir la propagación de enfermedades fungosas. Sin embargo, en la literatura no existen reportes del impacto que tiene el lavado en la calidad de la vainilla beneficiada.

Se encontró una heterogeneidad en la cantidad de secado (soles) con rangos tan extremos de 5 a 25 soles lo que podría considerarse un problema crítico pues es una parte del proceso que no se ha estandarizado para lograr unificar la calidad de las vainas. Odoux y Grisoni (2010) mencionan que el número de soles aplicados a las vainas están en función de la variación del estado de maduración de las vainas (8-10 meses), lo que ocasiona que no se deshidraten a la misma velocidad aun cuando se cosechen y se empiece el beneficiado en la misma fecha, por lo que requieren distintos número de asoleados o soles (días de exposición al sol). Por otro lado, Fontecilla (1898) señala que este comportamiento se debe a la intervención manual de varias personas ya que es muy difícil que todos coincidan en el número de soles que requiere la vaina y por lo tanto que el deshidratado sea el correcto. Lo ideal es que la persona que tenga el tacto más fino y delicado realice esta acción de seleccionar el fruto conforme se deshidrata para realizar de manera adecuada el número de soles que le corresponde a cada vaina. Los siguientes autores reportan que para que las vainas puedan disminuir el contenido de humedad a 25-30% y de esa manera detener algunos cambios bioquímicos, actividades enzimáticas indeseables y evitar la contaminación por microorganismos necesitan entre 15 y 30 soles Damiron (2004), de 11 a 25 soles Curtí (1995), y de 16 a 18 soles Tochíhuitl (2007).

Aunque la mayoría de los beneficiadores optan por empaquetar al alto vacío, B2 y B5 conservan envolver de manera rustica las vainas beneficiadas con papel encerado o en bolsas de plástico. En un estudio que realizó Zamora (2015) a cuatro beneficiadores de la Región del Totonacapan (tres de ellos contemplados en esta investigación), en el que comparó la efectividad del uso de tres tipos de empaques diferentes: polietileno de baja densidad, alto vacío y celofán (celofán, celofán doble, celofán-polietileno y celofán-vacío) con una y cinco vainas, encontró que el empaque que conservó mejor las características organolépticas de la vaina beneficiada fue la combinación de celofán-polietileno y que el número de vainas

empacadas impacta en el contenido de humedad y vainillina, firmeza, azúcares, etanol y acetaldehído; ya que los empaques con cinco vainas aunque conservaron su flexibilidad, registraron concentraciones menores de vainillina a lo requerido en la norma NOM-182-SCFI-2011.

Los beneficiadores que exportan, desconocen el uso que le da el consumidor al producto que le vende. En un estudio realizado por Vásquez (2013) detectó que los beneficiadores desconocen el uso que el consumidor le da a la vainilla beneficiada, únicamente mencionan al extranjero como cliente de la vainilla beneficiada. Sin embargo Havkin-Frenkel *et al.* (2011) reportan que las vainas beneficiadas se utilizan para la extracción y la preparación de productos hechos a base de vainilla. Entre los cuatro productos más utilizados en el mercado se encuentran: extracto de vainilla, oleoresina de vainilla, vainilla absoluta, y vainilla en polvo/azúcar. No obstante, cualquier forma de presentación de la vaina beneficiada, deben cumplir la normatividad del país en el que los productos son elaborados o vendidos.

2.5 CONCLUSIONES

Este estudio de carácter descriptivo e informativo expone detalles de los pasos y actividades que se realizan en los procesos tradicionales de beneficiado mexicano con base en el conocimiento tradicional de seis diferentes beneficiadores de la región del Totonacapan y de la Huasteca Potosina. Esto lo hace más relevante en contraste con otros estudios en los cuales sólo toman en consideración un proceso de beneficiado, con solo algunas de las etapas.

Con la descripción del proceso de beneficiado fue posible identificar las siguientes etapas generales que tienen en común los beneficiadores: acopio, despezonado, marchitado, sudado, secado, acondicionado y comercialización; así como diferenciar las siguientes etapas particulares: selección por (tamaño, textura y humedad), lavado, observación, descanso, deposito (provisional y normal) y revisos, que hacen aún más complejo y heterogéneo el beneficiado. Dicha situación exige detectar las etapas y variantes adecuadas que permitan desarrollar una calidad estándar y homogénea en las vainas beneficiadas.

2.6 LITERATURA CITADA

- ASERCA (2002) De nuestra cosecha. La vainilla en México, una tradición con un alto potencial. Claridades agropecuarias. 101: 3-26
- Arana FE (1944) Vanilla curing and its chemistry. Federal Experiment Station of the US Department of Agriculture, Mayaguez, Puerto Rico. Bulletin No 42. 17p
- Balls AK, Arana FE (1941) The curing of vanilla. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 33: 1073-1075
- Bernáldez MI (2001) Establecimiento, producción, beneficio y comercialización de la vainilla (*Vanilla spp.*) en México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Saltillo, Coahuila México. 52 p
- Childers NF, Cibes HR, Hernández E (1959) Vanilla. The orchid of commerce. En: Withner CL (ed). *The orchids. A scientific survey* the Ronald press co New York. 477-508
- Cid-Domínguez M (1988) La vainilla, una perspectiva de desarrollo de la Chinantla Oaxaqueña. Secretaría de Desarrollo Rural, Tuxtepec Oaxaca. 1-29
- Comité Estatal del Sistema Producto Vainilla de San Luis Potosí AC (2009-2012) Plan rector para la competitividad del sistema producto vainilla del estado de San Luis Potosí. 7-29 p
- Curty E D (1995) Cultivo y beneficiado de vainilla en México, Organización Nacional de Vainilleros Indígenas de México, Jalapa Veracruz. 45-96 p
- Damiron VR (2004) La vainilla y su cultivo. Dirección General de Agricultura del Estado de Veracruz. 3-25 p
- De La Cruz MJ, Rodríguez JG, García HS (2009) Vainilla: Post-harvest Operations. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2-45
- Dignum MJW, Kerler J, Verpoorte R (2001) Vainilla production: technological, chemical and biosynthetic aspects. *Food Revolution International*. 17 (2): 199-219
- Dignum MJW, Kerler J, Verpoorte R (2002) Vanilla curing under laboratory conditions. *Food Chemistry* 79: 165-171
- FAOSTAT (2015) Estadísticas datos agrícolas Disponible en: <https://top5ofanything.com/list/eea69f22/Vanilla-Producing-Countries>
- Fontecilla A (1898) Breve tratado sobre el cultivo y beneficio de la vainilla. Oficina Tip. de la Secretaría de Fomento, Segunda edicion. México. 8-36 p
- Guzmán CC (2004) Vanilla. En: Peter KV (ed). *Handbook of herbs and spices-wood head* pub. Cambridge, England. 322-352
- Hágsater, Soto EMA, Salazar GA, Jiménez RM. Lopez A, Dressler RL (2005) Las orquídeas de México. Instituto Chinoin AC, México, DF. 92 p
- Havkin-Frenkel D, Belanger FC (2011) *Handbook of Vanilla Science and Technology*, First Edition. Wiley – Blackwell Publishing USA. 22-141
- Herrera-Cabrera BE, Salazar-Rojas VM, Pierre-Alain G (2010) El beneficiado de vainilla en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz. Reporte de estancia en Colegio de Postgraduados *Campus Puebla*. 3-30 p

- Jaramillo VJL, Escobedo GJS, Barrera RA, Herrera CBE (2013) Eficiencia económica en el beneficiado de vainilla (*Vanilla planifolia* J.) en la región del Totonacapán, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4 (3): 477-483
- Jones MN, GC Vincent (1949) Criteria for testing vanilla in relation to killing and curing methods. Spanish Journal of Agricultural Research. 78: 425-434
- Karthik KRB, Balamohan TN (2013) Factors affecting the quality of Vanilla. Journal of Agriculture and Allied Sciences. 2: 37-41
- Kelso BHA, Reyes LD, Cruz PMI, Villegas RI, Rodríguez MB, Pascual RF, Khalidou MB, Magaña HF, Huerta GI (2013) Beneficiado semi-mecanizado de vainilla. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias. 22: 38-40
- Krushnamurthy A, Nanjundaiah SB, Madhava NM (2013) Vanilla-Its Science of Cultivation, Curing, Chemistry, and Nutraceutical Properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 53:12
- León ADM (2005) Estudio de pre-factibilidad para la producción e industrialización (*Vanilla planifolia* Andrews en la zona de plan piloto (Santo Domingo de los Colorados) Pichincha con fines de exportaciones. Tesis de Licenciatura. Universidad de San Francisco de Quito. 72 p
- Licona (2008) Vainilla mexicana, otra posibilidad de negocio. Agronegocios. 1-29
- López LD (2013) Calidad microbiológica y organoléptica de Vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks) beneficiada artesanalmente. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados campus Montecillo. México. 22-25 p
- Mariezcurrena MD, Zavaleta HA, WaliszewskiKN, 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
- Márquez O, Waliszewski KN (2008) The effect of thermal treatment on - glucosidase inactivation in vanilla bean (*Vanilla planifolia* Andrews). International Journal of Food Science and Technology. 43: 1993-1999
- Maxwell DL, Stake E (2006) Research and Statistical Methods in Communication Sciences and Disorders. Michigan: Thomson Delmar learninf. 12-14
- Medinilla RR (1997) Estudio de Factibilidad Técnico de una Beneficio de Vainilla en el Municipio de San Felipe Usila, Oaxaca México. 50 p
- Niembro GO (1993) Proyecto de Inversión para la Rehabilitación y Mantenimiento de Vainillales. Veracruz México. 15-35
- NOM-182-SCFI-2011 (2011) Norma Oficial Mexicana, Vainilla de Papantla, extractos y derivados-Especificaciones, información comercial y métodos de ensayo (prueba). 9 p
- Odoux E (2011) Vanilla Curing. En: Odoux E, Grisoni M (eds). Vanilla. (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles). CRC Press. Boca Raton Florida. 173-185
- Odoux E, Escoute J, Verdeil JL (2006) The relation between glucovanillin, -D-glucosidase activity and cellular compartmentation during the senescence, freezing and traditional curing of vanilla beans. Annals of Applied Biology. 149: 43-52

- Odoux E, Grisoni M (2010) Vanilla. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. Taylor and Francis Group. EUA. 189-387
- Ramachandra-Rao S, Ravishankar GA (2000) Vanilla flavour: Production by conventional and biotechnological routes. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80: 289–304
- Reyes LD, Rodríguez MB, Kelso BHA, Huerta LM, Ibáñez MA (2008) Beneficiado tradicional de la vainilla. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. 27-43
- Rivera-Espinoza y Muriel (2013) Vanilla. Global Advanced Research Journal of Microbiology. 2 (11): 203-210
- Röling WFM, Kerler J, Boaster M, Apriyantono A, Stam H, Van Verseveld HW (2001) Microorganisms with a taste from vanilla: microbial ecology of traditional Indonesian vanilla curing. Applied and Environ. Microbiol. 67 : 1995-2003
- Ruiz-Terán F, Pérez-Amador I, López-Munguía A (2001) Enzymatic Extraction and Transformation of Glucovanillin to vanillin from Vanilla Green Pods. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49:5207-5209
- Sánchez-Carrillo D, Valtierra-Pacheco E (2003) La organización social para el aprovechamiento de la palma camedor (*Chamaedora spp.*) en la selva Lacandona, Chiapas. Agrociencia. 37: 545-552
- SIAP-SAGARPA (2012) Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, recuperado en Junio de 2014 del Panorama de la Vainilla. Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. 1-2 p
- Smith NJH, Williams JT, Plucknet DL, Talbot JP (1992) Tropical Forests and Their Crops. Cornell University Press, Ithaca, Nueva York. 25 p
- Soto-Arenas MA (2006) La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. CONABIO. Biodiversitas. 66: 1-9
- Sreedhar R, Roohie K, Venkatachalam L, Narayan M, Bhagyalaksmi N (2007) Specific pretreatments reduce curing period of vanilla (*Vanilla planifolia*) Beans. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 2947-2955
- Sudharshan MR, Bhatt SS, Rao YS, Mathew M, Sivadasan CR, Ramesh N (2006) Vanilla. En: Ravindran PN (ed). Advances in spices research-Agribios. India. 533-569
- Thomas J, Bindumol GP (2005) Microbial contamination in cured Vanilla beans. India. 2: 6-8
- Tochíhuitl VJ (2007) Tecnología del Beneficiado de la Vainilla. Tesis de maestría Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 7-10 p
- Valles M (2003) Técnicas cualitativas de investigación social. Reflexión metodológica y práctica profesional. Madrid, Síntesis. 79 p
- Van DS, McGlasson WB, Williams M, Gair C (2010) Influence of curing procedures on sensory quality of vanilla beans. Fruits. 65: 387–399
- Vásquez R FY (2013) Factores que limitan la comercialización de Vainilla en los productores del norte de Oaxaca. Tesis de Licenciatura. Universidad del Papaloapan *campus* Tuxtepec. 213 p

Waliszewski (2006) Problemática de beneficiado de la vaina de vainilla y su efecto sobre la calidad del extracto de vainilla. V Congreso de Productores de vainilla. Inveder. Veracruz, México. 22-29

Zamora FAL (2015) Calidad de vainilla (*Vanilla planifolia*) empacada bajo diferentes condiciones de atmósferas modificadas. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados *campus* Montecillo. México. 43 p

CAPÍTULO III

CALIDAD MEXICANA DE LA VAINILLA (*Vanilla planifolia* J.) BENEFICIADA TRADICIONALMENTE

3.1 INTRODUCCIÓN

La vainilla (*Vanilla planifolia* J.) es la segunda especia más cara a nivel mundial después del azafrán, y es el saborizante más popular en el mercado internacional por su sabor y aroma, además tiene la ventaja de actuar como sabor individual o como complemento de otros sabores (Morris y Mackey 1999; Soto-Arena 2006), características que la hacen idónea para su uso en diversas industrias, tales como la agroalimentaria, refresquera, licorera, farmacéutica, cosmética, tabacalera y artesanal (Smith *et al.* 1992). Además este saborizante tiene propiedades benéficas muy importantes para la salud como antioxidante, agente anticancerígeno, antiinflamatorio, antimutagénico, antimicrobiano y antipolimerizante (Rathnakar *et al.* 2012). Sin embargo, a pesar de que muchos países cultivan y benefician vainilla, México cuenta con la Denominación de Origen “*Vainilla de Papantla*”, lo cual representa una oportunidad para distinguir la calidad de la vainilla mexicana con la del resto del mundo por el método de beneficiado y características organolépticas que desarrolla (CONACYT-SAGARPA 2012).

La calidad y atributos de las vainas beneficiadas de vainilla se deben a la eficiencia del sistema de beneficiado tradicional relacionado directamente con el grado de madurez de la materia prima utilizada, la experiencia del maestro beneficiador, las condiciones y variantes durante el proceso así como de los factores agroclimáticos prevaecientes (Ranadive 1992; Karthik y Balamohan 2013).

Considerando que en México el cultivo de la vainilla se lleva a cabo en diferentes ambientes y también el beneficiado se realiza con distintas variantes durante su proceso, lo que ha generado un problema de heterogeneidad en las prácticas de beneficiado a nivel regional ocasionando que el aroma y el sabor no tengan una calidad estándar. Por lo que el contenido aromático y variación organoléptica en su calidad podría estar determinada por diversos factores: desde la cosecha del fruto verde hasta el empacado de la vaina deshidratada, debido a que cada etapa que se desarrolla durante un periodo aproximado de 150 días tiene importancia

en la calidad del producto final (Gillete y Hoffman 1992; Dunphy y Bala 2010). Dicho proceso de fermentación se realiza siguiendo una serie de procesos térmicos a fin de favorecer las reacciones químicas, bioquímicas, enzimáticas y actividades microbianas que desarrollan las características que determinan el perfil aromático de la vainilla (Dignum *et al.* 2001; Pérez-Silva *et al.* 2006). Reyes *et al.* (2008) mencionan que para obtener una excelente calidad en el beneficiado de la vainilla debe mantener consistencia en sus características sensoriales u organolépticas (olfativas, visuales, gustativas y táctil), propiedades fisicoquímicas, y contenido microbiológico. En el entendido que el concepto de calidad es el conjunto de atributos o características deseables en un producto que dan satisfacción en los requisitos solicitados por el consumidor y cumplimiento a las normas legales (Havkin-Frenkel *et al.* 2011). Actualmente, los consumidores exigen cada vez más, que se brinde una garantía sobre las características deseables de las vainas beneficiadas, así como la adecuada aplicación de normas de calidad, por lo que los beneficiadores de vainilla, perciben la necesidad de adecuarse a estos requerimientos del mercado que contribuyan a satisfacer las necesidades del consumidor (Golan *et al.* 2004). La Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011 indica que los parámetros utilizados para definir la calidad de la vainilla beneficiada de Papantla están determinados por las especificaciones correspondientes a las características sensoriales: representadas principalmente por el aroma, con un color de café oscuro a negra, brillo aceitoso y flexibilidad sin quiebre al enrollar la vaina.

En relación a las características fisicoquímicas se encuentra, la forma (vainas gruesas), tamaño (longitud mayor a 15 cm) apariencia (vainas enteras), contenido de humedad (25-38%) este último, además de definir la calidad es un factor que determina la incidencia de plagas o enfermedades al momento de realizar el depósito del producto beneficiado, los cuales conjuntamente son requeridos para la comercialización y elección de la vaina por parte del consumidor (De la Cruz *et al.* 2003). Asociados a los atributos de composición fisicoquímica se encuentran las especificaciones relacionadas con la inocuidad de la vaina, debido a los riesgos de transmisión de enfermedades por alimentos (ETA's), que se producen por la contaminación de agentes patógenos tales como hongos de pudrición blanca, actinomicetos, bacterias, coliformes, parásitos, virus etc. (Paredes 2007). Se sabe que dichos microorganismos se generan en las vainas por varios factores: condiciones ambientales, procesos post cosecha, uso de materias primas contaminadas, prácticas de beneficiado o falta

de limpieza e higiene del personal, quienes determinan la sobrevivencia de ciertas poblaciones microbianas representando un riesgo potencial para el consumidor (Sarter 2011). Por eso para que las vainas beneficiadas puedan competir en el mercado gourmet deben contener como máximo: bacterias mesofílicas aerobias 100 UFC/g, mohos y levaduras 10 UFC/g y deben estar libre de coliformes y salmonella. Sin embargo de estos criterios de calidad la característica más importante de la vainilla es el contenido aromático que determina la calidad del producto y la remuneración económica del producto. El perfil aromático de la vainilla mexicana, se caracteriza por sus notas dulces e intensas, con un olor a tabaco y carácter cremoso (Tenailleu *et al.* 2004), contiene alrededor de 200 compuestos volátiles incluyen ácidos, éteres, alcoholes, heterocíclicos, ésteres, compuestos carbonílicos y fenólicos (Klimes y Lamparsky 1976; Sinha *et al.* 2008), de los cuales cuatro fenoles son reconocidos como indicadores de calidad comercial debido a sus altas concentraciones de: vainillina (2.0 % en base seca), ácido vanílico (411-861ppm), *p*-hidroxibenzaldehído (219-498 ppm) y ácido *p*-hidroxibenzóico (58-100 ppm) (Wescott *et al.* 1994; Sharma *et al.* 2006). En estudios recientes en el perfil aromático de la vainilla han colocado a la vainillina como el principal componente de las vainas beneficiadas al que se le atribuye un tercio del sabor y aroma característico (Shyamala *et al.* 2007), los otros dos tercios corresponden a una gran cantidad de compuestos no volátiles (glucósidos) o macromoléculas, los cuales en su conjunto realzan y complementan la calidad aromática de la vainilla (Sinha *et al.* 2008).

Por otra parte Salazar-Rojas *et al.* (2011) identificaron seis quimiotipos de *Vanilla planifolia* J. que se preservan en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz, con diferentes características aromáticas relacionadas con el uso que le dan los productores, en donde el quimiotipo más utilizado en la elaboración de productos alimenticios es el que tiene mayor concentración de vainillina.

Actualmente es escasa la literatura que documente la calidad y atributos de las vainas de vainilla beneficiadas a través del proceso de beneficiado tradicional mexicano, por diferentes beneficiadores, en el que se determinen sus atributos fisicoquímicos, el perfil del aroma y el contenido microbiológico. A fin de conocer la calidad que obtienen de las vainas, la mayoría de estudios se han enfocado a la calidad de vainilla basados en el aroma (Cid-Pérez y López-Malo 2011; Salazar *et al.* 2011), propiedades fisicoquímicas (Fernández 2013), y microbiológicas (López 2013) pero no se tienen referencias de investigaciones donde se

detallen las características mencionadas en la Norma Oficial Mexicana, considerando las diferencias de calidad de vainilla producida por cada beneficiador tradicional. De tal forma que pueda detectarse variación u homogeneidad en los atributos de las vainas beneficiadas, en función de las etapas, pasos y actividades que realicen los diferentes beneficiadores con el fin de identificar cuál de los procesos o etapas del mismo realizados en la región Totonacapan y en la Huasteca Potosina logra la mejor transformación de los compuestos precursores del aroma, propiedades fisicoquímicas e inocuidad de la vaina beneficiada. Con lo anterior podrían diseñarse estrategias que permitan fortalecer el proceso y así homogenizar su calidad de manera integral.

3.1.1 Objetivos

Objetivo General

Definir el proceso (s) de beneficiado que logra la mejor transformación de los compuestos precursores del aroma, propiedades fisicoquímicas y microbiota de las vainas beneficiadas del Q6 y vainas de referencia.

Objetivo Particulares

Evaluar las propiedades fisicoquímicas (humedad, A_w , color, textura, pH y azúcares solubles) de las vainas beneficiadas del Q6 y las vainas de referencia.

Identificar la diversidad de microorganismos (bacterias, coliformes totales, hongos y levaduras) presentes en las vainas beneficiadas del Q6 y las vainas de referencia.

Evaluar en vainas beneficiadas y en vainas de referencia mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) la concentración de los principales compuestos aromáticos (vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzoico) y azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) sometidas a seis procesos de beneficiado.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Material vegetal

Para este trabajo se eligió el quimiotipo seis (Q6) de *Vanilla planifolia* J. el cual fue

caracterizado previamente por sus componentes del aroma (Salazar-Rojas *et al.* 2011), destaca por ser de importancia industrial y en su aroma prevalecen notas intensas a vainillina, con una participación de medio a alto de los compuestos minoritarios (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Principales características aromáticas del quimiotipo seis (Q6) de *V. planifolia* J. de la Región Totonacapan Puebla-Veracruz. C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vanílico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, MC/C4: proporción de los compuestos de menor importancia en relación con el contenido de vainillina

Compuestos del aroma					
Quimiotipo	C1 (ppm)	C2 (ppm)	C3 (ppm)	C4 (ppm)	MC/C4 (%)
Q6	58–81	411–755	219–497	10698–17599	7

Fuente: Tomada de (Salazar-Rojas *et al.* 2011)

En una plantación ubicada en la localidad Primero de Mayo, Papantla, Veracruz, durante los meses de abril y mayo se polinizaron y marcaron flores del quimiotipo seis (Q6). Después de 32 semanas de la polinización se colectaron 120 vainas. Posteriormente se dejaron 20 vainas a cada uno de los beneficiadores para realizar el proceso tradicional de curado: cinco beneficiadores del estado de Veracruz (uno del Ejido Primero de Mayo, uno de Puntilla Aldama, San Rafael y tres de Papantla) y uno de la Huasteca Potosina (Tamazunchale, San Luis Potosí). Además, de cada beneficiador se obtuvieron 500 g de vainas beneficiadas del volumen que ellos beneficiaron en el mismo periodo. Dichas vainas se les denominaron vainas de referencia (R), con el propósito de evaluar las mismas variables que en las vainas del Q6. Una vez que concluyó el beneficiado, después de un periodo de 100-120 días, de cada beneficiador, las vainas del Q6 y las de referencia (R) se colectaron y depositaron en bolsas ziploc para trasladarlas al laboratorio a 4 °C para su posterior análisis.

En el Colegio de Postgraduados-Campus Puebla se realizó el análisis de las características fisicoquímicas (color, A_w , firmeza, pH, humedad). La composición microbiológica (bacterias, coliformes, hongos y levaduras) en el área de laboratorios de alimentos de la BUAP. En el área de laboratorios de Fruticultura del Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo se

determinó la concentración de los principales compuestos aromáticos (vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzilaldehído y ácido *p*-hidroxibenzoico) y azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) mediante análisis por cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

3.2.2 Características fisicoquímicas

Color (a^* , b^* y L): Las determinaciones de color en las vainas beneficiadas se realizaron con el colorímetro Hunterlab (Colorflex 45/0 Serial, No. CX1742). Una vez calibrado el equipo con los estándares negro y blanco, se consiguieron cromáticas a^* y b^* (escala CIELAB) de tres pares de vainas, las cuales por par de vainas se fueron colocando sobre una base de vidrio transparente debidamente cubierta con una capucha de foamy negra, y se fueron girando para registrar dos lecturas por cada par de vainas (Figura 3.1).

Con los valores de a^* y b^* se calculó el tono de la vaina (croma) por la fórmula $Cr = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ y el ángulo Hue o ángulo del color, por la fórmula $Hue = \tan^{-1} (b^*/a^*)$ (Francis 1980).



Figura 3.1 Lectura de color por paquetes de dos vainas

A_w : Con un chuchillo previamente desinfectado se cortaron las vainas beneficiadas en trozos de aproximadamente 3 cm de la parte de en medio. Se colocó un trozo de vaina en una charola de plástico de un equipo Aqualab (Emintech 3TESerial No. 09069391B) y se registró la lectura de A_w (Figura 3.2). Esta medición se realizó por triplicado en tres vainas diferentes de cada beneficio.



Figura 3.2 Determinación de actividad de agua (A_w)

Firmeza: Se determinó la firmeza de las vainas beneficiadas en un Texturómetro (Texture Technologies TA.XTPlus), se usó una punta SMS P/0.5 de 4 cm de largo por 1.2 cm de diámetro, y la base cilíndrica hueca de 3.5 cm de alto por 2.1 cm de diámetro interno. Se empleó el software Texture Exponent 32. Para calibrar el equipo se utilizó la opción T.A y T.A and settings a una velocidad de 5 mm s^{-1} , distancia de 10 mm, distancia de retorno de 2 mm, velocidad de retorno de 10 mm s^{-1} y una fuerza de contacto de 0.1 g (esto con el objetivo de obtener una mayor resolución de sensibilidad), además de una velocidad de adquisición de 25 puntos por segundo y un tiempo de prueba de 150 segundos. Una vez programado el software, se colocó una vaina y se calibro el equipo. Con el equipo calibrado se colocó la vaina en el centro de la base y se dejó caer rápidamente el dispositivo de penetración en la parte media de la vaina (Figura 3.3). La determinación de firmeza se realizó por triplicado en tres vainas diferentes de cada beneficio. Los resultados se expresaron en (g^f).



Figura 3.3 Penetración de la punta del texturómetro en medio de la vaina

Previamente a las vainas se les registro con un vernier digital (Digimatic Caliper Mitutoyo/ZEROABS. CD-“6C) las siguientes dimensiones: longitud (cm), ancho (mm) y grosor (mm) (Figura 3.4), de igual manera por triplicado en tres vainas diferentes de cada proceso de beneficiado para relacionarlas con la firmeza de la vaina.

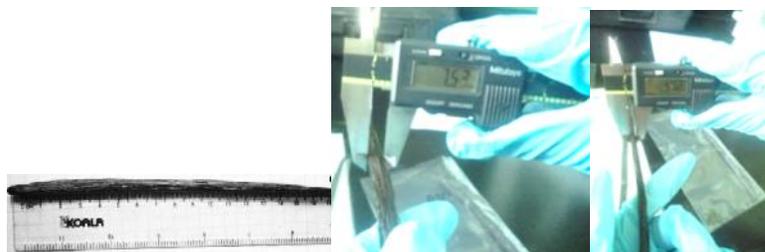


Figura 3.4 Medición de la longitud, ancho y grosor de las vainas beneficiadas

Humedad: La determinación se realizó en una termobalanza (Ohaus MB45). La medición se realizó por triplicado en tres vainas diferentes de cada tratamiento con aproximadamente 500 mg de vaina de vainilla beneficiada utilizando una deshidratación a 90°C (Figura 3.5).



Figura 3.5 Lectura del contenido de humedad

pH: De la parte central de la vaina beneficiada se cortó un trozo y se introdujo el electrodo del potenciómetro (Hanna Instruments®, HI 211) de manera que cubriera completamente a la vaina para registrar las lecturas del pH. Se realizó por triplicado en tres vainas diferentes en cada beneficiado (Figura 3.6).



Figura 3.6 Medición del pH

3.2.3 Cuantificación compuestos mayoritarios del aroma

Extracción e inyección

El técnica de extracción se realizó por triplicado en cada beneficio con base en la metodología de Pérez-Silva *et al.* (2006) con algunas modificaciones.

Las vainas beneficiadas se envolvieron en bolsa de plástico y se llevaron a congelaron a - 80 °C, posteriormente se procedió a la molienda la cual se realizó con un molino de carga (Krups Gx410011/BNR-0414 de 25000 rpm). Una vez molida, se pesaron 0.05 g de vaina y se colocó

en frasco ámbar de cristal de 20 mL, se preparó una solución con etanol grado HPLC más agua grado HPLC (1:1) y se almacenó a temperatura de refrigeración por 24 h a 4°C, al día siguiente, se agregaron 18 mL a los frascos ámbar con un magneto pequeño, se cerró y los frascos se agitaron por 30 min en un agitador (Thermo Scientific Cimarec) a 6 stir y se colocaron en refrigeración por 24 h, el extracto de la vaina se tomó con una jeringa y se filtró con un acrodisco 1 mL (PALL Life Sciences, membrana GHP, 13 mm) en viales de 2 mL (Figura 3.7). Se prosiguió con la inyección al cromatógrafo, previamente se filtraron por separado en un sistema Kitasato el agua destilada, la fase móvil (H_3PO_4 0.01M: metanol (75:25), y la solución metanol: agua (50:50), para colocarlos en el sistema HPLC.



Figura 3.7 Extracto filtrado con acrodisco

Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)

El proceso de cuantificación se desarrolló con la metodología descrita en el estudio de Pérez-Silva *et al.* (2006) con algunas modificaciones. Se inició con el protocolo de encendido en el software TotalChrom® Chromatography Data System (CDS) (Perkin Elmer®) y se indicaron las condiciones del método a utilizar, incluido el tiempo de cada corrida (28 min), se colocó la columna (Perkin Elmer®, C18 5 μ , 250x4.6mm), una vez filtrados los extractos, se colocaron en el automuestreador del sistema HPLC (Perkin Elmer®, Series 200), una vez encendidos el dotLink™, la bomba, el automuestreador, el horno (30 °C), el detector UV/Vis (254 nm) (Perkin Elmer®, Series 200), y cargado el método, se creó la secuencia de trabajo y se inició el proceso de inyección del estándar y de los extractos para obtener los cromatogramas después del tiempo especificado (28 min) (Figura 3.8).

Para la identificación y cuantificación de los compuestos mayoritarios del aroma se emplearon reactivos puros. La solución estándar se preparó en una solución etanol de agua (1:1) con 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de vainillina (3 metoxi- 4-hidroxibenzaldehído) y 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido *p*-

hidroxibenzóico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido vanillico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico) (Sigma-Aldrich, USA). A partir de esta mezcla se realizaron las diluciones necesarias para la obtención de las curvas de calibración (Anexo 3.1 A). Finalmente se registraron las lecturas de áreas y tiempos de retención de los picos de los componentes aromáticos de las vainas beneficiadas.



Figura 3.8 Sistema HPLC

Cuantificación de azúcares solubles totales

Para la cuantificación de los azúcares solubles presentes en las vainas beneficiadas se consideraron tres azúcares: glucosa, fructosa y sacarosa. Se siguió la metodología modificada por Mustafa *et al.* (2003). Esta cuantificación se realizó por triplicado en cada beneficio.

Extracción e inyección

Iniciando con 0.05 g de vainilla beneficiada previamente molida en un molino de carga (Krupps Gx4100 de 25000 rpm), se colocaron en un tubo de ensaye con 3 mL de etanol al 80% y se incubaron en baño maría a 80°C/10 min, transcurrido ese tiempo se retiró el extracto y se pasó a un frasco de cristal de 20 mL, así se realizaron tres extracciones sucesivas hasta que la muestra quedo sin pigmentación. Posteriormente los extractos se llevaron a sequedad en estufa de aire forzado a 55°C/24 horas, posteriormente el residuo se resuspendió con 2 mL de agua destilada y se mantuvo en refrigeraron. Los extractos se filtraron en un acrodisco (Titan, 0.045 µm) y se colocó en un vial de 2 mL con tapa y septa. Una vez filtrados los extractos se inyectaron en el automuestreador del HPLC (Perkin Elmer[®], Series 200). Se utilizó una columna Pinnacle II Amino 5 µm 150 x 4.6 mm (Restek[™]), y la fase móvil fue una solución de acetonitrilo/agua en la proporción 80/20 (v/v) con un tiempo de corrida de 11.5 min. Las condiciones del cromatógrafo fueron a una temperatura en el horno de 40 °C, a un flujo de 1

mL min⁻¹, el volumen de muestra utilizada en la inyección fue de 10 µL y detector de índice de refracción (Perkin Elmer Series 200).

Análisis por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)

Para las curvas de calibración se pesaron individualmente 0.1 g de las soluciones estándar de glucosa, fructosa, y sacarosa al 99.5 % (todos de Sigma-Aldrich, USA) (Anexo 3.2 B). Cada azúcar se aforo en un matraz de 10 mL con metanol: agua (1:9). Finalmente se realizaron las lecturas en el HPLC, y por medio de una regresión lineal se obtuvieron las fórmulas para determinar los porcentajes en base a peso seco de cada azúcar.

3.2.4 Análisis microbiológico

Todas las pruebas se realizaron de acuerdo a las Normas Oficiales Mexicanas: NOM-092-SSA1-1994 para Bacterias, NOM-113-SSA1-1994 para Coliformes totales y NOM-111-SSA1-1994 para Hongos y Levaduras.

Se eligieron tres vainas beneficiadas con sus tres repeticiones lo más uniformes posibles en tamaño y grosor, cada una de ellas en condiciones de esterilidad se trocearon y se homogenizaron, posteriormente se pesaron 10 g de vainas de vainilla beneficiada y se mezcló en 90 mL de solución estéril de agua peptonada (0.1%), luego se realizaron diluciones 10⁻², 10⁻³ y 10⁻⁴ a partir de la dilución 10¹ conforme a la NOM-110-SSA1-1994 (Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico). De cada dilución, se inoculó 0.1 mL y se agregaron 20 mL de medio de cultivo en las cajas Petri, luego se mezclaron homogéneamente hasta que se logró una completa incorporación del inóculo en el medio y se dejó solidificar (Figura 3.9).



Figura 3.9 Diluciones de las muestras inoculadas en medio de cultivo

Las cajas se incubaron en posición invertida (la tapa hacia abajo) de acuerdo a lo siguiente (Figura 3.10):

Para bacterias mesófilas aerobias: 32-37 °C y se observó a las 24 horas después de la incubación.

Para coliformes totales: 35°C, durante 24 ± 2 horas.

Para levaduras y hongos: 25°C durante 3 y 5 días respectivamente.



Figura 3.10 Incubación de las cajas petri

3.2.5 Caracteres evaluados

Con el fin de identificar el proceso de beneficiado que logra la mejor calidad de los compuestos del aroma, propiedades fisicoquímicas y microbiota de las vainas beneficiadas del Q6 y vainas de referencia se consideraron las siguientes variables para el análisis estadístico:

Compuestos Aromáticos: Cuatro variables corresponden a los compuestos fenólicos que son reconocidos como indicadores de calidad comercial: ácido *p* hidroxibenzóico (C1), ácido vanílico (C2), *p*-hidroxibenzaldehído (C3) denominados compuestos menores de la vainilla y vainillina (C4) el componente principal de la vainilla (Betazzi *et al.* 2006; Pérez-Silva *et al.* 2006), la sumatoria de los compuestos de menor importancia ($MC=C1+C2+C3$), el total de los compuestos menores entre el contenido de vainillina ($MC / C4$), y los índices formados con la interacción de cada uno de los compuestos de menor importancia en relación a la vainillina (C1/C4, C2/C4, C3+C4, (C1+C2)/C4) (Salazar-Rojas *et al.* 2011).

Características fisicoquímicas: Se determinaron las siguientes variables: color (croma, Hue), A_w , pH, humedad, (grosor, ancho y largo) en función de firmeza, y (glucosa, fructosa, sacarosa y AST) reportados en base seca.

Análisis microbiológicos: Las variables utilizadas fueron bacterias, coliformes, hongos y levaduras.

3.6.6 Análisis estadístico

Las variables respuesta de cada tratamiento se analizaron utilizando un modelo equivalente a un diseño completamente al azar Proc Anova (SAS 2002), realizado bajo un análisis de Varianza Anova considerando un nivel de significancia del $\alpha=0.05$. Mediante la prueba de Tukey se compararon los tratamientos de cada uno de los caracteres cuantificados para determinar las diferencias significativas entre los valores medios de las variables respuesta (SAS 2002).

Para los datos faltantes o perdidos se empleó el sistema de análisis estadístico GLM (procedimiento general para modelos lineales) PROC GLM (SAS 2002).

Después del análisis de varianza, se realizó un análisis multivariado de componentes principales y clúster para encontrar la distribución normal de los componentes del aroma, atributos fisicoquímicos y calidad microbiológica. Adicionalmente se realizó un análisis de conglomerados para ver la similitud entre los tratamientos (beneficiados) en relación con el contenido de compuestos aromáticos, propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.

3.2.7 Análisis por Statistics and Graphics Guide (JMP)

Mediante el paquete estadístico JMP 5.0.1 (SAS Institute 2003), se utilizó el método multivariado estandarizado, en el cual se obtuvieron los dendrogramas que muestran las agrupaciones de cada una de las variables por tratamiento. Se empleó un análisis de *parallel plot* para graficar el comportamiento de cada dendrograma/clúster de las variables respuesta agrupados por tratamientos (procesos de beneficiado).

3.2.8 Análisis por Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)

Se realizó la gráfica de los componentes principales con el programa SPSS 15 (SPSS 2006) para el agrupamiento de calidad del aroma, calidad fisicoquímica y calidad microbiológica.

3.2.9 Correlaciones

Se analizó la relación entre las propiedades fisicoquímicas, los componentes del aroma y el contenido microbiológico con sus respectivos tratamientos, por medio de los Coeficientes de Correlación de Pearson, los cuales permitieron medir la asociación lineal entre las variables en la muestra (Anexo 3.5 E).

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad de la vainilla beneficiada es muy variable y compleja debido a un gran número de variables como son: el sabor, contenido de humedad, flexibilidad, color, tamaño, inocuidad microbiana pero sobre todo el aroma, que en su conjunto de manera armonizada definen la calidad ideal de la vainilla (Augstburge *et al.* 2000; De la Cruz *et al.* 2003). Un proceso artesanal laborioso realizado de manera adecuada promueve una serie de procesos térmicos a fin de favorecer las reacciones químicas, bioquímicas, enzimáticas y actividades microbianas que potencializan las características que determinan un aroma característico y equilibrado, generando el perfil de sabor más completo de las vainas de vainilla y estable microbiológicamente (Dignum *et al.* 2001; Pérez-Silva *et al.* 2006; Tapia-Ochoategui *et al.* 2011).

3.3.1 ANÁLISIS DEL AROMA

El aroma es la característica organoléptica más importante ligada a la calidad, y en muchas ocasiones constituye la causa de aceptación o rechazo por parte del consumidor (Pretorius y Bauer 2002). El aroma de la vainilla se define como la interacción del sabor y olor debido al impacto de numerosos compuestos volátiles que comprende principalmente como constituyentes a la vainillina parámetro analítico más importante en la vainilla beneficiada, así como el ácido vanílico, *p*-hidroxibenzóico y *p*-hidroxibenzaldehído que también son importantes pero sobre todo como parámetros de autenticidad (Gassenmeier *et al.* 2008). Estos constituyentes están prácticamente ausentes en la vaina verde, e incluso madura, y se forman solo lentamente en la vaina después de la recolección (Pernod-Ricard 1997).

En el Cuadro 3.2 se muestra que todas las variables evaluadas en los compuestos del aroma registraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$), lo cual indica una gran variabilidad en los procesos de curado entre beneficiadores.

De acuerdo con los coeficientes de variación la mayor variabilidad entre los beneficiados con un 15.47 % lo muestra la interacción del ácido *p*-hidroxibenzóico en relación a la vainillina (C1/C4), en contraste la variable que presentó menor variación (5.53 %) que fue la sumatoria de los compuestos menores $MC=C1+C2+C3$.

Cuadro 3.2 Medias, coeficientes de variación y cuadrados medios de 10 variables evaluadas en los compuestos del aroma de las vainas del Q6 (B) y las vainas de referencia (R), de seis beneficiados de vainilla, en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina.

Compuestos	Variables	Media	Coeficiente de Variación	Cuadrados Medios	
				Tratamiento	Error
C1 (ppm)	Ác. <i>p</i> -hidroxibenzóico	314.13	12.51	142682.46**	1556.59
C2 (ppm)	Ác. vanílico	748.17	11.16	132365.16**	6969.51
C3 (ppm)	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído	924.78	10.20	323940.25**	8900.66
C4 (ppm)	Vainillina	18172.96	10.36	16827725.00**	3541517.90
CM=(C1+C2+C3) (ppm)	Componentes menores	1987.08	5.53	1040658.95**	12083.05
<i>Proporción de MC / Contenido de vainillina</i>					
C1/C4 (i)	Ác. <i>p</i> -hidroxibenzóico/Vainillina	0.02	15.47	0.0004**	0.00001
C2/C4 (i)	Ác. vanílico/Vainillina	0.04	12.09	0.0008**	0.00003
C3/C4 (i)	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído/Vainillina	0.05	10.13	0.0009**	0.00003
(C1+C2/C4) (i)	(Ác. <i>p</i> -hidroxibenzoico + Ác. vanílico)/Vainillina	0.06	9.70	0.0017**	0.00003
CM/C4 (ppm)	Componentes menores/ Vainillina	0.11	10.44	0.0040**	0.00014

** = $p < 0.01$ altamente significativo

Los tres compuestos menores tuvieron un contenido medio de: ácido *p*-hidroxibenzóico (314.13 ppm), ácido vanílico (748.17 ppm), *p*-hidroxibenzaldehído (924.78 ppm) y vainillina (1.81 %) (Cuadro 1). Por lo que los contenidos de ácido *p*-hidroxibenzóico y *p*-hidroxibenzaldehído con relación a lo reportado en la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011, y a su vez la vainillina se encuentra por debajo del rango establecido (20000 ppm mínimo). Aunque en promedio se obtuvo un valor similar al descrito por Gassenmeier *et al.* (2008), quienes señalan que en el beneficiado mexicano el porcentaje de vainillina es de alrededor de 1.9, mientras que países como Madagascar, Indonesia, Uganda, India y Papúa

Nueva Guinea, obtienen porcentajes aún más bajos (1.76, 1.1, 1.7, 1.59, 1.3 %, respectivamente). Por lo que a través de estos estudios internacionalmente el beneficiado mexicano es considerado de gran calidad (ASERCA 2002).

Existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las vainas de los seis beneficiados (B) y las vainas de referencia (R) en los compuestos fenólicos que son reconocidos como indicadores de calidad comercial y autenticidad: ácido *p*-hidroxibenzóico (C1), ácido vanílico (C2), *p*-hidroxibenzaldehído (C3) denominados compuestos menores de la vainilla (CM), y vainillina (C4). Así como la interacción del total de los compuestos menores entre la vainillina (MC/C4) (Cuadro 3.3) y (Anexo 3.3 C). En ácido *p*-hidroxibenzóico (C1) se mostraron cinco grupos todos con concentraciones superiores a las reportadas en la NOM-182-SCFI-2011. La concentración más alta la tuvieron vainas del Q6 en los tratamientos B2 y B6 (607.76-695.78 ppm); y aunque se detectaron valores bajos como en B1, y R6, solo el B4 (87.75 ppm) tuvo valores dentro de lo reportado en la norma para este compuesto (Cuadro 3.3). El contenido de los compuestos fue superior a los registrados por Havkin-Frenkel y Belanger (2011) a pesar de que dichos autores ampliaron los intervalos de concentración hasta 255 ppm. Lo que sugiere que hubo un incremento de este compuesto durante el beneficiado.

En relación al ácido vanílico (C2) se mostraron siete grupos con diferentes concentraciones, lo cual coincide con lo reportado por Ranadive (1992), quien menciona una amplia variación en este compuesto en vainas cultivadas en diferentes regiones geográficas. Esto sugiere que el contenido de ácido vanílico está muy influenciado por las características ambientales de la región del Totonacapan y Huasteca Potosina. Los tratamientos en los que se obtuvieron los valores más altos y estadísticamente similares fueron B1-R1, R2, B3-R3 y estuvieron en un rango entre 877.22 y 1027.42 ppm. La mayoría de los tratamientos tuvieron concentraciones superiores a los establecidos en la norma, solo las vainas de R6 (493.26 ppm) y B4 (418.72 ppm) cumplieron con la norma a pesar de ser las concentraciones más bajas (Cuadro 3.3).

Se presentó gran variación de *p*-hidroxibenzaldehído entre los beneficiados, formándose nueve grupos, donde el B6 tuvo la concentración más alta (1501.26 ppm) y estadísticamente diferente a todos los demás tratamientos, pero también las vainas de referencia (R6) del mismo beneficiador tuvo la concentración más baja (489.42 ppm). De este compuesto la mayoría de vainas de referencia (R1, R2, R3, R4, R6) y dos tratamientos del Q6 (B1 y B4) tuvieron

valores dentro de lo establecido en la norma. La concentración detectada de *p*-hidroxibenzaldehído fue la más abundante dentro de los compuestos menores, Havkin-Frenkel y Belanger, (2011) reportan entre 635 y 1549 ppm, mientras que Dignum *et al.* (2001) mencionan que este compuesto predomina en la vaina beneficiada, debido a que durante el beneficiado no desempeñó correctamente su función como precursor en la biosíntesis de vainillina.

Con respecto a la vainillina se detectaron siete grupos: tres grupos cumplieron con la NOM-182-SCFI-2011: R5 (21944 ppm); R6 (20986 ppm); y B6 (20071 ppm). Por el contrario B4-R4, R2, R3 y B5, (17.592-18.938 ppm); B2 (17000 ppm); B1, B3 (15809-16238 ppm); y R1 (15295 ppm) tuvieron concentraciones por debajo de lo establecido en la norma (Cuadro 3.3). Sin embargo, de manera general las concentraciones de vainillina están por encima del rango establecido por Salazar *et al.* (2011), quienes obtuvieron valores de 10,407 a 18,657 ppm, por lo que es evidente que el beneficiado impactó en la concentración de la vainillina.

Salazar *et al.* (2011) señalan que la concentración de compuestos minoritarios de la vainilla (CM) es independiente del contenido de vainillina, por lo que las vainas deshidratadas de *V. planifolia* J. con mayor concentración de compuestos menores no necesariamente tienen altas concentraciones de vainillina. De ahí la importancia de conocer el balance aromático más homogéneo con la interacción de los compuestos aromáticos de mayor importancia a través de la proporción de los componentes minoritarios en relación a la vainillina (MC/vainillina), como se detecta en las vainas de B6-R6, que a pesar de haber sido beneficiadas por el mismo beneficiador (B6), tuvo concentraciones similares de vainillina pero la concentración de compuestos menores fue alta en B6 y baja en R6 (Cuadro 3.3).

En el porcentaje de compuestos menores en relación a la vainillina (CM/C4) se formaron siete grupos, bien diferenciados de la proporción de los correspondiendo el mayor porcentaje al beneficiado B6 con 14.84 %, mientras que su referencia R6 fue el de menor porcentaje 5.51 %.

Cuadro 3.3 Medias de los cuatro compuestos principales del aroma de vainas de *V. planifolia* J. de seis beneficiados (B1-B6) y las vainas de referencia (R1-R6) de la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina

Beneficio	C1 (ppm)	C2 (ppm)	C3 (ppm)	C4 (ppm)	CM/C4 (%)
B1	180.21 ^{cd}	1027.42 ^a	722.74 ^{ef}	15809 ^{dc}	12.25 ^{ab}
B2	607.76 ^a	741.04 ^{bc}	1092.24 ^{bc}	17000 ^{bcd}	14.62 ^{ab}
B3	433.72 ^b	904.47 ^{ab}	1018.59 ^{bcd}	16238 ^{cd}	14.55 ^{ab}
B4	87.75 ^d	418.72 ^e	835.94 ^{de}	18665 ^{abcd}	7.33 ^{de}
B5	337.88 ^b	718.26 ^{bc}	1176.88 ^b	17604 ^{abcd}	12.67 ^{ab}
B6	695.78 ^a	731.94 ^{bc}	1501.26 ^a	20071 ^{abc}	14.84 ^a
R1	217.85 ^c	888.61 ^{ab}	739.91 ^{ef}	15295 ^d	12.08 ^{abc}
R2	343.60 ^b	877.22 ^{ab}	879.54 ^{cde}	17935 ^{abcd}	11.77 ^{bc}
R3	342.50 ^b	905.27 ^{ab}	879.69 ^{cde}	17592 ^{abcd}	12.13 ^{abc}
R4	119.33 ^d	653.49 ^{cd}	582.52 ^{fg}	18938 ^{abcd}	7.02 ^{de}
R5	234.86 ^c	618.37 ^{cde}	1178.67 ^b	21944 ^a	9.28 ^{cd}
R6	168.26 ^{cd}	493.26 ^{de}	489.42 ^g	20986 ^{ab}	5.51 ^e
Valor Mínimo	80.56	397.37	465.80	14450.25	5.09
Valor Máximo	779.35	1119.57	1733.63	24517.35	18.20
Desviación Estándar	188.87	181.91	284.58	2051.10	3.21
Coefficiente de Variación	54.44	25.79	27.77	13.93	28.67
NOM-182-SCFI-2011	58-100	219-498	411-861	20000(mínimo)	3.44-7.30

Medias con la misma letra en cada variable y por cada tratamiento no son estadísticamente diferentes (Tukey p 0.05). (C1: ác. *p*-hidroxibenzóico, C2: ác. vanílico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, MC/C4: compuestos menores entre vainillina).

3.3.1.2 Distribución de la diversidad

Mediante el análisis multivariado de componentes principales se observó que la distribución de los seis beneficiados de *V. planifolia* J. representados en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales (CP), derivados del análisis de 10 variables de componentes del aroma, explicaron en conjunto 96.57 % de la variabilidad total (Cuadro 3.4).

El primer componente principal (CP1) que explico 65.98% de toda la variación se asoció positivamente con cuatro variables que recibieron el peso más alto formadas con la interacción de los compuestos de menor importancia en relación a la vainillina CM/C4 (0.3878), CM (0.3682), (C1+C2)/C4 (0.3589), C1/C4 (0.3474). El segundo componente (CP2) explico 26.56%, asociado negativamente con C2+C4 (-0.4618), C2 (-0.4047) y positivamente con C4

(0.4714), C3 (0.4012). Mientras que el tercer componente principal (CP3) se asoció negativamente con C3+C4 (-0.4387) y positivamente con C1 (0.4872) que explicaron 4.04% de la variación total (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable de los compuestos del aroma en los tres primeros componentes principales (CP)

Compuestos	CP1	CP2	CP3
C1	0.3307	0.2608	0.4872
C2	0.2662	-0.4047	-0.0754
C3	0.2703	0.4012	-0.4666
C4	-0.1879	0.4714	0.1228
CM	0.3682	0.1761	-0.1069
CM/C4	0.3878	-0.0284	-0.0786
C1/C4	0.3474	0.1803	0.5123
C2/C4	0.2506	-0.4618	-0.1014
C3/C4	0.3364	0.2404	-0.4387
(C1+C2)/C4	0.3589	-0.2230	0.2035
Valores propios	6.5980	2.6558	0.4036
Proporción variación total (%)	65.9800	26.5600	4.0400
Variación acumulada (%)	65.9800	92.5400	96.5700

* Los valores en negritas representan las variables con mayor impacto en la variación de cada Componente Principal

Para observar las similitudes y diferencias de los componentes del aroma entre las vainas beneficiadas del Q6 de *V. planifolia* J. (B), y las vainas de referencia (R), se representó mediante la gráfica de los Componentes Principales (CP) los beneficiados que se realizan en la Región Totonacapan y Huasteca Potosina conglomerándose los siguientes cinco grupos (Figura 3.11):

El Grupo 1 (GI) constituido por B4-R4 y R6, se caracterizó por estar ubicado en la parte inferior del CP1 debido a que presentó menor concentración en la relación y los compuestos CM/C4, CM, (C1+C2)/C4 y C1/C4, también tuvo una baja concentración en C4, C2/C4, C3 y C2 que determinaron el CP2, así como baja proporción en los componentes C1 y C3/C4 que se distribuyen hacia el eje negativo del CP3. Esto significa por ejemplo que el R6 tiene un

contenido de vainillina alto, que en relación con los compuestos minoritarios genera un desbalance en el aroma, Havkin-Frenkel y Belanger (2011) muestran que en extractos de vainilla el balance entre C4/C1 puede ubicarse entre 40-110, sin embargo las vainas de R6 se ubican en valores de 124.9, lo que genera un desbalance.

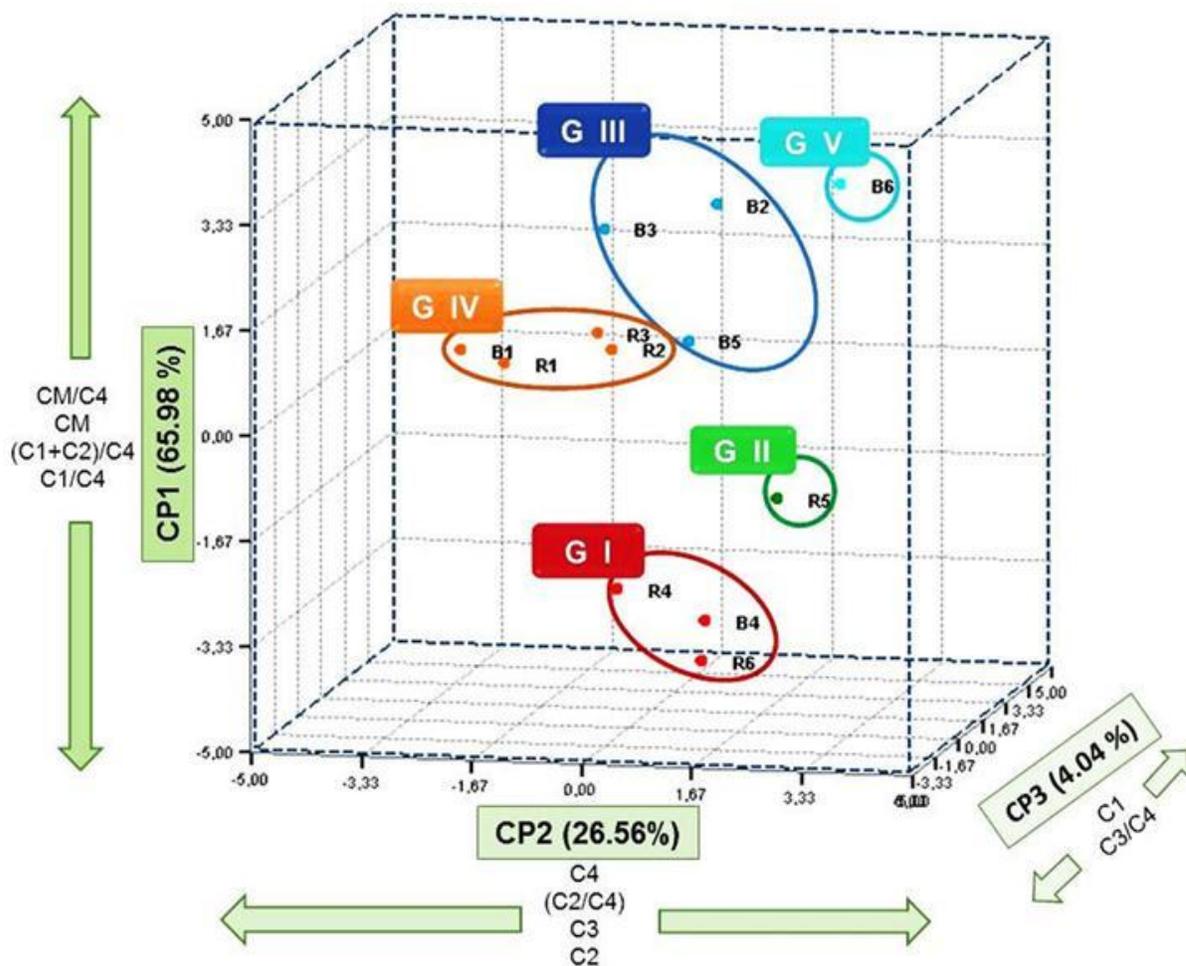


Figura 3.11 Dispersión de los tratamientos (B1-B6) y vainas de referencia (R1-R6) de los seis beneficiados de *V. planifolia* J., basado en el análisis de los primeros tres componentes principales de la evaluación de 10 variables del aroma

El Grupo 2 (GII) representado solo por R5, se localizó en el cuadrante negativo del CP1, lo que indica que tiene una baja proporción en CM/C4, CM, (C1+C2)/C4 y C1/C4. En contraste, en el CP2 se ubica en el cuadrante positivo, que indica que posee una alta concentración de C4, C2/C4, C3 y C2, y una mayor concentración de C1, C3/C4 colocado en el lado positivo

del eje del CP3. Lo que denota que R5 tiene alta concentración de vainillina (superior al resto) y de *p*-hidroxibenzaldehído lo que es deseable en vainas beneficiadas dado que estos compuestos están altamente correlacionados con el criterio de vainillina (Odoux y Grisoni 2011). El balance entre C4/C3 oscila de 10 a 20 (Havkin-Frenkel y Belanger 2011), en este caso se obtuvo 18.61 lo que demuestra un balance en aroma de esta vaina.

El Grupo 3 (GIII) está conformado por B2, B3, B5 con mayor concentración de CM/C4, CM, (C1+C2)/C4 y C1/C4 posicionado en el cuadrante positivo, mientras que en el CP2 se encuentra en la parte central del eje lo que indica tiene concentraciones intermedias en C4, C2/C4, C3 y C2, y mayor proporción en los componentes C1 y C3/C4 que se distribuyen hacia el eje positivo del CP3. Esto significa que las vainas de estos beneficios tienen mayor contenido de los compuestos menores con relación a la vainillina que se encontró en concentraciones intermedias, lo que genera el balance aromático más favorable de la vainilla, esto coincide con lo reportado por Salazar *et al.* 2011 quienes mencionan que una mayor concentración en los compuestos menores no necesariamente debe tener altas concentraciones de vainillina. Por ejemplo B2, R2 tienen un contenido medio de vainillina que en relación con los compuestos menores genera un balance en el aroma, Havkin-Frenkel y Belanger (2011) reportan que el balance entre C4/C2 va de 12 a 29, las vainas B2, R2 registraron 21.58 lo que genera un balance en el aroma.

El Grupo 4 (GIV) integrado por B1-R1, R2, R3 se ubican en la parte central del eje del CP1 lo que indica que posee una concentración media de CM/C4, CM, (C1+C2)/C4 y C1/C4, aunque tiene una concentración baja en los compuestos C4, C2/C4, C3 y C2 que determinan el CP2, pero con mayor proporción en C1, C3/C4 colocados en el lado positivo del eje del CP3. De manera que al tener alto contenido de ác. vanilílico y *p*-hidroxibenzóico genera notas indeseables ahumadas/fenólicas por estar presentes en altas concentraciones (Odoux y Grisoni 2011), lo que ocasiona un desbalance en el aroma debido a que B1, R1 obtuvieron la concentración más baja de vainillina (15295-15809 ppm). El balance entre C4/C1 fluctúa de 40 a 110 (Havkin-Frenkel y Belanger 2011), en este caso B1, R1 obtuvieron 78.13 lo que demuestra un balance en aroma de esta vaina.

El Grupo 5 (GV) representado por B6 se localiza en la parte superior extrema del CP1 presentando mayor proporción en CM/C4, CM, (C1+C2)/C4 y C1/C4, también se ubica en el

cuadrante positivo del CP2 lo que indica que posee una alta concentración de C4, C2/C4, C3 y C2, y una mayor concentración de los compuestos C1, C3/C4 colocados en el lado positivo del eje del CP3. Salazar *et al.* (2011) muestran que el balance de la proporción de los compuestos menores en relación a la vainillina va de 7 a 13%, sin embargo las vainas B6 se encontró en 14.84 %, lo que indica que a través de este beneficio de obtuvo una mayor concentración en los compuestos del aroma, por otro lado Havkin-Frenkel y Belanger (2011) mencionan que el balance entre C1/C3 oscila de 0.15 a 0.35 (Havkin-Frenkel y Belanger 2011), en este caso se obtuvo 0.46 lo que demuestra que no hay equilibrio en el aroma de esta vaina.

3.3.1.3 Agrupamiento de la diversidad

Debido a que en cada región se realizan diferentes procesos de beneficiado, la concentración de los compuestos del aroma puede variar (Ranadive 1992). En la Figura 3.12 se presenta el dendrograma derivado del análisis de conglomerados donde se muestra la similitud y diferencias entre los beneficiados que realizan en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y la Huasteca Potosina en relación con la concentración de los compuestos aromáticos.

A una distancia euclidiana de 1.0534 se formaron dos grandes grupos, el A conformado por el Grupo I, II, y el B que se divide en tres Grupos III, IV y V.

El Grupo A (GI, GII) se diferenció del B (GIII, GIV y GV) debido a que el conglomerado de la parte superior agrupo los beneficiados caracterizados por presentar menor contenido en los componentes C1, C2, CM, CM/C4, C1/C4, C2/C4, (C1+C2)/C4, pero una concentración mayor de vainillina (C4); mientras que el segundo grupo contiene mayor proporción en dichos componentes, pero menor concentración de vainillina (C4).

A una distancia de 0.57 en el dendrograma de la Figura 3.12, se mostró la formación de cinco perfiles diferentes del aroma, lo que sugiere que puede estar relacionado con la heterogeneidad en las prácticas de beneficiado y particularmente con las condiciones que se mantienen durante el marchitamiento de las vainas. En el capítulo II se describe que el método que priorizan los seis beneficiadores es el método tradicional, utilizando agua caliente y con base en su experiencia manejan tanto diferentes temperaturas como tiempos o ciclos (Cuadro 3.5), lo cual impacta de forma diferencial la formación de los compuestos aromáticos. De acuerdo con Mariezcurrena *et al.* (2008) la etapa del marchitado es una de las etapas más importantes

al evitar el desarrollo vegetativo posterior a la cosecha ya que promueve la actividad enzimática, al establecer contacto directo con los sustratos para la formación de compuestos precursores del aroma y sabor, acumulados en los tejidos de la placenta (Reyes *et al.* 2008; Van Dyk *et al.* 2010).

Cuadro 3.5 Parámetros del marchitado del fruto

Beneficio	Marchitado		Tiempo
	Temperatura (°C)	Forma de medición	
B1-R1	Punto de ebullición	Al tanteo	5-6 s
			8-9 s
			13-14 s
B2-R2	70	Al tanteo	V. mojada: 5-10 min
	70		V. entreseca: 5-6 s
	90		3 s
	Punto de ebullición		1 s
B3-R3	75-80	Termómetro	2 s
B4-R4	90	Termómetro	1-10 s
B5-R5	Punto de ebullición	Al tanteo	5 s
B6-R6	Punto de ebullición	Al tanteo	10 s

B1-R1= Beneficiado Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos
 B2-R2= Beneficiado ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz
 B3-R3= Beneficiado Rancho Santa Beatriz
 B4-R4= Beneficiado Rancho 20 soles
 B5-R5= Beneficiado ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz
 B6-R6= Beneficiado Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

El Grupo 1 (GI) se conformó principalmente por las vainas de *V. planifolia* J. Q6 del beneficiado B4-R4 curadas en el Rancho 20 soles, Papantla Veracruz, también incluyo las vainas de referencia R6 del beneficiado realizado en Tamazunchale, San Luis Potosí, que corresponden a los procesos que practican el lavado del fruto previo al marchitado en agua en ebullición por 10 segundos, realizando aproximadamente 20 soles a 50-60 °C y empaquetando al alto vacío (R4 y R6). A pesar de que estas vainas presentaron menor contenido de ácido *p*-hidroxibenzóico (87.75-168.27 ppm), ácido vanílico (418.72-653.49 ppm) y de *p*-hidroxibenzaldehído (489.42-835.94 ppm), se compenso por tener una alta concentración de vainillina que oscilo de 18665.10 hasta 20985.95 ppm, por lo que su aroma tuvo una participación baja-media del 7 % en los compuestos de menor importancia con relación a la vainillina (CM/C4), de manera que las vainas del beneficiado B4 conservaron sus características que la identifican como Quimiotipo seis (Q6) (Salazar *et al.* 2011). Mientras que en las vainas de R6 que también tuvieron una alta concentración de vainillina, se le

atribuye más al efecto del empaquetado al alto vacío. Se ha comprobado que las vainas selladas al vacío conservan la concentración de vainillina hasta por tres años a diferencia del empaquetado con papel encerado donde pierden hasta 50 % del contenido de vainillina a los 50 días del acondicionamiento tradicional (Zarabal 2015). Estos valores se puede confirmar con lo reportado por Gassenmeier *et al.* (2008) quienes señalaron que las vainas beneficiadas con mayor concentración de vainillina carecen de las demás características generales en el aroma, lo que ocasiona un desbalance este.

El Grupo 2 (GII) se distingue por ser un grupo independiente, representado por R5 (sin lavado, marchitadas en agua hirviendo durante 5 segundos, realizando entre 20 y 25 soleados y empaquetando en bolsas de nylon gruesa) en Puntilla Aldama, San Rafael Veracruz. Se caracterizó por tener una concentración baja-media de ácido *p*-hidroxibenzóico (234.86 ppm) así mismo de ácido vanílico (618.37 ppm), pero una concentración alta de *p*-hidroxibenzaldehído y de vainillina (21944 ppm), por lo que en su aroma hubo una participación alta (9.5 %) de los compuestos menores en relación con la vainillina (CM/C4). La bibliografía reporta que los contenidos de vainillina y ácido vanílico disminuyen sólo cuando se realiza un marchitado a 80 °C durante un tiempo prolongado hasta por 20 minutos (Dignum *et al.* 2002). Sin embargo, en este caso, al tener un marchitado de menor tiempo a lo reportado por estos autores, el contenido de vainillina fue mayor. Por otro lado Ranadive (1992) señaló que la concentración de la vainillina es afectada principalmente por el origen geográfico, madurez del fruto y método de curado, lo que justifica que este perfil aromático parece ser el más afectado por el factor humano mediante el proceso de beneficiado dado que presento la mayor concentración de vainillina, que sugiere además un proceso de selección basado en la vainillina del material vegetal (propio del beneficiador) procesado bajo este beneficiado (Salazar-Rojas *et al.* 2011).

El Grupo 3 (GIII) se conformó por las vainas del beneficiado B2, B3 y B5 que corresponden a procesos de beneficiado que realizan el marchitado del fruto en agua caliente a punto de ebullición (aproximadamente 70 °C). Particularmente el beneficiado B2 realiza el marchitado durante un tiempo prolongado que va de 5 segundos, el beneficiado B3 marchita a 75-80 °C por 2 segundos, mientras que el beneficiado B5 lo realiza en un tiempo de hasta 5 segundos a punto de ebullición, en los tres beneficiados sudan las vainas a 45-55 °C. Se caracterizaron por tener una concentración de ácido *p*-hidroxibenzóico que oscilo entre 337.88 y 607.76 ppm,

ácido vanílico entre 718.26 y 904.47 ppm, una concentración de *p*-hidroxibenzaldehído que oscilo de 1092.24 a 1176.88 ppm, mientras que vainillina vario entre 16237.76 y 17603.64 ppm. Así se detectó que las vainas tuvieron una alta participación de los compuestos minoritarios en relación con la vainillina (14%), desarrollando un aroma fino, suave y delicado a vainillina. Van Dyk *et al.* (2010) describen que las vainas marchitadas en agua caliente a 65 °C durante un tiempo prolongado de 3 minutos y sudándolas a 45 °C, dan como resultado concentraciones relativamente bajas en vainillina pero altas concentraciones en los demás compuestos aromáticos debido a que el tratamiento de marchitamiento a temperaturas altas y por un tiempo prolongado reduce la actividad β -glucosidasa (Dignum *et al.* 2001; Havkin-Frenkel *et al.* 2006; Márquez y Waliszewski 2008). La presencia de compuestos aromáticos en cantidades intermedias es la particularidad que distingue a estos beneficios de los demás, debido a que a pesar de tener una alta concentración de vainillina, conserva una proporción homogénea en los demás compuestos aromáticos que son denominados compuestos menores por encontrarse en bajas concentraciones, que en conjunto determinan una buena calidad del fruto beneficiado (Rivera-Espinoza y Muriel 2013). En estudios previos se ha encontrado que vainas que tienen bajos niveles de vainillina desarrollan un aroma redondo, equilibrado y representa prácticamente el perfil de sabor y aroma más completo debido a que la calidad aromática de la vainilla no se le atribuye por si sola a un compuesto en específico sino que se debe a diversas combinaciones y concentraciones de varios compuestos aromáticos que se desarrollan durante el beneficiado (Arenas 2009). Por tanto se puede decir que los compuestos minoritarios, presentes en cantidades trazas desempeñan un papel fundamental en el aroma, mientras que la vainillina que en teoría se ha demostrado que es mucho más abundante puede solo tener una ligera contribución al mismo.

El Grupo 4 (GIV) incluyo las vainas B1-R1, en el cual marchitan el fruto en agua hirviendo durante 5-14 segundos, las sudan a 45 °C y las empaquetan al vacío. En el grupo también se incluyó a las vainas de referencia (R2 y R3). Se caracterizó por presentar valores medios entre 180.213 y 342.496 ppm de ácido *p*-hidroxibenzóico, *p*-hidroxibenzaldehído oscilo de 722.74 a 879.69 ppm, vainillina fluctuó de 15295.07 a 17934.63 ppm, pero una concentración alta de ácido vanílico con rangos de 877.22 a 1027.42 ppm, por consiguiente en su aroma existió una alta participación de los compuestos menores (12%) en relación con la vainillina, lo que genero un aroma suave a vainillina. El contenido alto de ácido vanílico se puede explicar por

la oxidación de la vainillina (Pérez-Silva *et al.* 2006), por consiguiente la poca concentración de vainillina podría estar relacionado a la pérdida de este compuesto durante el marchitamiento (Odoux 2000; Gatfield *et al.* 2007). Este perfil aromático agrupo las vainas del beneficiado B1 y R1, procesos de beneficio no tienen estandarizada la temperatura a la cual marchitan el fruto (solo se sabe que el marchitado fue realizado en agua hirviendo), por lo que al no contabilizar estrictamente las condiciones de temperatura, sugiere que pudieron haber utilizado temperaturas demasiado altas ocasionando una oxidación de la vainillina, así mismo otras reacciones que tienen relación directa con la formación de aroma también pueden explicar estas bajas concentraciones de vainillina, tales como sublimación, evaporación conjunta con agua (Frenkel y Havkin-Frenkel 2006), o la formación de un enlace covalente con la lignina de la vaina (Gatfield *et al.* 2007).

El Grupo 5 (GV) incluyó las vainas de B6 curadas en Tamazunchale, San Luis Potosí (lavado, marchitado en agua caliente a punto de ebullición por 10 segundos, realizando de 5 a 20 soles a 50-60 °C). Se caracterizó por tener una mayor concentración de ácido *p*-hidroxibenzóico (695.781 ppm), alto contenido de *p*-hidroxibenzaldehído (1501.26 ppm), así mismo de ácido vanílico (731.94 ppm) y vainillina (20071.02 ppm) de manera que hubo una participación de 15% en los compuestos minoritarios con relación al contenido de vainillina (CM/C4). La acumulación en mayores concentraciones en los compuestos del aroma de las vainas beneficiadas bajo este proceso pudieron verse favorecidos por la alta temperatura y ciclos utilizados. Esto coincide con lo documentado por Márquez y Waliszewski (2008) quienes describen dentro del proceso de beneficiado la influencia que tiene el marchitado con inmersiones en agua a punto de ebullición por 10 segundos sobre el contenido aromático de las vainas, observando un incremento en el contenido de ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y vainillina. Posteriormente Pardo *et al.* (2009) analizaron diferentes métodos de marchitamiento en vainas de vainilla procedentes de Papantla, Veracruz, observando que los extractos etanólicos con mayor contenido de vainillina y *p*-hidroxibenzaldehído fueron los elaborados con vainas curadas por medio de *inmersiones en agua a 80°C* durante 10 segundos por tres veces con intervalos de 30 segundos Mariezcurrena *et al.* (2008) mencionan que entre más rápido sea el rompimiento de la pared celular, se remueve con mayor facilidad el contacto entre la α -glucosidasa y su sustrato y, por lo tanto, será más eficaz la hidrólisis de los precursores aromáticos dando como resultados mayores

concentraciones de vainillina y otros compuestos volátiles, siempre y cuando no se inhiba la actividad de la enzima.

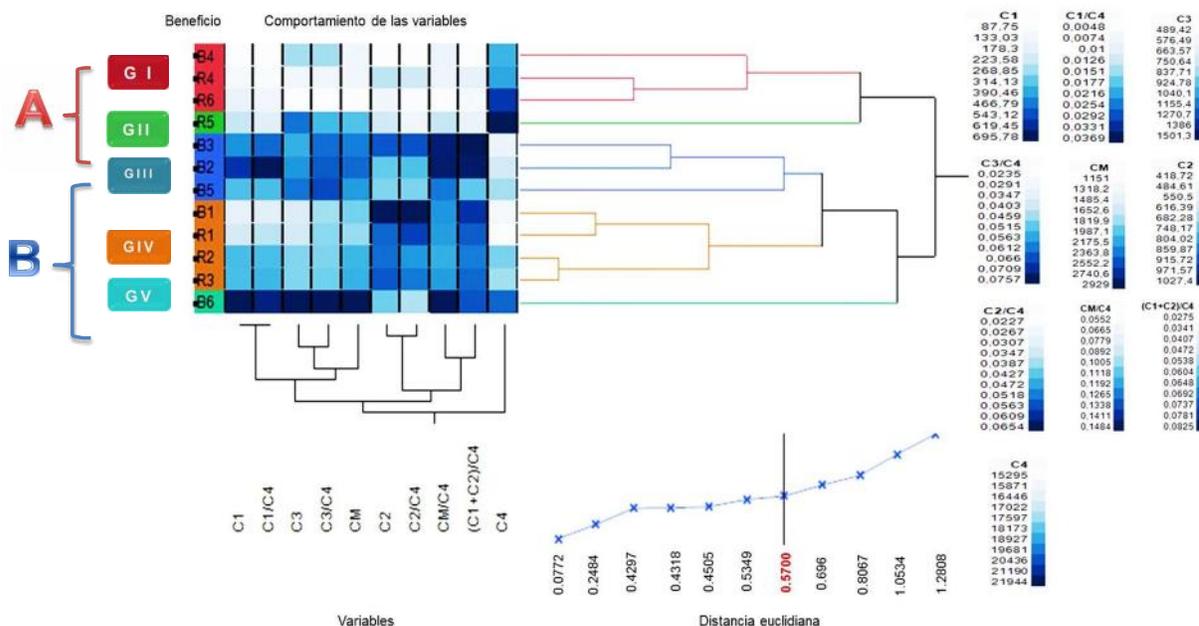


Figura 3.12 Dendrograma de los beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en 10 variables del aroma y agrupamiento de similitud

Mediante el análisis de Parallel Plot en la Figura 3.13 se representa el perfil de las 10 variables evaluadas en los compuestos del aroma de las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados, en el cual se confirmó el comportamiento de los cinco grupos del dendrograma con los valores medios de cada variable agrupados por tratamientos (procesos de beneficiado). Permitiendo visualizar que compuestos variaron más entre los procesos de beneficio evaluados y la presencia de puntos extremos en la distribución.

En el Grupo 1 (GI) conformado por B4-R4 y R6 se distinguieron por tener concentraciones de medias a altas de vainillina (C4), pero concentraciones bajas de C1, C2, C3, CM CM/C4, C1/C4, y de bajas a medias de las relaciones C2/C4, y (C1+C2)/C4.

En el Grupo 2 (G II) conformado por R5 destaco principalmente por el pico colocado en la parte superior extrema en C4 que corresponde al compuesto de mayor concentración e

importancia que constituye al aroma de la vainilla, se mostró que a medida que aumento vainillina (C4) la concentración de CM, CM/C4, C1/C4 y C2/C4 disminuyo.

El Grupo 3 (G III) presento un comportamiento similar entre los tres beneficiados (B2, B3 y B5) en relación con C1, C2, CM, CM/C4, C1/C4, C2/C4, (C1+C2)/C4, excepto en C4 donde se presentó el pico más bajo debido a la poca concentración de vainillina.

En el Grupo 4 (G IV) se observó un comportamiento irregular con la presencia de dos picos extremos inferiores en C4 y C1/C4, y dos picos extremos superiores donde se acentúa mayor concentración de C2 y C2/C4. Dado a este comportamiento los beneficiados B1-R1, R2 y R3 presentaron el perfil de aroma más inestable.

En el Grupo 5 (G V) se observó que el comportamiento en C1, CM y CM/C4 es alto, a excepción de C2 y C2/C4 que mostraron los picos más bajos indicando menor concentración de estos dos compuestos en el beneficiado B6.

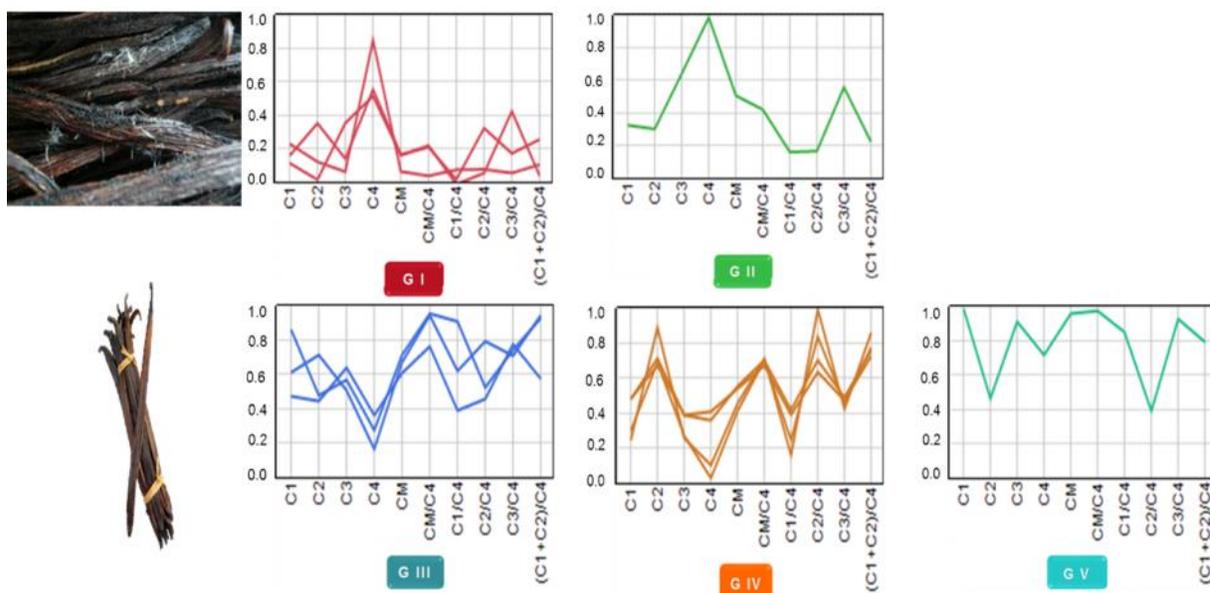


Figura 3.13 Perfil de los componentes del aroma de las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados.

De acuerdo con los rangos reportados por Havkin-Frenkel y Belanger (2011) en extractos de vainilla, las vainas que tiene los valores más aceptables son las vainas del grupo GII (R5), GIII

(B2, B3, B5) y GIV (R2, R3) que tienen un porcentaje considerable de vainillina, que en relación con los compuestos menores generan un balance en el aroma de la vainilla.

3.3.2 ATRIBUTOS FISICOQUÍMICOS

Aunque el aroma es el parámetro más importante en el comercio de las vainas beneficiadas de vainilla, no es el único factor decisivo en cuanto a atributos considerados en calidad (Toth 2012). Según Rodríguez (2003) la aceptación de un producto por parte del consumidor depende en buena medida de su apariencia y por tanto, también de sus atributos fisicoquímicos, por lo que es importante lograr una armonía en los precursores aromáticos, como conseguir una calidad óptima en los parámetros fisicoquímicos dado que existe una estrecha relación entre estas características, el aroma y el sabor (Exley 2010). La calidad fisicoquímica se reconoce a través de dos aspectos: 1) Calidad externa permite afirmar el tamaño de la vaina, aspecto con forma entera, consistencia ligera y un color uniforme de café oscuro a café achocolatado brillante, dichas características son las que primero se perciben sin embargo, los atributos de calidad interna tienen mayor importancia entre los que destaca el contenido de humedad, actividad de agua, flexibilidad, azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), pH (Shamina 2008), que son considerados como parámetros que contribuyen a las distintas características del sabor y que están directamente relacionados con la calidad deseable por los consumidores (Purseglove *et al.* 1981).

Las 13 variables analizadas en las propiedades fisicoquímicas mostraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre las vainas de los seis beneficiados (B) y las vainas de referencia (R). Los coeficientes de variación más altos recayeron en la interacción de grosor (16.33 %), ancho (17.29%) y largo (17.96 %) con la firmeza de la vaina la cual reportó un CV de 14.07 %, en contraste las variables que presentaron menor variación fueron: actividad de agua (A_w) (1.51 %), Hue (1.765), y el pH (2.87 %) (Cuadro 3.6).

Cuadro 3.6 Medias, coeficientes de variación y cuadrados medios de 13 variables evaluadas en las propiedades fisicoquímicas de seis procesos de beneficiado de *V. planifolia* J. Q6 (B) con su referencia (R) en la en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina

Variables	Media	CV	Cuadrados Medios	
		%	Beneficio	Error
Croma (intensidad)	5.15	9.57	20.25 **	0.24
Hue (° color)	228.99	1.76	194.17 **	16.19
A _w	0.88	1.51	0.008 **	0.00
pH	4.64	2.87	0.07 **	0.02
Humedad (%)	31.57	11.99	139.21 **	14.34
Firmeza (g ^f)	126.97	14.07	7503.57 **	319.35
Firmeza/Grosor (g ^f)/mm	36.11	16.33	526.49 **	34.76
Firmeza/Ancho (g ^f)/mm	16.81	14.69	102.16 **	6.10
Firmeza/Largo (g ^f)/cm	6.98	13.99	13.33 **	0.95
Glucosa (BS) (%)	10.05	11.73	14.54 **	1.39
Fructosa (BS) (%)	2.86	10.57	5.77 **	0.09
Sacarosa (BS) (%)	6.25	13.60	38.94 **	0.72
Azúcares solubles (BS) (%)	19.15	7.59	116.18 **	2.11

** = p 0.01 altamente significativo

La prueba de medias de Tukey mostró variaciones significativas (p 0,05) entre los seis beneficiados (B) con su referencia (R) para la mayoría de las variables en las propiedades fisicoquímicas (Anexo 3.4 D).

Con relación a croma (intensidad o cromaticidad del color) se mostraron ocho agrupaciones diferentes: B6 presento la mayor coloración (10.67), mientras que R6 tuvo el valor más bajo (3.90), un valor intermedio la obtuvieron los siguientes cinco grupos: los valores del grupo R5, B1, B3, R4 oscilaron entre 5.14 y 5.46; R3 (5.00); R1 (4.74); R2 (4.52); B2 (4.16); y B4, B5 entre 3.91 y 3.95, lo que indica que alcanzaron un café claro. Lo mejor es que las vainas tengan un color café intenso. Mientras que el parámetro Hue (color) se presentaron seis grupos: B1, B6 tuvieron valores mayores (232.46 y 240.08°); seguido de B3 (231.72°); B2 (231.38°); y R1, R4, B5, R3, B4, R5 que va de 227.55 a 230.33°; en tanto que los grupos R2 y

R6 presentaron valores en Hue de 223.13 y 216.09° respectivamente. De acuerdo a la NOM-182-SCFI-2011 lo ideal es que las vainas tengan un color café oscuro brillante.

Con respecto a actividad de agua (A_w) se determinó la presencia de siete grupos: R6 es el beneficiado con mayor actividad de agua (0.93); le siguió el grupo R3, R4, R5 sus valores fluctuaron entre 0.91 y 0.92; B3 (0.90); B5, B1, R2 de 0.88 a 0.89; mientras que los valores mínimos los registraron los grupos conformados por B2, R1 (0.87); y R4 (0.85).

En potencial de hidrógeno (pH) se mostraron cuatro grupos: en las vainas de los beneficiados en los que se obtuvo mayor pH son: R6 (4.86); B2 (4.83); el grupo integrado por R5, R4, R1, R2, B5, R3 presentaron un pH entre 4.55 y 4.73; en contraste los grupos que tuvieron el contenido más bajo fueron: B6, B4 que osciló de 4.51 a 4.52 y B3 con 4.42. Lo que indica que todas las vainas beneficiadas presentaron acidez. Los valores de pH fueron similares a lo reportado por Wilfred *et al.* (2001) con valores de pH de 4.8, quien menciona que la acidez se debe a las diferentes bacterias que participan en el proceso fermentativo, ya que utilizan glucosa produciendo ácido láctico y genera una reducción del pH a condiciones ligeramente ácidas (Brock 1978).

Para el contenido de humedad se presentó menor variación, se formaron tres grupos correspondiendo el mayor porcentaje al grupo formado por los beneficiados B1 con su referencia R1, B2-R2, B3-R3, B5-R5, R4 y R6 que oscilaron en un rango de variación de 29.44 a 36.37%; mientras que dos grupos independientes fueron los que tuvieron el porcentaje más bajo de humedad: B6 con 20.45% y B4 19.35%. Considerando estos valores las humedades obtenidas cumplen con lo reportado en la Norma Internacional (ISO 5565-1: 1999), tomado de Karthik y Balamohan (2013), donde el límite permisible del contenido de humedad en las vainas enteras puede llegar hasta 38 %, aunque por definición el contenido de humedad para las variable gourmet y grado 1 están entre 25-35 % (Havkin-Frenkel y Belanger 2011).

Con relación a la firmeza de la vaina se determinó la presencia de ocho grupos: R3 es el beneficiado con menor flexibilidad por presentar mayor firmeza con 208.55 (g^f) seguido de R1 (171.65 g^f); B4 (163.54 g^f); el grupo integrado por B1, R6, R5 osciló entre 136.53 y 148.77 g^f ; mientras que los grupos R2 (114.73 g^f); B6 (110.25-112.63 g^f); R4 (110.25 g^f); B3 (90.58 g^f); B5 (69.14 g^f); y B2 (58.82 g^f) presentaron menor firmeza y por lo tanto son

más flexibles y manipulables. Factor relacionado con la calidad de la vaina beneficiada, misma que forma parte de los requisitos de preferencia por el consumidor. Una vaina flexible se define como el fruto o cápsula beneficiado, resistente o fácil de doblar a la presión de los dedos sin quebrarse (NMX-FF074-1996-SCF).

Es importante mencionar que glucovainillina, es el glucósido más importante, es hidrolizada por la acción catalítica de las enzimas α -glucosidasa y celulosa para formar glucosa que aunque aporta un escaso valor, ejercen un papel fundamental en su sabor; y en la formación de vainillina (Waliszewski 2006; Reyes *et al.* 2008), a la que se le atribuye un tercio del sabor y aroma característico. Los otros dos tercios corresponden a una gran cantidad de compuestos no volátiles (glucósidos) o macromoléculas, los cuales en su conjunto realzan y complementan la calidad aromática de la vainilla (Sinha *et al.* 2008).

En glucosa se formaron cinco grupos, en donde el grupo más relevante fue el conformado por B2, B3, y las referencias R1, R5 donde se obtuvo entre 11.38 y 12.72 %, le siguió B1, R3 con 10.55-10.75 %, R2, B6 registraron entre 9.88 y 9.97 %, en cambio los valores más bajos lo registraron los grupos integrados por B4 con su referencia R4 en un rango de 8.08 a 8.32 % y R6 con 7.34 %.

Se presentó una gran variación en fructosa registrando diez grupos: el mayor porcentaje se le atribuyó a B2 con 5.47 %, seguido de B2 (5.47 %), B3 (4.20 %), R1, R2 con un rango de 3.49 a 3.57 %, R5 (3.25 %), en contraste seis grupos son los que obtuvieron el contenido más bajo: R4 (2.63 %), B1 (2.50 %), B6 (2.34 %), R3 (2.25 %), R6 (1.62 %) y B4 (1.55 %).

En sacarosa se formaron siete grupos: siendo el grupo con B2, R5 el que tuvo los porcentajes mayores en un rango de 10.22 a 11.83 %, así mismo los grupos: B6 (9.95 %), R1 (7.91 %), R4, B1 con rangos de 5.93 a 6.24 %, los porcentajes más bajos se obtuvieron en los grupos que integran los procesos de beneficiado R6, B4, R3, B3 que va de 4.20 a 4.89 %, B5 3.48 % y R2 1.41%.

En azúcares solubles totales se formaron nueve grupos. El grupo con los porcentajes mayores lo integraron B2 y R5 con porcentajes de 27.23 a 28.41 %, le siguen R1 (23.55 %), B6 (22.26 %), B3 (20.47 %), B1 (19.49 %), y los porcentajes menores lo registraron R3 (17.42%), R4 (16.87 %), R2, B4 de 13.93 a 14.86 % y B5, R6 (12.23-13.16%). En relación a otros trabajos, estos valores son superiores a los observados por Odoux (2000) quien reportó 20%, Bellucci

(2002) mostro 16.5% y Hernández (2009) 12.6 %, lo cual podría deberse al estado de madurez en los frutos, que en este trabajo fue de 32 semanas y de los otros trabajos no se reporta el estado de madurez de las vainas.

3.3.2.1 Distribución de la diversidad

Con los tres primeros componentes se explicó 82.83 % de la variabilidad (Cuadro 3.7). Dentro del componente principal (CP1) las variables más importantes fueron azúcares solubles, Hue asociadas positivamente, y negativamente con firmeza, firmeza/largo que explicaron el 34.07% de toda la variación. Por otro lado el segundo componente (CP2) explico el 26.41%, asociado positivamente con firmeza/ancho, croma y negativamente con A_w , y en el componente tres (CP3) las variables que obtuvieron los valores absolutos más altos asociados positivamente fueron glucosa (BS) y humedad, explicando el 22.35% de la variación total.

Cuadro 3.7 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable de las propiedades fisicoquímicas, en los tres primeros CP*

Variable	CP1	CP2	CP3
Croma	0.2426	0.3238	-0.2062
Hue	0.3300	0.2932	-0.1086
A_w	-0.2143	-0.3200	0.2870
pH	-0.1238	-0.3118	0.1554
Humedad	-0.0409	-0.2702	0.4370
Firmeza	-0.3230	0.3310	0.2147
Firmeza/Grosor	-0.3065	0.2660	0.2718
Firmeza/Ancho	-0.3050	0.3716	0.0616
Firmeza/Largo	-0.3220	0.3418	0.1843
Glucosa	0.2684	0.1307	0.4383
Fructosa	0.3180	-0.1068	0.3372
Sacarosa	0.2958	0.2233	0.2299
Azúcares solubles	0.3371	0.1517	0.3632
Valores propios	4.4291	3.4329	2.9060
Proporción variación total (%)	34.0700	26.4100	22.3500
Variación acumulada (%)	34.0700	60.4800	82.8300

* Los valores en negritas representan las variables con mayor impacto en la variación de cada componente principal.

La relación de las propiedades fisicoquímicas entre las vainas beneficiadas del Q6 (B) y las vainas de referencia (R), se representó mediante la gráfica de componentes principales, la cual permitió identificar cinco grupos (Figura 3.14).

La distribución de los tratamientos en el (CP1) mostro que los Grupos GI (B4) así como GIII integrado por R1, R3 y R5 con mayor proporción en azucres solubles, Hue, firmeza por si sola y firmeza/largo de la vaina se colocaron en el lado positivo del eje, mientras que los grupos con proporciones más bajas se colocaron en el lado negativo GIV (B2) y GV (B6). GII conformado por (B1, B3, B5, R2, R4, R6) se colocó en la parte central del eje lo que indica que posee una proporción media de dichas variables.

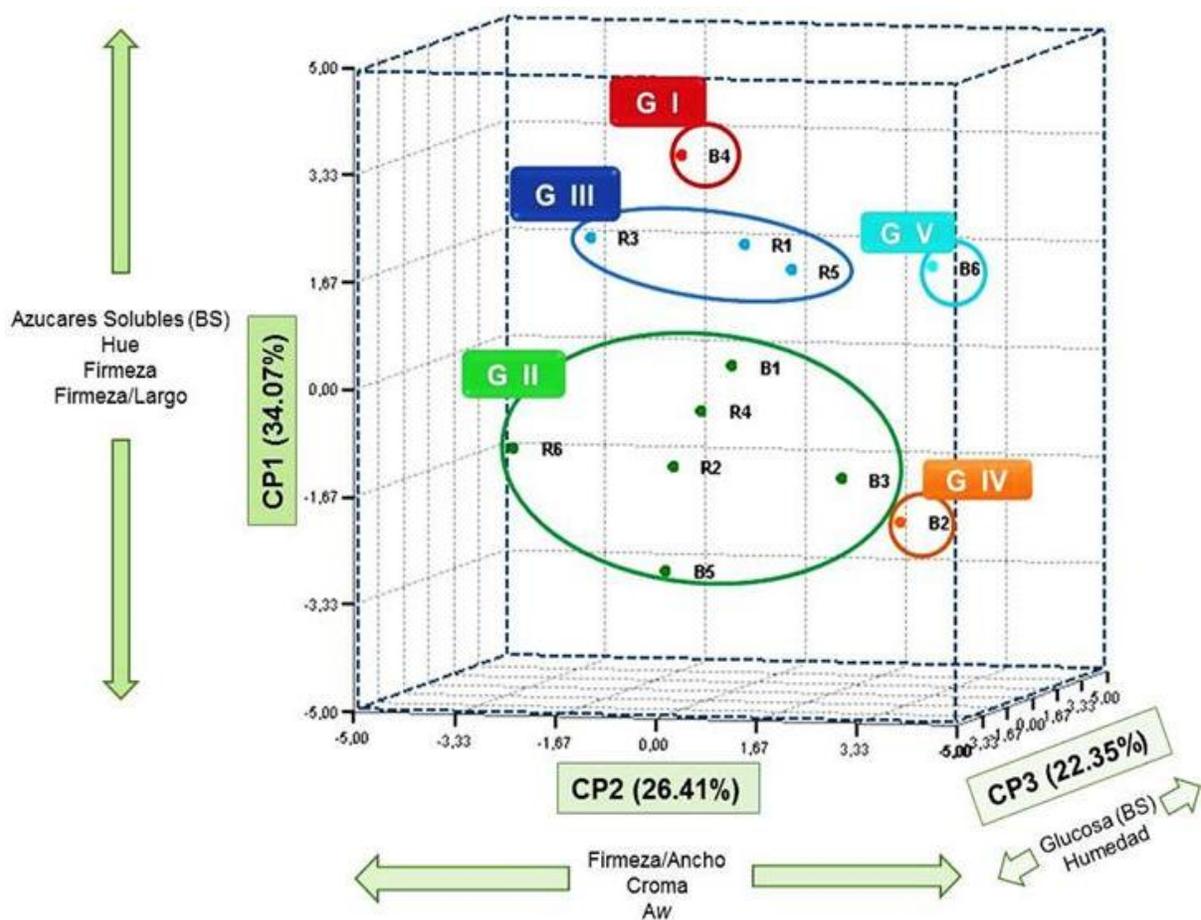


Figura 3.14 Dispersión de los beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R), basado en el análisis de los tres primeros componentes principales del análisis de 13 variables fisicoquímicas

En el segundo componente principal (CP2) se distinguen los grupos con mayor concentración de azúcares solubles, Hue, firmeza y firmeza/largo en el cuadrante positivo a GI (B4), GIII (R1, R3 y R5) y GV (B6), en contraste los grupos GII (B1, B3, B5, R2, R4, R6) y G IV (B2) se ubicaron en el cuadrante negativo por tener menor contenido de azúcares, menor coloración y mayor flexibilidad.

Mientras que en el componente principal tres (CP3) los grupos con mayor proporción de azúcares solubles, Hue, firmeza y firmeza/largo fueron los grupos GI (B4), GII conformado por B1, B3, B4, B5, R2, R4, R6, y GV (B6) posicionados en el cuadrante positivo. Por otro lado los grupos GIII (R1, R3, R5) y GIV (B2) se caracterizaron por estar ubicados en el cuadrante negativo debido a que presentaron menor concentración de dichos compuestos.

3.3.2.2 Agrupamiento de la diversidad

Las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados que realizan en la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y la Huasteca Potosina en relación a las propiedades fisicoquímicas se conglomeraron en tres grandes grupos (A, B y C) de acuerdo al método de agrupamiento jerárquico y la distancia euclidiana (Figura 3.15). La separación se dio a una distancia de 1.0476, en donde es notorio que el Grupo A (GI, GII y GIII) difiere del B (GIV) y del C (GV) debido a que el conglomerado A de la parte superior agrupo los beneficiados que presentaron mayor actividad de agua (A_w), contenido de humedad, y mayor grado de flexibilidad, pero menor intensidad (croma) y color (Hue). Mientras que el conglomerado B tuvo mayor porcentaje de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), por el contrario el conglomerado inferior C manifestó mayor coloración e intensidad en sus vainas pero menor A_w y humedad indicando que se trató de vainas muy deshidratadas.

Y a su vez estos grupos se dividen en cinco conglomerados diferentes a una distancia euclidiana de 0.8999 (Figura 3.15). Esto relacionado muy probablemente a las diferentes condiciones empleadas en la etapa del secado y sudado. Havkin-Frenkel *et al.* (2011) mencionan que el secado es la etapa más complicada en el proceso de beneficiado, debido a que el secado y sudado van juntos. Los seis beneficiadores que participaron en la evaluación del presente estudio coincidieron que esta etapa se realiza naturalmente con la energía solar y

que un sol o sudor, es la acción mediante la cual a través de exposiciones a los rayos del sol las vainas deben alcanzar entre 45 y 60°C (con diferentes número de soles) para posteriormente encajonar y ahí pierdan dos terceras partes de su peso por deshidratación. Lo cual distintos estados de soleados pudiera afectar en los atributos fisicoquímicos de la vaina. De acuerdo con Röling *et al.* (2001) un secado desigual puede ocasionar diferencias en el contenido de humedad, sin embargo, esto no es conveniente, debido a que Krushnamurthy *et al.* (2013) mencionan que la importancia de lograr un contenido de humedad en equilibrio radica en protegerlas del deterioro microbiano y permitir que otras reacciones se lleven a cabo para desarrollar la mayoría de las características fisicoquímicas. Se identificó que el número de soles lo determina el beneficiador dependiendo de la humedad y grosor que tengan las vainas bajo diferentes temperaturas (Cuadro 3.8).

Cuadro 3.8 Numero de soles que se realizan en cada beneficiado durante la etapa del secado

Beneficiado	Secado	
	No de Soles	Temperatura (°C)
B1-R1	25	45 °C
B2-R2	8-20	45 °C
B3-R3	V. Maduras:18-20 V. Tiernas:<15	50-55 °C
B4-R4	20	50-60 °C
B5-R5	20-25	Al sol
B6-R6	V. Gruesas:15-20 V. Delgadas:5-10	50 °C

* Para ser un sol tuvo que haberse dado 1 sudor

B1-R1 = Beneficiado Consejo Estatal de Productores Vainilleros Veracruzanos

B2-R2 = Beneficiado ubicado en el Ejido Primero de Mayo, Papantla, Veracruz

B3-R3 = Beneficiado Rancho Santa Beatriz

B4-R4 = Beneficiado Rancho 20 soles

B5-R5 = Beneficiado ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz

B6-R6 = Beneficiado Tlilixochitl Tamazunchale, San Luis Potosí

Se detectó que el **Grupo 1 (GI)** conformado por las vainas de *V. planifolia* J. Q6 del beneficiado B4 que se encuentra en el Rancho 20 soles, Papantla Veracruz. Corresponde al proceso de beneficiado que practica el lavado del fruto previo al marchitado en agua a punto de ebullición de 1-10 segundos, realizando 20 soles a 50-60 °C. A través de este beneficiado se obtuvieron vainas muy deshidratadas, que incluso tuvieron una A_w baja (0.85) y también

una humedad muy baja (19.35%), esto responde a que la actividad de agua permite dar una idea más exacta de la disponibilidad de agua en la vaina beneficiada que el propio contenido de humedad de la vaina. Con una firmeza de 136.54 g^f, así mismo los índices formados con la firmeza en relación del largo (9.90 g^f/cm), ancho (26.53 g^f/mm) y grosor (43.53 g^f/mm) de la vaina, presentando menor intensidad en croma (3.90) y color en Hue (227.59°), con un contenido de glucosa del 8.08%, fructosa con 1.55%, sacarosa con 4.30% y azúcares solubles de 13.93%, porcentaje que se acerca a lo reportado por Zamora (2015) con un 10.7 % en vainas beneficiadas. Es probable que estas vainas con mayor deshidratación y firmeza estén relacionadas con la temperatura tan alta utilizada en la etapa del secado del fruto 50-60 °C teniendo como consecuencia una disminución considerable en sus propiedades fisicoquímicas. Reyes *et al.* (2008) reportan que las condiciones óptimas para desarrollar una humedad adecuada y lograr mayor flexibilidad es de 48-50 °C.

El grupo más diverso GII, incluyó las vainas de *V. planifolia* J. Q6 de los beneficiados B1, B3, B5 (donde marchitan el fruto en agua a punto de ebullición (B1, B5) y a 75-80 °C el beneficiado B3, durante 2 segundos y 5 segundos, asoleando las vainas a 45-55 °C y realizando entre 15 y 25 soles). Dentro de este grupo se encontraron las vainas de referencia de los beneficiados R2, R4 y R6 con marchitado en agua a punto de ebullición por 10 segundos, asoleado de vainas a 50-60 °C, y asoleado entre 8 y 20 soles, con empaquetado al alto vacío (a excepción de R2 que empaqueta con bolsas de plásticos y papel encerado). Se distinguió por tener la concentración más homogénea es decir con valores intermedios en la mayoría de las variables: con rangos en croma de 3.76 a 5.46, Hue de 216.09 a 232.46°, glucosa fluctuó entre 7.34 y 11.38 %, fructosa osciló de 1.40 a 4.20 %, sacarosa varió de 1.41 hasta 6.24 %, azúcares solubles comprendió de 12.23 a 20.47 %, con un pH de 4.42-4.86. Con una menor firmeza (69.14 a 138.44 g^f), así mismo los índices formados con la firmeza en relación del largo, ancho y grosor de las vainas registraron valores de (4.57-7.59 g^f/cm), (10.17-20.01 g^f/mm) y (22.24-38.33 g^f/mm) respectivamente, esto debido a que son más flexibles por el hecho de presentar una actividad de agua A_w en un rango de 0.88 a 0.93 y un porcentaje de humedad de 29.44 y 35.33 %. Estos resultados presentaron valores intermedios que se encuentran dentro de las características de vainilla gourmet, lo que coincide con lo expuesto por De la Cruz *et al.* (2009) quienes consideran que para que las vainas sean de calidad gourmet tiene que ser de color oscuro casi a negro, con un porcentaje de humedad

entre 25 y 35% debido a que las vainas con alta humedad son manipuladas fácilmente (Havkin-Frenkel y Belanger 2011), por otro lado Arana, (1944) encontró que las vainas con un contenido de humedad del 31 a 34% tiene un buen desarrollo de aroma, es suave y flexibles produciendo una mayor rentabilidad dado que las vainas se venden por peso.

El tercer Grupo (GIII) es similar al grupo GII solo que incluyó las vainas de referencia de los beneficiados R1, R3, y R5 (empacado al vacío, a excepción de R5), el cual se caracterizó por tener concentraciones altas en glucosa (10.55-12.15 %), sacarosa (4.62-11.83 %), azúcares solubles (17.42-23.55 %). humedad (34.27-36.04 %), A_w (0.87-0.92), una firmeza que oscila de 148.77 a 208.55 g^f, firmeza/ancho (16.52- 21.91 g^f/mm) y firmeza/grosor (44.92-61.06 g^f/mm). Los resultados se acercan a lo expuesto por Thomas y Bindumol (2005) y Sudharshan *et al.* (2006) quienes consideran que un alto contenido de humedad es inadecuado para las vainas debido a que se promueve la formación de hongos, que tienen mayor capacidad para crecer en medios con actividades de agua (0.88) (Brock 1978). De manera que estos valores y del siguiente grupo (GIV) sugieren a no superar el contenido de humedad.

En relación al **Grupo 4 (GIV)** se distingue por ser un grupo independiente, constituido principalmente por las vainas de *V. planifolia* J. Q6 del beneficiado B2. Correspondiente al proceso realizado en el Ejido Primero de Mayo, en el cual se marchita el fruto en agua caliente a 70-100°C durante 1 segundo hasta 10 min, realizando entre 8 y 22 soles a 45 °C y empaquetado en bolsas de plástico y papel encerado. Se caracterizó por presentar un pH del 4.81, con altas concentraciones de glucosa (12.72 %), fructosa (5.47 %) y azúcares solubles (28.41 %). Con una mayor humedad (35.71 %) y A_w (0.87). Por lo que las vainas tuvieron mayor flexibilidad debido a que la firmeza de las vainas fue baja (58.82 g^f), de la misma manera los índices formados con la firmeza en relación al largo (4.7 g^f/cm), ancho (10.35 g^f/mm) grosor (23.35 g^f/mm) de la vaina. Presentando valores medios en croma (4.16) y Hue (231.38°). Arana (1940) encontró que el empaquetado con papel encerado permite el completo desarrollo del aroma y sabor debido a que en esta etapa todavía se desarrollan reacciones bioquímicas que producen diversos componentes aromáticos volátiles y fisicoquímicos (Röling *et al.* 2001), lo cual estos resultados podrían atribuirse al empaquetado con papel encerado.

El Grupo 5 (GV) incluyo las vainas de *V. planifolia* J. Q6 del beneficiado B6 donde lavan el fruto previo al marchitado en agua a punto de ebullición por 10 segundos, realizando de 5 a 20 soles a 50 °C, llevado a cabo en Tamazunchale, San Luis Potosí. Se caracterizó por tener las coloraciones más altas de croma (10.67) y Hue (240.08) pero baja actividad de agua (0.76), humedad (20.45 %), pH (4.51) y firmeza/ancho (16.19 g^f/mm), los valores intermedios se mantuvieron en las siguientes variables: firmeza (112.63 g^f), grosor (30.04 g^f/mm) y firmeza/largo (6.11 g^f/cm), glucosa (9.97 %), fructosa (2.34 %), sacarosa (9.95%) y azúcares solubles (22.26 %).

Una baja humedad generalmente produce un color negrozco haciendo atractiva la vaina sin embargo estos valores bajos obtenidos principalmente en el contenido de humedad no son preferentemente aptos, debido a que una baja humedad ocasiona resequeidad en la vaina y por lo tanto al momento de manipularse se quiebra con facilidad como lo manifiestan Karthik y Balamohan (2013). La poca flexibilidad se debe principalmente a las alteraciones en la estructura celular de la vaina ocurridas muy probablemente durante las etapas del secado y sudado donde perdieron demasiada agua misma que ya no se pudo recuperar teniendo como consecuencia la pérdida de flexibilidad en el fruto (Noé-Aguilar *et al.* 1999; Rodríguez 2007).

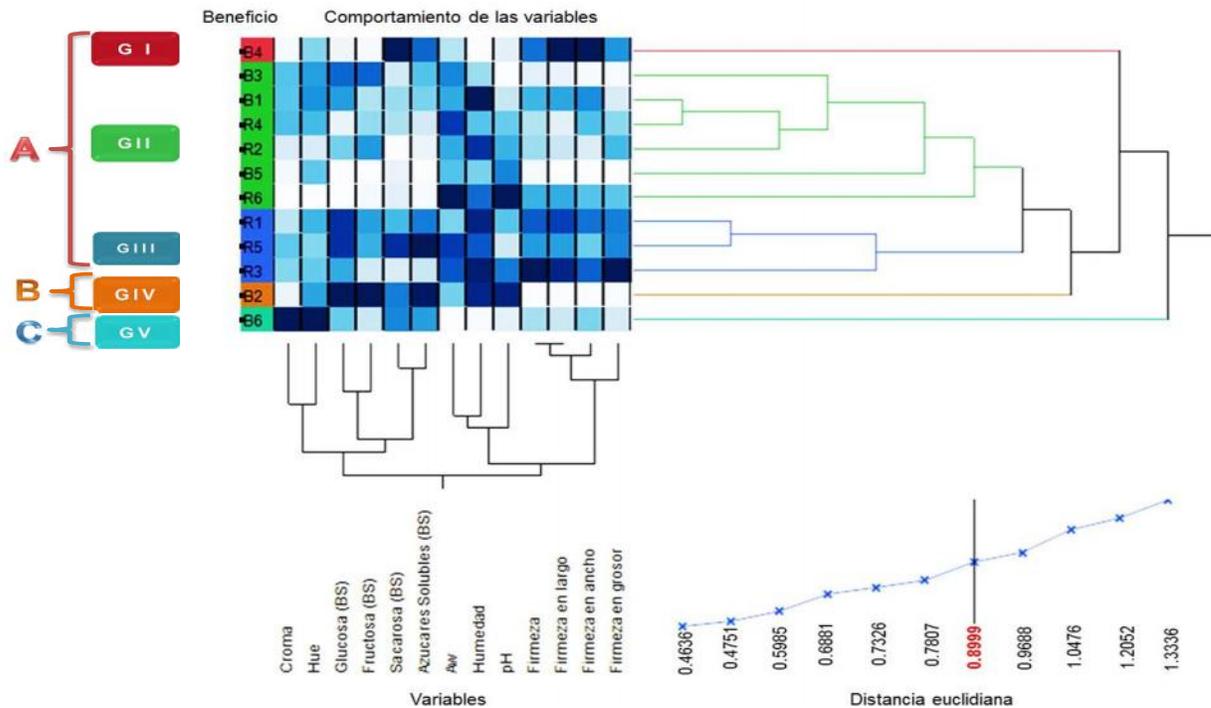


Figura 3.15 Dendrograma de los beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en 13 variables fisicoquímicas y agrupamiento de similitud

En la Figura 3.16 se representa la distribución de los beneficiados a lo largo de las 13 variables evaluadas en las propiedades fisicoquímicas de las vainas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) derivado del dendrograma, donde se puede verificar el comportamiento de los cinco grupos con base en los valores medios de cada variable.

En el Grupo 1 (GI) correspondiente al beneficiado B4, se observó un comportamiento irregular debido a que se presentó un descenso en humedad seguido de un incremento en firmeza, volviendo a tener una ligera disminución en grosor en función de firmeza, incrementando posteriormente en ancho y largo en función de firmeza en los cuales se observó el pico más alto.

En el Grupo 2 (GII) se puede observar que el comportamiento de Aw fue muy similar al de contenido de humedad (donde se alcanzaron los picos más elevados). Posteriormente a partir de la variable grosor en función de firmeza para los seis beneficiados se observó una ligera disminución de los valores, sin embargo fue el grupo que presentó un comportamiento más homogéneo en la mayoría de las variables a pesar de ser beneficios diferentes (B1, B3, B5, R2,

R4, R6).

El Grupo 3 (GIII) mostró que las vainas de referencia obtenidas en los beneficiados R1, R3 y R5 presentaron los picos más altos principalmente en A_w , humedad, largo y grosor en función de la firmeza de la vaina, glucosa, sacarosa y azúcares solubles.

En el Grupo 4 (GIV) las vainas mostraron irregularidad en los valores incluyendo humedad, a partir de ahí el perfil desciende marcadamente en firmeza, y mantienen un comportamiento constante en las variables relacionadas con la firmeza de la vaina (grosor, ancho y largo en función de la firmeza), posteriormente hubo un incremento en las variables relacionadas a los azúcares solubles (glucosa, fructosa, sacarosa y azúcares solubles totales).

El Grupo 5 (GV) reflejo que las vainas obtenidas del beneficiado B6 tuvieron los valores más altos en cromas y Hue, posteriormente se dio una disminución de los valores ocasionando un descenso en A_w , aunque las demás variables mantuvieron valores bajos fueron incrementando de forma paulatina hasta sacarosa, finalizando con un descenso marcado en azúcares solubles.

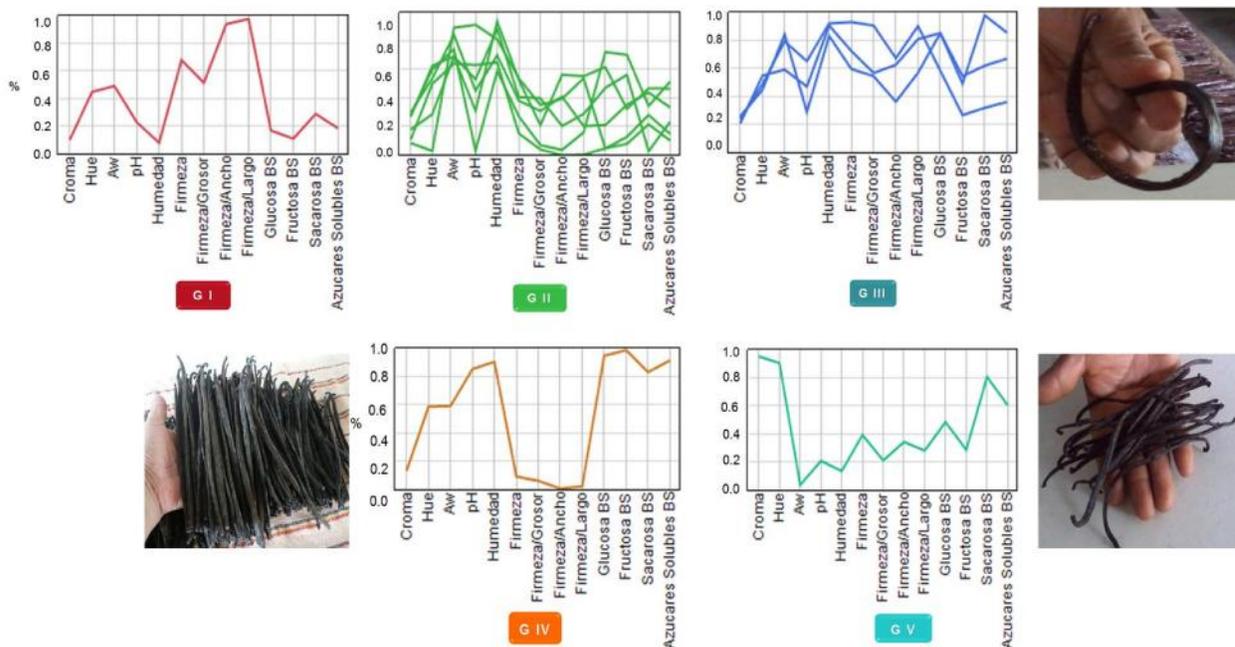


Figura 3.16 Perfil de variables fisicoquímicas de las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados

3.3.3 CALIDAD MICROBIOLÓGICA

Esta determinación se realizó para conocer la calidad microbiológica de las vainas beneficiadas que se obtienen de los beneficiados evaluados y saber si cumple con los requisitos microbiológicos que incluye a bacterias mesofílicas aerobias (BMA), hongos, levaduras, y coliformes totales establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011.

De los resultados microbiológicos en las cuatro variables analizadas en las vainas de *V. planifolia* J. Q6 (B) con su referencia (R) (de cada beneficio se escogieron tres vainas beneficiadas con sus tres repeticiones) se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$), lo que indica una gran variabilidad entre los seis beneficiados originando diferentes calidades microbiológicas. El coeficiente de variación más alto se encontró en hongos con 33.94%, mientras que las bacterias presentaron menor variación (6.55) (Cuadro 3.9).

Cuadro 3.9 Medias, coeficientes de variación y cuadrados medios de cuatro variables evaluadas en el contenido microbiológico de seis beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (T) con su referencia (R) en la en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina

Variables	Media (UFC/ g ⁻¹)	CV (%)	Cuadrados Medios	
			Beneficio	Error
Bacterias	70320.61	5.84	82943154676.00**	16858171.19
Coliformes	640.36	26.41	3002307.26**	28605.44
Levaduras	26350.76	13.83	15299467599.00**	13276012.38
Hongos	17602.08	33.94	7134214754.00**	35682813.00

** = p 0.01 Altamente significativo

De acuerdo con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011 que deben cumplir las vainas beneficiadas, la vainilla debe estar libre de microorganismos patógenos o daños ocasionados por estos. De manera general en las medias obtenidas se mostró un alto contenido de bacterias con 70320.61 UFC g⁻¹ que sobrepasan las 100 UFC g⁻¹ como máximo que indica la norma, el contenido de levaduras (26350.76 UFC g⁻¹) también supero el rango establecido (10 UFC g⁻¹ máximo). En cuanto al contenido de coliformes se

obtuvieron $640.36 \text{ UFC g}^{-1}$ por lo que tampoco se cumplió con este parámetro el cual debió de estar libre de coliformes totales.

Es importante considerar que las vainas tienen una carga microbiológica propia, fundamental para degradar lignina y producir los compuestos aromáticos (Ghosh 1993; Lu y John 2010). Sin embargo, por la alta contaminación observada seguramente otros microorganismos pudieron incorporarse debido posiblemente a los siguientes factores: tanto en la zona del Totonacapan como en la Huasteca Potosina predomina el clima cálido húmedo y la época en la que se realizó el beneficiado fue de diciembre a marzo (algunos beneficiados hasta abril), periodo que coincidió con estaciones lluviosas (Comunicación verbal con beneficiadores 2014), por lo que elevada humedad en el ambiente pudo influir negativamente, favoreciendo el crecimiento de microorganismos que se desarrollan a esas condiciones climáticas como es el caso de hongos y levaduras. Por otro lado el factor humano, que desde la cosecha del fruto hasta la etapa del acondicionamiento forzosamente tiene que intervenir las manipulaciones del maestro beneficiador, así como el manejo de una gran diversidad de materiales como son los cajones de madera, cobijas y hules utilizados en el proceso los cuales pudieron aportar una contaminación secundaria, aunado a esto el manejo en el laboratorio pudo sobreestimar el contenido microbiológico real del fruto deshidratado, lo que puede ser una fuente de contaminación por manipulación tanto en el proceso de beneficiado como en el laboratorio (Zamora 2015).

El resultado de la prueba de medias de Tukey para el contenido microbiológico mostró variaciones significativas ($p < 0,05$) entre los seis beneficiados (B) con su referencia (R) para la mayoría de las variables (Cuadro 3.10).

Se presentó una mayor variabilidad en bacterias registrando nueve grupos diferentes: los beneficiados que fueron significativamente más elevados son: B1 con $515000 \text{ UFC g}^{-1}$, seguido de R4 con $124500 \text{ UFC g}^{-1}$, el grupo conformado por B4, R2 que oscilo de 5000 a 6700 UFC g^{-1} , R3 con 58267 UFC g^{-1} y B2 con 35937 UFC g^{-1} . Cuatro grupos B3 (27500 UFC g^{-1}), R5 (20500 UFC g^{-1}), R1, B6 ($17150-17250 \text{ UFC g}^{-1}$) y R6 (13267 UFC g^{-1}) fueron los beneficiados que reportaron menor contaminación de bacterias.

Con relación al contenido de coliformes totales: R2, R5 son los beneficiados de los que se obtiene mayor contaminación de coliformes ($2033.3-2350 \text{ UFC g}^{-1}$), seguido del grupo R2,

R5 (2033.3–2350 UFC g⁻¹), R1 (1472.7 UFC g⁻¹), R4, R6 (763.3- 850 UFC g⁻¹) mientras que el grupo conformado por las vainas de *V. planifolia* J. Q6 de los beneficiados B1,B2,B3,B4,B5,B6 (0 UFC g⁻¹), y las vainas de referencia del beneficiado R3 (0-215 UFC g⁻¹) fueron las más inocuas.

Para levaduras se mostraron cuatro grupos correspondiendo la mayor contaminación al beneficiado B1 con 218000 UFC g⁻¹, le siguió su referencia R1 con 47500 UFC g⁻¹, mientras que los grupos que presentaron menor contaminación de levaduras fueron B3, B6 que fluctuaron desde 15850 hasta 17550 UFC g⁻¹ y el grupo conformado por B2-R2, B4-R4, B5-R5, R3, R6 que vario de 433 hasta 5400 UFC g⁻¹.

En hongos se formaron cuatro grupos: las unidades formadoras de colonias fue mayor en el beneficiado B1 (150000 UFC g⁻¹), posteriormente los grupos formados por B2, B6 con valores entre las 16000 a 16250 UFC g⁻¹; B4, B3, B5 entre 4700 y 12525 UFC g⁻¹, sin embargo, la incidencia de hongos resulto negativa para las vainas de referencias de los beneficiados R1, R2, R3, R4, R5, R6.

Cuadro 3.10 Medias de las cuatro variables evaluadas en el contenido microbiológico de seis beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) con su referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina

Beneficio	Bacterias (UFC g ⁻¹)	Coliformes (UFC g ⁻¹)	Levaduras (UFC g ⁻¹)	Hongos (UFC g ⁻¹)
B1	515000 a	0 d	218000 a	150000 a
B2	35937 d	0 d	4550 d	16000 b
B3	27500 de	0 d	15850 c	11750 bc
B4	5000 gh	0 d	3633 d	4700 bc
B5	2777 h	0 d	5400 d	12525 bc
B6	17250 f	0 d	17550 c	16250 b
R1	17150 f	1472.7 b	47500 b	0 c
R2	6700 gh	2033.3 a	1393 d	0 c
R3	58267 c	215.0 d	633 d	0 c
R4	124500 b	763.3 c	533 d	0 c
R5	20500 ef	2350.0 a	433 d	0 c
R6	13267 fg	850.0 c	733 d	0 c
Valor Mínimo	2100	0	400	0
Valor Máximo	525000	2700	226000	175000
Desviación Estándar	143999.27	866.36	61845.51	42232.14
Coefficiente de Variación	195.46	87.29	219.25	213.37
NOM-182-SCFI-2011	100 máximo	10 máximo	Negativo	Negativo 25 g muestra

3.3.3.1 Distribución de la diversidad

Los tres primeros componentes principales (CP1, CP2 y CP3) explicaron 99.42% de la variación total. Las variables de mayor importancia en la explicación del (CP1) con 75.23 % fueron: hongos y levaduras, en el (CP2) coliformes explicando el 22.58 % y en el CP3 bacterias (1.61 %) todas asociadas positivamente (Cuadro 3.11).

Cuadro 3.11 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable del contenido microbiológico, en los tres primeros componentes principales (CP)

Variable	CP1	CP2	CP3
Bacterias	0.5584	0.1510	0.7923
Coliformes	-0.2234	0.9700	-0.0038
Levaduras	0.5592	0.1835	-0.5697
Hongos	0.5706	0.0522	-0.2184
Valores propios	3.0093	0.9031	0.0642
Proporción variación total (%)	75.2300	22.5800	1.6100
Variación acumulada (%)	75.2300	97.8100	99.4200

* Los valores en negritas representan las variables con mayor impacto en la variación de cada componente principal.

Mediante la gráfica de los componentes principales se representó la relación del contenido microbiológico entre las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B), incluyendo como referencia (R) (vainas propias de los beneficiadores) que se obtiene de los beneficiados que se realizan en la Región Totonacapan y Huasteca Potosina, los cuales se conglomeraron en tres grupos de calidad microbiológica (Figura 3.17).

El Grupo 1 (GI) conformado por (B2, B3- R3, B4- R4, B5-R5, B6) se caracterizó por estar ubicado en la parte inferior del CP1 debido a que presentó menor contaminación de hongos y levaduras, de la misma manera presentó poca contaminación de coliformes que determinaron el CP2, así como menor contaminación de bacterias que se distribuyó hacia el eje negativo del CP3.

El Grupo 2 (GII) (R1, R2, R5) se ubicó en el cuadrante negativo del CP1 lo que indica que tuvo poca formación de hongos y levaduras. En contraste, en el CP2 se situó en el cuadrante positivo lo que indica que posee una alta formación de coliformes y una baja formación de bacterias colocado en el cuadrante negativo del CP3. Inclusive el grupo GII se mantuvo muy

cerca del grupo GI, por lo que el contenido microbiológico de las vainas que se obtienen de esos beneficiados habla de una similitud del perfil microbiológico.

Mientras que el beneficiado B1 se ubicó en un **grupo independiente (GIII)** y aislado debido a que contiene un perfil microbiológico diferente. Se caracterizó por tener mayor contaminación de hongos y levaduras, posicionado en el cuadrante positivo, mientras que en el CP2 se encontró en el cuadrante negativo del eje lo que indica tener menor contaminación de coliformes, pero mayor incidencia de levaduras que se distribuyen hacia el eje positivo del CP3.

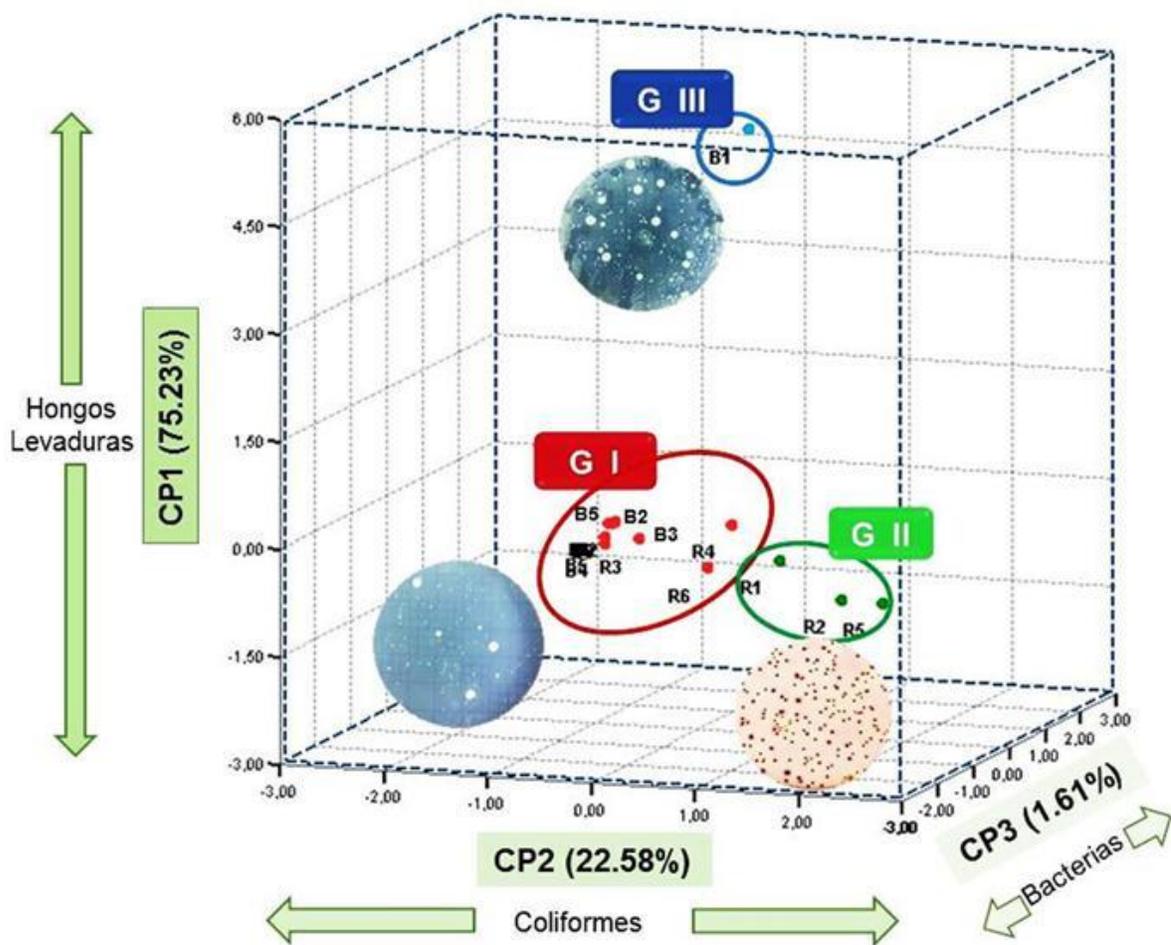


Figura 3.17 Dispersión de los beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R), basado en el análisis de los primeros tres componentes principales del análisis de cuatro variables microbiológicas

3.3.3.2 Agrupamiento de la diversidad

El dendrograma produjo dos grandes grupos (A y B) a una distancia euclidiana de 0.7839 donde se muestra la similitud y diferencias que presentaron los beneficiados realizados en la Región: Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina en relación con el contenido microbiológico de las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R). En donde el Grupo A (GI y GII) presentaron menor incidencia de bacterias, levaduras, hongos y coliformes a excepción del grupo GII que mostro formación de coliformes demasiado alta. Lo que sugiere que pese a esto, microbiológicamente son muy parecidos. El Grupo B (GIII) se separó debido a que presento mayor concentración de bacterias, levaduras y hongos (Figura 3.18). De acuerdo Havkin-Frenkel *et al.* (2011) las vainas que exceden los límites recomendados por la Norma Oficial Mexicana indican un manejo inadecuado y condiciones antihigiénicas durante el proceso de beneficiado y el almacenamiento.

A partir de una distancia de 0.4154 en el dendrograma de la Figura 3.18, se formaron de tres grupos del contenido microbiológico:

Grupo 1 (GI) es la agrupación con menos microorganismos, se obtuvo en las vainas *V. planifolia* J. Q6 de los beneficiados B2, B3-R3, B5-R5 (marchitado del fruto en agua a punto de ebullición durante 1-10 segundos, asoleado de las vainas a 45-55 °C, realizando entre 8 y 25 soles, antes del empaquetado al vacío se revisan constantemente) y B4-R4, B6-R6 efectúan el lavado del fruto previo al marchitado en agua caliente a punto de ebullición por 10 segundos, realizan aproximadamente 20 soles a 50-60 °C y empaquetan al vacío las vainas de referencia (R4-R6). En donde se presentaron valores intermedios de bacterias mesófilas aerobias (BMA) dentro de un rango de 2776.67 a 124500 UFC g⁻¹, levaduras oscilo de 533.33 a 17550 UFC g⁻¹, hongos vario entre 0 y 16250 UFC g⁻¹, mientras que coliformes fluctuó de 0 a 763.33 UFC g⁻¹. Esto se debió a que a diferencia de los otros dos grupos, cuatro procesos de beneficiado adicionan la etapa del lavado para reducir la carga microbiana y garantizar un fruto que satisfaga con las exigencias de calidad que rige la Norma Oficial Mexicana y evitar la eventual contaminación después de la venta (Comunicación personal beneficiadores 2014), los procesos en los que no lavan el fruto, antes de empaquetar revisan constantemente que no exista proliferación de microorganismos. Lo que sugiere que la poca presencia microbiana en este grupo se atribuye a una buena eficacia de los tratamientos de desinfección y por lo tanto

una calidad sanitaria aceptable en el producto final. Autores como De la Cruz *et al.* (2009) señalan que es importante inspeccionar el material vegetal antes de beneficiar para prevenir la propagación de enfermedades fungosas. Por otro lado el matado pudo haber influido debido a que al marchitar las vainas a altas temperaturas (75-punto de ebullición) por un tiempo prolongado de 8-10 segundos, microorganismos que pudieron estar presentes desaparecieron al ser sensibles a altas temperaturas. Dificultando de esa manera la alta proliferación de hongos y microorganismos que afecten su calidad.

Es importante tener en consideración que a pesar de que se presentó formación de hongos, los resultados obtenidos no son malos dado que en el beneficiado se degrada lignina por la amplia gama de microorganismos presentes tales como hongos de pudrición blanca, actinomicetos y algunas otras bacterias que producen los compuestos aromáticos principalmente vainillina y *p*-hidroxibenzaldehído (Ghosh 1993; Lu y John 2010).

En el Grupo 2 (GII) conformado principalmente por las vainas de referencia de los beneficiados R1, R3, R5 (marchitan el fruto en agua a punto de ebullición durante 5 segundos, haciendo sudar las vainas de 45 °C con 25 soles y empaquetando al alto vacío), la incidencia de bacterias (6700-20500 UFC g⁻¹), y levaduras (433.33-47500 UFC g⁻¹) resulto media con tendencia a la alza. En cuanto a la evaluación de hongos no se detectó carga microbiana. Sin embargo este grupo se distinguen de los demás por presentar alta contaminación de coliformes totales en un rango de 1472.67 a 2350 UFC g⁻¹, lo cual significa que por la alta contaminación de coliformes (grupo de especies bacterianas que tienen dos tipos de origen, los fecales y los que se encuentran libremente) no cumple con lo especificado en la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011 que establece un límite de 100 UFC g⁻¹. La nula proliferación de hongos podría deberse a que pudieron haber desaparecido después del marchitado dado que el beneficiado R1 sometió las vainas por un tiempo prolongado de 5 a 14 segundos en agua caliente a punto de ebullición, datos que coinciden con Wilfred *et al.* (2001) quienes encontraron que hongos y levaduras desaparecen después del marchitado en agua caliente. Mientras que Roling *et al.*, (2001) detectaron que bacterias termófilas y termotolerantes (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* y *B. smithii*) después del marchitado a 65 ° C se mantuvieron en menor número hasta el período final de acondicionamiento. Otro factor que pudo influir en estos resultados es que además le dan un terminado al alto vacío lo que ayudo a que no prospera ningún microorganismo que vive del oxígeno. Sin embargo, existen algunas

bacterias que pueden sobrevivir sin oxígeno (Hernández y Velásquez 2009). Arana (1945) indico que la falta de uniformidad en el secado al sol y la sudoración contribuye a la susceptibilidad de las vainas para promover la infección microbiana, lo que a su vez deteriora la calidad del producto.

Es notorio que el **Grupo 3 (GIII)** conformado por las vainas de *V. planifolia* J. Q6 del beneficiado B1 (marchitado el fruto en agua hirviendo durante 5-14 segundos, y hacen sudar las vainas a 45 °C con soles 25), presento altas concentraciones de bacterias (515000 UFC g⁻¹), levaduras (218000 UFC g⁻¹) y hongos (150000 UFC g⁻¹) excediendo los niveles permitidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011, aun cuando la evaluación de coliformes fue negativa. Con base en estos resultados y analizando las variables más importantes que pudieron haber influido en la calidad sanitaria del producto final, se determinó que al no tener estandarizada la temperatura a la cual fue marchitado el fruto (solo se sabe que marchitan las vainas en agua caliente aproximadamente a 45° durante 5-14 segundos, midiendo con termómetro la temperatura hasta la etapa del sudado) por lo que al no contabilizar estrictamente la temperatura pudieron haber utilizado temperaturas bajas ocasionando que el proceso térmico no garantizara la correcta reducción microbiana permitiendo que los microorganismos que estan presentes en la vainilla como las bacterias mesófilas aerobias que crecen entre 20 y 45 °C continuaran desarrollándose, por lo que la temperatura empleada pudo ser insuficiente dado que Torres y Robles (2009) mencionan que mediante el marchitado se eliminan 90% de los microorganismos patógenos y no dañan la calidad de las vainas al contrario en esta etapa se promueve el color y aroma de la vainilla hace que mueran los microorganismos que puedan estar presentes.

Otro factor que es importante considerar es que a diferencia de los demás beneficiados que r mencionaron cuidar la inocuidad en las manos durante el manejo y manipulación de las vainas en el proceso de beneficiado, en este caso no indicaron cuidar el aspecto de limpieza personal por lo que la contaminación en las vainas pudo deberse también al error humano por la falta de limpieza. Aunado a esto existe la intervención manual de 30 operarias posterior al tratamiento térmico, incrementando así las posibilidades de contaminación del producto por parte del personal. Con esto se puede evidenciar algo sumamente crítico y no solo la falta de atención a las temperaturas y tiempos durante el matado sino también la falta de procedimientos sanitarios. Lo que originó la contaminación microbiana, principalmente de bacterias, hongos y

levaduras, dentro de los principales grupos de microorganismos que pueden estar presentes en la vainilla se ubican a las bacterias mesófilas aerobias las cuales crecen a temperaturas entre 20 a 45 °C y dependen del oxígeno atmosférico para crecer.

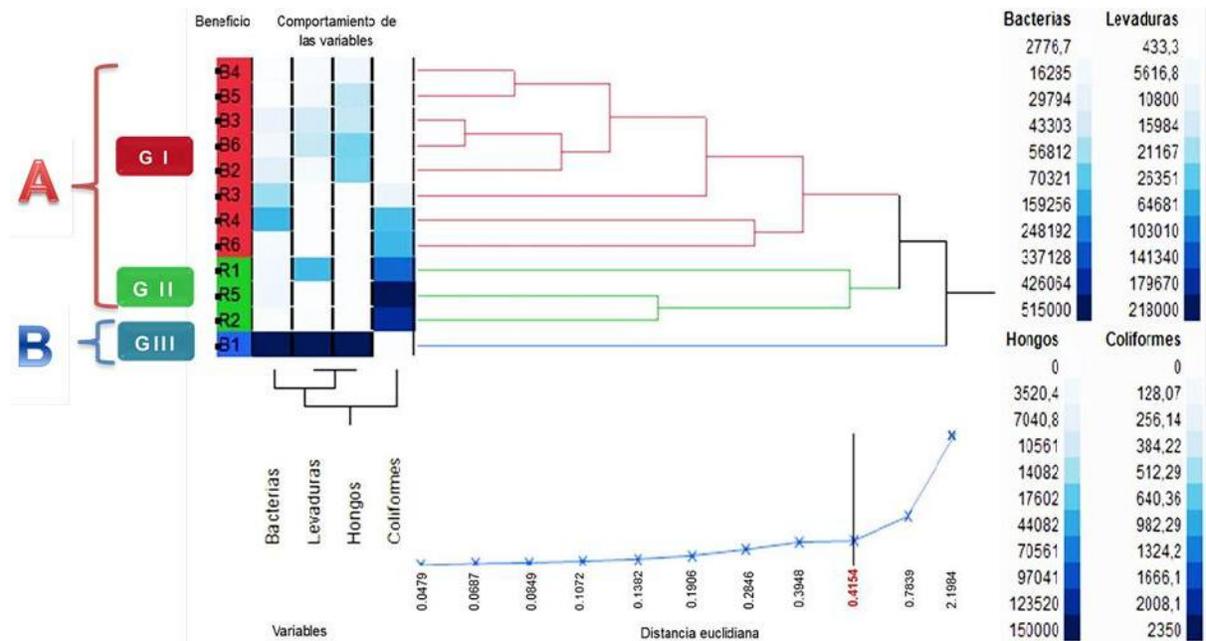


Figura 3.18 Dendrograma de los beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en cuatro variables microbiológicas y agrupamiento de similitud

En la Figura 3.19 se observa que se generaron tres diagramas derivados del dendrograma que representan la distribución de los procesos de beneficiado a lo largo de los valores medios de las cuatro variables evaluadas en el análisis microbiológico de las vainas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R).

En el Grupo 1 (G I) presenta poca presencia de las cuatro variables que determinan la calidad microbiológica. Se mostraron importantes contrastes principalmente en bacterias y coliformes donde se observa que a medida que incrementa la formación de bacterias y coliformes en algunos de los procesos de beneficiado también disminuye, mientras que para hongos y levaduras los valores observados fueron muy inferiores en la que mantuvieron una tendencia homogénea.

El Grupo 2 (G II) destaca por la nula concentración de bacterias siguiendo una tendencia creciente en coliformes donde alcanzó el pico más elevado para los tres procesos de beneficiado R1, R2 y R5, después se dio una caída en la tasa de crecimiento de levaduras y hongos donde se observa la ausencia de estos dos.

En el Grupo 3 (G III) se presentó una alta proliferación de bacterias, nula concentración de coliformes, y un aumento en levaduras donde el pico más alto se mantuvo hasta hongos.

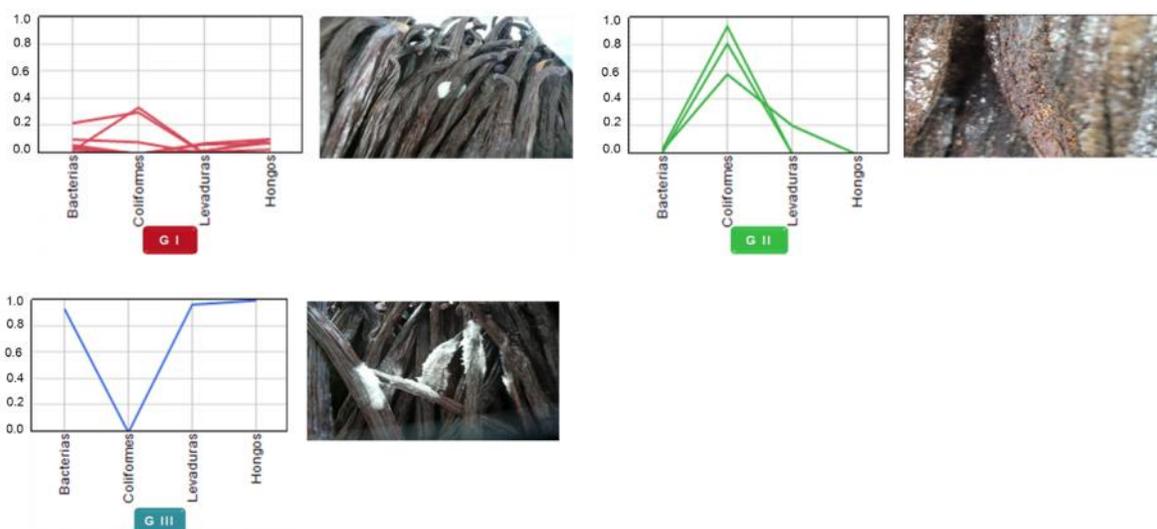


Figura 3.19 Perfil de variables microbiológicas de las vainas beneficiadas de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de Referencia (R) obtenidas de los beneficiados

3.4 CONCLUSIONES

Se identificaron cinco perfiles de componentes del aroma y dentro de ellos el B2, B3 y B5 que corresponden al Grupo 3 (GIII) que tuvieron un marchitado del fruto en agua a punto de ebullición, sudado de las vainas a 45-55 °C, de 8 a 25 soles y empaquetado con bolsas de plástico y papel encerado y al vacío, tienen buenas características con un aroma fino, suave y delicado a vainilla debido a que en su aroma hubo una participación alta (9.5 %) de los compuestos menores en relación con la vainillina (CM/C4).

Se detectaron cinco perfiles de características fisicoquímicas que cumplen con los estándares permitidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-182-SCFI-201).

Los valores de los parámetros fisicoquímicos obtenidos en el Grupo 2 (GII) que incluyo los beneficiados B1, B3, B5, R2, R4 y R6 con 8-25 ciclos de soleado-sudado muestran vainas equilibradas en cuanto a su contenido de humedad, con un alto grado de flexibilidad y una coloración café uniforme que le permiten catalogarse como vainilla gourmet.

Se identificaron tres perfiles de composición microbiológica: el Grupo 2 (GII) presento alta contaminación de coliformes mientras que el Grupo 3 (GIII) presento concentraciones altas de bacterias, levaduras y hongos. En el grupo 1 (GI) en el cual dos beneficiados B4-R4, B6-R6 lavan las vainas antes del curado, lo que provoca no solo diferencias en la carga microbiológica, si no que afecta el balance aromático de las vainas.

3.5 LITERATURA CITADA

Betazzi F, Palchetti I, Sisalli S, Mascini M (2006) A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta*. 555:134–138

Cid-Pérez TS, López-Malo A (2011) Extractos de vainilla: una mezcla de componentes químicos de aromas y sabor. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 5: 51-63

CONACYT-SAGARPA (2012) Mejoramiento de la productividad integral del cultivo de vainilla en México que fortalezca su competitividad. Convocatoria del Fondo Sectorial de Investigación en materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Fitogenéticos. 2-9 p

De la Cruz MJ, Rodríguez JG, García HS (2009) Vainilla: Post-harvest Operations. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2-45

Dignum MJW, Kerler J, Verpoorte R (2001) Vainilla production: technological, chemical and biosynthetic aspects. *Food Revolution International*. 17 (2): 199-219

Dunphy P, Bala K (2010) Review: A flavor of Vanilla. *Perfumer and Flavor* 35:1-8

Fernández BE (2013) Caracterización fisicoquímica y sensorial de vainilla (*Vanilla planifolia Andrews*) con diferentes tipos de beneficiado de la región Veracruz–Puebla. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma De Puebla. Puebla. 87p

Francis F (1980) Color quality evaluation of horticultural crops. *HortScience* 15:14-16

Gillette M, Hoffman P (1992) Vanilla extract. *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Wiley New York. 4:2641-2657

Golan E, Krissof B, Kuchler F, Calvin L, Nelson K, Price G (2004) Traceability in the US Food Supply: Economics Theory and Industry Studies. *Agricultural Economic Report*. 83 p

Havkin-Frenkel D, Belanger FC (2011) *Handbook of Vanilla Science and Technology*, First Edition. 22-141

- Karthik KRB, Balamohan TN (2013) Factors affecting the quality of Vanilla. Journal of Agriculture and Allied Sciences. 2: 37-41
- Klimes I, Lamparsky D (1976) Vanilla volatiles a comprehensive analysis. Int Flavour Food Addit 7:272–291
- López LD (2013) Calidad microbiológica y organoléptica de Vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks) beneficiada artesanalmente. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados *campus* Montecillo. México. 22-25 p
- Mustafa K, Mustafa E, Mustafa KU, Mehmet A (2003) Comparison of different extraction y detection methods for sugar using amino-bonded phase HPLC. Journal of Chromatographic Science 41: 331-333
- Morris S, Mackley L (1999) La gran enciclopedia de las especies. Ediciones Ilymsa-Grupo editorial Edipresee. España. 45 p
- NOM-092-SSA1-1994 (1994) Norma Oficial Mexicana, Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.1-5
- NOM-111-SSA1-1994(1994) Norma Oficial Mexicana, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.1-6
- NOM-113-SSA1-1994 (1994) Norma Oficial Mexicana, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. 1-7
- NOM-182-SCFI-2011 (2011) Vainilla de Papantla, extractos y derivados- Especificaciones, información comercial y métodos de ensayo (prueba). 9 p
- Paredes UAM (2007) Desarrollo e implementación del manual de buenas prácticas de manufactura para el beneficiado de vainilla Global Fungí SPR de RL. Tesis. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México. 12-16
- Pérez-Silva A, Odoux E, Brat P, Ribeyre F, Rodríguez-Jiménez G, Robles-Olvera V, García-Alvarado M, Günata Z (2006) GC–MS and GC–Olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla Planifolia* G. Jackson) beans. Food Chemistry 99: 728-735
- Ranadive AS (1992) Vanillin and related flavour compounds in Vanilla extracts made from beans of various origins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 40:1922–1924
- Rathnakar UP, Srikanth D, Vishma H M, Shenoy SK 1, Sahana DA, Nishchal BS, Shivaprakash G, Udupa A L (2012) Evaluation of Antinociceptive Activity of Vanillin Mediated through Opioid Receptors 674-676 p
- Reyes LD, Rodríguez MB, Kelso BHA, Huerta LM, Ibáñez MA (2008) Beneficiado tradicional de la vainilla. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla. 27-69
- Salazar-Rojas VM, Herrera-Cabrera BE, Delgado-Alvarado A, Soto-Hernández M, Castillo-González F, 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

Sarter S (2011) Microbial Safety of Cured Vanilla Bean. En: Odoux E, Grisoni M (eds). Vanilla. (Medicinal and aromatic Plants plants-industrial profiles). CRC Press. Boca Raton Florida. 229-235

SAS (2002) SAS/STAT Users guide, version 9. SAS Institute Inc, North Carolina

SAS Institute (2003) JMP Statistical, Discovery Software, Version 5.0.1. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina. USA

Sharma A, Verma SC, Saxena N, Chadda N, Singh NP, Sinha AK (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

Shyamala B, Madhava M, Sulochanamma G, Srinivas P (2007) Studies on the Antioxidant activities of natural Vanilla Extract and Its constituent compounds through *in vitro* models. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55:7738-7743

Sinha AK, Sharma UK, Sharma N (2008) A comprehensive review on vanilla flavor:

Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 59: 299–326

Smith NJH, Williams JT, Plucknet DL, Talbot JP (1992) Tropical Forests and Their Crops. Cornell University Press, Ithaca, Nueva York. 25 p

Soto-Arenas MA (2006) La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. CONABIO. Biodiversitas. 66: 1-9

SPSS (2006) versión 15.0 IBM Company Headquarters. Institute Inc, Illinois USA

Tenailleu EJ, Lancelin P, Robins RJ y Akoka S (2004) Authentication of the origin of vanillin using Quantitative Natural Abundance C NMR. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52:7782-7787

Thomas J, Bindumol GP (2005) Microbial contamination in cured Vanilla beans. Spice India. 6-8

Wescott RJ, Cheetham PSJ, Arraclough AJB (1994) Use of organized viable vanilla plant aerial roots for the production of natural vanillin. Phytochemistry. 35:135–138

Zandamela ME (2008) Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Universidad autónoma de Barcelona. Tesis de doctorado. España. 29 p

CAPITULO IV

DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS GENERALES

El proceso de beneficio es considerado de gran importancia para la conservación del fruto y la calidad de la vaina que proviene de los cultivos, puesto que al realizarlo de manera adecuada, las vainas obtienen las cualidades importantes, que hacen que la vaina de la Región del Totonacapan y Huasteca Potosina sea tan apreciada y valorada. En la Figura 4.1 se presenta en forma resumida, el esquema del proceso de beneficiado de la vainilla, indicando el orden de las etapas generales seguidas de diferentes etapas particulares, con base en seis procesos de beneficiado practicados en las regiones de estudio.

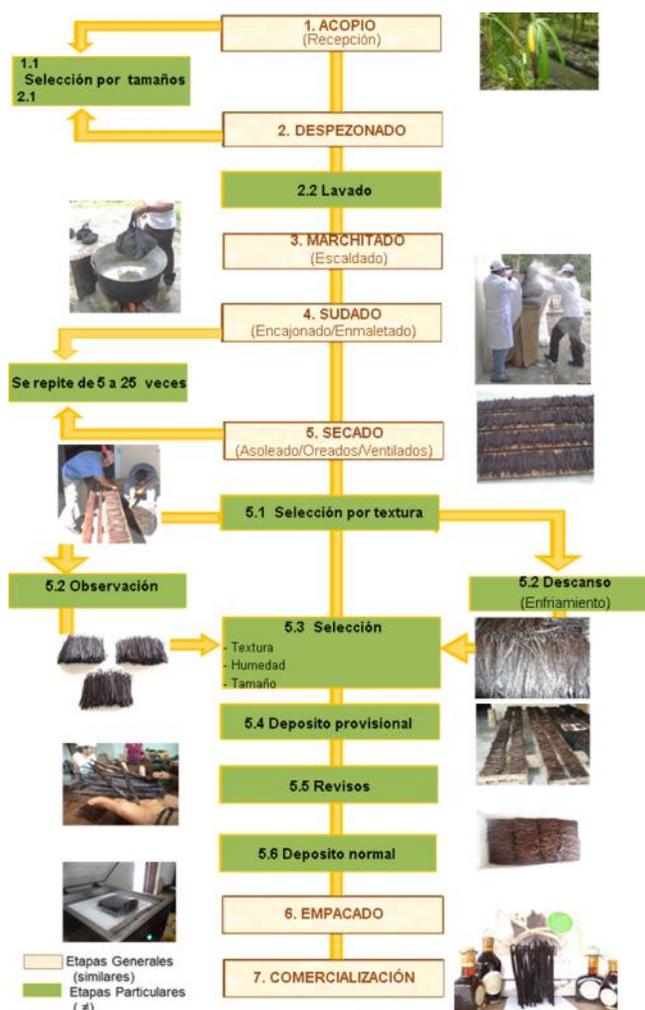


Figura 4.1 Esquema general del proceso mexicano de beneficio de la vainilla (*V. planifolia* J.): Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina

4.2 CALIDAD MEXICANA DE LA VAINILLA BENEFICIADA

La Norma Oficial Mexicana NMX-FF074-1996-SCF (Productos no industrializados para uso humano-Vainilla- (*Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames - especificaciones y métodos de prueba) establece que la calidad de la vainilla producida y beneficiada en México está en función de dos indicadores de calidad: la concentración de vainillina y el contenido de humedad. Sin embargo, es limitada la información sobre los atributos de calidad de las vainas beneficiadas en función de sus características fisicoquímicas, componentes del aroma y microbiológicos, y más aun comparando diferentes beneficiados. Por lo que en el presente trabajo se planteó la hipótesis de que el proceso de beneficiado que se realiza de manera tradicional en la región del Totonacapan y en la Huasteca Potosina impacta en la calidad del aroma, contenido organoléptico y microbiológico independientemente del material vegetal que se utilice. Para probar la hipótesis, se analizaron de manera conjunta por componentes principales los datos obtenidos de los atributos fisicoquímicos, componentes del aroma y microbiológicos de las vainas beneficiadas en cinco beneficios de la región del Totonacapan y uno de la Huasteca Potosina, así como de vainas de referencia de los mismos beneficios evaluados. A fin de analizar el efecto de los procesos de beneficiado tradicional sobre el contenido de compuestos aromáticos, propiedades fisicoquímicas y microbiota de las vainas beneficiadas de un quimiotipo (Q6) de *Vanilla planifolia* J.

4.2.1 Distribución de la diversidad

El análisis de componentes principales se realizó con base a la matriz de correlación cuantitativa de Pearson obtenida de la relación entre las 10 variables de los componentes del aroma, 13 fisicoquímicas y 4 microbiológicas (Anexo 3.5 E), donde los tres primeros componentes explican 68.80 % de la variabilidad de un total de veintisiete variables. El primero aportó 36.34%; el segundo 18.94%; y el tercero 13.52% (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1 Vectores, valores propios y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable, en los tres primeros componentes principales

Variable	CP1	CP2	CP3
C1	0.2772	-0.1516	-0.0430
C2	0.1811	0.3198	-0.0235
C3	0.2358	-0.2241	0.1105
C4	-0.1200	-0.3008	0.0430
CM	0.2988	-0.0671	0.0374
CM/C4	0.3035	0.0587	-0.0045
C1/C4	0.2868	-0.1018	-0.0841
C2/C4	0.1691	0.3476	-0.0209
C3/C4	0.2779	-0.1266	0.0701
(C1+C2)/C4	0.2701	0.1860	-0.0593
Croma	0.1727	-0.1325	0.2970
Hue	0.2451	-0.0023	0.2685
Aw	-0.1717	0.1761	-0.3110
pH	-0.0820	-0.0039	-0.3162
Humedad	-0.0136	0.2814	-0.3138
Firmeza	-0.1606	0.1250	0.2897
Firmeza/Grosor	-0.1553	0.0596	0.1884
Firmeza/Ancho	-0.1773	0.1001	0.3780
Firmeza/Largo	-0.1701	0.1117	0.3140
Glucosa	0.1899	0.1483	-0.0121
Fructosa	0.1861	0.0720	-0.2348
Sacarosa	0.1359	-0.0767	0.1195
Azúcares solubles	0.1874	0.0241	0.0126
Bacterias	0.0191	0.3454	0.1315
Coliformes	-0.0979	-0.0046	-0.1225
Levaduras	0.0505	0.3531	0.1670
Hongos	0.0679	0.3117	0.1415
Valores propios	9.8114	5.1142	3.6516
Proporción variación total (%)	36.3400	18.9400	13.5200
Variación acumulada (%)	36.3400	55.2800	68.8000

*Los valores en negritas representan las variables con mayor impacto en la variación de Componente Principal.

El primer componente (CP1) incluyó variables del aroma asociadas positivamente con CM/C4 (0.3035), CM (0.2988), C1/C4 (0.2868), C3/C4 (0.2779), C1 (0.2772), (C1+C2)/C4 (0.2701). En el segundo componente (CP2) las variables más importantes corresponden a dos microbiológicas, levaduras (0.3531), bacterias (0.3454) y tres aromáticas C2/C4 (0.3476), C2 (0.3198), C4 (-0.3008) esta última a diferencia de las demás asociada negativamente. Mientras que el componente principal tres (CP3) está conformado por las variables de las propiedades

fisicoquímicas asociadas positivamente con firmeza/ancho (0.3780), firmeza/largo (0.3140), y negativamente con pH (-0.3162), humedad (-0.3138). Estas variables son las que más discriminan y tienen peso para separar los grupos de calidad.

Los beneficiados que se realizan en la Región Totonacapan y Huasteca Potosina se conglomeraron en cinco grupos basados en atributos de calidad fisicoquímica, de componentes del aroma y microbiota presente en las vainas beneficiadas (Figura 4.2).

El Grupo 1 (GI) incluyó los beneficiados B4-R4 y R6. Se caracterizó por estar posicionado en el cuadrante negativo lo que indica que tuvo una menor concentración en los compuestos aromáticos CM/C4, CM, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4 que determinan el CP1, de la misma manera tiene baja incidencia de levaduras, C2/C4, bacterias, C2 y C4 colocados en el lado negativo del eje del CP2, sin embargo se ubica en la parte central del eje del CP3 lo que indica que posee valores medios de firmeza/ancho, pH, firmeza/largo y menor porcentaje de humedad.

El Grupo 2 (GII) representado por B2-R2, B3, B5 se ubica del lado derecho del CP1 lo que indica mayor proporción en los compuestos aromáticos CM/C4, CM, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4. En contraste, en el CP2 se ubica en el cuadrante negativo que indica que posee una baja concentración de levaduras, C2/C4, bacterias, C2, C4, de igual manera que posee valores bajos en firmeza/ancho, pH, firmeza/largo y humedad, colocado en el lado negativo del eje del CP3.

El Grupo 3 (GIII) incluyó a R1, R3, R5 con menor concentración en los compuestos aromáticos CM/C4, CM, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4 posicionado en el cuadrante positivo del CP1, de igual manera en el CP2 se encuentra en el eje negativo, que indica concentraciones bajas en levaduras, C2/C4, bacterias, C2, C4, y valores mayores en firmeza/ancho, pH, firmeza/largo y humedad que se distribuyen hacia el eje positivo del CP3.

El Grupo 4 (GIV) representado por B1 se localiza en el eje positivo del CP1 presentando mayor proporción en CM/C4, CM, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4, también se ubica en el cuadrante positivo del CP2, que indica que posee una alta concentración de levaduras, C2/C4, bacterias, C2, C4, y valores mayores en firmeza/ancho, pH, firmeza/largo y humedad que determinan el CP3.

El Grupo 5 (GV) conformado por B6 se ubican en la parte positiva del eje del CP1 lo que indica que posee una concentración mayor de CM/C4, CM, C1/C4, C3/C4, C1, (C1+C2)/C4, así mismo tiene una menor concentración en levaduras, C2/C4, bacterias, C2, C4 que determinan el CP2, pero con valores mayores en firmeza/ancho, pH, firmeza/largo y humedad ubicados en el lado positivo del eje del CP3.

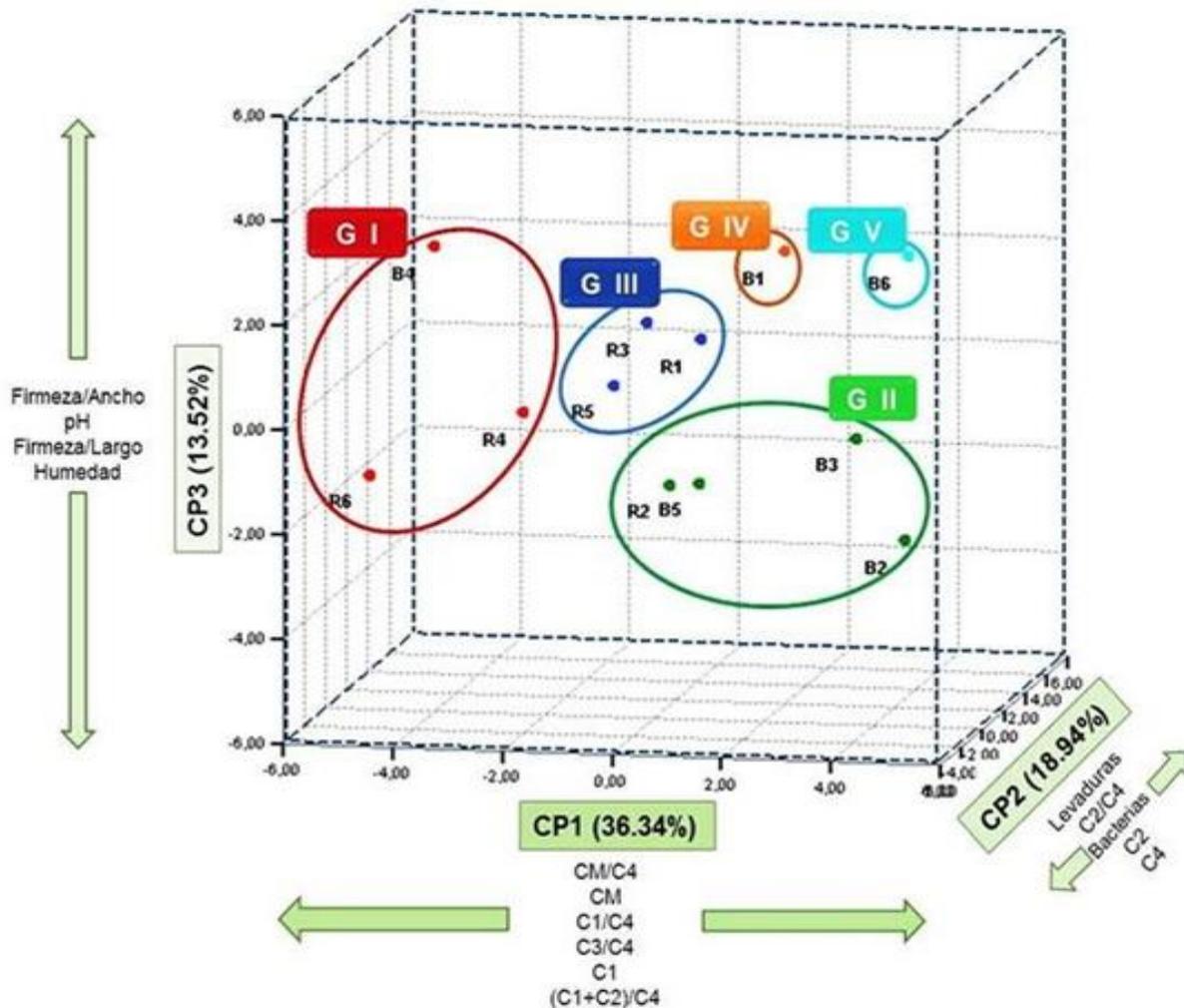


Figura 4.2 Dispersión de los beneficiado de *V. planifolia* J. Q6 (B) y las vainas de referencia (R), basado en el análisis de los primeros tres componentes principales del análisis de 10 variables del aroma, 13 variables fisicoquímicas y 4 microbiológicas

4.2.2 Agrupamiento de la diversidad

La estructura obtenida por el método de agrupamiento jerárquico y la distancia euclidiana, se representó por medio del dendrograma de la Figura 4.3. Se identificaron tres grandes grupos de calidad (A, B y C) de los beneficiados realizados en la Región: Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina en relación a 27 caracteres de calidad evaluados.

A una distancia de 1.1664 unidades euclidianas se diferenció el grupo A (GI, GII y GIII) del Grupo B (GIV) y Grupo C (GV) debido principalmente a que el conglomerado de la parte superior agrupo los beneficiados caracterizados por presentar vainas con menor coloración (Hue), intensidad (croma) así como una baja concentración en los componentes del aroma C1, C2, CM, C1/C4, C2/C4; propiedades fisicoquímicas: azúcares solubles (glucosa, fructosa, sacarosa) y contenido microbiológico en bacterias, levaduras, y hongos, con una concentración media de vainillina (C4); en comparación el grupo B contiene alta concentración de C2, C2/C4, sacarosa, humedad y presenta contaminación de bacterias y levaduras, con menor contenido de vainillina y coliformes. Mientras que el grupo C ubicado en la parte inferior presenta mayor coloración café, alto contenido en C1, C1/C4, C3, C3/C4, CM, y poca humedad, A_w , y por tanto menor proliferación de bacterias, levaduras y hongos, sin presencia de coliformes.

Posteriormente se volvió hacer una jerarquización según la cercanía de caracteres evaluados. Con base en una distancia de 0.8359 en el dendrograma de la Figura 4.3, se muestra la formación de cinco grupos de calidad diferentes:

El Grupo 1 (GI) se conformó por las vainas de *V. planifolia* J. Q6 del beneficiado B4 con su referencia (R4) curadas en el Rancho 20 soles, Papantla Veracruz, también incluyó las vainas de referencia del beneficiado R6 realizado en Tamazunchale, San Luis Potosí.

Correspondientes a los beneficiados en los que se practican el lavado previo al marchitado en agua a punto de ebullición por 10 segundos, en el que se realizan entre 5 y 20 soles/sudores a 50-60 °C y empaquetan las vainas de referencia al alto vacío.

Las características aromáticas permitieron identificar que se trata de vainas con un aroma intenso a vainillina por su alta concentración que va de 18665 a 20985 ppm, con un contenido bajo-medio en los compuestos menores: C1 (88-168 ppm), C2 (419-653 ppm), C3 (489-836

ppm), generando en su aroma una participación baja-media en los compuestos menores en relación a la vainillina del 6%. Con base en Arana (1944), la alta concentración de vainillina puede atribuirse a que durante las etapas iniciales del marchitado y sudado se originó una rápida disminución en la concentración de la glucovainillina debido a que la vainillina al ser hidrolizada produce inversamente un rápido aumento en su concentración por las altas temperaturas utilizadas. En cuanto al color se obtuvieron valores en croma (3.76-5.46) y Hue (216.09-230.00 °) lo que sitúa a la vaina en una posición intermedia en cuanto a color e intensidad lo que hace suponer que se trata de vainas con una coloración café clara opaca.

La actividad de agua oscilo de 0.85 a 0.93, presentando una gran variabilidad en el contenido de humedad de 19.35 hasta 33.87 %, estas diferencias de humedad entre las vainas permite deducir que se trató de vainas muy deshidratadas y húmedas seguramente ocasionado por la heterogeneidad en el número de soles (5-25), por lo que es necesario controlar el número de soles que se les da a las vainas durante la etapa del secado, ya que si se prolongan los soles podría llevar a la pérdida sabor y deteriorar su calidad (Karthik *et al.* 2013). Así mismo presentaron una firmeza de 110.25 y 163.54 g^f, mientras que los azúcares solubles totales fluctuaron entre 13.16 y 13.93%. La baja proporción en los compuestos del aroma y el porcentaje de humedad obtenido concuerda con lo reportado por Arana (1944) quien especifico que una mayor variabilidad en el contenido de humedad afecta los atributos fisicoquímicos pero sobre todo el potencial aromático.

Además es importante tener en cuenta que a pesar de que estos beneficiados realizan la etapa del lavado antes de marchitar las vainas para tratar de disminuir la contaminación microbiana del fruto, en los resultados se observó carga microbiana de los microorganismos indicadores: bacterias mesófilas aerobias (BMA) oscilaron de 5000 a 13266.67 UFC g⁻¹, la incidencia de levaduras fluctuó entre 533.33 y 3633.33 UFC g⁻¹, mientras que hongos y coliformes variaron de (0 a 4700 UFC g⁻¹) y (0 a 850 UFC g⁻¹) respectivamente. En las vainas de los beneficiados donde no se detectó desarrollo microbiano como en R4, R6 para hongos y B4 para coliformes, podría ser debido a que el alto contenido de vainillina impacto sobre estos microorganismos inhibiendo su desarrollo (Fitzgerald *et al.* 2004). Mientras que las vainas que mostraron carga microbiana puede relacionarse directamente con las condiciones en la etapa del secado/sudado debido a que autores como Odoux y Grisoni (2011) reportan que temperaturas entre 45 y 60°C crean un ambiente favorable para el desarrollo de una gran variedad de microorganismos. Así

mismo existen reportes que explican que pueden producirse re contaminaciones en etapas posteriores al marchitado particularmente por enterobacterias incluyendo géneros como *E. coli*, *Klebsiella*, *Paracolobactrum*, *Erwinia*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella* y *Shigella* entre otras (Frazier 1976).

El Grupo 2 (GII) integro las vainas de B2-R2 del Ejido Primero de Mayo, del beneficiado B3 procesado en el Rancho Santa Beatriz de Papantla Veracruz y del beneficiado B5 de Puntilla Aldama, San Rafael Veracruz, procesadas por los beneficiadores con mayor experiencia, los cuales realizan el marchitado del fruto en agua caliente a punto de ebullición durante un tiempo que puede ir de 2 a 14 segundos, sudándolas a 45-55 °C con aproximadamente 8-25 soles, revisando constantemente hasta el empaquetado en bolsas de plástico y papel encerado.

Las vainas beneficiadas a través de estos procesos destacaron por tener una concentración de media a alta en los cuatro compuestos mayoritarios del aroma: C1 (338-608 ppm), C2 (718-904 ppm), C3 (880-1177 ppm) y C4 (16238-17935 ppm), lo que indico una participación alta de los compuestos minoritarios en relación a la vainillina de 14 %, desarrollando un aroma fino, suave y delicado a vainilla. Arana (1944) encontró que una vez formada la vainillina a partir de los glucósidos puede ser oxidada por la formación de compuestos quinona haciendo una estructura más complicada y, presumiblemente un aroma diferencial. Esto podría explicar la poca presencia de la vainillina en el aroma de la vainilla y el hecho de que la mejor calidad en el aroma no necesariamente está acompañada de un alto contenido de vainillina (Balls y Arana 1941).

Las vainas tuvieron un color café uniforme dado que croma oscilo de 3.95 a 5.3, mientras que Hue estuvo dentro del rango 223.13 y 231.38 °, además de una actividad de agua de 0.87 a 0.90, por lo tanto se trata de vainas muy húmedas debido a que presentaron un porcentaje de humedad que fluctuó de 29.44 a 35.71 %, con poca firmeza (58.82-114.73 g^f) de manera que son más flexibles. Esto comprueba la explicación de Arana (1944) acerca de que un contenido de humedad entre 31 y 34 % desarrolla un aroma suave y con alto grado de flexibilidad. Mientras que los azúcares solubles permanecieron en un intervalo de 12.23 a 28.41 %.

Es sabido por León (2005) que las vainas arriba de 1.7 % de vainillina y con una humedad del 32% (valor cercano a lo obtenido), conservan un aroma suave y delicado, con un color

uniforme y son flexibles fácilmente manipulables. Por otro lado Valle (2003) encontró que a una mayor retención de humedad logra una menor firmeza, así como menor contaminación microbiana. Esto se corroboró tras observar poca contaminación en las vainas de estos beneficiados debido a que presentaron una proliferación de bacterias que osciló entre 6700 y 35937.33 UFC g⁻¹, coliformes fue de 0 hasta 2033.33 UFC g⁻¹ (esta variación tan distante pudo deberse a que solo las vainas de referencia del beneficio R2 presentaron contaminación de coliformes), los valores de levaduras estuvieron entre 4550 y 15850 UFC g⁻¹, mientras que hongos varió de 0 hasta 16000 UFC g⁻¹ (las vainas de referencia R2 fueron las únicas que no proliferaron hongos). Arana (1944) encontró que al secar y sudar a 45 °C se obtienen vainas más uniformes, desarrollando una calidad superior y con menor contaminación de hongos. Esto sugiere que la etapa de secado y sudado al ser considerada por varios autores como la etapa más crítica del proceso de beneficiado, bajo las condiciones empleadas en estos beneficiados crearon las mejores condiciones para desencadenar la actividad enzimática que produce el aroma, sabor y color en las vainas y por consiguiente se produjo una calidad homogénea (Ranadive 1994).

Otra etapa que pudo haber influido para obtener vainas con poca contaminación fue la adición de la subetapa de revisión/observación realizada después del sudado permitiéndoles a los maestros beneficiadores detectar la incidencia de microorganismos y con base en su experiencia detener y evitar su crecimiento. Por ejemplo el beneficiador con una experiencia de 60 años, que realizó el beneficio B2-R2, durante la etapa del sudado recuperó aproximadamente 20 litros de agua a la que llama “*jarabe*” por el impacto curativo para *sanar* las vainas contaminadas por hongos, durante el reviso si observa que las vainas se están *hongueando* las limpia con el *jarabe* y no vuelve a crecer el hongo. Con esto se observa que en estos beneficiados evitar la formación de hongos y otros microorganismos patógenos es una gran prioridad, dado que la contaminación de microorganismos puede destruir la intensa y ardua labor que se desarrollan por meses los maestros beneficiadores durante el proceso artesanal. Lo que indica que por el amplio conocimiento que poseen los maestros beneficiadores en los aspectos relacionados al beneficiado de la vainilla, al parecer las vainas *V. planifolia* J. Q6 obtenidas a través de estos beneficios fueron las que presentaron el mejor perfil de calidad, debido a que combinaron uniformemente sus atributos fisicoquímicos, el suave, fino y delicado aroma, con una sanidad estable.

El Grupo 3 (GIII) comprendió las vainas de referencia R3, R5 (del grupo GII) y R1 realizado en la localidad del chote UAPPIT donde marchitan el fruto en agua hirviendo durante 5-14 segundos, haciendo sudar las vainas de 45 °C con 25 soles y empaquetando al vacío. Se caracterizó por tener valores medios en los compuestos del aroma: C1 (218-343 ppm), C2 (618-905 ppm), C3 (618-905 ppm), C4 (15295-21944 ppm), con una participación media-alta (11 %) en los compuestos minoritarios en relación con la vainillina, que genera un aroma suave a vainillina. Se observa que las vainas referencia de estos beneficiados sobresalieron de las demás por tener la concentración más alta de vainillina, lo cual se relaciona con el alto contenido de azúcares (17.42-27.23 %) que al ser una fuente de carbono desempeñaron un papel muy importante en la formación de la vainillina (Havkin-Frenkel y Belanger 2011).

Las características fisicoquímicas permitieron identificar que se trató de vainas con una coloración café debido que croma y Hue presentaron altos valores (4.74-5.14) y (227.55-230.33 °) respetivamente. De igual forma al registrar una mayor actividad de agua entre 0.87 y 0.92, también se obtuvo un alto porcentaje de humedad del 34.27 y 36.05 %, mostrando una firmeza de 148.77 y 208.55 g^f.

De acuerdo con la humedad registrada y tomando como referencia a Havkin-Frenkel y Belanger (2011) las vainas de estos beneficiados al tener alto porcentaje de humedad fueron más aromáticas y más atractivas por sus características fisicoquímicas. Se han realizado estudios para ver la relación entre el contenido de humedad y la calidad final de la vainilla demostrando que un alto porcentaje de humedad influye directamente en su aroma y apariencia, de manera que un porcentaje relativamente alto de humedad es deseable y produce una mayor rentabilidad (Arana y Kevorkian 1944).

Sin embargo, a pesar de no presentar formación de hongos, las vainas de este grupo presentaron mayor contaminación de bacterias en un rango de 17150 a 58266.67 UFC g⁻¹, es notorio también la incidencia de coliformes oscilando de 215 a 2350 UFC g⁻¹, y de levaduras fluctuando entre 433.33 y 47500 UFC g⁻¹. Lo que sugiere que la nula proliferación de hongos se debió al poder antimicrobiano de la vainillina como ha sido apuntado en algunos trabajos. Odoux y Grisoni (2011) indicaron que un alto contenido de vainillina, inhibe el desarrollo de hongos en vainillas curadas, así como la alta formación de bacterias se pudo deber a la alta actividad de agua que presentaron las vainas, ya que una actividad de agua de 0.91 favorece el

crecimiento de bacterias. Mientras que la formación de coliformes puede explicarse como consecuencia de haber obtenido un alto contenido de azúcares permitiendo la nutrición adecuada de dicho microorganismo (La Fuente 2012).

Por las características encontradas en las vainas de referencia de estos beneficiados, se distingue que debido a la poca permeabilidad al aire que se logró mediante el empaquetado al alto vacío, conservo sus atributos fisicoquímicos y tuvo un mayor desarrollo en los aromas volátiles alcanzando incluso el mayor porcentaje de vainillina. Sin embargo, a pesar de haber reducido el intercambio de oxígeno no detuvo la proliferación de microorganismos (principalmente de bacterias anaeróbicas), lo que hace suponer que el envasado al vacío influyó en la contaminación microbiana. Havkin-Frenkel (2011) reportó que este tipo de empaque crea una atmósfera anaerobia generando las condiciones óptimas para el desarrollo de microorganismos anaerobios (que no necesitan del oxígeno para sobrevivir) siendo responsables de la contaminación, de la desaparición del sabor y formación de sabores indeseables en las vainas (Hernández y Velásquez 2009).

Por lo tanto con los resultados obtenidos puede interpretarse que a través de estos beneficiados se produce un perfil de calidad con alto contenido de vainillina, atributos fisicoquímicos deseables, pero una alta contaminación de bacterias, coliformes y levaduras que demeritan su calidad, ya que una vaina con alta carga microbiana es muy difícil que pueda ser vendida como calidad Gourmet.

El Grupo 4 (GIV) representado por las vainas de B1 realizado en la casa beneficiadora ubicada en la localidad del chote UAPPIT (anteriormente descrito en el grupo GIII). Permitió identificar a través de su contenido aromático que se trató de vainas que desprenden un aroma suave a vainillina, debido a que presentaron concentraciones medias en C1 (180 ppm), C2 (1027 ppm), C3 (723 ppm) con una concentración media de vainillina C4 (15809 ppm), que generan en su aroma una alta participación de los compuestos minoritarios (12 %) en relación con la vainillina. El bajo contenido de vainillina puede atribuirse al número de soleados a las que fueron sometidas (25 soles) provocando que se volatilizara este compuesto fenólico durante la etapa del secado, ya que por tratarse de vainas *V. planifolia* J. del quimiotipo (Q6) con características previamente conocidas por Salazar *et al.* (2011), era de esperarse una concentración de vainillina aproximadamente de 17599 ppm que le dan al aroma notas

intensas a vainillina. Havkin-Frenkel *et al.* (2012) consideran que la realización de manera adecuada en la etapa de deshidratación por asoleo (secado) es esencial para la preservación de la calidad de la vaina beneficiada, un secado prolongado ocasiona deterioro de la vainillina como se vio reflejando en este caso.

Con base en sus atributos fisicoquímicos se identificó que se trató de una vaina café clara debido a que registro valores bajos-medios en Hue de 232.455° y croma 5.23, con una actividad de agua de 0.89, y alto contenido de humedad (36.37 %), generando así una firmeza de 136.53 g^f, mientras que los azúcares solubles registraron un porcentaje del 19.50 %. Arana (1944) recalco que un alto contenido de humedad tiende a generar un aroma fermentado indeseable careciendo de suavidad en la vaina, por lo que es recomendable tomar en cuenta que lo conveniente es que no sobrepase 38% de humedad que establece la Norma Oficial Mexicana (NOM-182-SCFI-2011), ya que un exceso de humedad además de desarrollar sabores indeseables podría favorecer la proliferación de enfermedades microbianas, lo cual es inadecuado porque perjudica directamente al producto final (Thomas y Bindumol 2005; Sudharshan *et al.* 2006).

De tal forma que al obtener un porcentaje de humedad muy cercano al límite que establece la norma, se presenta mayor contaminación debido a la alta proliferación de bacterias (515000 UFC g⁻¹), levaduras (218000 UFC g⁻¹) y hongos (150000 UFC g⁻¹), y a su vez nula proliferación de coliformes. Estos resultados son de esperarse debido a que Kelso *et al.* (2013) mencionaron que a menor concentración de vainillina, existe mayor riesgo de que la vaina beneficiada presente problemas de hongos por ser vainas muy húmedas (factor óptimo para el desarrollo de microorganismos). Por otro lado Brock (1978) señaló que levaduras y hongos tienen mayor capacidad para crecer en medios con actividad de agua baja (0.88) que se encuentra dentro del rango obtenido en este estudio, la cual promueve el crecimiento de *Penicillium* y *Aspergillus*.

El Grupo 5 (GV) incluyo las vainas del B6 curadas en Tamazunchale, San Luis Potosí (lavado, marchitadas en agua a punto de ebullición por 10 segundos, realizando de 5 a 20 soles a 50 °C). Se diferenciaron de las demás vainas por presentar mayor concentración en los siguientes compuestos aromáticos: C1 (696 ppm), C2 (732 ppm), C3 (1501 ppm), C4 (20071 ppm), por lo tanto en su aroma hubo una alta participación (15 %) de los compuestos

minoritarios en relación con la vainillina. Desprendiendo un aroma intenso a vainillina criterio que está altamente relacionado con *p*-hidroxibenzaldehído y vainillina, por presentarse en altas concentraciones (Hoffman *et al.* 2005). Así mismo se trató de vainas con mayor coloración en croma (10.67), y saturación en Hue (240.08°), y aunque también son factores importantes dentro del conjunto de atributos deseables en las vainas beneficiadas, la coloración tiende a veces a modificar subjetivamente otras características fisicoquímicas (Melgar 2004), como las siguientes características que presentaron: vainas con mayor deshidratación debido a que tuvieron la menor actividad de agua (0.76), similar a lo citado por Barrera-Ponce *et al.* (2006), con un valor de 0.77, así mismo el porcentaje de humedad fue bajo (20.45 %). Arana (1944) observó que vainas con mayor deshidratación presentaron un color oscuro y alto contenido aromático pero tal deshidratación afecta considerablemente su apariencia física.

Esto se confirmó con la firmeza de las vainas (112.63 g^f), que tuvo un valor alto. También se apreció que puede haber una relación directa entre el alto porcentaje de azúcares solubles (22.26 %) con la intensidad aromática que fue evidente en estas vainas.

Zandamela (2008) menciona que una humedad y actividad de agua bajas, así como altas concentraciones de azúcares generan condiciones poco favorables para el desarrollo microbiano, aunque la supervivencia en ella es posible. Es importante destacar que no se mostró proliferación de coliformes lo cual podría justificarse por la baja actividad de agua de las vainas que no permitieron el desarrollo de coliformes. Sin embargo, se detectó que los microorganismos predominantes fueron levaduras (17550 UFC g⁻¹), seguidos de bacterias mesófilas aerobias (17250 UFC g⁻¹) y finalmente hongos (16250 UFC g⁻¹) que estuvieron presentes en menor cantidad. Lo que puede ser una indicación de que la formación de estos microorganismos pudo deberse a la manipulación (después del lavado del fruto), debido a que estas vainas registraron un valor mínimo de actividad de agua inferior al resto. Pero, a pesar de mostrar presencia de microorganismos si se comparan con los valores obtenidos en los beneficiados del grupo GIII y GIV son relativamente bajos por tanto, estos resultados indican que la etapa del secado y sudado a 50 °C impactó considerablemente en la reducción de humedad y por consiguiente en su flexibilidad (Havkin-Frenkel 1997), así mismo logro desencadenar la actividad enzimática para producir un buen aroma y un color marrón chocolate. Autores como Bolas y Arana (1941) consideran que un buen secado conserva la calidad microbiológica y química de la vaina ya que a través de este proceso se disminuye

considerablemente el contenido y la actividad del agua.

Por lo anterior, puede decirse que las vainas del quimiotipo Q6 del beneficio B6 tuvieron buen perfil aromático, con baja carga microbiana, pero sus atributos fisicoquímicos le restaron calidad.

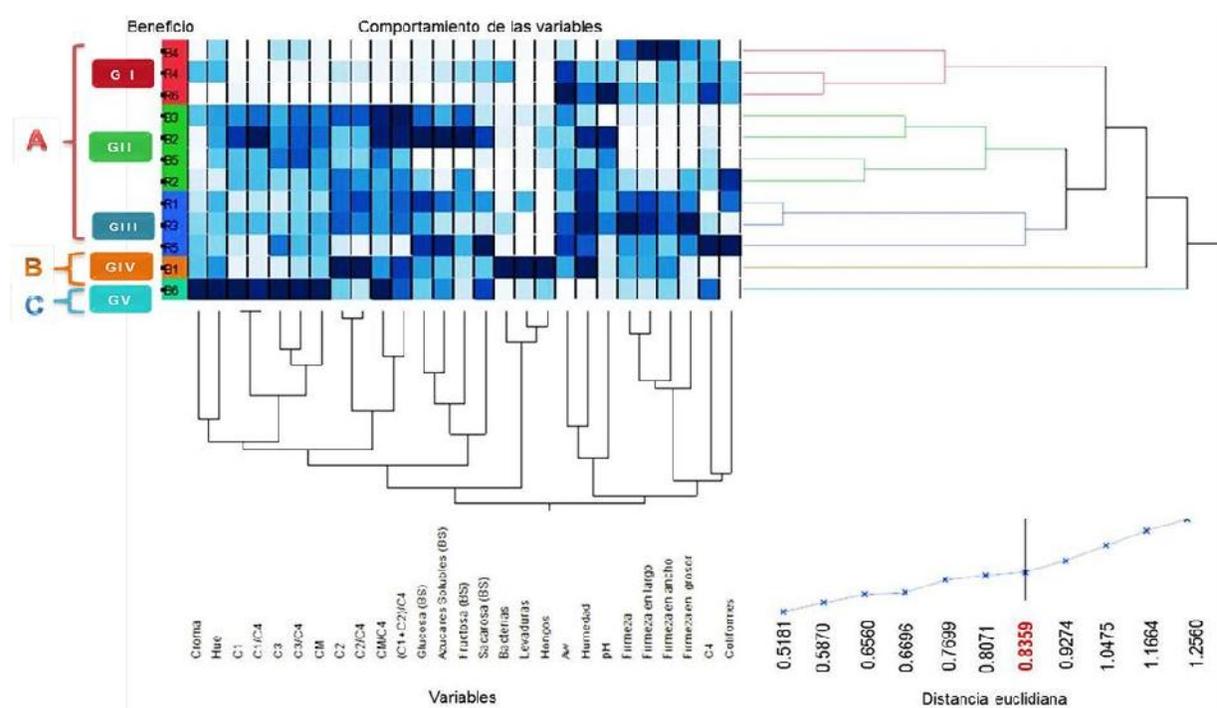


Figura 4.3 Dendrograma de los beneficiados de *V. planifolia* J. Q6 (B) y vainas de referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina, con base en 10 variables del aroma, 13 variables fisicoquímicas, 4 microbiológicas y agrupamiento de similitud

4.3 LITERATURA CITADA

Arana FE (1944) Vanilla curing and its chemistry. Federal Experiment Station of the US Department of Agriculture, Mayaguez, Puerto Rico. Bulletin No 42. 17p

Balls AK, Arana FE (1941) The Curing of Vanilla. Industrial and Engineering Chemistry. 33: 1073-1075

Balls AK, Kevorkian AG, Arana FE (1942) Process for curing vanilla beans. United States Patent No. 2, 274,120. 535-802

Barrera-Ponce C, Robles-Olvera VJ, García-Alvarado MA, Rodríguez-Jiménez GC (2006), Efecto de las variables de almacenamiento sobre la calidad final de la vainilla beneficiada (*Vanilla planifolia* Andrews). Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz. IV Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica y XV Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. Michoacán México.

Brock TD (1978) Biología de los microorganismos. Editorial Prentice-Hall. 2ª Ed. España. 774p.

Fitzgerald DJ, Stratford M, Gasson MJ, Ueckert J, Bos A, Narbad A (2004) Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. Journal of Applied Microbiology. 97: 104-113

Frazier WC (1976) Microbiología de alimentos. Acribia. España. 512 p

Havkin-Frenkel D, Belanger C (2007) Application of metabolic engineering to vanillin biosynthetic pathways in *Vanilla Planifolia*. En: Verpoorte R (ed). Application of Plant Metabolic. Engineering. Springer. 175-196

Havkin-Frenkel D, Belanger FC (2011) Handbook of Vanilla Science and Technology, First Edition. 22-141

Hernández TX, Velásquez RAB (2009) Vainilla Orgánica en Vaina Seca a San Antonio, Texas, E.U.A. Tesis de licenciatura. Especialización en Administración del Comercio Xalapa, Enríquez, Veracruz Exterior. 62p

Hoffman P, Harmon A, Ford P, Zapf M, Weber A, King S, Grypa R, Philander E, Gonzalez L, Lentz K (2005) Analytical approaches to vanilla quality and authentication. En: Havkin-Frenkel D (ed). Vanilla. 41-49.

Karthik KRB, Balamohan TN (2013) Factors affecting the quality of Vanilla. Journal of Agriculture and Allied Sciences 2: 37-41

Kelso BHA, Reyes LD, Cruz PMI, Villegas RI, Rodríguez MB, Ramírez FP, Mamadou BK, Magaña HF, Huerta GI (2013) Beneficiado semi-mecanizado de vainilla. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 22: 38-40

La Fuente DMA (2012) Implementación de Programas Preliminares: Buenas Prácticas de Manufactura y Operaciones de Saneamiento en una Planta Elaboradora de Leche de Soya Saborizada Instalada en el Sur Oeste de Guayaquil. Tesis licenciatura. Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Guayaquil Ecuador. 45 p

- León ADM (2005) Estudio de pre-factibilidad para la producción e industrialización de vainilla (*V. planifolia* Andrews) en la zona de Plan Piloto (Santo domingo de los Colorados) Pichincha con fines de explotación. Tesis de Licenciatura. Universidad San Francisco de Quito, Quito Ecuador. 77 p
- López LD (2013) Calidad microbiológica y organoléptica de Vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks) beneficiada artesanalmente. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados *campus* Montecillo. México. 22-25 p
- Melgar (2004) Desarrollo de una escala colorimétrica digital de triple estímulo para grano de frijol rojo centroamericano. Tesis de licenciatura. Zamorano Honduras. 22 p
- NMx-FF-074-1996 (1996) Norma Oficial Mexicana, Productos alimenticios no industrializados para consumo humano. Especies y condimentos. Entera y en estado seco. Vainilla (*Vanilla fragans salisbury ames* o *Vanilla Planifolia Andrews*). Especificaciones. 5-10 p
- Ranadive AS (1994) Vanilla cultivation, curing, chemistry, technology and commercial products. En Charalambous G (ed). Developments in food science. Elsevier Science Publishers. The Netherlands. 34: 517–577
- Salazar-Rojas VM, Herrera-Cabrera BE, Delgado-Alvarado A, Soto-Hernández M, Castillo-González F, 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
- Sarter S (2011) Microbial Safety of Cured Vanilla Bean. En: Odoux E, Grisoni M (eds). Vanilla. (Medicinal and aromatic Plants plants-industrial profiles). CRC Press. Boca Raton Florida. 229-235
- Sudharshan MR, Bhatt SS, Rao YS, Mathew M, Sivadasan CR, Ramesh N (2006) Vanilla En: Ravindran PN (ed.). Advances in spices research-agribios. India. 533-569
- Thomas J, Bindumol GP (2005) Microbial contamination in cured Vanilla beans. Spice India 2: 6-8
- Zandamela ME (2008) Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique. Universidad autónoma de Barcelona. Tesis de doctorado. España. 29 p

CAPITULO V

CONCLUSIONES GENERALES

Con base en la hipótesis del trabajo se concluye que en las vainas beneficiadas de vainilla existe un impacto diferente de los procesos de beneficiado tradicional realizados en la región del Totonacapan y en la Huasteca Potosina, en las características fisicoquímicas, componentes mayoritarios del aroma y sanidad, independientemente de que las vainas de vainilla sean del mismo clon, mismo estado de madurez y sitio de producción.

Se describieron seis procesos de beneficiado tradicional mexicano, cinco de la Región del Totonacapan Puebla-Veracruz y uno de la Huasteca Potosina, en los que se identificaron siete etapas generales y diversas actividades específicas, dentro de las cuales el lavado y las condiciones del marchitado impactan de manera diferencial en los atributos fisicoquímicos, componentes del aroma y en los microorganismos presentes en las vainas de vainilla beneficiada.

Los componentes del aroma de las vainas beneficiadas del Q6 caracterizado por sus notas intensas a vainillina se vio notablemente modificado por el efecto del proceso de beneficiado, ya que las vainas en general sometidas a los diferentes beneficiados resultaron con un mayor contenido en los compuestos menores del aroma así como en vainillina.

La concentración de los principales compuestos aromáticos (vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzóico), características fisicoquímicas y microorganismos indicadores de calidad sanitaria presentes en las vainas de los diferentes beneficios, generaron cinco grupos, cerca de uno por cada beneficio, que refleja el impacto que tienen las diferentes actividades específicas que se realizan a criterio de los beneficiadores.

Los beneficiados que desarrollaron una calidad más completa y uniforme en cuanto al aroma, propiedades fisicoquímicas y además con menor carga microbiana, fueron los beneficiados B2-R2, B3 y B5, correspondientes al Grupo 2 (GII), donde realizan el marchitado del fruto en agua a punto de ebullición, el sudado de las vainas a 45-55 °C de 8 a 25 soles y el empaquetado con bolsas de plástico y papel encerado y al vacío.

Las vainas del Grupo 1 (GI) obtenidas de los beneficiados B4-R4 y B6 sometidas a un tratamiento de lavado y desinfección previo al marchitado del fruto presentaron baja contaminación microbiana, características fisicoquímicas adecuadas y alto contenido de vainillina con baja concentración en los compuestos menores del aroma.

La carga de microorganismos identificada en los beneficiados impacto en la calidad final de las vainas. Con lo cual se evidenció la falta de un sistema de control efectivo de calidad microbiológica durante el proceso y un debido monitoreo de las temperaturas, tiempos y ciclos durante la etapa del marchitado y sudado/secado para asegurar así la calidad del producto final.

Las vainas de referencia (R) permitieron apreciar el impacto del beneficiado de cada beneficio evaluado, en comparación con las vainas del Q6, mostrando en dos beneficios similitudes en la expresión de los componentes del aroma en relación con el porcentaje de componentes menores respecto a vainillina, y en cuatro beneficios el porcentaje fue diferente entre ambos tratamientos.

Este estudio confirma que la calidad de la vainilla beneficiada no depende solamente del contenido de vainillina y humedad también es importante considerar los demás compuestos minoritarios que integran el aroma, así como sus atributos fisicoquímicos y sanidad de las vainas, lo cual está determinado por el proceso de beneficiado que se realice.

CAPITULO VI

RECOMENDACIONES

En posteriores investigaciones se recomienda realizar un estudio adicional, para poder correlacionar el efecto puntual que tiene el lavado de las vainas verdes (utilizando agua con y sin cloro, antes y después del despezonado) en el desarrollo de compuestos fenólicos, debido a que el lavado no genere condiciones favorables en la formación de los compuestos minoritarios (ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vanílico, y *p*-hidroxibenzaldehído), para confirmar que la reducida producción de estos aromáticos se debe al tratamiento de lavado al que son sometidas, lo que le servirá al beneficiador para que tome decisiones y mejore la calidad del aroma en su vainilla beneficiada con un mayor contenido de compuestos fenólicos.

Se recomienda tener un mejor control del tiempo y la temperatura durante el matado de las vainas.

La inocuidad durante el proceso de beneficiado es donde se deben centrar los mayores esfuerzos por parte del maestro beneficiador, ya que si se realiza de manera adecuada, se asegura la conservación del contenido aromático y los atributos fisicoquímicos; por el contrario, si se realiza inadecuadamente, demerita la calidad de la vainilla beneficiada.

La humedad que queda en las vainas beneficiadas al final de proceso de beneficiado, impacta en la apariencia física, el aroma y promueve la formación de microorganismos.

Se recomienda tomar en cuenta además de los componentes del aroma de la vainilla, los atributos fisicoquímicos y la sanidad de las vainas en los procesos de beneficiado, lo cual dará un mejor perfil de la calidad de la vainilla mexicana y con ello posicionarla en el mercado internacional de los aromatizantes y de la alimentación.

ANEXOS

Anexo 2.1 A

Cuestionario aplicado a beneficiados de vainilla de la región: Totonacapan y Huasteca Potosina

GUIA DE ENTREVISTA: EFECTO DEL PROCESO DE BENEFICIADO SOBRE LA CALIDAD DE VAINILLA

I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN

Fecha:

Localidad/colonia:

Municipio:

Nombre de la empresa de beneficiado:

Nombre del entrevistado:

Edad:

Sexo:

II. EXPERIENCIA PERSONAL

¿Por qué es importante la vainilla en la región del Totonacapan?

¿Por qué es importante la vainilla para Ud.?

¿Qué es el beneficiado de vainilla?

¿Cómo aprendió a beneficiar la vainilla?

¿Cuántos años lleva como beneficiador?

¿Qué actividades tuvo que realizar para ser Maestro beneficiador?

¿Hay alguien que esté entrenando con usted para que continúe como beneficiador?

¿Por qué es importante el beneficiado para las vainas verdes de vainilla?

¿Cuál es el mejor sistema de beneficiado para obtener las vainas de mejor calidad?

¿Qué tipo de beneficiado practica Ud.?

¿Cómo mata su fruto?

¿Qué volumen puede beneficiar? Por ciclo, por jornada, por asoleada.

¿El manejar mayor volumen por beneficiado afecta la calidad del producto?

¿Qué % de vaina verde es convertida a vainilla de calidad para el mercado?

¿Cuál es el aroma característico de la vaina beneficiada?

¿Cómo se da cuenta de que la vainilla ha sido beneficiada correctamente?

Detallar cada uno de los adjetivos (criterios que mencione el entrevistado)

III. MATERIA PRIMA

¿Qué características deben tener las vainas para poder recibirlas para beneficiarlas?

Detallar las características que considere el entrevistado

Considerar de ser posible preguntar sobre:

Origen de las vainas, altura del cultivo, sistema de producción, variedad,

Características morfológicas, organolépticas (color, olor, textura, turgencia, etc...)

¿Cómo saben que están maduras?

¿Cuál es la madurez ideal (meses) que debe tener la vaina para tener un beneficiado adecuado?

¿Qué hacen con las vainas que aún no están maduras?

Una vez acopiadas las vainas verdes ¿Cómo las almacena?

¿Y qué tiempo pueden estar ahí?

IV. ETAPAS DEL BENEFICIADO

¿Cuántos pasos hace en su beneficiado?

Enlistar todos los pasos. Antes de proseguir, anotar todos los pasos del beneficiado

Describir brevemente en que consiste cada paso

PASO 1: ¿Con que paso inicia?

Sugerencia: Despezonado

¿En qué consiste el paso?

¿Cómo lo hace?

¿Qué equipo o herramientas utiliza?

¿Con que fin o para qué lo hace?

¿Qué características deben tener las vainas para saber que “el paso 1” está bien realizado? ¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?

¿Cómo los resuelve?

¿Qué paso sigue...?

PASO 2:

Sugerencia: Primera clasificación (al momento del despezonado)

¿En qué consiste el paso?

¿Cómo lo hace?

¿Con que fin o para qué lo hace?

¿Qué equipo o herramientas utiliza?

¿Cómo se sabe que la primera clasificación se realizó de manera adecuada? ¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?

¿Cómo los resuelve?

¿Qué paso sigue...?

PASO 3:

Sugerencia: Encajonado

¿En qué consiste el paso?

¿Cómo lo hace?

¿Con que fin o para qué lo hace?

¿Qué equipo o herramientas utiliza?

¿Qué características deben tener las vainas para saber que “el paso 3” se realizó bien?

- ¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?
- ¿Cómo los resuelve?
- ¿Qué paso sigue...?

PASO 4:

Sugerencia: Marchitado de fruto

- ¿En qué consiste el paso?
- ¿Cómo lo hace?
- ¿Qué método de matado utiliza?
- ¿En qué consiste este método?
- ¿Qué temperatura utiliza?
- ¿Cómo mide la temperatura?
- ¿Cómo controla la temperatura?
- ¿Qué tiempos o ciclos utiliza?
- ¿Qué volumen se puede trabajar con este método?
- ¿Con que fin o para qué lo hace?
- ¿Qué características deben tener las vainas para saber que “el marchitado” está bien realizado?
- ¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?
- ¿Cómo los resuelve?
- ¿Qué paso sigue...?

PASO 5:

Sugerencia: deshidratación/asoleado/secado y sudado

- ¿En qué consiste el paso?
- ¿Cómo lo hace?
- ¿Qué actividades hace?
- ¿Cuánto tiempo deben de asolearse las vainas?
- ¿Este tiempo de sol debe ser en un día, porque?
- ¿Qué temperatura o tiempo requieren las vainas para considerar que esta realizado el sol?
- ¿Cómo mide la temperatura?
- ¿Cómo controla la temperatura?
- ¿Cuántos soles requieren las vainas?
- ¿Cómo sabe que es suficiente el asoleado?
- ¿Cuánto tiempo deben de sudarse las vainas?
- ¿Qué temperatura o tiempo requieren las vainas para considerar que está realizado el sudado?
- ¿Cómo mide la temperatura?
- ¿Cómo controla la temperatura?
- ¿Cuántos sudados requieren las vainas?
- ¿Qué volumen se puede trabajar en este paso?
- ¿Con que fin o para qué lo hace?
- ¿Qué características deben tener las vainas para saber que “secado y sudado” se realizó de manera adecuada?
- ¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?
- ¿Cómo afecta el clima a este paso?
- ¿Se presentan problemas con hongos en esta etapa?
- ¿Se presentan problemas de mal olor?

¿Se presentan problemas de mal color?
¿Cómo los resuelve?
¿Qué paso sigue...?

PASO 6:

Sugerencia: Enfriamiento

¿En qué consiste el paso?
¿Cómo lo hace?
¿Cuánto tiempo tarda el proceso?
¿Con que fin o para qué lo hace?
¿Qué equipo o herramientas utiliza?
¿Qué características deben tener las vainas para saber que “el enfriamiento” se realizó bien?
¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?
¿Cómo los resuelve?
¿Qué paso sigue...?

PASO 7:

Sugerencia: Depósito

¿En qué consiste el paso?
¿Cómo lo hace?
¿Dónde se deposita?
¿Cómo se deposita?
¿Cuánto tiempo debe pasar en el depósito?
¿De qué material es el depósito, porque de ese material?
¿Con que fin o para qué lo hace?
¿Qué características deben tener las vainas para saber que se depositaron de manera adecuada?
¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?
¿Cómo los resuelve?
¿Qué paso sigue...?

PASO 8:

Sugerencia: Acondicionamiento/empaque

¿En qué consiste el paso?
¿Cómo lo hace?
¿Cuál es la manera de acondicionar?
¿Qué tipo de empaque utiliza?
¿Cómo se empaca?
¿Qué equipo, materiales o herramientas utiliza en esta etapa?
¿Cuánto tiempo debe pasar en acondicionamiento?
¿Cuándo están listas las vainas para ser empacadas?
¿Con que fin o para qué lo hace?
¿Qué características deben tener las vainas para saber que “el acondicionamiento” está bien realizado?
¿Cuáles son los problemas más comunes en esta etapa?

¿Cómo los resuelve?

¿Qué paso sigue...?

IV. PRODUCTO FINAL

¿Considera que hay otros aspectos que afectan la calidad de las vainas beneficiadas?

Detallar los aspectos mencionados

¿Qué características de la vainilla ofrece en el mercado o le solicita su comprador?

Detallar las respuestas anteriores

¿Cuáles son los tipos de calidad de vainilla que se pueden obtener en el beneficiado?

Detallar las respuestas anteriores (detallar las características de cada grado de calidad)

¿Cuál de esas calidades tiene mayor demanda y en donde le demandan cada calidad?

Que características le gusta que tengan sus vainas beneficiadas, porque?

ANEXO 2.2 B



Consejo estatal de productores Vainilleros veracruzanos, Papantla, Veracruz



Ejido 1º de mayo, Papantla, Veracruz



Santa Beatriz, Papantla, Veracruz



Sociedad de Productores Rural (SPR) (Rancho 20 soles), Papantla, Veracruz



Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz



Tlixoxitl, Tamazunchale, San Luis Potosí

Figura 2.2.1 B Aplicación de entrevistas a beneficiadores y a representantes de las casas beneficiadoras de las regiones del Totonacapan y la Huasteca Potosina.

BENEFICIADO 1 (B1): CONSEJO ESTATAL DE PRODUCTORES VAINILLEROS VERACRUZANOS

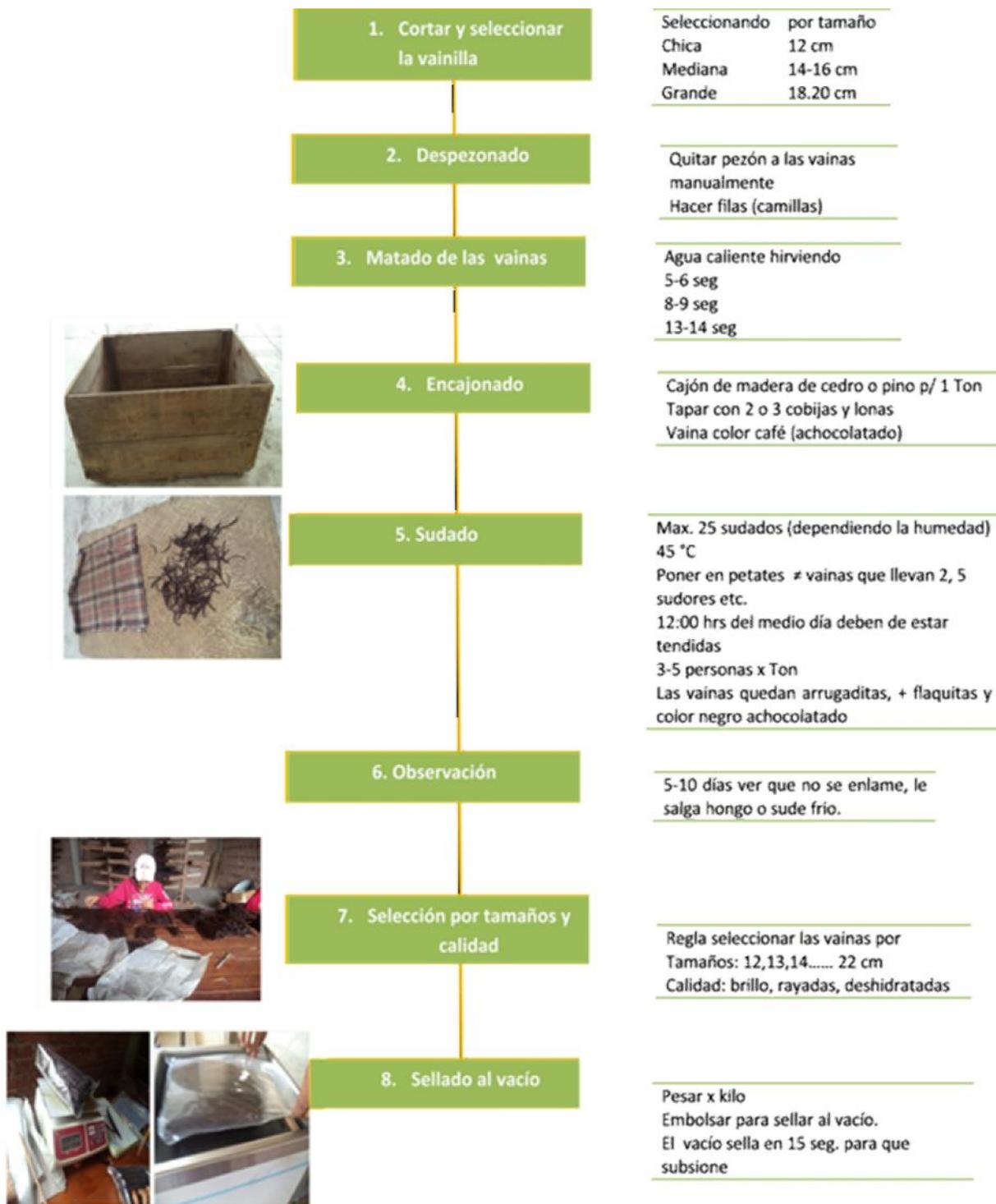


Figura 2.2.2 B Esquema general del proceso de beneficiado que elabora el presidente del Consejo estatal de productores Vainilleros Veracruzanos (B1).

BENEFICIADO 2 (B2): EJIDO PRIMERO DE MAYO, PAPANTLA, VERACRUZ

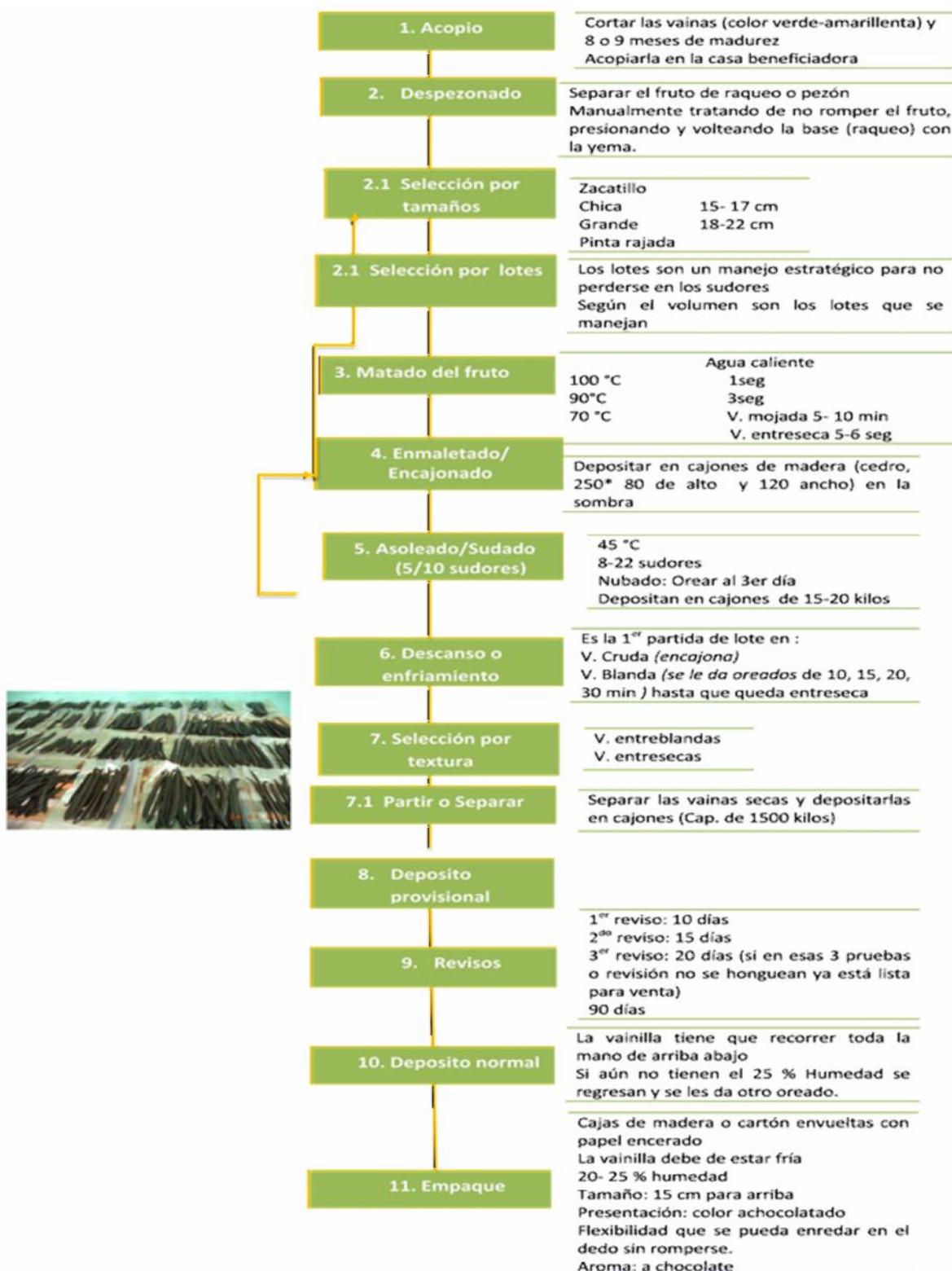


Figura 2.2.3 B Esquema general del proceso de beneficiado que elabora el beneficiador (B2) ubicado en el Ejido primero de mayo, Papantla, Veracruz.

BENEFICIADO 3 (B3): RANCHO SANTA BEATRIZ

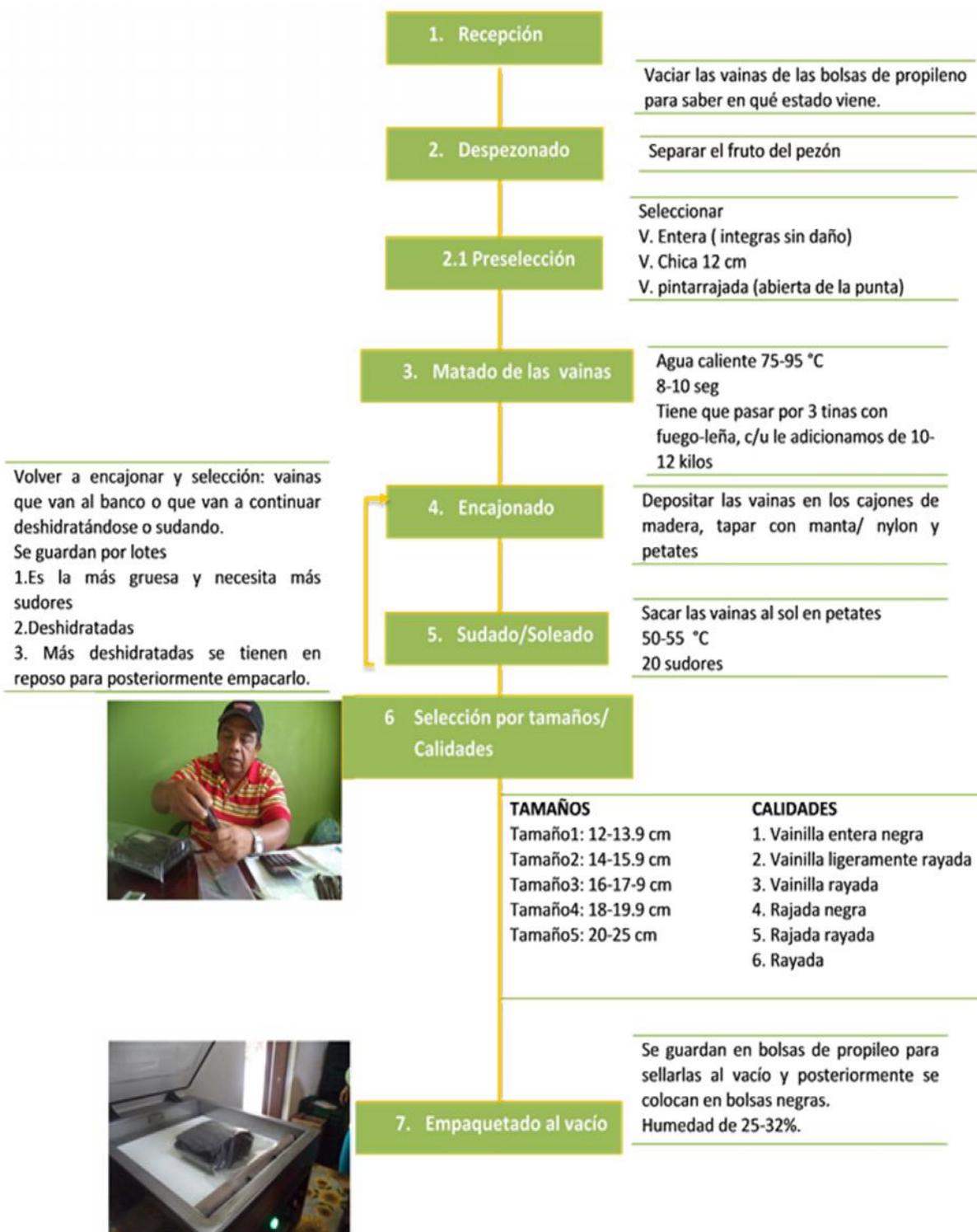


Figura 2.2.4 B Esquema general del proceso de beneficiado que elabora el beneficiador (B3) Rancho Santa Beatriz.

BENEFICIADO 4 (B4): SOCIEDAD DE PRODUCTORES RURAL (SPR), RANCHO 20 SOLES

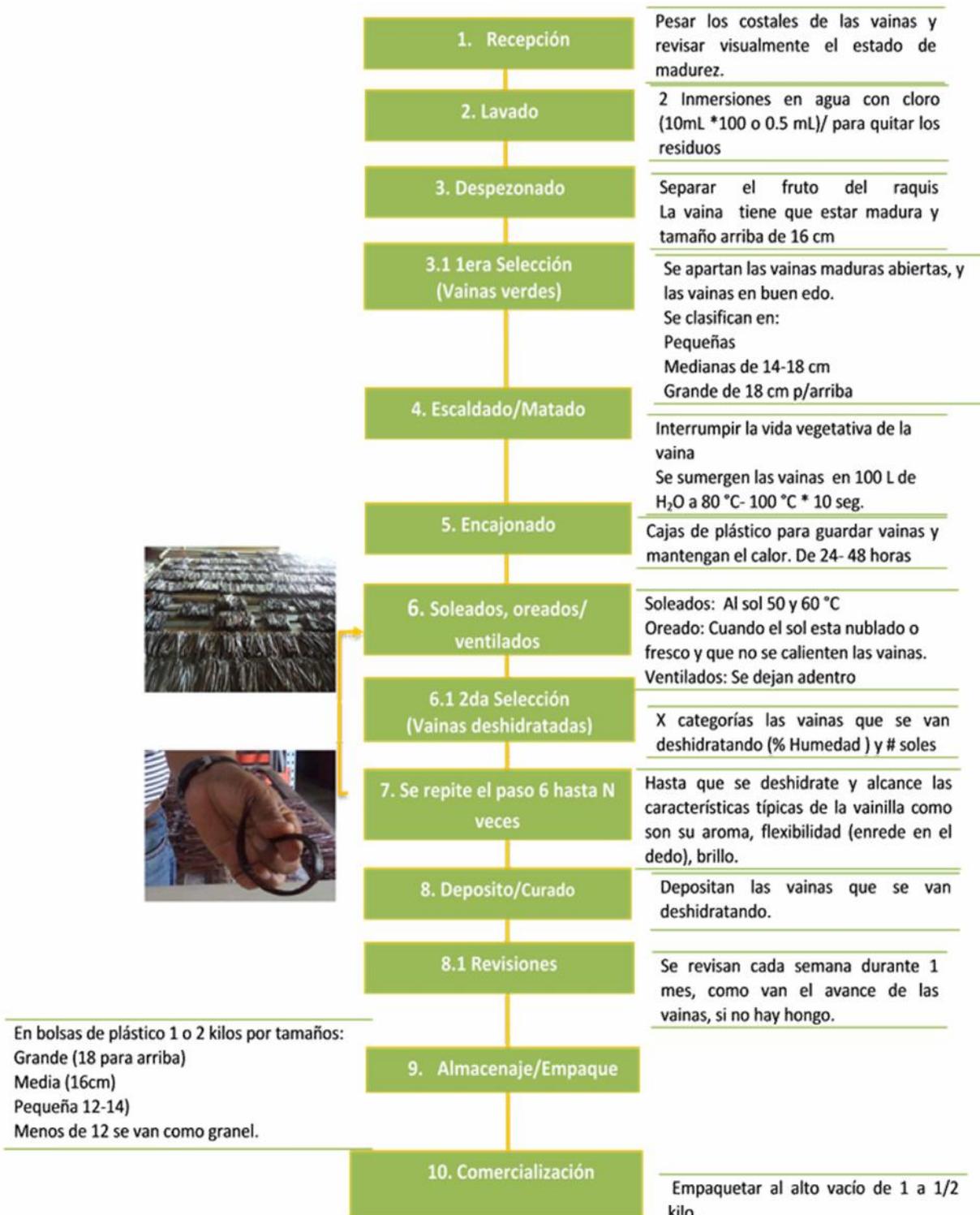


Figura 2.2.5 B Esquema general del proceso de beneficiado que elabora la Sociedad de Productores Rural (SPR) Rancho 20 Soles (B4).

BENEFICIADO 5 (B5): PUNTILLA ALDAMA SAN RAFAEL, VERACRUZ

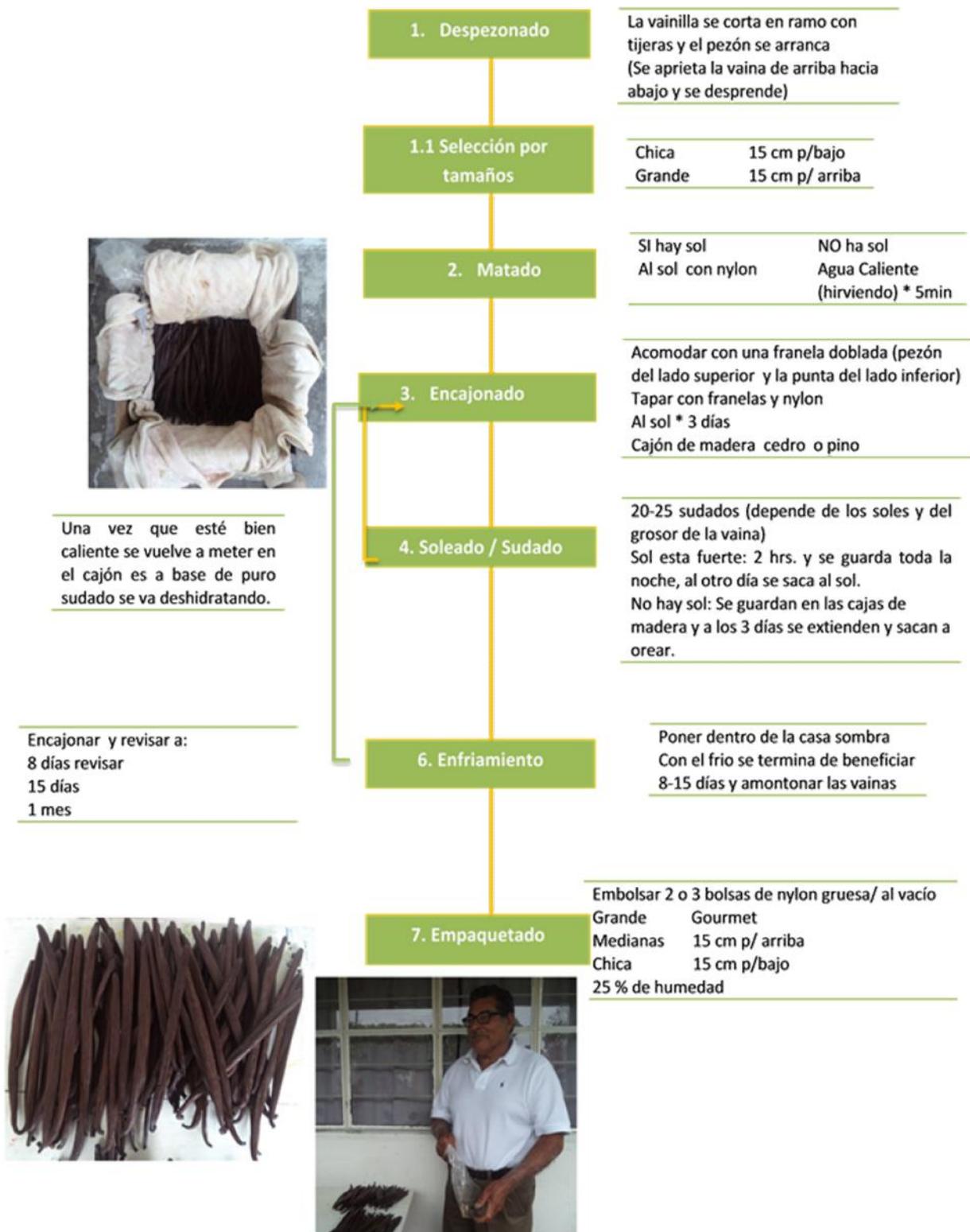


Figura 2. 2. 6 B Esquema general del proceso de beneficiado que elabora el beneficiador (B5) ubicado en Puntilla Aldama San Rafael, Veracruz.

PROCESO DE BENEFICIADO: REGION HUASTECA POTOSINA

Beneficiado 6 (B6): SOCIEDAD DE PRODUCTORES RURAL (SPR), TLILIXOCHITL.

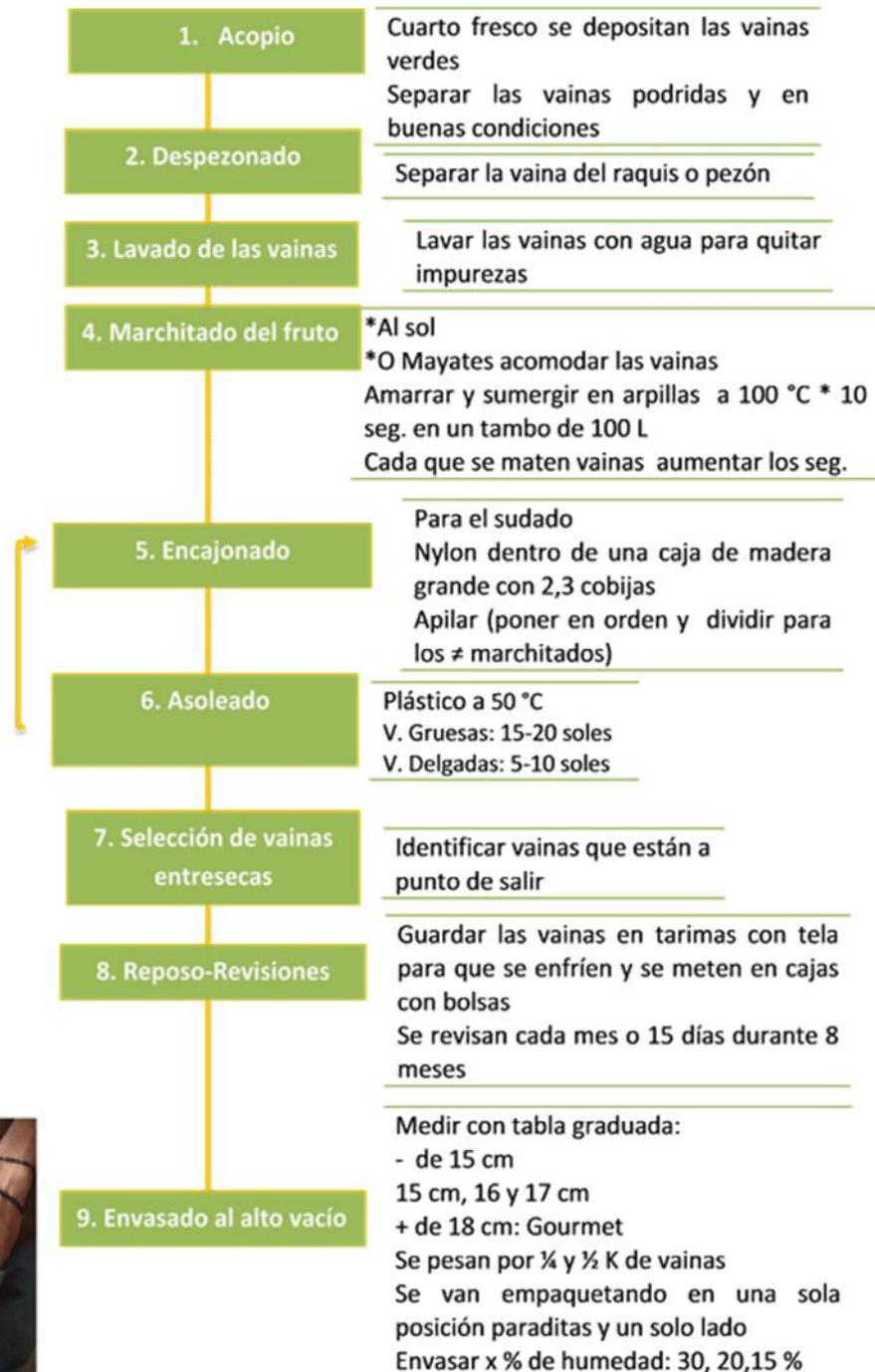
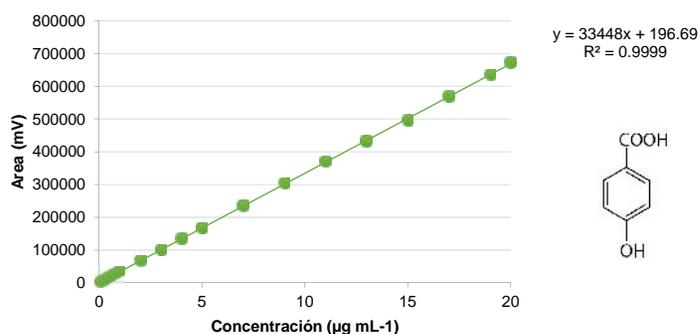


Figura 2.2.7 B Esquema general del proceso de beneficiado que elabora la representante de la Sociedad de Productores Rural (SPR) Tlilixochitl (B6).

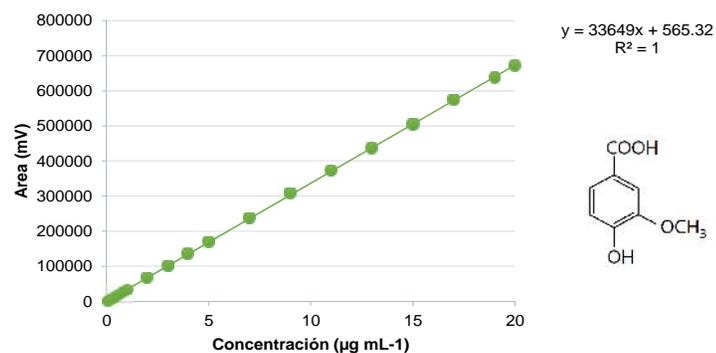
Anexo 3.1 A

Curvas estándar de calibración de los cuatro compuestos mayoritarios del aroma de la vainilla beneficiada obtenidos por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución). [Tiempo de corrida 26 min; fase móvil H₃PO₄ 0.01M: Metanol (75:25); velocidad de flujo de 1 mL min⁻¹ a 30 °C; volumen de inyección de 10 µL; a 254 nm, detector UV/VIS; y columna Brownlee Validated Aqueous C18 5µ 250 x 4.6 mm].

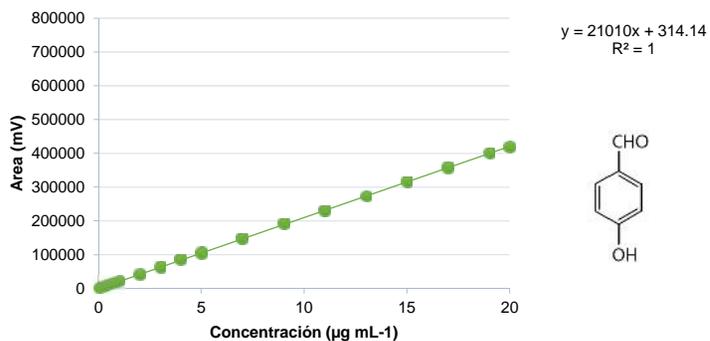
Ácido *p*-hidroxibenzoico



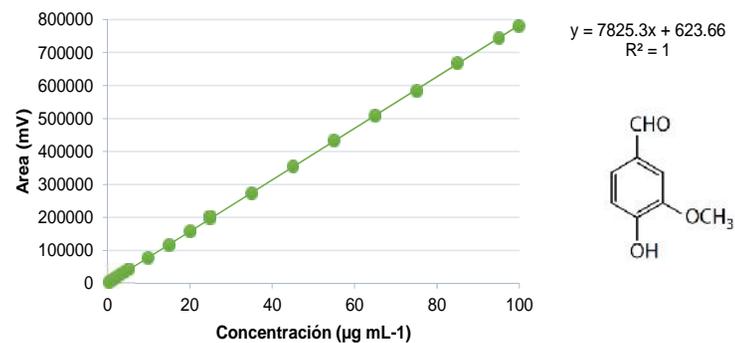
Ácido vanilínico



p-hidroxibenzaldehído

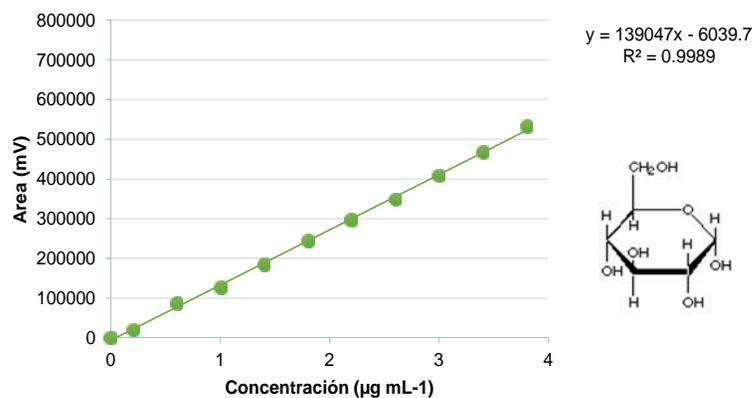


Vainillina

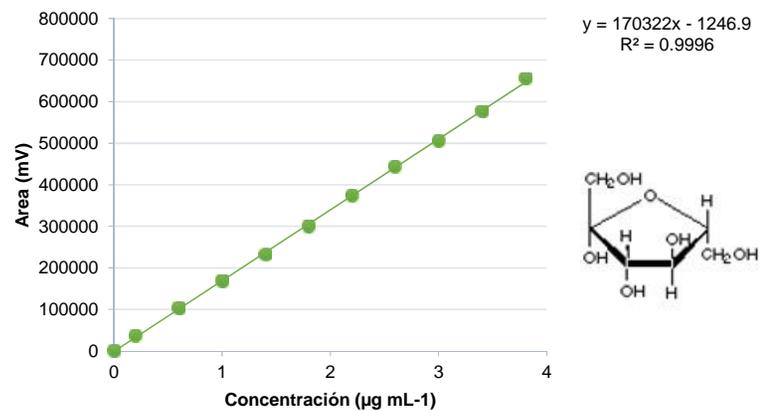


Anexo 3.2 B Curvas estándar de calibración para la determinación de azúcares solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) en la vainilla beneficiada obtenidos por HPLC (cromatografía líquida de alta resolución). [Tiempo de corrida 11.5 min; fase móvil acetonitrilo: agua (80:20), velocidad de flujo de 1 mL min⁻¹ a 40 °C; volumen de inyección de 10 µL; a 254 nm, detector UV/VIS; y columna Pinnacle II Amino 5 µm 150 x 4.6 mm (RestekTM)

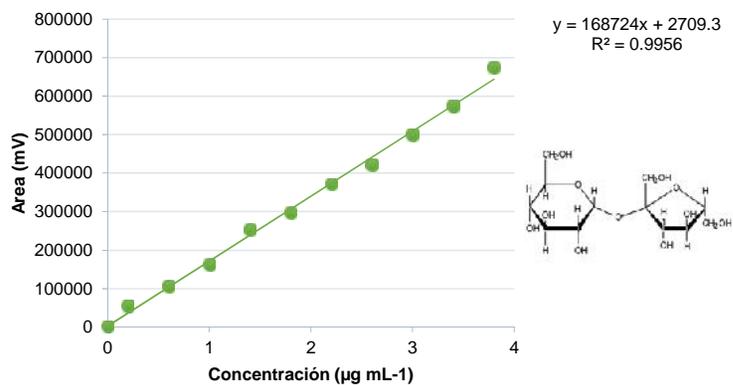
Glucosa



Fructosa



Sacarosa



Anexo 3.3 C Medias de 10 variables evaluadas en los compuestos del aroma de seis procesos de beneficiado de *V. planifolia* J. Q6 (B) con su referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina.

Medias con la misma letra en cada variable y por cada tratamiento no son estadísticamente diferentes (Tukey P 0.05)

Beneficiados	VARIABLES									
	C1 (ppm)	C2 (ppm)	C3 (ppm)	C4 (ppm)	CM (ppm)	C1/C4 (i)	C2/C4 (i)	C3/C4 (i)	(C1+C2)/C4 (i)	CM / C4
B1	180.21 ^{cd}	1027.42 ^a	722.74 ^{ef}	15809 ^{dc}	1930.38 ^{ef}	0.0114 ^{de}	0.0654 ^a	0.0457 ^d	0.0768 ^{abc}	0.1225 ^{ab}
B2	607.76 ^a	741.04 ^{bc}	1092.24 ^{bc}	17000 ^{bcd}	2441.04 ^b	0.0336 ^a	0.0443 ^{cde}	0.0651 ^{ab}	0.0860 ^a	0.1462 ^{ab}
B3	433.72 ^b	904.47 ^{ab}	1018.59 ^{bcd}	16238 ^{cd}	2356.78 ^{bc}	0.0269 ^b	0.0556 ^{abc}	0.0630 ^{abc}	0.0825 ^{ab}	0.1455 ^{ab}
B4	87.75 ^d	418.72 ^e	835.94 ^{de}	18665 ^{abcd}	1342.41 ^g	0.0045 ^f	0.0227 ^g	0.0488 ^d	0.0275 ^e	0.0733 ^{de}
B5	337.88 ^b	718.26 ^{bc}	1176.88 ^b	17604 ^{abcd}	2233.03 ^{bcd}	0.0192 ^c	0.0409 ^{def}	0.0667 ^a	0.0600 ^d	0.1267 ^{ab}
B6	695.78 ^a	731.94 ^{bc}	1501.26 ^a	20071 ^{abc}	2928.98 ^a	0.0351 ^a	0.0341 ^{efg}	0.0757 ^a	0.0678 ^{cd}	0.1484 ^a
R1	217.85 ^c	888.61 ^{ab}	739.91 ^{ef}	15295 ^d	1846.37 ^f	0.0143 ^{cd}	0.0581 ^{ab}	0.0485 ^d	0.0724 ^{abcd}	0.1208 ^{abc}
R2	343.60 ^b	877.22 ^{ab}	879.54 ^{cde}	17935 ^{abcd}	2100.36 ^{cdef}	0.0193 ^c	0.0530 ^{abcd}	0.0490 ^d	0.0730 ^{abcd}	0.1177 ^{bc}
R3	342.50 ^b	905.27 ^{ab}	879.69 ^{cde}	17592 ^{abcd}	2127.46 ^{cde}	0.0196 ^c	0.0515 ^{bcd}	0.0502 ^{cd}	0.0710 ^{bcd}	0.1213 ^{abc}
R4	119.33 ^d	653.49 ^{cd}	582.52 ^{fg}	18938 ^{abcd}	1355.34 ^g	0.0068 ^{ef}	0.0347 ^{efg}	0.0307 ^e	0.0410 ^e	0.7017 ^{de}
R5	234.86 ^c	618.37 ^{cde}	1178.67 ^b	21944 ^a	2031.89 ^{def}	0.0108 ^{def}	0.0284 ^{fg}	0.0536 ^{bcd}	0.0392 ^e	0.0928 ^{cd}
R6	168.26 ^{cd}	493.26 ^{de}	489.42 ^g	20986 ^{ab}	1150.95 ^g	0.0552 ^e	0.0351 ^a	0.0237 ^g	0.0235 ^e	0.0317 ^e
DMS	97.37	206.04	232.84	4644.60	271.29	0.0288	0.0067	0.0127	0.0129	0.0145

Anexo 3.4 D Valores promedio de 13 variables evaluadas en las propiedades fisicoquímicas de seis procesos de beneficiado de *V. planifolia* J. Q6 (T) con su referencia (R) realizados en la Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina.

Beneficio	Variables												
	Croma (Intensidad)	Hue (Color)	A _w	pH	Humedad (%)	Firmeza (g ^f)	Firmeza/Grosor (g ^f /mm)	Firmeza/Ancho (g ^f /mm)	Firmeza/Largo (g ^f /cm)	Glucosa (BS) (%)	Fructosa (BS) (%)	Sacarosa (BS) (%)	Azúcares solubles (BS) (%)
B1	5.23 ^b	232.46 ^a	0.89 ^{bc}	4.56 ^{abc}	36.37 ^a	136.53 ^{bc}	29.83 ^{cd}	20.01 ^b	7.59 ^{ab}	10.75 ^{ab}	2.50 ^e	6.24 ^{cd}	19.49 ^{cde}
B2	4.16 ^{cde}	231.38 ^b	0.87 ^{cd}	4.83 ^{ab}	35.71 ^a	58.82 ^f	23.35 ^d	10.35 ^e	4.70 ^c	12.72 ^a	5.47 ^a	10.22 ^a	28.41 ^a
B3	5.30 ^b	231.72 ^{ab}	0.90 ^{abc}	4.42 ^c	29.44 ^a	90.58 ^{def}	23.60 ^d	10.82 ^{de}	5.43 ^{bc}	11.38 ^a	4.20 ^b	4.89 ^{de}	20.47 ^{bcd}
B4	3.90 ^{de}	227.59 ^{bc}	0.85 ^d	4.52 ^{bc}	19.35 ^c	163.54 ^b	43.53 ^{bc}	26.53 ^a	9.90 ^a	8.08 ^{bc}	1.55 ^{hg}	4.30 ^{de}	13.93 ^{fg}
B5	3.95 ^{de}	228.96 ^{bc}	0.88 ^{cb}	4.72 ^{abc}	30.65 ^a	69.14 ^{ef}	22.24 ^d	10.17 ^e	4.57 ^c	7.35 ^c	1.40 ^h	3.48 ^{ef}	12.23 ^g
B6	10.67 ^a	240.08 ^a	0.76 ^e	4.51 ^{bc}	20.45 ^{bc}	112.63 ^{cde}	30.04 ^{cd}	16.19 ^{bcde}	6.11 ^{bc}	9.97 ^{abc}	2.34 ^{ef}	9.95 ^{ab}	22.26 ^{bc}
R1	4.74 ^{bcd}	230.33 ^{bc}	0.87 ^{cd}	4.64 ^{abc}	35.75 ^a	171.65 ^{ab}	45.92 ^b	21.09 ^{ab}	8.99 ^a	12.15 ^a	3.49 ^{bc}	7.91 ^{bc}	23.55 ^b
R2	4.52 ^{bcde}	223.13 ^{cd}	0.89 ^{bc}	4.67 ^{abc}	35.33 ^a	114.73 ^{cd}	38.33 ^{bc}	13.74 ^{cde}	6.11 ^{bc}	9.88 ^{abc}	3.57 ^{bc}	1.41 ^f	14.86 ^{fg}
R3	5.00 ^{bc}	228.64 ^{bc}	0.91 ^{ab}	4.73 ^{abc}	36.05 ^a	208.55 ^a	61.06 ^a	21.91 ^{ab}	9.50 ^a	10.55 ^{ab}	2.25 ^{efg}	4.62 ^{de}	17.42 ^{def}
R4	5.46 ^b	230.00 ^{bc}	0.92 ^{ab}	4.63 ^{abc}	31.65 ^a	110.25 ^{cde}	34.32 ^{bcd}	17.33 ^{bc}	5.67 ^{bc}	8.32 ^{bc}	2.63 ^{de}	5.93 ^{cd}	16.87 ^{ef}
R5	5.14 ^b	227.55 ^{bc}	0.92 ^{ab}	4.55 ^{abc}	34.27 ^a	148.77 ^{bc}	44.92 ^b	16.52 ^{bcd}	7.68 ^{ab}	12.15 ^a	3.25 ^{cd}	11.83 ^a	27.23 ^a
R6	3.90 ^e	216.09 ^d	0.93 ^a	4.86 ^a	33.87 ^a	138.43 ^{bc}	36.22 ^{bcd}	17.07 ^{bc}	7.51 ^{ab}	7.34 ^c	1.62 ^{fgh}	4.20 ^{de}	13.16 ^g
DMS	0.96	7.90	0.03	0.33	9.35	44.10	14.55	6.09	2.41	2.91	0.75	2.10	3.59

Medias con la misma letra en cada variable y por cada tratamiento no son estadísticamente diferentes (Tukey P 0.05)

