

VARIACIÓN DE AROMA EN ***Vanilla planifolia*** Jacks. ex Andrews SILVESTRE Y CULTIVADA

pág. 10

Año 9 • Volumen 9 • Número 1 • enero, 2016

VARIEDAD DE MICROFLORA PRESENTE EN VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews) RELACIONADOS CON PROCESOS DE BENEFICIADO	3
CALIDAD DE VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews) EMPACADA BAJO DIFERENTES PELÍCULAS PLÁSTICAS	18
CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA Y ANÁLISIS DE VARIACIÓN DE EPIDERMIS FOLIAR Y CAULINAR ENTRE DOS GENOTIPOS DE <i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews	26
CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE <i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews CON DIFERENTES ESQUEMAS DE BENEFICIADO	34
PATAXTE (<i>Theobroma bicolor</i> Humb. & Bonpl.): ESPECIE SUBUTILIZADA EN MÉXICO	41
INFLUENCIA DEL TIPO DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL FERMENTO Y SECADO	48

y más artículos de interés...

Estructura

Agroproductividad es una revista de divulgación, auspiciada por el Colegio de Postgraduados para entregar los resultados obtenidos por los investigadores en ciencias agrícolas y afines. En ella se puede publicar información relevante al desarrollo agropecuario, social y otras disciplinas relacionadas, en formato de artículo, nota o ensayo. Las contribuciones son arbitradas y la publicación final se hace en idioma español. La contribución debe tener una extensión máxima de 15 cuartillas, incluyendo las ilustraciones. Deberá estar escrita en Word a doble espacio empleando el tipo Arial a 12 puntos y márgenes de 2.5 cm. Debe evitarse el uso de sangría al inicio de los párrafos. Las ilustraciones serán de calidad suficiente para su impresión en offset a colores, y con una resolución de 300 dpi en formato JPEG, TIFF o RAW.

La estructura de la contribución será la siguiente:

1) Artículos: una estructura clásica definida por los capítulos: Introducción, Resumen, abstract, objetivos, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones y Literatura Citada; 2) Notas, Ensayos y Relatorías: deben tener una secuencia lógica de las ideas, exponiendo claramente las técnicas o metodologías que se transmiten o proponen.

Formato

Título. Debe ser breve y reflejar claramente el contenido. Cuando se incluyan nombres científicos deben escribirse en *itálicas*.

Autor o Autores. Se escribirán él o los nombres completos, separados por comas, con un índice progresivo en su caso. Al pie de la primera página se indicará el nombre de la institución a la que pertenece el autor y la dirección oficial, incluyendo el correo electrónico.

Cuadros. Deben ser claros, simples y concisos. Se ubicarán inmediatamente después del primer párrafo en el que se mencionen o al inicio de la siguiente cuartilla. Los cuadros deben numerarse progresivamente, indicando después de la referencia numérica el título del mismo (Cuadro 1. Título), y se colocarán en la parte superior. Al pie del cuadro se incluirán las aclaraciones a las que se hace mención mediante un índice en el texto incluido en el cuadro.

Figuras. Corresponden a dibujos, gráficas, diagramas y fotografías. Las fotografías deben ser de preferencia a colores. Se debe proporcionar originales en tamaño postal, anotando al reverso con un lápiz suave el número y el lugar que le corresponda en el texto. La calidad de las imágenes digitales debe ceñirse a lo indicado en la tabla comparativa.

Unidades. Las unidades de pesos y medidas usadas serán las aceptadas en el Sistema Internacional.

Citas libros y Revistas:

Bozzola J.J., Russell L.D. 1992. Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists. Ed. Jones and Bartlett. Boston. 542 p.

Calvo P., Avilés P. 2013. A new potential nano-oncological therapy based on polyamino acid nanocapsules. Journal of Controlled Release 169:10-16

Gardea-Torresdey J.L., Peralta-Videa J.R., Rosa G., Parsons J.G. 2005 Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. Coordination Chemistry Reviews 249: 1797-1810.

Tabla comparativa.

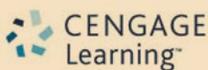
Centímetros	Pixeles	Pulgadas
21.59×27.94	2550×3300	8.5×11
18.5×11.5	2185×1358	7.3×4.5
18.5×5.55	2158×656	7.3×2.2
12.2×11.5	1441×1358	4.8×4.5
12.2×5.55	1441×656	4.8×2.2
5.85×5.55	691×656	2.3×2.2
9×11.5	1063×1358	3.5×4.5
9×5.55	1063×656	3.5×2.2



48

Contenido

3	VARIEDAD DE MICROFLORA PRESENTE EN VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews) RELACIONADOS CON PROCESOS DE BENEFICIADO
10	VARIACIÓN DE AROMA EN <i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews SILVESTRE Y CULTIVADA
18	CALIDAD DE VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews) EMPACADA BAJO DIFERENTES PELÍCULAS PLÁSTICAS
26	CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA Y ANÁLISIS DE VARIACIÓN DE EPIDERMIS FOLIAR Y CAULINAR ENTRE DOS GENOTIPOS DE <i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews
34	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE <i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews CON DIFERENTES ESQUEMAS DE BENEFICIADO
41	PATAXTE (<i>Theobroma bicolor</i> Humb. & Bonpl.): ESPECIE SUBUTILIZADA EN MÉXICO
48	INFLUENCIA DEL TIPO DE CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL FERMENTO Y SECADO
55	INFLUENCIA DEL PROCESO DE BENEFICIADO TRADICIONAL MEXICANO EN LOS COMPUESTOS DEL AROMA DE <i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews
63	EFFECTO DE LA MADUREZ Y SECADO DE SEMILLA DE <i>Capsicum chinense</i> Jacq. EN LA GERMINACIÓN Y CALIDAD FISIOLÓGICA DE PLÁNTULA
68	CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE VINO CON <i>Vitis vitifolia</i> L.
74	FACTORES ESTRUCTURALES EN LA CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA REGIONAL DE INNOVACIÓN DE VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews) EN MÉXICO
79	ASOCIATIVIDAD EMPRESARIAL DE ORGANIZACIONES PRODUCTORAS DE VAINILLA (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks. ex Andrews) EN EL TONACAPAN



Master Journal List
THOMSON REUTERS

Corrección de estilo: Hannah Infante Lagarda

Maquetación: Alejandro Rojas Sánchez

Suscripciones, ventas, publicidad, contribuciones de autores:

Guerrero 9, esquina Avenida Hidalgo, C.P. 56220, San Luis Huexotla, Texcoco, Estado de México.

Teléfono: 01 (595) 928 4703 jocadena@colpos.mx; jocadena@gmail.com

Impresión 3000 ejemplares.

©Agroproductividad, publicación mensual respaldada por el Colegio de Postgraduados. Derechos Reservados. Certificado de Licitud de Título Núm. 0000. Licitud de Contenido 0000 y Reserva de Derechos Exclusivos del Título Núm. 0000. Editorial del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Núm. 036.

Es responsabilidad del autor el uso de las ilustraciones, el material gráfico y el contenido creado para esta publicación.

Las opiniones expresadas en este documento son de exclusiva responsabilidad de los autores, y no reflejan necesariamente los puntos de vista del Colegio de Postgraduados, de la Editorial del Colegio de Postgraduados, ni de la Fundación Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas.

Impreso en México • Printed in México
PRINTING ARTS MEXICO, S. de R. L. de C. V.
Calle 14 no. 2430, Zona Industrial
Guadalajara, Jalisco, México. C.P. 44940
Fax: 3810 5567
www.tegrafik.com
RFC: PAM991118 DGO

Directorio

Said Infante Gil
Editor General del Colegio de Postgraduados

Rafael Rodríguez Montessoro[†]
Director Fundador

Jorge Cadena Iñiguez
Director de Agroproductividad

Comité Técnico-Científico

Colegio de Postgraduados—Montecillo
Ma. de Lourdes de la Isla
Dr. Ing. Agr. Catedrática Aereopollución

Ángel Lagunes T.
Dr. Ing. Agr. Catedrático Entomología

Enrique Palacios V.
Dr. Ing. Agr. Catedrático Hidrociencias

Colegio de Postgraduados—Córdoba
Fernando Carlos Gómez Merino
Dr. Ing. Agr. Biotecnología

Colegio de Postgraduados—San Luis Potosí
Fernando Clemente Sánchez
Dr. Ing. Agr. Fauna Silvestre

Luis Antonio Tarango Arámbula
Dr. Ing. Agr. Fauna Silvestre

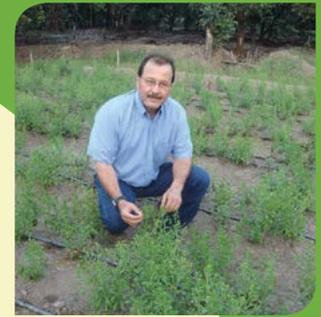
Instituto de Investigaciones Forestales,
Agrícolas y Pecuarias
Pedro Cadena I.
Dr. Ing. Agr. Transferencia de Tecnología

Carlos Mallen Rivera
M. C. Director de Promoción y Divulgación

Instituto Interamericano de Cooperación
para la Agricultura
Victor Villalobos A.
Dr. Ing. Agr. Biotecnología

Instituto Interamericano de Cooperación
para la Agricultura
(República Dominicana)
Manuel David Sánchez Hermosillo
Dr. Ing. Agr. Nutrición Animal y manejo de Pastizales

Servicio Nacional de Inspección y
Certificación de Semillas
(SNICS-SAGARPA)
Manuel R. Villa Issa
Dr. Ing. Agr. Economía Agrícola.
Director General



Dr. Jorge Cadena Iñiguez

Editorial

Volumen 9 • Número 1 • enero, 2016.

Iniciamos el año 2016, con la aceptación de **AGRO PRODUCTIVIDAD** en el Índice de revistas Latinoamericanas de Ciencias *PERIODICA* de la Dirección General de Bibliotecas: Subdirección de Servicios de Información Especializada de la Universidad Nacional Autónoma de México, quien edita, desde hace 30 años, la base de datos bibliográfica de revistas de ciencias y tecnología, en la cual se analizan más de 1500 títulos de revistas Latinoamericanas y del Caribe. El contenido de tan importante acervo se divulga en línea a través de Internet y está disponible de manera gratuita, en la página <http://dgb.unam.mx/periodica.html>, coordinada por la Mtra. Blanca Estela Aguilar Rocha, Secretaria Ejecutiva del Comité de Evaluación y Selección de Publicaciones. Lo anterior fortalece la difusión de resultados de investigación publicados por **AGRO PRODUCTIVIDAD**. En esta ocasión nuestra revista ofrece avances importantes de investigación acerca de vainilla, cacao, chile y vid; especies neotropicales que han tenido un papel importante en culturas mesoamericanas en diferentes tiempos y escenarios históricos; y que en la actualidad representan áreas importantes de la economía en México y otros países productores. En todos los casos se enfocan a reorientar los procesos que les confieren valor agregado con el fin de revalorizar su estatus en el escenario económico mundial.

Dr. Jorge Cadena Iñiguez
Director de **AGRO PRODUCTIVIDAD**

VARIEDAD DE MICROFLORA PRESENTE EN VAINILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) RELACIONADOS CON PROCESOS DE BENEFICIADO

VARIETY OF MICROFLORA PRESENT IN VANILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) AND ITS RELATIONSHIP WITH CURING PROCESSES

Luna-Guevara, J.J.¹; Ruiz-Espinosa, H.¹; Herrera-Cabrera, E.B.²; Navarro-Ocaña, A.³; Delgado-Alvarado, A.²; Luna-Guevara, M.L.^{1*}

¹Colegio de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. San Claudio y Esq. con 18 Sur S/N, Ciudad Universitaria, Col San Manuel, Puebla, Puebla, México. ²Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla, Boulevard Forjadores de Puebla 25, Col Santiago Momoxpan, Municipio San Pedro Cholula, Puebla, Puebla, México. ³Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, D.F. México.

Autor de correspondencia: maria.luna@correo.buap.mx

RESUMEN

Se evaluaron grupos indicadores de inocuidad tales como: Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), Coliformes Totales (CT) y Hongos y Levaduras (Hyl) para determinar la diversidad de enterobacterias presentes en silicuas verdes (Vv) y beneficiadas (Vb) de vainilla (*Vanilla planifolia*) provenientes de cuatro procesos de beneficiado, considerando que la información microbiológica de los frutos y su relación con tipos de beneficiado es limitada. Los procesos evaluados fueron: rústico (BR1, BR2), tradicional (BT) y semitecnificado (BST). Los análisis microbiológicos identificaron enterobacterias utilizando medios de cultivo selectivos, diferenciales y pruebas confirmatorias con el sistema VITEK. Con las especies identificadas se calcularon los índices de diversidad Simpson (D), Shannon-Wiener (H') y Chao (SChao₁). Los recuentos microbianos reflejaron altos niveles de contaminación microbiológica, las BMA no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en ambos estados de la silicua, a diferencia de CT cuyos valores disminuyeron notablemente (≤ 10 UFC/g). Los H y L se redujeron significativamente con el beneficiado (10^1 a 10^3 UFC/g) excepto en frutos de BR1. Las especies aisladas con mayor frecuencia en Vv y Vb fueron *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *Klebsiella pneumoniae*; mientras que *E. coli* y *Citrobacter freundii* fueron identificadas únicamente en Vb. Los índices D, H y SChao₁ reflejaron mayor diversidad en procesos BR1 y BR2. Los resultados obtenidos se enfocan al diseño de acciones preventivas para la inocuidad en el beneficiado de vainilla.

Palabras clave: Microflora, inocuidad, índices de diversidad.

ABSTRACT

The safety indicators groups, such as Total Aerobic bacterial count (TAB), Total Coliform (TC), and Fungi and Yeast (F&Y), to determine the diversity of enterobacteria present in green (Vv) and cured (Vb) vanilla siliques (*Vanilla planifolia*) from four curing processes, considering that the microbiological information of the fruits and their relationship with the types of curing is limited. The processes evaluated



were: rustic (BR1, BR2), traditional (BT) and semi-technified (BST). The microbiological analyses identified enterobacteria using selective, differential cultivation media, and confirming tests with the VITEK system. With the species identified, the Simpson (D), Shannon-Wiener (H') and Chao (SChao₁) diversity indices were used. The microbe recounts reflected high levels of microbiological contamination; AMB did not present significant differences ($p > 0.05$) in both states of the silique, in contrast with TC whose values decreased notably (≤ 10 UFC/g). The F&Y decreased significantly with curing (10^1 to 10^3 UFC/g), except in BR1 fruits. The species isolated with highest frequency in Vv and Vb were *E. aerogenes*, *E. cloacae* and *Klebsiella pneumoniae*, while *E. coli* and *Citrobacter freundii* were identified only in Vb. The D, H and SChao₁ indices reflected a higher diversity in the BR1 and BR2 processes. The results obtained are focused on the design of preventive actions for the safety of vanilla curing process in vanilla curing.

Key words: Microflora, safety, diversity indices.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) es el segundo saborizante natural más importante en la industria alimentaria cuya demanda sostenida duplica la oferta actual de producción (Anilkumar, 2004; SAGARPA, 2010). El 95% de la producción mundial se obtiene de los frutos procesados (silicuas) de *V. planifolia* (Azofeifa et al., 2014), y debe mantener requisitos de calidad y cumplir con requerimientos de inocuidad. En relación con estos últimos la vainilla puede presentar contaminación por agentes bacterianos, virales y especies fúngicas, causando pérdidas significativas en los frutos verdes. Algunos de los géneros aislados más importantes son *Azotobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Colletotrichum* (Odoux, 2011). Para darle valor agregado al fruto en estado verde, se somete al proceso de beneficiado (Dignum et al., 2001) donde se desarrollan reacciones enzimáticas, procesos térmicos, y una importante actividad microbiana, responsables en parte de la generación del sabor y olor de la vainilla beneficiada (Ranadive, 1994), sin embargo, también en silicuas beneficiadas se han aislado los patógenos *Klebsiella* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp. y *Serratia* sp., entre otros (Roling et al., 2001). La información acerca de la contribución microbiológica que realizan estos géneros sobre la inocuidad de las vainas beneficiadas, es limitada, por tal motivo, se cuantificó, aisló e identificó la microflora presente en frutos verdes y beneficiados de vainilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la región del Totonacapan de Papantla, Veracruz, México (20° 27' N y 97° 19' O). Para la selección y clasificación de los procesos de beneficiado se recabó información de campo mediante el uso de un instrumento evaluativo de 91 reactivos, e identificaron cuatro sistemas de beneficiado: (Beneficio 1: BR1), (Beneficio 2: BR2), (Beneficio 3: BT), (Beneficio 4: BST).

Material vegetal. Se obtuvieron 400 muestras de frutos verdes y beneficiados sin daño físico ni crecimiento microbiológico aparente provenientes de los diferentes beneficiados locales. Se utilizaron las normas: NOM-092-SSA1-1994, NOM-113-SSA1-1994, NOM-111-SSA1-1994 para Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), organismos Coliformes Totales (CT), Mohos y Levaduras, respectivamente. Para *Salmonella* se recurrió a la NOM-114-SSA1-1994. Para el aislamiento de la microflora se realizó un enriquecimiento previo, de acuerdo con Roling et al. (2001), mientras que para la identificación, se seleccionaron: morfologías coloniales y pruebas bioquímicas básicas IMViC. Las pruebas confirmatorias fueron mediante el sistema VITEK (BioMérieux Inc. Missouri, USA), con tarjetas de Gram negativos GNI (BioMérieux Inc. Missouri, USA); y para el cálculo de índices de diversidad en silicuas beneficiadas fue acuerdo a Shannon-Wiener (H') (Ecuación 1), Shannon y Weaver (1949), Simpson (D) (Ecuación 2), Hunter y Gastón, (1988), y Chao (Ecuación 3).

Índice de Shannon-Wiener (H')

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

Ecuación 1

Índice de Simpson (D)

$$D = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{n=i}^s n_i(n_i-1)$$

Ecuación 2

Índice de Chao (SChao₁)

$$SChao_1 = S_{obs} + \left(\frac{n_1^2}{2n_2} \right)$$

Ecuación 3

Donde: p_i = Proporción de individuos de la especie i respecto al total, s = Número de especies,

S_{obs} =Número de especies observadas, n_1 =Número de especies observadas i , n_2 =Número de especies observadas dos veces.

Se desarrolló un diseño completamente al azar teniendo como fuentes de variación el tipo de frutos (verdes y beneficiados) y tipo de beneficiado (BR1, BR2, BST y BT), considerando un análisis de varianza (ANOVA) con $\alpha=0.05$. Los resultados fueron evaluados con el paquete estadístico MiniTab (versión 17), teniendo como respuestas los recuentos microbianos de los grupos indicadores analizados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación del cuestionario a productores (Cuadro 1) aportó la descripción en cada etapa de los procesos de beneficio aplicados localmente, identificando nueve etapas,

las cuales presentan diferencias en cuanto a condiciones de recepción y marchitamiento de las silicuas; abreviándolos de la siguiente forma: beneficiado rústico (BR1 y BR2), tradicional (BT) y semitecnificado (BST).

De acuerdo con Dignum *et al.* (2001) y Odoux (2011) el beneficiado incluye las etapas de marchitamiento (tratamiento térmico) que interrumpe la **maduración** manteniendo la actividad enzimática del proceso fermentativo; el **sudado** que consiste en ciclos de exposición de silicuas al sol y almacenarlas en canastas o contenedores de madera para resguardar la temperatura y humedad; el **secado** o tendido de silicuas para prevenir crecimiento de microorganismos y el **acondicionamiento** de silicuas en cajas durante tres a cuatro meses para obtener el aroma característico.

Análisis microbiológicos

La contaminación de la vainilla puede ocurrir durante la cosecha o etapas del manejo y procesamiento de los frutos (silicuas) en el beneficiado (Sarter, 2011). Los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos de los indicadores sobrepasaron los límites permitidos por la NOM-182-SCFI-2011 (Cuadro 2).

Las BMA presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre tipos de beneficiado mostrando valores más altos en vainas verdes (2.8×10^5 UFC/g) y beneficiadas (1.2×10^5 UFC/g) provenientes del sistema BR1. De acuerdo con los reportes de McKee (1995) los recuentos totales o BMA en especias entre las cuales está considerada la vainilla, varían entre 10^4 a 10^8 UFC/g y dependen del tratamiento que hayan recibido previamente a su consumo tales como, lavado, escaldado

Cuadro 1. Etapas y condiciones consideradas en los sistemas de beneficiado de silicuas de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

Etapa del Beneficiado	Beneficiado Rústico 1 (BR1), Rústico 2 (BR2)	Beneficiado Tradicional (BT)	Beneficiado Semitecnificado (BST)
Recepción	Textura rígida, Color amarillento en las puntas, madurez fisiológica (9 meses). Longitud=1° calidad, 17 a 22 para 2° calidad 15 a 17 de 3° calidad 12 a 15 cm, menos de 15 cm, zacatillo.	Madurez fisiológica (9 meses, Textura Rígida Longitud=1° calidad 18 a 20 cm, para 2° calidad 15 a 17 cm y 3° calidad 12 a 14 cm.	Color Verde o Amarillento Longitud=1° calidad 16 a 18 cm, 2° calidad 12 a 15 cm
Despezonado	Desprender la vaina del raquis con un movimiento hacia atrás sin dañar el fruto	Retirar la vaina del raquis con un movimiento hacia atrás	Retirar la vaina del raquis
Primera Clasificación	3 Categorías, 1°, 2° y 3° calidad incluyendo Pinta, Rajada	3 Categorías, 1°, 2° y 3° calidad incluyendo Rajada	2 Categorías, 1° y 2° calidad, separando por tamaño y grosor
Matado	Exposición al sol aprox. 45-50 °C	Inmersión en agua a 100 °C/1-2s	Inmersión en agua a 80-85 °C/10s
Sudado	Cajones de madera envuelto con petate y cobijas a 50 °C durante 24 a 36 h	Cajones de madera a 45 °C durante 12 h	Cajones de madera o plástico a 50-55 °C durante 48 h
Tendido	Se exponen los frutos al sol a 50 °C de 2-4 h dependiendo de condiciones climáticas	T 45 °C durante 3 h dependiendo de condiciones climáticas	Se utiliza T 60 °C durante 2 h
Reposo	Utilizado para enfriar vainas durante 2 a 4 días	Utilizado para enfriar vainas durante 3 días	Utilizado para enfriar vainas durante 3 días con 2 o 3 revisiones
Segunda Clasificación	3-4 Categorías, con flexibilidad, 20 al 35% H y de color café oscuro	3 Categorías y rajada con flexibilidad, gran brillantes, 25% de H y de color café oscuro	3 Categorías con flexibilidad, gran brillantes, 27% de H, color café oscuro y con 16-17.9 de vainillina
Empacado	Bolsas de polietileno	Bolsas de polietileno y después en cajones de madera de cedro	Bolsas de polietileno y al vacío

ficiadas, y el género *Enterobacter cloacae* fue aislado en frutos verdes provenientes de los cuatro tipos de beneficiado, de igual forma, *Klebsiella oxytoca* se recuperó en vainas de los procesos BR2, BT y BST, registrando la mayor frecuencia de aislamiento (Figura 1). Los géneros *Acinobacter calcoaceticus* y *Raoutella ornithinolytica* fueron aisladas específicamente en frutos verdes provenientes de los procesos BR2 y BT respectivamente. De acuerdo con García Lozano *et al.* (2013) a *Raoutella ornithinolytica* se le ha relacionado con mecanismos de patogenicidad muy similares al género *Klebsiella* sp. Las vainas provenientes del proceso BR1 presentaron crecimiento de *Pantoea* sp., la cual está asociada con infección de estructuras tales como, hojas, flores y fruto, así como, con formación de manchas amarillentas e incluso necrosis en la planta (Jiménez *et al.*, 2007).

La microflora aislada en frutos beneficiados se muestran en la Figura 2, registrando la mayor frecuencia de aislamiento la especie *Citrobacter freundii* en los cuatro tipos de beneficiado; mientras que la especie *C. amolonaticus* fue aislada particularmente en los procesos rústicos BR1 y BR2; y *Morganella morganii* así como, *Morganella* sp., fueron identificadas en frutos beneficiados provenientes de los procesos BR2 y BT. Las especies *Providencia stuartii*, *Acinobacter baumannii* y *Escherichia coli* fueron las que presentaron menor frecuencia de aislamiento, y específicamente *P. stuartii* fue recuperada solamente en vainas sometidas al proceso BR2, mientras que *A. baumannii* y *E. coli* se identificaron en frutos procesados por BST. Cabe mencionar que las vainas procesadas con BST alcanzaron temperaturas aproximadas de 80 °C (Cuadro 1) durante el marchitamiento, de ahí que la presencia de las enterobacterias mencionadas pudiera deberse a una recontaminación en etapas posteriores del proceso de beneficiado, lo anterior coincide con lo reportado por Sarter (2011). Algunos estudios sugieren que la vainillina contenida en frutos beneficiados (2.5%) tiene efecto inhibitorio sobre *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria innocua*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Samonella entérica* debido a su habilidad para afectar la integridad de la membrana citoplasmática e inhibir la actividad respiratoria (Fitzgerald *et al.*, 2004; Rupasinghe *et al.*, 2006). Sin embargo McKee (1995) reporta que la sobrevivencia de *E. coli* y *Bacillus cereus* en especias se atribuye a las condiciones ambientales y de manipulación por parte de los productores durante su procesamiento.

Microflora en silicuas verdes y beneficiadas

Las especies *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae* y

Klebsiella pneumoniae fueron las que se aislaron en frutos verdes y beneficiados. Específicamente *Klebsiella pneumoniae* se observó en BR1 y BR2 en frutos verdes y beneficiados, mientras que para *E. aerogenes* fue posible registrar su presencia en frutos verdes de BR1 y en beneficiados de BR2 y BT. Las especies mencionadas tienen en común la temperatura óptima de crecimiento cercana a los 37 °C, la cual se alcanza en los sistemas de producción y condiciones de almacenamiento durante el beneficiado de la vainilla. Lo anterior coincide con lo evaluado por McKee (1995) quien aisló a *Enterobacter* sp., *Clostridium* sp., *E. coli* y *Klebsiella* sp., en especias expuestas a condiciones de almacenamiento similares a las mencionadas.

Diversidad de microflora en silicuas beneficiadas

El Cuadro 3 registra los índices de diversidad de Shannon-Wiener (H'), Simpson (D) y SChao₁, obtenidos a partir del aislamiento e identificación de enterobacterias presentes en silicuas beneficiadas. Los valores de (H') oscilaron de 1.23 a 1.77, siendo mayor en frutos provenientes de BR2, de acuerdo con Pla (2006) los valores de H' son utilizados para evaluar la abundancia en el número de ciertas bacterias aisladas. En BR2 las especies más abundantes correspondieron a *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella oxytoca* (Figura 2). Una tendencia similar se observó con los valores del índice D, el cual representa cuantos microorganismos de la misma especie hay dentro de un hábitat, y a este respecto, las silicuas de BR2 y BT presentaron los índices D más altos (0.86 y 0.84) siendo nuevamente *E. cloacae* y *K. oxytoca* predominantes. El otro índice evaluado fue el de SChao₁, el cual resulta útil para aquellas poblaciones que presentan poca abundancia en sus clases, tal como, este estudio enfocado en la identificación de la microflora presente en la familia Enterobacteriaceae. (Hughes *et al.*, 2001), y los resultados registrados de SChao₁ permanecieron entre 4 y 17 correspondientes a los beneficios BST y BR2, sin embargo, en las silicuas provenientes de BST se identificaron las especies *Escherichia coli* y *Citrobacter freundii* ambas del grupo coliforme. Existen reportes que relacionan la presencia y sobrevivencia de *E. coli* en ambientes extraintestinales incluyendo vegetales crudos, suelo de cultivo y agua de riego en los cuales este microorganismo puede encontrar los nutrientes necesarios para su desarrollo (Luna Guevara *et al.*, 2012), mientras que la presencia de *Citrobacter* sp., cobra importancia de acuerdo con lo reportado por Abu-Ghazaleh (2006) quien la detectó en agua de riego y suelo de cultivo. Adicionalmente,

Tschape *et al.* (1995) señalan que los aislamientos de *C. freundii* están relacionados con factores de virulencia homólogos a los descritos por los patogrupos de *E. coli*; asociando a *C. freundii* con casos esporádicos de diarrea infantil.

La microflora aislada en silicuas verdes y beneficiadas denotan la importancia de proponer procesos que aseguren la inocuidad de los frutos de vainilla, sin embargo, estudios recientes Gu *et al.* (2015) reportan que la presencia de ciertas especies microbianas contribuye en el perfil de aroma de la vainilla, de ahí que se requieren estudios enfocados a la participación de la microflora presente en las distintas etapas de su beneficiado, resguardando la inocuidad del fruto sin detrimento de los atributos sensoriales.

CONCLUSIONES

Se detectaron niveles altos de contaminación microbiológica de la microflora en silicuas verdes y beneficiadas, y se hace indispensable contar con mejores sistemas de control en la producción y beneficiado que prevengan la contaminación por microorganismos deteriorativos y patógenos en la vainilla, conservando la inocuidad, atributos de calidad y sensoriales que se requieren para garantizar su comercialización.

AGRADECIMIENTOS

A los productores de vainilla de la región del Totonacapan, Puebla-Veracruz, México, al Fondo SAGARPA-CONACYT, por el financiamiento del proyecto: Mejoramiento de la productividad integral del cultivo de vainilla en México, que fortalezca su competitividad (Clave 190442). Subproyecto (SP09): Implementación de estudios de inocuidad y control de procesos y su impacto sobre el perfil sensorial de la vainilla mexicana.

Cuadro 3. Índices de diversidad y microflora presente en silicuas de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews utilizando diferentes sistemas de beneficiado.

Beneficio	Microorganismos	Índices de diversidad		
		H'	D	SChao ₁
BR1	<i>Pantoea</i> spp. <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Citrobacter amalonaticus</i>	1.23	0.70	4
BR2	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Citrobacter amalonaticus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Providencia stuartii</i>	1.77	0.86	17
BT	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Providencia rettgeri</i>	1.27	0.84	11
BST	<i>Acinotobacter baumannii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Escherichia coli</i>	1.28	0.76	4

Donde BR1, BR2, corresponde a los beneficiados rústicos, BT beneficiado tradicional y BST beneficiado semitecnificado. H': índice Shannon-Wiener, D: Índice de Simpson, Schao₁: índice de Chao.

LITERATURA CITADA

- Abu-Ghazaleh, B. M. 2006. Inhibition of *Citrobacter freundii* by lactic acid, ascorbic acid, citric acid, *Thymus vulgaris* extract and NaCl at 31 °C and 5 °C. *Annals of Microbiology* 56: 261-267.
- Anilkumar, A. 2004. Vanilla cultivation: A profitable agribased enterprise. *Kerala Calling* 2: 26-30.
- Azofeifa J., Paniagua A. García J. 2014. Importancia y desafíos de la conservación de *Vanilla* spp. (Orquidaceae) en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*, 25 189-202.
- Dignum M., Kerler J. Verpoorte R. 2001. Vanilla production: technological, chemical, and biosynthetic aspects. *Food Reviews International*, 17: 119-120.
- Fitzgerald, D.J., Stratford, M., Gasson, M.J., 2004. Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. *Journal of Applied Microbiology* 97: 104-113.
- García-Lozano, T., Plá, F.J.P., Oroval, E. 2013. *Raoultella ornithinolytica* in urinary tract infections. Clinical and microbiological study of a series of 4 oncologic patients. *Medicina Clínica*.
- Gu, F., Chen, Y., Fang, Y., Wu, G., Tan, L. 2015. Contribution of Bacillus Isolates to the Flavor Profiles of Vanilla Beans Assessed through Aroma Analysis and Chemometrics. *Molecules*, 20: 18422-18436.
- Havkin-Frenkel, D., Frenkel, C. 2006. Postharvest handling and storage of cured Vanilla beans. *Stewart Postharvest Review* 2:1-9.
- Hughes, J. B., Hellmann, J. J., Ricketts, T. H., & Bohannon, B. J. 2001. Counting

- the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Applied and environmental microbiology*, 67: 4399-4406.
- Hunter P. Gaston M. 1988. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *Journal of clinical microbiology*. 26 : 2465-2466.
- Jiménez, O., Contreras, N., Rodríguez, C. 2007. Identificación y caracterización de *Pantoea agglomerans* aislada en plantas de gloxinia (*Gloxinia alba*). *Bioagro*, 19, 53-57.
- Luna-Guevara, L., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, E., Torres, A., Avelino-Flores, F., Navarro-Ocaña, A., Parada-Guerra, F. (2012). Diversity of enterobacteria associated with tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) fruits and greenhouse soils. *Scientia Agropecuaria*, 3: 161-169.
- McKee, L.H. 1995. Microbial contamination of spices and herbs: a review. *LWT-Food Science and Technology*. 28: 1-11.
- NOM-182-SCFI-2011. Norma Oficial Mexicana NOM-182-scfi-2011, Vainilla de Papantla, extractos y derivados-especificaciones, información comercial y métodos de ensayo.
- Odoux E., 2011 Vanilla curing. *Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles*. Vanilla Ed. Odoux E. and Grisoni M. Florida.173 p.
- Pla, L. 2006. Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 31: 583-590.
- Ranadive A. S.1994. Vanilla cultivation, curing, chemistry, technology and commercial products. Vol 34. 517-577. En Charalambous G. (ed.) *Developments in food science*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Holanda.
- Roling W. Kerler J. 2001. Microorganisms with a taste for vanilla: microbial ecology of traditional Indonesian vanilla curing. *Applied and environmental microbiology*. 5(67): 1995-2002
- Rupasinghe, H., Boulter-Bitzer, J., Ahn, T., Odumeru, J. 2006. Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples. *Food Research International* 39:575-580.
- SAGARPA .2010. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Estudio de oportunidades de mercado internacional para la vainilla mexicana. Consultado: el 15 de noviembre 2015. En: http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/VAINILLA.pdf
- Sarter S. 2011 *Microbial Safety of Cured Vanilla Beans .Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles*. Vanilla Ed. Odoux E. and Grisoni M. Florida. 229 p.
- Shannon C. E., Weaver, W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Ed. University Illinois Press. Urbana IL. USA
- Te Giffel, M. C., Beumer, R. R., Leijendekkers, S., Rombouts, F. M.1996. Incidence of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* in foods in the Netherlands. *Food Microbiology*, 13: 53-58.
- Tombe, M., Nurawan, A., Nazarudin, S. B., Tsuchiya, K., Oniki, M., Matsumoto, K. 1991. Experiments on the introduction of biological and cultural control of stem rot disease of vanilla. *Industrial Crops Research Journal (Indonesia)*.
- Tschape, H.; Prager, R.; Streckel, W.; Fruth, A.; Tietze, E.; Bohme, G. 1995. Verotoxinogenic *Citrobacter freundii* associated with severe gastroenteritis and cases of hemolytic uremic syndrome in a nursery school: green butter as the infection source. *Epidemiology and Infection* 114: 441-450.



VARIACIÓN DE AROMA EN *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews SILVESTRE Y CULTIVADA

AROMA VARIATION IN WILD AND CULTIVATED *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews

Herrera-Cabrera, B.E.^{1*}; Hernández-Ruiz, J.¹; Delgado-Alvarado, A.¹

¹Postgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados - Campus Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla No. 25, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla. CP 72760, México.

Autor de correspondencia: behc@colpos.mx

RESUMEN

En México se localiza el acervo genético primario de *Vanilla planifolia*, lo que sugiere la existencia de variación aromática. Se evaluaron diferentes cultivares y parientes silvestres de *V. planifolia*, para determinar la variación de los cuatro fitoquímicos que definen la calidad del aroma en frutos beneficiados procedentes de la región del Totonacapan Puebla-Veracruz y de Oaxaca, México. Se cuantificaron compuestos fenólicos: vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído, *p*-hidroxibenzoico, mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Se compararon 25 recolectas de cultivares de Puebla-Veracruz, en contraste con seis sitios de poblaciones silvestres de Oaxaca. La variación aromática en cultivares esta determinada por seis grupos que corresponden a cinco grupos genotípicos, los cuales han disminuido la concentración de los tres compuestos menores (CM): ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vanílico e *p*-hidroxibenzaldehído, en relación al contenido de vainillina. La variación aromática en poblaciones silvestres está definida por cuatro grupos, donde el aroma responde a la existencia de mayor concentración de compuestos menores en relación a vainillina.

Palabras clave: ambiente, compuestos aromáticos, Oaxaca, Puebla, Veracruz.

ABSTRACT

The primary gene pool of *Vanilla planifolia* is located in Mexico, suggesting the existence of aromatic variation. Different varieties and wild relatives of *V. planifolia* were evaluated, to determine the variation of the four phytochemicals that define the quality of the aroma in cured fruits from the region of Totonacapan Puebla-Veracruz and Oaxaca, Mexico. Phenolic compounds were quantified: vanillin, vanillic acid, *p*-hydroxybenzaldehyde, *p*-hydroxybenzoic, through high pressure liquid chromatography (HPLC). Twenty-five harvests from varieties in Puebla-Veracruz were compared, in contrast with six sites of wild populations in Oaxaca. The aromatic variation in varieties is determined by six groups that correspond to five genotypic groups, which have decreased the concentration of the three minor compounds (MC): *p*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid and *p*-hydroxybenzaldehyde, in relation to the vanillin content. The aromatic variation in wild populations is defined by four groups, where the aroma responds to the existence of a higher concentration of minor compounds compared to vanillin.

Keywords: environment, aromatic compounds, Oaxaca, Puebla, Veracruz.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 10-17.

INTRODUCCIÓN

Dada la importancia del aroma en la industria de alimentos y perfumes de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) (Reineccius 1995; Walton *et al.* 2003), existe un esfuerzo a nivel global para caracterizar su diversidad (Bory *et al.* 2007) específicamente la variación entre y dentro de poblaciones. Debido a la alta concentración y participación en el aroma de la vainilla, los compuestos fenólicos vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), *p*-hidroxibenzaldehído, ácido vaníllico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico) y ácido *p*-hidroxibenzoico (Bettazzi *et al.* 2006; Sinha *et al.* 2008), determinan la calidad aromática de los frutos (silicuas), no obstante, con el objetivo de confirmar si la variación quimiотípica registrada por Salazar-Rojas *et al.* (2011) está controlada genéticamente, Herrera-Cabrera *et al.* (2012) evaluaron 14 loci microsatélites en los quimiотipos. De los cuales, 13 resultaron polimórficos y uno monomórfico. También tuvieron un amplio rango de variación del índice de contenido polimórfico (PIC) entre 0.2 y 0.7 para los loci más informativos, con promedio de 0.46, además, registraron 44 alelos observados y 11 de alelos exclusivos. La dispersión de las recolectas a partir de datos moleculares, coincidió con el patrón de agrupamiento derivado de caracteres aromáticos, lo cual indicó que la variación quimiотípica registrada está controlada genéticamente (Herrera-Cabrera *et al.* 2012) (Figura 3). México al ser considerado centro de origen de vainilla (Verpoorte, 2011) conserva el acervo genético primario de la especie (Soto-Arenas 1999), el cual se conforma de cultivares y parientes silvestres, ligados con la cultura y sociedad Totonaca, quienes han mantenido el germoplasma en sistemas tradicionales de cultivo, por al menos los últimos 250 años (Hágsater *et al.*, 2005; Bory *et al.*, 2007). El proceso de selección de plantas basado principalmente en el aroma origino variación quimiотípica en el germoplasma de vainilla en la región del Totonacapan (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). Sin embargo, en esta región no se han reportado especímenes en estado silvestre (Cibrián-Jaramillo 1999; Schlüter, 2007). En contraste, la mayoría de las recolectas de vainilla identificadas como silvestres provienen del estado de Oaxaca (Soto-Arenas, 1999; Schlütter, 2007) donde los frutos se recolectan para uso local en comunidades de la Sierra Mazateca y Chinanteca en la región noreste del estado (Soto-Arenas, 1999). Este tipo de aprovechamiento es característico para los parientes silvestres, que son recolectadas cuando es necesario y se mantienen en los campos donde fueron encontradas (Vodouhè *et*

al., 2011). En plantas de reproducción clonal como vainilla, mango, orégano y kava, la generación de variantes químicas (quimiотipos), puede darse por la selección dirigida enfocada a seleccionar características utilitarias de la planta (Fitzgerald *et al.*, 2009; Sagar *et al.*, 2009; Herrera-Cabrera *et al.*, 2012), y en poblaciones silvestres relacionando la variación aromática con aspectos ambientales (Pluhár *et al.*, 2007; Llorens *et al.*, 2014; Tuttolomondo *et al.*, 2014). Con base en lo anterior, se evaluó la variación aromática en frutos beneficiados de cultivares y parientes silvestres de *Vanilla planifolia* en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en Oaxaca, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las características de los frutos beneficiados de vainilla, que permitieron comparar los resultados, fueron la edad de los frutos a la cosecha, método de beneficiado, semejanza de condiciones y tiempo de almacenamiento y método de extracción. Lo anterior con el fin de garantizar que la evaluación de los compuestos que determinan el aroma no fuese afectado por factores más influyentes en la concentración de los compuestos aromáticos en los frutos de vainilla (Ranadive 1992), y atribuir la variación fitoquímica a dos fuentes de variación: la recolecta y origen geográfico. Se consideraron los resultados obtenidos del análisis de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de Salazar-Rojas *et al.* (2011), en silicuas beneficiadas de 25 accesiones de cultivares de vainilla provenientes de la región Totonacapan (Puebla-Veracruz). Los cuales se contrastaron con el análisis de HPLC realizado a frutos provenientes de seis sitios de *V. planifolia* silvestre del estado de Oaxaca (Cuadro 1).

Cuantificación de los componentes del aroma

Flores de *V. planifolia* se polinizaron manualmente para obtener frutos, las cuales se recolectaron 28 semanas después y se sometieron a beneficiado tradicional. Con las silicuas beneficiadas de cultivares y parientes silvestres se elaboraron extractos, a los cuales se les evaluó el aroma de vainilla mediante los cuatro compuestos aromáticos que definen su calidad: ácido *p*-hidroxibenzoico (C1), ácido vaníllico (C2), *p*-hidroxibenzaldehído (C3) denominados compuestos menores y vainillina (C4) compuesto mayoritario por HPLC (Bettazzi *et al.* 2006; Sharma *et al.* 2006). Además de seis índices: la sumatoria de compuestos menores ($\sum CM = C1 + C2 + C3$), la proporción total de compuestos menores entre contenido de vainillina ($\sum CM / C4$) y la interacción de los compuestos menores en proporción al contenido de

Cuadro 1. Características agroclimáticas de los sitios de recolecta de *V. planifolia* en Oaxaca, México.

Sitio	Clima	Precipitación media anual (mm)	Altitud (m)	Régimen de humedad del suelo [†]	Zona ecológica
Cerro caída	Am	>4000	109	Údico Tipo I	Templada húmeda
Cerro hoja	Am	>4000	200	Údico Tipo I	Templada húmeda
Usila	Am	2500-4000	148	Údico Tipo I	Templada húmeda
Lalopa	A(f)	1500-2000	885	Údico Tipo II	Templada húmeda
Cerro azul	Am	1500-2000	329	Ústico	Tropical húmeda
Pluma Hidalgo	Aw1	1500-2000	920	Ústico	Templada húmeda del pacífico

[†]Údico tipo I: 330 a 365 días de humedad, Údico tipo II: 270 a 330 días de humedad, Ústico 270 a 180 días de humedad.

vainillina a través de índices (C1/C4, C2/C4, C3/C4, C1+C2/C4).

Se realizaron dos diseños estadísticos: 1) Análisis del efecto del ambiente sobre la concentración de compuestos aromáticos de *V. planifolia*. Para lo cual se consideró a la zona ecológica como fuente de variación, y 2) Análisis de la concentración de compuestos aromáticos en las recolectas de los cultivares *V. planifolia*; en el caso de las poblaciones silvestres se consideró el sitio como fuente de variación. En ambos casos, los datos se analizaron mediante un modelo equivalente al diseño completamente al azar, desbalanceado (SAS, 2002). La estadística multivariada de los caracteres de los cultivares y poblaciones silvestres, se realizó mediante un análisis de conglomerados (Sneath y Sokal, 1973) con distancia euclidiana y ligamento promedio como medida de distancia y método de agrupamiento mediante SAS v 9.1 (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En *V. planifolia* la utilización de loci microsatélites permitió relacionar la variación quimiográfica identificada con variación genética a nivel infraespecífico expresada en cinco genotipos cultivados en la región Totonacapan (Herrera-Cabrera et

al., 2012). Donde el genotipo GVI correspondió al quimiotipo Q1, el genotipo GV al Q2 y Q3, el genotipo GIV al Q4, el genotipo GIII al Q6, y el genotipo GII al Q5 (Herrera-Cabrera et al., 2012). El efecto de la zona ecológica sobre el contenido de compuestos fenólicos en los cultivares de *V. planifolia*, comprobó que únicamente existe diferencia significativa ($p < 0.001$) sobre la concentración de ácido vanílico (Salazar-Rojas et al., 2011). El efecto de la zona ecológica para las poblaciones silvestre mostro que existe diferencia significativa ($p < 0.001$) sobre la concentración de ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído, vainillina, su-

matoria de compuestos menores y la interacción *p*-hidroxibenzaldehído/vainillina (Cuadro 2).

La mayoría de estudios de calidad aromática se basan en evaluaciones de ejemplares cultivados (Sinha et al., 2008; Salazar-Rojas et al., 2011), en los cuales el único compuesto que reporta variación influenciada por el lugar del cultivo había sido ácido vanílico (Ranadive, 1992), por lo cual se infiere que la variación aromática en los cultivares de México podría estar determinada por un proceso de selección y domesticación realizado por grupos Totonacos (Herrera-Cabrera et al., 2012), los cuales han mantenido el

Cuadro 2. Medias y coeficientes de variación por zona ecológica de las 10 variables evaluadas en cultivares y poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

Variable	Cultivares Media / C.V.	Poblaciones silvestres Media / C.V.
Ac. <i>p</i> -hidroxibenzóico (C1) (ppm)	79.70 ^{NS} / 25.7	258.6** / 14.4
Ac. vanílico (C2) (ppm)	586.90** / 20.5	829.5** / 17.0
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído (C3) (ppm)	459.90 ^{NS} / 33.4	638.2** / 21.8
Vainillina (C4) (ppm)	13701.00 ^{NS} / 17.8	16208.4** / 14.2
$\sum CM = C1 + C2 + C3$ (ppm)	1126.40 ^{NS} / 24.3	1726.4** / 9.0
Ac. <i>p</i> -hidroxibenzóico/vainillina	0.01 ^{NS} / 31.4	0.01 ^{NS} / 19.8
Ac. vanílico/vainillina	0.04 ^{NS} / 11.8	0.05 ^{NS} / 19.8
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído/vainillina	0.03 ^{NS} / 35.7	0.03** / 25.6
(C1+C2)/C4	0.05 ^{NS} / 12.5	0.07 ^{NS} / 13.0
$\sum CM$ / Vainillina	0.08 ^{NS} / 18.3	0.10 ^{NS} / 19.1

**= $P < 0.01$, NS=estadísticamente no significativo, C.V.=coeficiente de variación, CM=compuestos menores.

germoplasma en sistemas tradicionales de cultivo y producción durante los últimos 250 años (Hágsater *et al.*, 2005; Bory *et al.*, 2007). En las poblaciones silvestres de *V. planifolia* que se distribuyen principalmente en Oaxaca (Schlüter, 2007), la variación aromática podría estar determinada principalmente por el ambiente, dado que en éstas, el aroma es resultado del proceso de adaptación ambiental para garantizar su supervivencia y reproducción (Chartier *et al.*, 2013; Tuttolomondo *et al.*, 2014). El análisis del efecto de las recolectas en los cultivares sobre el contenido de compuestos aromáticos evidenció que todas las variables evaluadas presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$). De igual manera para las poblaciones silvestres, el efecto del sitio de procedencia sobre el contenido de compuestos aromáticos demostró diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) en cada variable analizada (Cuadro 3).

En los cultivares de *V. planifolia* a una distancia euclidiana de 0.8, Salazar-Rojas *et al.* (2011) reportan variación aromática constituida por seis grupos (Figura 1) atribuido al proceso de selección de los productores Totonacos basado en el aroma, y apoyado en la reproducción asexual, con lo que han generado variación quimiopática determinada genéticamente en el germoplasma de *V. planifolia* (Herrera Cabrera *et al.*, 2012). La descripción de la variación aromática que define a los cultivares de *V. planifolia* en México realizada por Salazar-Rojas *et al.* (2011) y Herrera Cabrera *et al.* (2012) fue:

Genotipo GVI o Quimiotipo 1 (Q1), representado por el germoplasma Vp-3, el cual se caracteriza por presentar la concentración más alta

Cuadro 3. Medias y coeficientes de variación por sitio de las diez variables evaluadas en cultivares y poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

Variable	Cultivares media / C.V.	Poblaciones silvestres media / C.V.
Ac. <i>p</i> -hidroxibenzóico (C1) (ppm)	79.70** / 13.2	258.62** / 12.4
Ac. vanílico (C2) (ppm)	586.90** / 7.5	829.56** / 11.2
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído (C3) (ppm)	459.90** / 16.9	638.28** / 11.6
Vainillina (C4) (ppm)	13701.00** / 6.8	16208.47** / 6.5
$\sum CM = C1 + C2 + C3$ (ppm)	1126.40** / 10.2	1726.46** / 8.4
Ac. <i>p</i> -hidroxibenzóico/vainillina	0.01** / 12.7	0.02** / 13.8
Ac. <i>p</i> -vanílico/vainillina	0.04** / 3.6	0.05** / 15.3
<i>p</i> -hidroxibenzaldehído/vainillina	0.03** / 15.1	0.03** / 14.8
(C1+C2)/C4	0.05** / 4.2	0.07** / 13.2
$\sum CM / Vainillina$	0.08** / 7.8	0.10** / 12.2

**= $P < 0.01$, NS=estadísticamente no significativo, C.V.=coeficiente de variación, CM=compuestos menores.

de ácido *p*-hidroxibenzóico (127 mg kg^{-1}), alta concentración de *p*-hidroxibenzaldehído (794 mg kg^{-1}) y ácido vanílico (703 mg kg^{-1}), así como, bajo contenido de vainillina (12684 mg kg^{-1}). Presenta la participación más alta de compuestos menores en el aroma del extracto en relación al contenido de vainillina (12%) lo cual le asigna "notas dulces y florales" al aroma global (Figura 1). Se distribuye en zonas con una precipitación media anual cercana a 1751 mm y clima tipo cálido húmedo.

Genotipo GV o Quimiotipo 2 (Q2). Corresponde a la recolecta Vp-19, la cual se distingue por presentar contenido medio de ácido *p*-hidroxibenzóico (86 mg kg^{-1}), alta concentración de ácido vanílico (716 mg kg^{-1}) y *p*-hidroxibenzaldehído (733 mg kg^{-1}) y mayor contenido de vainillina (18657 mg kg^{-1}). En su aroma predomina la presencia de vainillina y hay participación media de compuestos menores (8%) (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo, temperatura media anual mayor a $22 \text{ }^\circ\text{C}$ y precipitación media anual de 1351 mm .

Genotipo GV o Quimiotipo 3 (Q3). Integrado por las recolectas Vp-15, Vp-7. Se identifican por presentar contenido de ácido hidroxibenzóico en un rango de 85 a 100 mg kg^{-1} , altas concentraciones de ácido vanílico (782 - 861 mg kg^{-1}), medio-bajas de *p*-hidroxibenzaldehído (344 - 498 mg kg^{-1}) y alto contenido de vainillina (16727 - 17004 mg kg^{-1}). En su aroma hay participación media de compuestos menores (8%) predominan ligeramente las notas de vainillina (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo a semicálido húmedo y precipitación media anual de entre 1351 - 2751 mm .

Genotipo GIV o Quimiotipo 4 (Q4). Integrado por las recolectas Vp-8, Vp-12, Vp-10, Vp-24, Vp-11, Vp-25, reconocidas por presentar contenido medio-bajo de ácido *p*-hidroxibenzóico (66 - 90 mg kg^{-1}), bajas concentraciones de ácido vanílico (391 - 580 mg kg^{-1}), concentraciones medio-altas de *p*-hidroxibenzaldehído (497 - 600 mg kg^{-1}) y contenido medio-bajo de vainillina (10407 - 14344 mg kg^{-1}). En su aroma hay una participación media-alta de

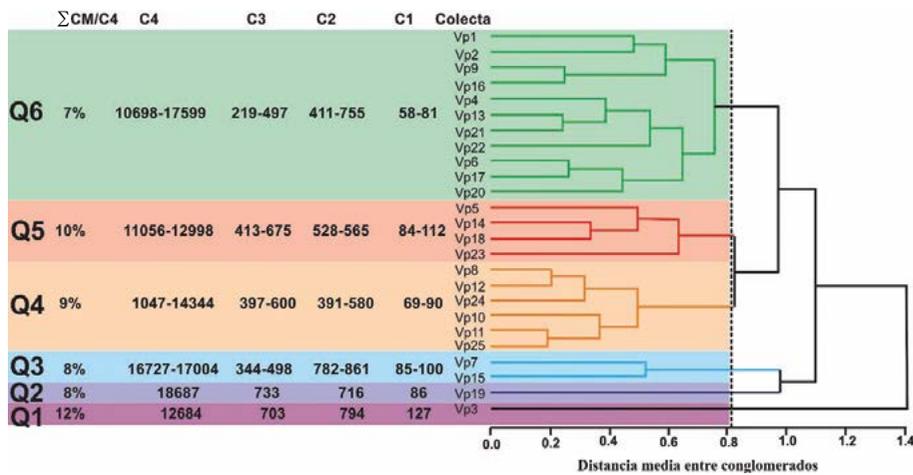


Figura 1. Dendrograma y agrupación de 25 cultivares de *Vanilla planifolia* en el Totonacapan Puebla-Veracruz, México, con base en el promedio de 10 variables y agrupamiento por distancias de similitud. (C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vanílico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, ΣCM/C4: proporción de compuestos menores por contenido de vainillina).

compuestos menores (≈9%) que asigna notas suaves, semejantes a canela (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo y precipitación media anual de entre 1000-2751 mm.

Genotipo GII o Quimiotipo 5 (Q5). Integrado por las recolectas Vp-5, Vp-18, Vp-14, Vp-23, que se caracteriza por contenido medio-alto de ácido *p*-hidroxibenzóico (84-112 mg kg⁻¹), proporciones similares de ácido vanílico (528-565 mg kg⁻¹) y *p*-hidroxibenzaldehído (413-675 mg kg⁻¹) y contenido medio-bajo de vainillina (11056-12998 mg kg⁻¹). En su aroma hay participación alta de compuestos menores (≈10%) que le confiere notas dulces achocolatadas (Figura 1). Se distribuye en zona con clima cálido húmedo a semicálido húmedo y precipitación media anual de entre 1351-35021 mm.

Genotipo GIII o Quimiotipo 6 (Q6). Integrado por las recolectas: Vp-4, Vp-6, Vp-17, Vp-20, Vp-13, Vp-21, Vp-22, Vp-1, Vp-2, Vp-9 y Vp-16 distinguidas por presentar los contenidos más bajos de ácido *p*-hidroxibenzóico (58-81 mg kg⁻¹), y *p*-hidroxibenzaldehído (219-497 mg kg⁻¹), amplio rango de concentraciones de ácido vanílico (411-755 mg kg⁻¹), y contenido variable de vainillina, de bajo a alto (10698-17599 mg kg⁻¹). En su aroma hay participación media-baja de compuestos menores (7-8%) (Figura 1), y se distribuye

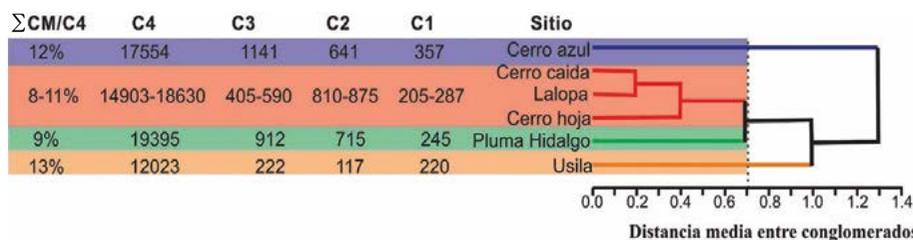


Figura 2. Dendrograma y agrupación por sitios de recolecta de plantas silvestres de *Vanilla planifolia* en Oaxaca, México, con base en el promedio de 10 variables y agrupamiento por distancias de similitud. (C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vanílico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, ΣCM/C4: proporción de compuestos menores por contenido de vainillina).

en zonas con clima cálido húmedo con rango de precipitación media anual de 1000 a 4000 mm.

Para los sitios de plantas silvestres de *V. planifolia* se observó que a través del análisis de conglomerados a una distancia media del conglomerados de 0.7 se definieron cuatro grupos (Figura 2).

Grupo I (CA). Representado por el sitio Cerró azul, caracterizado por presentar la concentración más alta de ácido *p*-hidroxibenzóico (357 mg kg⁻¹) y de *p*-hidroxibenzaldehído (1141 mg kg⁻¹), así como bajo contenido de ácido vanílico (651 mg kg⁻¹). Posee un contenido de vainillina de 17574 mg kg⁻¹. La interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina (ΣCM/vainillina) es de 12% (Figura 2). Se localiza donde las características del ambiente son trópico húmedo con precipitación media anual de 1500 a 2000 mm.

Grupo II (CLC). Integrado por los sitios Cerro caída, Cerro hoja y Lalopa, que se caracteriza por presentar una concentración de ácido *p*-hidroxibenzóico de 204 a 287, *p*-hidroxibenzaldehído en un rango de 405 a 590 mg kg⁻¹, la concentración de ácido vanílico oscila de 810 a 875 mg kg⁻¹. Posee un contenido de vainillina de 14742 a 18630 mg kg⁻¹. La interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina (ΣCM/vainillina) es de 8% a 11%. (Figura 2). Estos sitios se ubican en ambientes templados húmedos y precipitación media anual de 1500 a 4000 mm.

Grupo III (PH). Lo conforma el sitio de Pluma Hidalgo. Se caracteriza por presentar una concentración

intermedia de ácido *p*-hidroxibenzóico (245 mg kg⁻¹) y ácido vanílico (715 mg kg⁻¹) y la segunda mayor concentración de *p*-hidroxibenzaldehído (912 mg kg⁻¹). Posee el contenido de vainillina más elevado (19395 mg kg⁻¹). La interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina ($\sum CM / \text{vainillina}$) de 9%. (Figura 2). El sitio se localiza en ambiente templado húmedo del pacífico con precipitación media anual de 1500 a 2000 mm.

Grupo IV (U). Lo representa el sitio de Usila, y se caracteriza por presentar una concentración de ácido hidroxibenzóico de 220 mg kg ($\sum CM / \text{vainillina}$), la concentración más baja de *p*-hidroxibenzaldehído (222 mg kg⁻¹), la más elevada de ácido vanílico (1117 mg kg⁻¹), posee un contenido de vainillina (12023 mg kg⁻¹), y la interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina ($\sum CM / \text{vainillina}$) de 13%. (Figura 2). Este sitio se ubica en ambientes templado húmedo con precipitación media anual de 2500 a 4000 mm.

Basado en las características aromáticas de los cultivares y poblaciones silvestres de *V. planifolia*, se observa que el material cultivado en la región Totonacapan, posee una menor concentración de compuestos menores en relación a vainillina, mientras que el material silvestre posee valores más altos en la proporción de compuestos menores en relación a la vainillina (Cuadro 3). Dentro de los cultivares de la región del Totonacapan se observó que la participación de compuestos menores en el aroma ha

disminuido desde materiales con características "silvestres" como el genotipo GVI o Q1 con una interacción de la sumatoria de compuestos menores sobre el contenido de vainillina ($\sum CM / C4$) de 12%, hasta ejemplares altamente modificados como el genotipo III o Q6 que posee la $\sum CM / C4$ de 7% (Cuadro 4). Lo anterior sugiere que en los cultivares a través de un proceso de selección basado en el aroma y apoyado en la reproducción clonal (asexual) de las variantes biológicas, los productores totonacos han construido y preservado variación quimiotípica/genotípica en el germoplasma de *V. planifolia*. En poblaciones silvestres de *V. planifolia*, se observó que existe participación elevada de compuestos menores en el aroma del extracto en relación al contenido de vainillina, principalmente en los grupos aromáticos U (13%) y CA (12%) (Cuadro 4), lo cual le asigna notas dulces y florales al aroma global.

Debido a que en condiciones silvestres las poblaciones de vainilla no han sido sometidas a un proceso de selección, se infiere que la variación aromática es determinada por el ambiente y posiblemente sirva para garantizar la supervivencia y reproducción de la especie (Chartier *et al.*, 2013; Tuttolomondo *et al.*, 2014). El contraste de la variación aromática en cultivares y poblaciones silvestres de vainilla podría explicarse, debido a que en cultivos de especies con reproducción vegetativa o clonal, la selección humana ha influido en la elección de las características utilitarias de la planta madre que origina el material vegetativo (Lebot y Levesque, 1996).

Cuadro 4. Principales características aromáticas de cultivares y poblaciones silvestres de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. C1: ácido *p*-hidroxibenzóico, C2: ácido vanílico, C3: *p*-hidroxibenzaldehído, C4: vainillina, $\sum CM / C4$: proporción de compuestos menores por contenido de vainillina.

Grupo aromático/cultivar	C1	C2	C3	C4	$\sum CM / C4$ (%)
	(ppm)				
GIII ¹ / Q6 ²	58-81	411-755	219-497	10698-17599	7
GV ¹ / Q3 ²	85-100	782-861	344-498	16727-17004	8
GV ¹ / Q2 ²	86	716	733	18657	8
GIV ¹ / Q4 ²	66-90	391-580	497-600	10407-14344	9
GII ¹ / Q5 ²	84-112	528-565	413-675	11056-12998	10
GVI ¹ / Q1 ²	127	794	703	12684	12
Silvestres					
U	220	1117	222	12023	13
CA	357	641	1141	17554	12
CLC	204-287	810-815	405-590	14903-18630	8-11
PH	245	715	912	19395	9

¹ Herrera Cabrera *et al.*, 2012; ² Salazar-Rojas *et al.*, 2011.

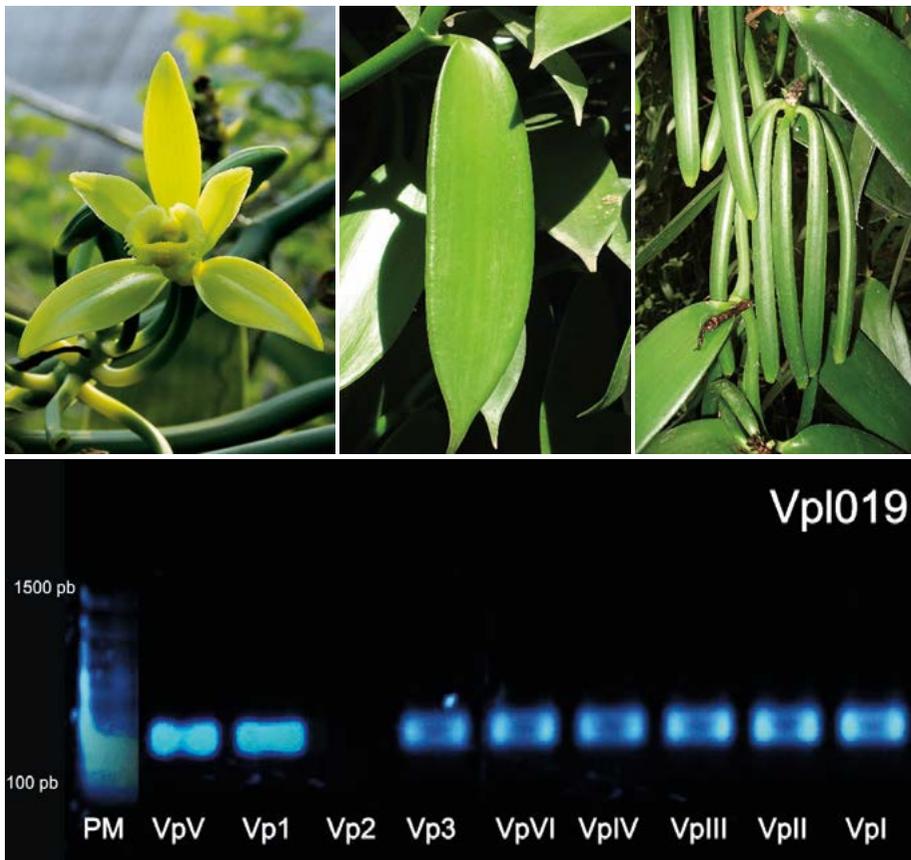


Figura 3. Flor, hoja, y fruto representativo de los quimiotipos de *Vanilla planifolia*, y gel representativo que muestra la amplificación de los perfiles de marcadores de tipo microsatélite (agarosa (1.2%). Las muestras corresponden a productos amplificados del primer VpI019. Quimiotipos de *V. planifolia*. PM=Peso molecular. Vp1=*V. planifolia* rayada, Vp2=*V. pompona grandiflora*, Vp3=*V. insignis*, VpI=de *V. planifolia* Quimiotipo 1, VpII=de *V. planifolia* Quimiotipo 2, VpIII=de *V. planifolia* Quimiotipo 3, VpIV=de *V. planifolia* Quimiotipo 4, VpV=de *V. planifolia* Quimiotipo 5, VpVI= de *V. planifolia* Quimiotipo 6.

Así, el aroma ha sido un aspecto altamente valorado por los agricultores desde tiempos remotos, que ha funcionado como criterio de selección contribuyendo a la generación de variantes químicas (quimiotipos) en cultivares como arroz (*Oryza sativa*), kava (*Piper methysticum*) y algunas especias (Lebot y Levesque, 1996; Fitzgerald *et al.*, 2009; Sagar *et al.*, 2009). Así mismo, en especies silvestres la variación aromática se relaciona con aspectos ambientales (Boira y Blanquer, 1998; Pluhár *et al.*, 2007; Llorens *et al.*, 2014; Tuttolomondo *et al.*, 2014), especialmente en poblaciones con reproducción clonal, los cuales pueden presentar plasticidad fenotípica por variadas condiciones abióticas (Majetic *et al.*,

2009; Kulkarni *et al.*, 2012), ya que los precursores de los compuestos volátiles pueden ser influenciados por el ambiente (Figueiredo *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

En México la variación aromática en cultivares de *V. planifolia* está determinada por seis grupos que corresponden a cinco genotípicos, los cuales provienen de un proceso de selección-domesticación realizado por grupos de la cultura Totonaca, durante el cual se sugiere que se ha modificado la concentración de los tres compuestos menores (ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vaníllico y *p*-hidroxibenzaldehído) sobre el contenido de vainillina.

La variación aromática de poblaciones silvestres en Oaxaca, lo conforman cuatro grupos, donde la fluctuación del ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído y vainillina se encuentran determinados por el ambiente, sin embargo, el aroma responde a la existencia de mayor concentración de compuestos menores en relación a vainillina.

En México centro de origen de vainilla, existe variación genética y fitoquímica, fundamental para el diseño de un programa de mejoramiento genético que permita optimizar los beneficios del cultivo a sus usuarios y contribuir con la conservación de la diversidad del pool genético primario de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT: 2012-04-190442. "Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México (SP-04)"

LITERATURA CITADA

- Bettazzi F., Palchetti I., Sisalli S., Mascini M. 2006. A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta* 555:134-138.
- Boira H., Blanquer A. 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical systematics and ecology* 26:811-822.
- Bory S., Grisoni M., Duval M.F., Besse P. 2007. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55:551-571.
- Chartier M., Pélozuelo L., Buatois B., Bessièrre, J.M., Gibernau M. 2013. Geographical variations of odour and pollinators, and test for local adaptation by reciprocal transplant of two European Arum species. *Functional Ecology* 27:1367-1381.
- Cibrián-Jaramillo A. 1999. Variación Genética de *Vanilla planifolia* en México. Tesis,

- Facultad de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, D.F. 56 p.
- Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Scheffer J.J. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 23:213-226.
- Fitzgerald M.A., McCouch S.R., Hall R.D. 2009. Not just a grain of rice: the quest for quality. *Trends in plant science* 14:133-139.
- Hágsater E., Soto-Arenas M.A., Salazar-Chávez G.A., Jiménez-Machorro R., López-Rosas M.A., Dressler R.L. 2005. Las orquídeas de México. Instituto Chinoín México, D.F. 304 p.
- Herrera-Cabrera B.E., Salazar-Rojas V.M., Delgado-Alvarado A., Campos-Contreras J., Cervantes-Vargas J. 2012. Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. *European Journal of Environmental Sciences* 2:37-44.
- Kulkarni R.S., Chidley H.G., Pujari K.H., Giri A.P., Gupta V.S. 2012. Geographic variation in the flavour volatiles of Alphonso mango. *Food Chemistry* 130:58-66.
- Lebot V., Levesque J. 1996. Genetic control of Kavalactones chemotypes in *Piper methysticum* cultivars. *Phytochemistry* 43:397-403.
- Llorens L., Llorens-Molina J.A., Agnello S., Boira H. 2014. Geographical and environment-related variations of essential oils in isolated populations of *Thymus richardii* Pers. in the Mediterranean basin. *Biochemical Systematics and Ecology* 56:246-254.
- Majetic C.J., Raguso R.A., Ashman T.L. 2009. Sources of floral scent variation. *Plant Signaling & Behavior* 4:129-131.
- Pluhár Z., Héthelyi É., Kutta G., Kamondy L. 2007. Evaluation of environmental factors influencing essential oil quality of *Thymus pannonicus* All. and *Thymus praecox* Opiz. *Journal of Herbs, spices & medicinal Plants* 13:23-43.
- Ranadive, A. S. (1992). Vanillin and related flavor compounds in vanilla extracts made from beans of various global origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(10):1922-1924.
- Reineccius D.G. 1995. Flavor Chemistry. En: *Source Book of Flavors*. Springer Science & Business Media. New York. Pp 351-361.
- Sagar S.P., Chidley H.G., Kulkarni R.S., Pujari K.H., Giri A.P., Gupta V.S. 2009. Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. *Food Chemistry* 114:363-372.
- Salazar-Rojas V.M., Herrera-Cabrera B.E., 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 Resources and Crop Evolution* 59:875-887.
- SAS Institute. 2002. The SAS® System for Windows® (Ver. 9.0). SASInstitute Inc. Cary. NC.
- Schlüter P.M., Arenas M.A.S., Harris S.A. 2007. Genetic variation in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). *Economic Botany* 61:328-336.
- Sinha A.K., Sharma U.K., Sharma N. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 59:299-326.
- Sneath P.H., Sokal R.R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. San Francisco, USA: WH Freeman and Co. 573 p.
- Soto-Arenas M.A. 1999. Filogeografía y recursos genéticos de las vainillas de México. Instituto Chinoín AC. Informe Final SNIB-CONABIO. 106 p.
- Tuttolomondo T., Leto C., Leone R., Licata M., Virga G., Ruberto G., Bella S. L. 2014. Essential oil characteristics of wild Sicilian oregano populations in relation to environmental conditions. *Journal of Essential Oil Research* 26:210-220.
- Verpoorte R. 2011. *Prólogo En: Vanilla (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles)*. CRC Press. 420 p.
- Vodouhè R., Dansi A., Avohou H.T., Kpèki B., Azihou F. 2011. Plant domestication and its contributions to in situ conservation of genetic resources in Benin. *International Journal of Biodiversity and Conservation* 3:40-56.
- Walton N.J., Mayer M.J., Narbad A. 2003. Vanillin. *Phytochemistry* 63:505-515.

CALIDAD DE VAINILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) EMPACADA BAJO DIFERENTES PELÍCULAS PLÁSTICAS

QUALITY OF VANILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) PACKAGED WITH DIFFERENT PLASTIC FILMS

Zamora-Flores, A.L.¹; Arévalo-Galarza, L.^{1*}; García-Osorio, C.²; Ramírez-Guzmán, M.R.³; Valle-Guadarrama, S.⁴

¹Posgrado de Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo. Km. 36.5 Carretera. México-Texcoco. CP 56230 Montecillo, Edo. de México. ²Posgrado en Fruticultura, Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. CP 56230 Montecillo, Edo. de México. ³Posgrado en Estadística, Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo. Km. 36.5 Carretera. México-Texcoco. CP 56230 Montecillo, Edo. de México. ⁴Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México CP 56230.

Autor de correspondencia: larevalo@colpos.mx

RESUMEN

La venta al menudeo de vainas de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) se ha incrementado en los últimos años, sin embargo, la pérdida de humedad y aroma durante la comercialización reduce su vida de anaquel. Por lo anterior se evaluaron diferentes materiales de empaque simple o doble de celofán (C), polietileno (P) y vacío con película de polietileno (V) con una y cinco silicuas (frutos) de vainilla por bolsa durante seis meses, provenientes de dos empresas de beneficiado. Los empaques con cinco frutos perdieron menor humedad manteniendo el contenido de vainillina de forma constante. Se obtuvieron relaciones significativas entre humedad y 4-hidroxibenzaldehído (-0.77), humedad-vainillina (-0.82), y ácido 4-hidroxibenzoico-ácido vainillínico (0.88), y 4-hidroxibenzaldehído-vainillina (0.85) resultando como mejor empaque para comercializar frutos al menudeo el uso de películas dobles en cantidades mayores a una silicua.

Palabras clave: polietileno, humedad, permeabilidad, beneficiado, compuestos aromáticos.

ABSTRACT

The retail sale of vanilla pods (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) has increased in recent years; however, the loss of moisture and aroma during commercialization leads to short shelf life. Because of this, different materials for packaging were evaluated, simple or double cellophane (C), polyethylene (P) and vacuum with polyethylene film (V), with one and five vanilla siliques (fruits) per bag, packaged for six months, from two curing companies. The packaging with five fruits lost less moisture and maintained the vanillin content in a constant manner. Significant relationships were found between moisture and 4-hydroxybenzaldehyde (-0.77), moisture-vanillin (-0.82), 4-hydroxybenzoic acid-vanillic acid (0.88), and 4-hydroxybenzaldehyde-vanillin (0.85), with the use of double films resulting as the best packaging to market fruits for retail in numbers higher than one silique.

Keywords: polyethylene, moisture, permeability, curing, aromatic compounds.

INTRODUCCIÓN

La vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) es la principal fuente de vainillina, sustancia usada en la industria alimenticia, refresquera, tabacalera y farmacéutica, como agente saborizante, aromatizante, antioxidante, antimicrobiano y anticancerígeno (Dignum *et al.*, 2001; Sinha *et al.*, 2008). Las silicuas (frutos) curadas o beneficiadas tienen más de 200 compuestos volátiles, siendo los principales la vainillina, ácido vainillínico, el 4-hidroxibenzaldehído y ácido p-hidroxibenzóico, y su cuantificación es un criterio importante para verificar su calidad (Cicchetti y Chaintreau, 2009). Las cuatro características que identifican la calidad de la vainilla son el aroma, cantidad de vainillina, tamaño de la silicua y contenido de humedad, y los mejores frutos de vainilla son aquellos con alta flexibilidad y de aspecto brillante, lo cual indica un adecuado contenido de humedad que, de acuerdo con la NMX-FF-074-SCFI-2009, oscila entre 25% y 38%; además de un contenido mínimo de vainillina de 2%. La venta al menudeo de vainilla gourmet es un nicho de mercado de alta rentabilidad, sin embargo, la pérdida de humedad y deshidratación de la silicua, así como, el desarrollo de aromas desagradables reduce su vida de anaquel. Las formas de empacar la vainilla al menudeo son en tubos de vidrio, polietileno, y al vacío, sin embargo, no existen estudios que describan los cambios de calidad que determinan su vida de anaquel. Por lo anterior, se evaluó y compararon los efectos de tiempo de alma-

cenamiento de cuatro tipos de empaque para frutos de vainilla procedentes de dos compañías beneficiadoras, con el fin de registrar su efecto en el contenido de los componentes del aroma y seleccionar las películas plásticas que brindaran las condiciones óptimas para evitar o minimizar pérdidas de compuestos volátiles y humedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos o silicuas de vainilla recién beneficiadas se obtuvieron de dos empresas beneficiadoras ubicadas en Papantla, Veracruz, México. La vainilla de las empresas denominadas como 1 y 2 tuvieron condiciones iniciales de humedad de 40.8% y 46% respectivamente. Los frutos seleccionados se pesaron y empacaron en cuatro tipos de empaque; uno simple y tres con película doble descritos a continuación: a) celofán (C); b) doble capa de celofán (CC); c) celofán dentro de polietileno de baja densidad (calibre 400) (CP), y d) celofán dentro de polietileno y empacados al vacío (FoodSaver™, Corea) (CV) (Figura 1). Se evaluó la permeabilidad al vapor de agua de las películas plásticas (McHugh *et al.*, 1993; Gennadios *et al.*, 1994), con solución saturada de nitrato de potasio (Fermont®), y se midió el espesor de las películas plásticas con un micrómetro manual (Central Scientific Co., Chicago, Illinois) (Figura 1).

Las vainas empacadas se mantuvieron en condiciones de temperatura promedio de 23.6 °C y 40.5% de humedad relativa (HR), realizando evaluaciones mensuales, durante seis meses. Cada empaque se consideró una

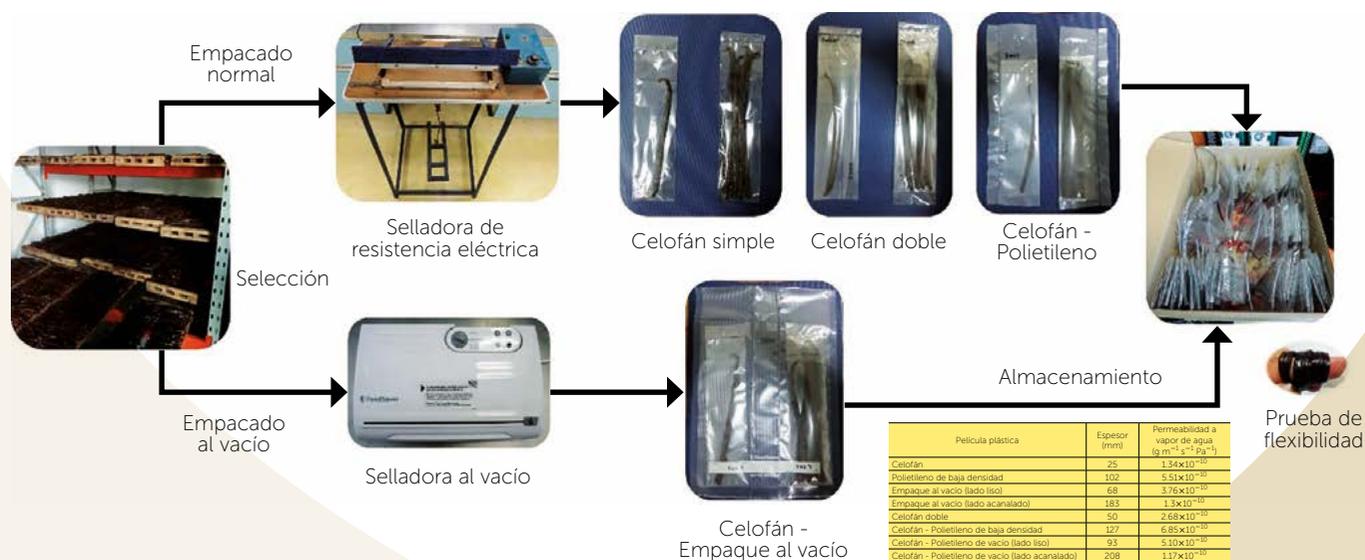


Figura 1. Proceso de empaque de frutos de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) y características de permeabilidad de las películas plásticas.

repetición, realizando tres por tipo de empaque, número de frutos y fecha. Las variables evaluadas fueron humedad (%), 4-hidroxibenzaldehído, ácido 4-hidroxibenzoico, vainillina, ácido vainillínico, y al final del almacenamiento el contenido de etanol y acetaldehído (%) y contenido de azúcares (%).

Variables

Humedad: Tres frutos de vainilla se pesaron y cortaron en secciones transversales de 1.5 cm, y se colocaron en sobres de papel glassine y se metieron en un horno de convección (Lab-Line Imperial V, Alpha Multiservices, Inc, USA) a 50 °C hasta alcanzar peso constante y calcular la humedad por diferencia de peso.

Contenido de compuestos fenólicos: Se realizó el proceso de extracción e inyección por el método modificado de Cicchetti y Chaintreau (2009), para lo cual se molieron los frutos de vainilla en un molino Custom Grind™ Deluxe, (Hamilton Beach™); posteriormente se pesaron 0.05 g, y se colocaron en frascos de vidrio de 20 mL con tapa de rosca. Se agregaron 18 mL de solución etanol-agua destilada (1:1), (alcohol etílico absoluto grado HPLC, Kara[®]), la cual se preparó 24 h antes y se mantuvo en refrigeración (4 °C). La mezcla se agitó por 30 min en una parrilla digital de agitación (Thermo Scientific™, Cimarec™, USA), y posteriormente se colocaron en refrigeración por un día. Transcurrido este tiempo las muestras se agitaron nuevamente por 5 min. Posteriormente se tomó un mililitro, que se filtró con un acrodisco (Titan™, 0.045 μm) y se colocó en un frasco de vidrio de 2 mL con tapa de rosca con septa. Los extractos de las muestras se colocaron en el automuestreador del HPLC (HPLC: High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™). Las condiciones del cromatógrafo fueron a 254 nm, 30 °C y de 25 a 30 min de tiempo de retención total, la fase móvil fue de una solución de ácido fosfórico (H₃PO₄) al 0.01 M con metanol (75:25); una columna C18 de 5 μm de dimensión de partícula y medidas de 250×4.6 mm, serie 08010034K (Perkin Elmer™), y un detector ultravioleta (Series 200, Perkin Elmer™). La solución estándar fue de etanol:agua (1:1) con 500 μg de vainillina y 100 μg de cada uno de los otros tres compuestos principales: ácido 4-hidroxibenzoico, 4-hidroxibenzaldehído y ácido vainillínico (Sigma-Aldrich, USA).

Contenido de etanol y acetaldehído: Se realizaron análisis del contenido de etanol y acetaldehído que consistió en pesar 0.3 g de fruto y colocarlos en viales de 10

mL, los cuales se sellaron. Posteriormente se colocaron a baño María por 10 min a 30 °C. Transcurrido este tiempo, se quitó la tapa y se tomó 1 mL de espacio de cabeza, y se inyectó en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer Clarus 400) con tiempo de corrida de 4 min.

Análisis de azúcares: Se realizó al final del periodo de evaluación con el método modificado de Mustafa *et al.* (2003). Para la elaboración de los extractos se pesó 1.0 g de fruto molido y se agregaron 60 ml de etanol al 80% en un matraz de 250 mL con tres perlas de ebullición, y se redujo el volumen hasta 20 mL, que se filtraron y refrigeraron por 24 h. Posteriormente los extractos se volvieron a filtrar por cartuchos de limpieza (Cromabond[®] C₁₈ec, 3mL/500mg, 60Å, 45μm, Macherey-Nagel, Alemania), y posteriormente en acrodiscos (Titan, 0.045 μm) para finalmente colocarlos en viales 2 mL con tapa y septa. Los viales se colocaron con extracto filtrado en el automuestreador del HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) (Series 200, Perkin Elmer™) para la inyección. Las condiciones del cromatógrafo fueron 40 °C, flujo de 1 mL min⁻¹, volumen de inyección de 10 μL y detector de índice de refracción (Perkin Elmer Series 200). La fase móvil fue una solución de acetonitrilo: agua (80:20) y se empleó una columna Pinnacle II Amino 5 μm 150×4.6 mm (Restek™), con un tiempo de corrida de 11.5 min. Para la realizar la curva estándar se inyectaron soluciones estándar de fructosa, glucosa y sacarosa a 99.5% (Sigma-Aldrich, USA).

Diseño experimental

Se realizó un análisis de correlación con los datos de todos los muestreos con el paquete estadístico SAS[®] v. 9.0, para conocer las variables con mayor afinidad considerando su factor de correlación y nivel de significancia. La humedad y el contenido de vainillina se seleccionaron como variables que determinan la calidad de la vainilla gourmet y se expresaron en función de las variables explicativas que tuvieron un nivel de significancia mayor de 0.05. Se empleó un diseño factorial de medidas repetidas con dos bloques (Correa, 2004), que consideró los efectos del tipo de empaque, número de frutos (silicuas) por empaque, tiempo y las interacciones entre ellos tanto para vainillina como para humedad, mediante el programa estadístico: Minitab v. 14 para realizar gráficas multivariadas entre los factores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2, se observa que la vainilla proveniente del

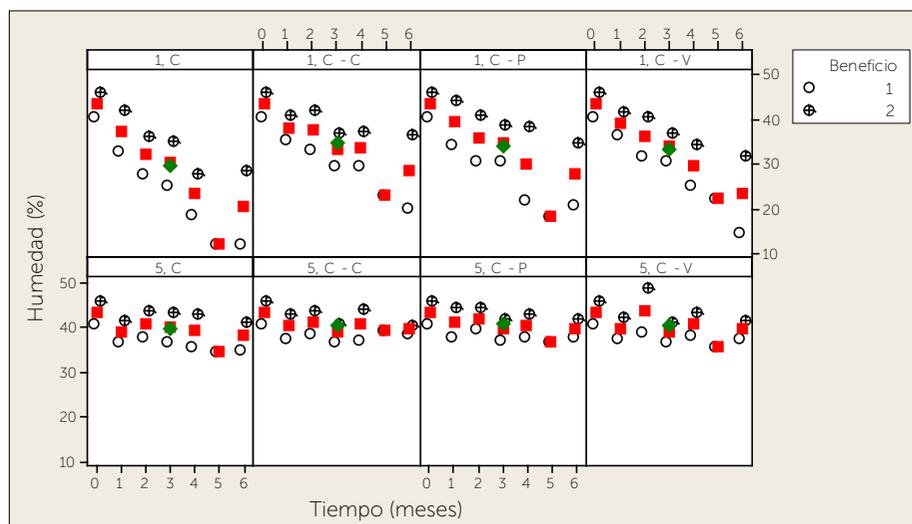


Figura 2. Multivariado para humedad, para factores beneficio, empaque, tiempo y número de frutos por empaque de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. C: Celofán, CC: Celofán doble, CP: Celofán-Polietileno, CV: Celofán-Vacío.

beneficio 1 tuvo pérdidas de humedad de 25% a 33% mayores a las del beneficio 2 en empaques con una vaina después de seis meses de almacenamiento; mientras que el uso de los empaques dobles redujo significativamente las pérdidas de 5% a 14% para el beneficio 1, y de 9% a 11% para el beneficio 2. El contenido de humedad es uno de los factores determinantes en la conservación de las silicuas curadas, ya que en un nivel adecuado reduce las posibilidades de crecimiento microbiano. La matriz de correlación, mostró correlación negativa significativa entre las variables humedad y vainillina (-0.82), si se considera que la biosíntesis de vainillina ocurre por medio de una β -oxidación, la escasez de O_2 en los empaques con cinco frutos explicaría la constante en los valores de dichos tratamientos, ya que la humedad se retiene mejor con mayor número de frutos por empaque, pero con una reducción en los niveles de O_2 la biosíntesis de vainillina se reduce.

Con relación al contenido de vainillina, el contenido inicial para ambos beneficios fue de 1.1% con incrementos consistentes en las silicuas empacadas individualmente alcanzando para las del beneficio 1, hasta 2.0% al cuarto mes en las silicuas empacadas en C y CP; y valores máximos de 1.7% y 2.0% en CC y CV respectivamente al sexto mes. Para el beneficio 2 el contenido de vainillina máximo se presentó al cuarto mes (1.7%) en las silicuas empacadas en celofán. En los empaques con cinco frutos, se presentaron niveles constantes de vainillina, aunque menores a los especificados en la norma y con incrementos máximos de solo 25% con relación al contenido inicial, para ambos beneficios (Figura 3a). Es común que en *V. planifolia* los niveles de vainillina sean inferiores a la norma; en un estudio realizado por Gassenmeier *et al.* (2008) a 93 muestras de vainillas procedentes de México, Madagascar, Indonesia, Uganda, India y Papúa Nueva Guinea, los valores de vainillina fluctuaron entre 1.1%-1.9%. Asimismo López (2013), analizó muestras con diferentes tiempos de almacenamiento y reportó que el porcentaje de vainillina (en base seca) fue mayor en frutos almacenados (1.8%) que los recién beneficiados (0.9%), lo cual indica que la biosíntesis de vainillina continúa después del curado.

La vainillina junto con el 4-hidroxi-benzaldehído son compuestos fenólicos responsables del criterio de vainillina en las vainas curadas, el cual es el más deseado bioquímicamente (Odoux y Grisoni, 2011). Aunque el contenido de vainillina es el parámetro analítico más importante en la vainilla beneficiada, los otros tres compuestos fenólicos principales son también importantes, sobre todo como parámetros de autenticidad (Gassenmeier *et al.*, 2008). En el caso del 4-hidroxibenzaldehído (Figura 3c), su contenido antes de empacar las vainas fue de 535 y 527 $mg\ kg^{-1}$ para los beneficios 1 y 2 respectivamente. Se observó un incremento consistente en los frutos empacados individualmente, sobre todo los del beneficio 1; al igual que el contenido de vainillina se observó que los frutos empacados en cinco unidades tuvieron leves incrementos entre 434 y 750 $mg\ kg^{-1}$ para el beneficio 1, y de 415 a 495 $mg\ kg^{-1}$ para el beneficio 2 después de seis meses de almacenamiento. Los valores máximos registrados en tratamientos con un fruto para el beneficio 1, fueron de 1321, 1167 y 1267 $mg\ kg^{-1}$ para los empaques C, CP y CV respectivamente. Mientras que para el beneficio 2, los valores máximos se registraron en un intervalo de 716 a 756 $mg\ kg^{-1}$, no existiendo diferencia significativa entre ellos.

Los frutos procedentes del beneficio 1, mostraron mejores condiciones para que los precursores glucosídicos encapsulados de los compuestos aromáticos y sus enzimas hidrolíticas catalizaran la liberación de vainillina y el 4-hidroxibenzaldehído (Pardío *et al.*, 2009). El comportamiento del 4-hidroxibenzaldehído es muy similar al de la vainillina,

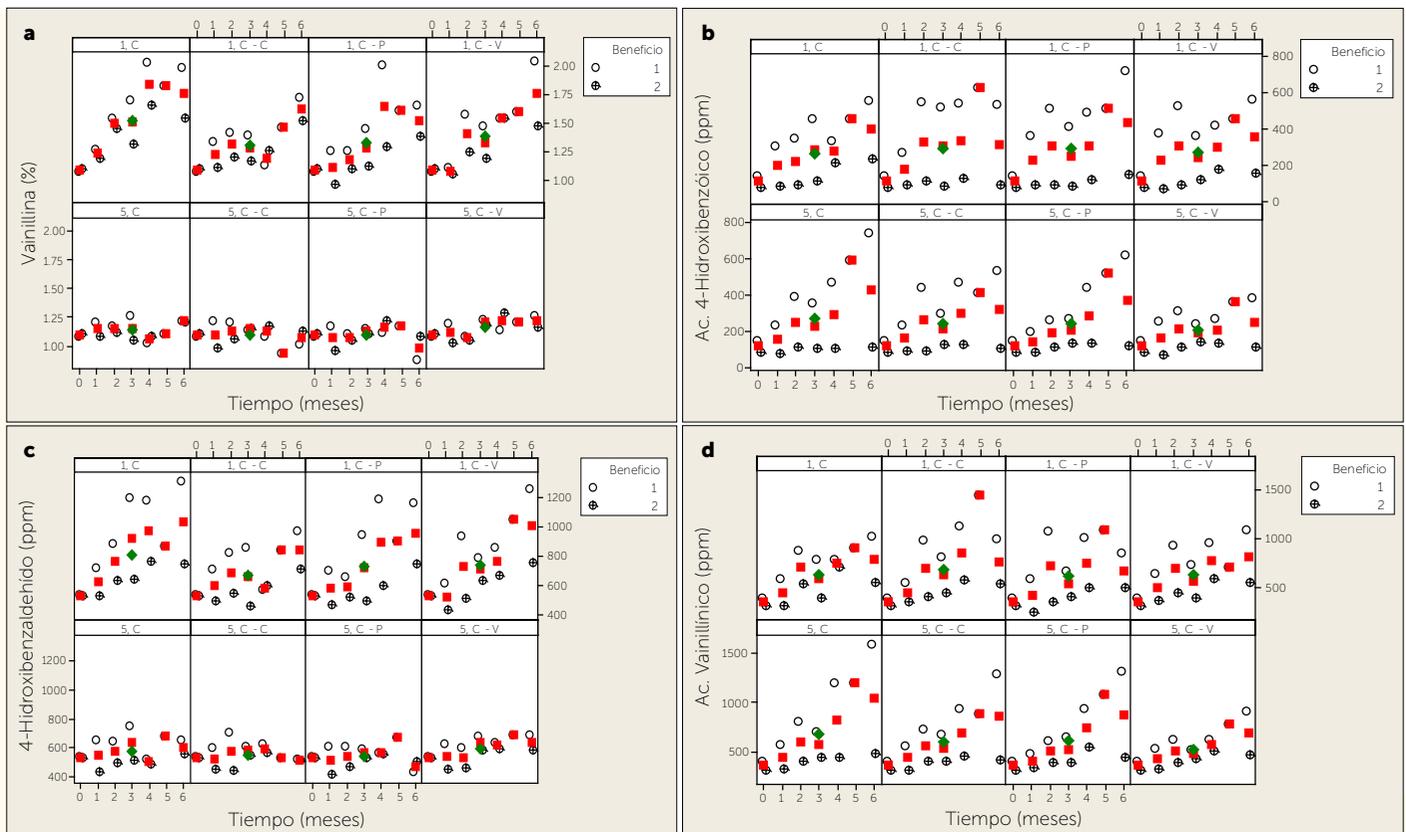


Figura 3. Gráficas multivariadas para los cuatro compuestos fenólicos principales de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) para los factores: beneficio, empaque, tiempo y número de vainas por empaque. (C: Celofán, CC: Celofán doble, CP: Celofán-Polietileno, CV: Celofán-Vacío). [Vainillina (a), ácido 4-hidroxibenzoico (b), 4-hidroxibenzaldehído (c), ácido vainillínico (d)].

por lo que existe una correlación positiva significativa de 0.85 entre ambas variables (Figura 3 a y c); de acuerdo con Havkin-Frenkel y Belanger (2007) y Havkin-Frenkel *et al.* (2004), el 4-hidroxibenzaldehído es un intermediario de la biosíntesis de vainillina que necesita ser hidroxilado y metilado para poder formar la vainillina (Odoux y Grisoni, 2011)

Para el caso del ácido 4-hidroxibenzoico, los valores iniciales fueron 146 y 81 mg kg⁻¹ para los beneficios 1 y 2 respectivamente. Las vainas del beneficio 1 mostraron aumentos durante los seis meses de almacenamiento, independientemente del tipo de empaque y número de frutos empacados. Para los tratamientos con un fruto, el empaque CP registró 625 mg kg⁻¹, y con cinco, en empaque con celofán el contenido fue de 746 mg kg⁻¹. Cabe mencionar que el valor menor de 387 mg kg⁻¹ se registró en el empaque CV. Mientras que para el beneficio 2, el incremento de ácido 4-hidroxibenzoico fue mínimo, mostrando el valor máximo de 238 mg kg⁻¹ en el tratamiento de celofán con un fruto (Figura 3b). El ácido 4-hidroxibenzoico, tuvo correlación significativa positiva con el ácido vainillínico (0.88).

Respecto al ácido vainillínico (Figura 3d), sus valores iniciales fueron de 399 y 314 mg kg⁻¹ para los beneficios 1 y 2 respectivamente. El valor máximo para la beneficio 1 fue de 1605 mg kg⁻¹ y se presentó en el empaque C con cinco frutos, seguido del CP con 1320 mg kg⁻¹ y CC con 1302 mg kg⁻¹. Mientras que el menor fue de 913 mg kg⁻¹ el cual se observó en el CV empacado al vacío y con el mismo número de frutos. Para el beneficio 2, aunque existió un incremento, los valores se mantuvieron entre 409 y 480 mg kg⁻¹ para los tratamientos con cinco frutos y valores de 501 y 560 mg kg⁻¹ para los tratamientos con solo un fruto empacado. El comportamiento del ácido vainillínico fue similar al del ácido 4-hidroxibenzoico (Figura 3 b y d), ya que los valores también aumentaron, sobre todo en el beneficio 1 para ambas cantidades de frutos envasados; ocurriendo también un aumento en los frutos del beneficio 2 pero en menor magnitud. El ácido vainillínico, el ácido 4-hidroxibenzoico y otros compuestos como el guayacol, se relacionan ampliamente con el criterio de aroma ahumado/fenólico, el cual es un factor indeseable. Por lo que es preferible que sus valores se mantengan bajos. Si la concentración de ácido vainillínico fuera mayor de

lo esperado, podría deberse a que existe una oxidación de la vainillina (Odoux y Grisoni, 2011).

Para las muestras del beneficio 1, el porcentaje más alto de azúcares totales se presentó en los empaques C y CV con un fruto registrando un valor de 10.7%. Mientras que los valores más bajos se registraron en los empaques con cinco frutos (3-5.4%). Se observó una mayor cantidad de glucosa que de sacarosa, y menor proporción de fructosa con valores de 0.5% a 1.3% (Figura 4a). Para los frutos del beneficio 2, existió la misma tendencia, mayor contenido de azúcares totales en tratamientos con un fruto, principalmente en el empaque C (9.8 %) y menor en aquellos empacados en cinco unidades (frutos), registrando valores de 5.9% a 6.7%. No hubo diferencias significativas en el contenido de glucosa y sacarosa, oscilando sus valores entre 2.6% y 4.4%; y con valores de fructosa similares a las del beneficio 1 (Figura 4b). El contenido de azúcares totales para ambos beneficios fue mayor en los empaques con un fruto, principalmente en C y CV, con la misma tendencia para los tres tipos de azúcares. En cuanto a la fructosa, para ambos beneficios fue cercano a 1%, sin variaciones

significativas entre empaques. Sin embargo, se presume que el empaque con cinco frutos, la tasa respiratoria pudo ser menor y los azúcares ya no se metabolizarían por la ruta aeróbica, provocando reacciones de fermentación alcohólica aumentando la concentración de acetaldehído y etanol. De acuerdo con Odoux y Grisoni (2011) el contenido de azúcares en frutos de Madagascar es de 10% en peso seco; de los cuales 80% corresponden a sacarosa, 15% a glucosa y 5% a fructosa. Dicho valor de azúcares totales se aproxima a los obtenidos en esta investigación pero con diferente distribución entre los azúcares.

Durante los seis meses de almacenamiento solo existió un incremento de etanol en el empaque CV con cinco frutos del beneficio 1 (Figura 5a), y en C con uno del beneficio 2 (Figura 5b), y el contenido de acetaldehído aumentó en los tratamientos CV y CC con cinco frutos empacados del beneficio 1 (Figura 5c), mientras que para los frutos del beneficio 2 se incrementó en prácticamente todos los empaques, principalmente en los de cinco frutos (Figura 5d) en los cuales se registraron los menores niveles de oxígeno y mayor porcentaje de

humedad. Es notable que el contenido de acetaldehído fue mayor en tratamientos con cinco frutos empacados en ambos beneficios, lo cual coincide con los niveles más bajos de azúcares, por lo cual es presumible que la glucosa sea metabolizada a través de la ruta del piruvato. Los volátiles como el etanol y acetaldehído son producidos en condiciones de bajo contenido de oxígeno permitiendo el desarrollo de sabores indeseables debido a la fermentación en los tejidos, bajo estas condiciones la enzima piruvato-decarboxilasa actúa sobre el piruvato, desviándose a la ruta del etanol, formando dos moléculas de acetaldehído y dos de CO₂ por cada molécula de glucosa. Si existe la presencia de la enzima alcohol deshidrogenasa y NADH, ocurre la reducción de acetaldehído a etanol. Esta reacción ocurre en ambientes como el creado con vacío y aumenta a medida que se prolonga el almacenamiento. En condiciones de anaerobiosis, con la producción de etanol hay un incremento en la concentración de acetaldehído. La proporción de acetaldehído y etanol es de 1:100, pero si existen altas concentraciones de CO₂ dicha proporción puede llegar hasta 1:2-1:5. Por lo que es importante conocer

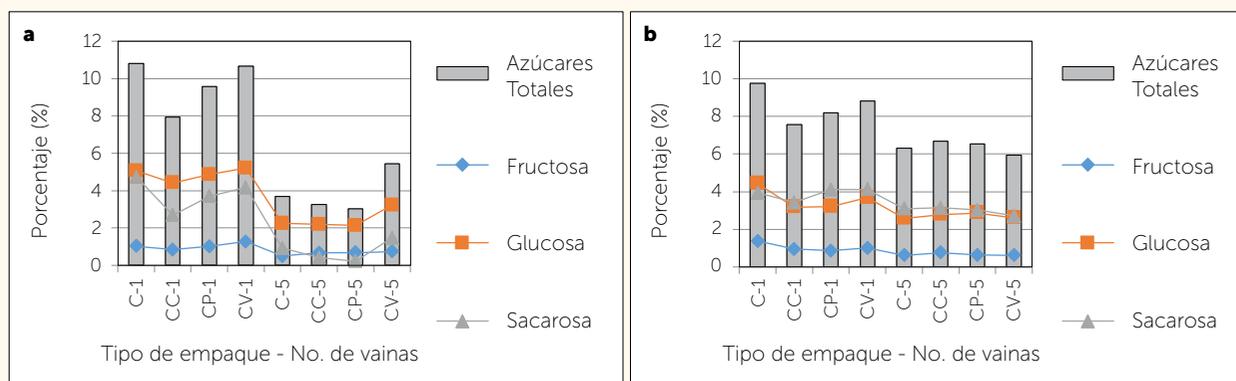


Figura 4. Contenido de azúcares en frutos de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) de las empresas beneficiadora 1 (a) y beneficiadora 2 (b), almacenadas durante seis meses. (C: Celofán; CC: Celofán doble; CP: Celofán – Polietileno; CV: Celofán – Vacío), con uno y cinco frutos.

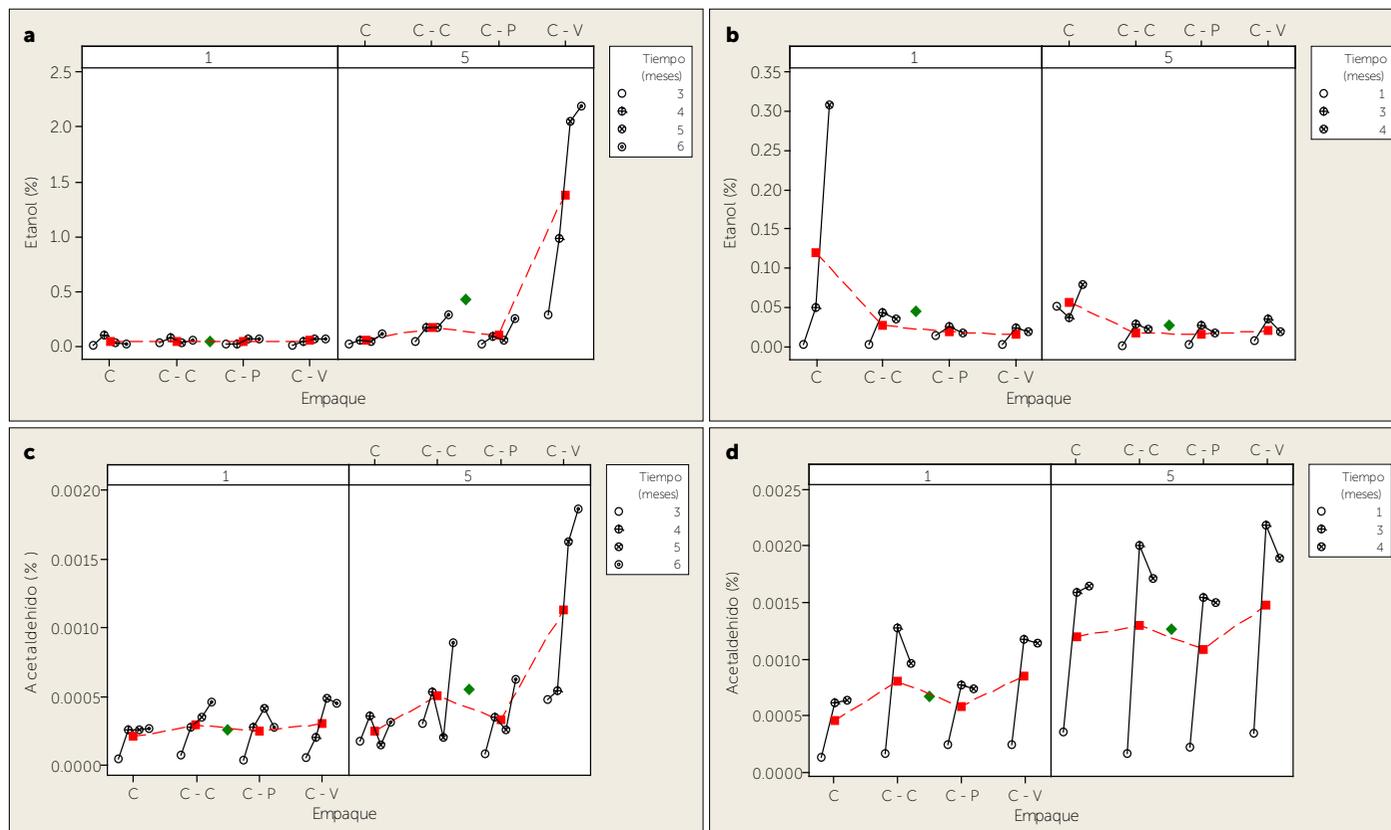


Figura 5. Contenido de etanol y acetaldehído para los frutos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews de las empresas beneficiadoras 1 (a-c) y 2 (b-d) almacenadas durante seis meses. (C: Celofán; CC: Celofán doble; CP: Celofán – Polietileno; CV: Celofán – Vacío), con una y cinco vainas.

dos parámetros importantes: la concentración umbral de O_2 para la vainilla, en la cual se inicia el metabolismo, y la velocidad de intercambio de gases y vapor de agua a través del empaque que sería importante considerar en una investigación posterior.

CONCLUSIONES

El número de frutos empacados influye notablemente en el contenido de humedad y vainillina, firmeza, azúcares, etanol y acetaldehído. Los empaques con cinco frutos tuvieron menor acumulación de vainillina, inclusive, inferior a lo requerido por la norma NOM-182-SCFI-2011, aunque mantuvieron la humedad, requisito indispensable para la vainilla gourmet. No hubo diferencias significativas entre los diferentes tipos de empaque, siempre y cuando éste sea doble para conservar la frescura de los frutos comercializados al menudeo.

AGRADECIMIENTOS

Al fondo SAGARPA-CONACYT a través del proyecto 2012-04-190442: "Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México (SP-10)"

y a la Línea Prioritaria de Investigación en Inocuidad, Calidad de Alimentos y Bioseguridad (LPI-7) del Colegio de Postgraduados por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Cicchetti E., Chaintreau A. 2009. Quantitation of the main constituents of vanilla by reverse phase HPLC and ultra-high-pressure-liquid chromatography with UV detection: Method validation and performance comparison. *Journal of Separation Science*. 32: 3043-3052.
- Correa L.G. 2004. Análisis de Medidas Repetidas. Medellín, Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia.
- Dignum M.J.W., Kerler J., Verpoorte R. 2001. Vanilla production: Technological, chemical, and biosynthetic aspects. *Food Reviews International*. 17: 199-219.
- 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.
- Gennadios A., Weller C.L., Gooding C.H. 1994. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*. 21:395-409.
- Havkin-Frenkel D., French J.C., Graft N.M., Joel D.M., Pak F.E., Frenkel C. 2004. Interrelation of curing and botany in vanilla (*Vanilla planifolia*) bean. *Acta Hort*. 629:93-102.

- Havkin-Frenkel D., Belanger F.C. 2007. Application of Metabolic Engineering to Vanillin Biosynthetic Pathways in *Vanilla planifolia*. Eds. Verpoorte et al. Applications of Plant Metabolic Engineering (pp. 175-196). Springer.
- López L.D. 2013. Calidad microbiológica y organoléptica de vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews) beneficiada artesanalmente. (Tesis de Maestría). Programa en Fisiología Vegetal. Colegio de Postgraduados. México.
- McHugh T.H., Avena-Bustillos R., Krochta J.M. 1993. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*. 58:899-903.
- Mustafa K., Mustafa E., Mustafa K.U., Mehmet A. 2003. Comparison of different extraction y detection methods for sugar using amino-bonded phase HPLC. *Journal of Chromatographic Science*. 41: 331-333.
- NMX-FF-074-SCFI-2009. 2009. Norma Mexicana Productos no industrializados para uso humano-vainilla-(*Vanilla fragans* (Salisbury) Ames-Especificaciones y métodos de prueba. 38 p.
- Odoux E., Grisoni M. 2011. Vanilla. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. E.U.A.: Taylor & Francis Group.
- Pardio V.T., Mariezcurrena M.D., Waliszewski K.N., Sánchez V., Janczur M.K. 2009. Effects of killing conditions of vanilla (*Vanilla planifolia*, Andrews) pods during the curing process on aroma composition of pod ethanol extract. *International Journal of Food Science and Technology*. 44:2417-2423.
- Sinha A.K., Sharma U.K., Sharma N. 2008. A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 59: 299-326.



CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA Y ANÁLISIS DE VARIACIÓN DE EPIDERMIS FOLIAR Y CAULINAR ENTRE DOS GENOTIPOS DE *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews

ANATOMICAL CHARACTERIZATION AND VARIATION ANALYSIS OF FOLIAR AND CAULINAR EPIDERMIS BETWEEN TWO GENOTYPES OF *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews

Martínez-Quezada, D.M.¹; Sandoval-Zapotitla, E.^{1*}; Solís-De la Cruz, J.¹; Velázquez-Vázquez, D.E.¹
y Herrera-Cabrera, E.B.²

¹ Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. CP 04510 D.F. México. ² Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla No. 25. CP. 72760 Puebla, México.

*Autor para correspondencia: esz@ib.unam.mx

RESUMEN

Vanilla planifolia Jacks. ex Andrews, tiene su centro de origen en México donde agrupa su diversidad genética. Si bien existen algunos reportes sobre la anatomía vegetativa de *V. planifolia*, en particular no hay estudios que revelen si además de la variación genética y química detectada, existe variación anatómica. Se determinó si existe variación anatómica en la epidermis foliar y caulinar de dos genotipos de *V. planifolia* y qué caracteres apoyan al reconocimiento de los mismos o cuales están genéticamente establecidos y son propios de la especie. Se recolectaron muestras de lámina y tallo de los genotipos contrastantes GIII y GVI en cuanto a sus compuestos aromáticos en cinco localidades de la región del Totonacapan, México. Se obtuvieron preparaciones semipermanentes y permanentes de ambos órganos y analizaron diecisiete parámetros epidérmicos. Se presenta la descripción anatómica de la epidermis foliar y caulinar mencionando diferencias entre los genotipos. Se determinó que existen diferencias significativas en trece parámetros, y que el área de las células epidérmicas adaxiales de la lámina, área de las células epidérmicas, longitud de células oclusivas e índice estomático del tallo son caracteres probablemente definidos genéticamente para esta especie, y existe correlación positiva entre el tamaño de ciertos parámetros epidérmicos y la altitud del origen geográfico de los genotipos.

Palabras clave: Vainilla, anatomía vegetal, hoja, tallo.

ABSTRACT

Vanilla planifolia Jacks ex Andrews has its center of origin in Mexico, where its genetic diversity is grouped. Although there are some reports about the vegetative anatomy of *V. planifolia*, there are no specific studies that reveal whether there is anatomical variation, in addition to the genetic and chemical variation detected. Whether there is anatomical variation in the foliar and caulinar epidermis of two genotypes of *V. planifolia* was determined, as well as which traits support the recognition of these or are genetically established and characteristic of the species. Samples of leaf and stem of the contrasting genotypes in terms of their aromatic compounds, GIII and GVI, were collected in five localities of the Totonacapan region, Mexico. Semi-permanent and permanent preparations were obtained from both organs and seventeen epidermal parameters were analyzed. The anatomical description of the foliar and caulinar epidermis is presented, mentioning differences between the genotypes. It was found that there are significant differences in thirteen parameters, and that the area of adaxial epidermal cells in the leaf, the area of epidermal cells, the length of occlusive cells, and the stomatal index of the stem are traits that are probably defined genetically for this species, and that there is a positive correlation between the size of certain epidermal parameters and the altitude of the geographical origin of the genotypes.

Keywords: Vanilla, plant anatomy, leaf, stem.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 26-33.

INTRODUCCION

El género *Vanilla* Mill., comprende entre 100 y 110 especies de distribución pantropical (Schlüter *et al.*, 2007; Govaerts *et al.*, 2008), y México es centro de origen de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews (Soto-Arenas 2003; Verpoorte, 2011), su cultivo se realiza en la Región del Totonacapan en Puebla y Veracruz, México (Chenaut, 2010), región que posee el germoplasma de mayor importancia biológica y comercial (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012); sin embargo, varios factores han contribuido a su baja variabilidad genética y morfológica y por ende su acentuada erosión genética (Schlüter *et al.*, 2007; Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). Salazar-Rojas y colaboradores (2012) reportan que *V. planifolia* tiene seis variantes químicas que están definidas por la proporción de cuatro de los principales compuestos aromáticos producidos, siendo el quimiotipo QI el más parecido al tipo silvestre y el quimiotipo QVI al más ampliamente cultivado (Salazar-Rojas *et al.*, 2012). Herrera-Cabrera *et al.* (2012) demostraron variación genética en esta especie, de tal forma que el genotipo GVI corresponde al quimiotipo QI y el genotipo GIII al QVI (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). La anatomía de *Vanilla* Mill. ha sido descrita (Stern y Judd, 1999) y algunas de sus especies (Raju, 1996; Baruah, 1998; Cameron y Dickinson 1998; Stern y Judd, 1999; Baruah y Saikia, 2002); y si bien existen trabajos en donde se incluye la descripción anatómica de la epidermis foliar y caulinar (Nayar *et al.*, 1976; Baruah, 1998; Stern y Judd, 1999) estos únicamente abarcan algunos aspectos generales. Con base en lo anterior, se realizó una descripción anatómica detallada de la epidermis foliar y caulinar de los genotipos GVI y GIII y analizó comparativamente caracteres cualitativos y cuantitativos, para saber su nivel de variación anatómica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material utilizado en el presente trabajo incluyó 18 recolectas de cinco localidades de la Región del Totonacapan (Cuadro 1). Por cada localidad se seleccionaron tres individuos (plantas) maduros y sanos, de los cuales se tomaron segmentos de la región media de la lámina y del tallo, las cuales fueron fijadas y procesadas de acuerdo a las técnicas histológicas convencionales para el aislamiento de la epidermis y la obtención de secciones transversales (Sandoval *et al.*, 2005). Se realizaron observaciones en un fotomicroscopio Axioskop, Zeiss en campo claro y contraste de fases; se elaboraron fotomicrografías con una cámara de video ExwaveHAD (Sony) y se realizaron mediciones lineales y de área con el analizador de imágenes ImageJ v.1.48 (Ras-

band, 2014). Se evaluaron diecisiete caracteres cuantitativos (Cuadro 2), de los cuales se registraron 60 datos correspondientes a tres individuos por localidad, y de tres localidades haciendo un total de 180 datos por genotipo y para cada uno de los parámetros analizados. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y se compararon las medias entre grupos mediante una prueba de Tukey, finalmente se calculó el promedio y desviación estándar para los genotipos. El análisis estadístico se realizó con el programa JMP v.7 (SAS Institute Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfológicamente las hojas de *V. planifolia* son de color verde oscuro, acuminadas, dorsiventrales, ligeramente conduplicadas en su extremo adaxial, gruesas, carnosas, lisas, con vena media poco diferenciada. El tallo es lustroso, verde, suculento y terete.

Epidermis en vista superficial:

Apéndices epidérmicos con tricomas ausentes en ambas epidermis de lámina y tallo como fue reportado por Stern y Judd (1999). Células epidérmicas de forma poligonal, algunas rectangulares con paredes anticlinales lineales y gruesas en ambas caras de lámina y en tallo (Figuras 1A y B; 3A y B). Esta forma de células y el tipo de pared anticlinal fueron reportados por Baruah y Saikia (2002), aunque Nayar y colaboradores (1976) mencionaron que las paredes anticlinales son engrosadas en toda la epidermis. Las células de ambas epidermis y en ambos genotipos están distribuidas sin arreglo definido en la lámina (Figura 1A, B, C y D) y en hileras paralelas al eje longitudinal en el tallo (Figura 3A y B), como ya fue reportado por Nayar *et al.* (1976) y Baruah y Saikia (2002).

Cuadro 1. Localidad, altitud y número de individuos recolectados para los genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

Quimiotipo	Localidad	Nombre	Altitud (m)	No. de individuos recolectados
GVI/QI	L1	Pantepec, Puebla.	450	9
	L2	Papantla de Ocampo, Veracruz.	250	
	L7	Pantepec, Puebla.	450	
GIII/QVI	L2	Papantla de Ocampo, Veracruz.	250	9
	L3	Papantla de Ocampo, Veracruz.	250	
	L4	Puntilla Aldama, Veracruz	50	

Cuadro 2. Parámetros epidérmicos cuantitativos analizados en *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

No. de carácter	Carácter
1	Área celular adaxial de lámina (μm^2)
2	Área celular abaxial de lámina (μm^2)
3	Longitud de células oclusivas de lámina (μm)
4	Índice estomático de lámina
5	Área celular del tallo (μm^2)
6	Longitud de células oclusivas del tallo (μm)
7	Índice estomático del tallo
8	Grosor de cutícula en el margen de lámina (μm)
9	Grosor de cutícula adaxial de lámina (μm)
10	Ancho de células epidérmicas adaxiales de lámina (sección transversal) (μm)
11	Alto de células epidérmicas adaxiales de lámina (sección transversal) (μm)
12	Grosor de cutícula abaxial de lámina (μm)
13	Ancho de células epidérmicas abaxiales de lámina (sección transversal) (μm)
14	Alto de células epidérmicas abaxiales de lámina (sección transversal) (μm)
15	Grosor de cutícula de tallo (μm)
16	Ancho de células epidérmicas de tallo (sección transversal) (μm)
17	Alto de células epidérmicas de tallo (sección transversal) (μm)

Su tamaño es de $6126.66 \mu\text{m}^2$ en GVI y de $5906.09 \mu\text{m}^2$ en GIII en la superficie adaxial y de $4508.65 \mu\text{m}^2$ en GVI y $5229.82 \mu\text{m}^2$ en GIII en la abaxial (Cuadro 3); Baruah y Saikia (2002) mencionan que en general las células epidérmicas abaxiales son más cortas y anchas que las adaxiales, esto concuerda con lo encontrado en este estudio ya que las células abaxiales son más pequeñas que las adaxiales. El tamaño de células en el tallo es de $5106.28 \mu\text{m}^2$ en GVI y de $4975.84 \mu\text{m}^2$ en GIII (Cuadro 3). Si bien, se reportan dimensiones de largo y ancho para células epidérmicas (Nayar *et al.*, 1976; Baruah y Saikia 2002), en este estudio se consideró el área celular como una medida comparativa del tamaño de las células, ya que estas tienen forma poligonal irregular.

Los estomas sólo presentes en la epidermis abaxial, algunos arreglados en hileras paralelas al eje

longitudinal de la lámina y del tallo, otros al azar de tipo tetracítico en ambos genotipos (Figuras 1C y D; 3A y B); no obstante, Nayar *et al.* (1976) mencionan que además de tetracíticos en *V. planifolia* se han observado de tipo anisocítico, mientras que Baruah y Saikia (2002) reportaron que para esta especie los estomas son anomocíticos con 5-7 células subsidiarias, Stern y Judd (1999) mencionan los tres tipos de estomas presentes en *V. planifolia*, aunque prevalece el tipo tetracítico. La diversidad de tipos de estomas en un mismo taxa de monocotiledóneas ha sido reportada en pocos casos tales como, Pandanales y Spathiflorae y en *Dioscorea* con registros de siete diferentes tipos. Se considera que el tipo predominante de estoma en un taxón tiene valor taxonómico y filogenético (Sandoval *et al.*, 2010a). La predominancia de estomas de tipo tetracítico en varias especies de *V. planifolia* indica

que este tipo puede ser característico del género (Nayar *et al.*, 1976) aunque también se presenta en varios taxa de Orchidaceae (Sandoval *et al.*, 2010a). El tipo anomocítico es definido como más derivado que el resto de los tipos estomáticos mencionados (Stebbins y Khush, 1961). El género *Vanilla* Mill, es considerado como uno de los miembros primitivos de Orchidaceae (Cameron y Dickinson, 1998), y la presencia predominante del tipo estomático tetracítico menos derivado está de acuerdo con la posición primitiva que guarda este género dentro de la familia (Nayar *et al.*, 1976; Soto-Arenas y Dressler, 2010). La longitud de los estomas, estimado a partir de la longitud de las células oclusivas, fue de $38.32 \mu\text{m}$ para el GVI y $39.81 \mu\text{m}$ para el GIII (Cuadro 3), Stern y Judd (1999) reportan que para *Vanilla* Mill, la longitud promedio de los estomas en lámina es de $48 \mu\text{m}$ y particularmente para *V. planifolia* de $44 \mu\text{m}$. En el tallo la longitud de los estomas es de $39.28 \mu\text{m}$ para el GVI y $38.80 \mu\text{m}$ para el GIII (Cuadro 3), Baruah y Saikia (2002) reportaron que en *V. planifolia* la longitud de los estomas es de $25.13 \mu\text{m}$, valores considerablemente menores a lo encontrado en los dos genotipos analizados. Si bien la longitud de las células oclusivas para estos dos genotipos fue similar, la variación detectada por otros autores puede atribuirse a una procedencia distinta de los materiales analizados.

El índice estomático reportado para la lámina de *V. planifolia* va de 4.6 a 3.21 (Nayar *et al.*, 1976; Baruah y Saikia, 2002), y los valores encontrados en el presente estudio fueron de 1.81 para el GVI y 2.21 para el GIII (Cuadro 3) considerablemente menores. Nayar *et al.* (1976), mencionan que en *V. planifolia* existe un progresivo

incremento en el índice estomático desde la base (3.6) hasta el ápice (5.5) de la lámina, este análisis no fue realizado en el presente estudio, sin embargo, en estudios comparativos, analizar siempre la misma región de la lámina evita errores de interpretación dado que en varios grupos de monocotiledóneas se presenta dicha variación en el índice estomático a lo largo de la hoja. A este respecto, el índice estomático del tallo (IET) fue de 1.02 para el GVI y de 1.05 para GIII (Cuadro 3), el cual con lo reportado previamente para esta misma especie fue de 0.57 (Nayar *et al.*, 1976) y de 1.17 (Baruah y Saikia, 2002), este último valor es más cercano a lo obtenido en los genotipos estudiados. Aún cuando el índice estomático entre los dos genotipos fue similar, la diferencia en los valores reportados por otros autores para esta misma especie, puede deberse a diferentes condiciones de cultivo, procedencia del germoplasma analizado, y para el cálculo de este parámetro, posi-

blemente los índices estomáticos empleados no necesariamente fueron los mismos.

En ambas epidermis de lámina y tallo se observaron cristales de oxalato de calcio solitarios y agrupados (Fig. 1E y F; 3A y B). Los primeros ubicados uno por célula, de forma regular o irregular; dentro de los regulares hay prismáticos con número de vértices variables. Dentro de los cristales irregulares se encuentran los cristales amorfos igualmente presentes en ambos genotipos, también se observaron los oblongos con constricciones, redondeados y los apenas visibles (Figura 3B). Los cristales agrupados se observaron unidos o separados, donde éstos últimos pueden ser dos o más cristales de formas regulares o pueden ser pequeños apenas visibles, como cristales en arena. La presencia de cristales ya fue reportado por Nayar *et al.* (1976) y Stern y Judd (1999). Cabe señalar que la presencia de cristales en la epidermis no es frecuente en Orchidaceae, reportándose sólo en *Cuitlauzina pygmaea* (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams y *Rossioglossum ampliatum* (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams de la subtribu Oncidiinae (Sandoval-Zapotitla *et al.*, 2010b).

Epidermis en sección transversal. Cutícula lisa, con un grosor adaxial de $4.24 \mu\text{m}$ en el GVI y $3.06 \mu\text{m}$ en el GIII, con grosor abaxial de $2.47 \mu\text{m}$ en GVI y $1.98 \mu\text{m}$ en GIII (Cuadro 3) (Figura 2A, B, C y D); a nivel de los márgenes es de $9.15 \mu\text{m}$ y $8.79 \mu\text{m}$ respectivamente (Cuadro 3) (Figura 2E y F). En todos los casos, siempre es más gruesa en la epidermis adaxial lo que tiene correspondencia con lo ya reportado para *Vanilla* Mill., (Stern y Judd, 1999). Entre los genotipos siempre fue más gruesa en el GVI. Para otras especies estudiadas, se ha reportado que la epidermis adaxial también tiene una cutícula más gruesa (2.5 a $7.5 \mu\text{m}$) y la abaxial más delgada ($2.5 \mu\text{m}$), particularmente en *V. planifolia* el grosor de la cutícula adaxial es de 2.5 a $5 \mu\text{m}$ y la abaxial

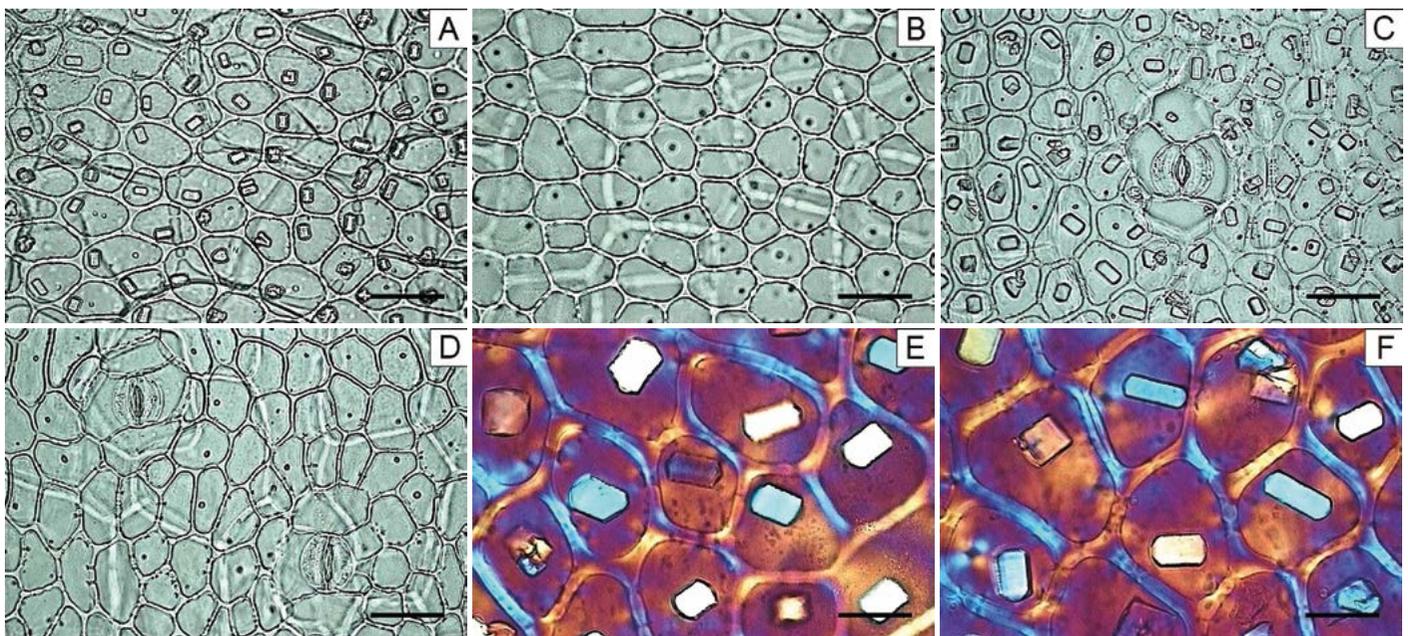


Figura 1. Lámina de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, vista superficial. A. Genotipo VI, epidermis adaxial. B. Genotipo III, epidermis adaxial. C. Genotipo VI, epidermis abaxial. D. Genotipo III, epidermis abaxial. E. Genotipo VI, epidermis adaxial con cristales prismáticos. F. Genotipo III, epidermis adaxial con cristales prismáticos. Barra=50 μm .

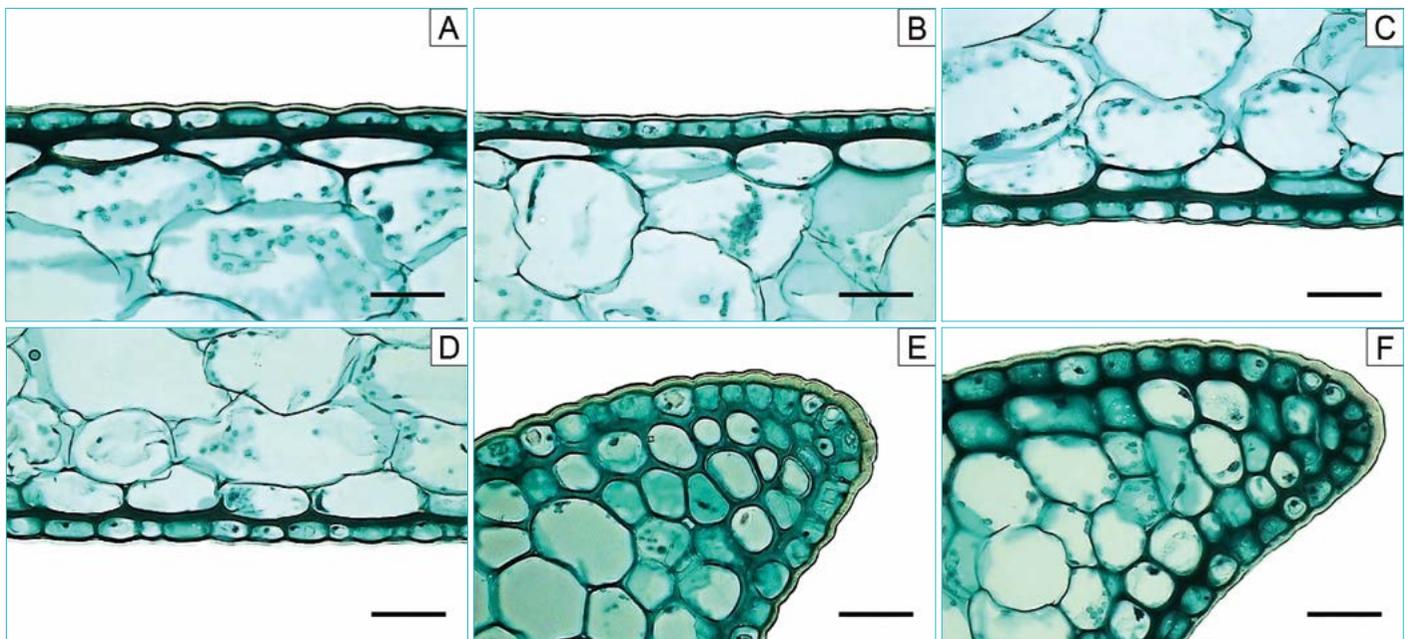


Figura 2. Lámina de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, sección transversal. A. Genotipo VI, epidermis adaxial. B. Genotipo III, epidermis adaxial. C. Genotipo VI, epidermis abaxial. D. Genotipo III, epidermis abaxial. E. Genotipo VI, epidermis a nivel del margen. F. Genotipo III, epidermis a nivel del margen. Barra=50 μm .

de menos de 2.5 μm (Stern y Judd, 1999), no obstante Baruah y Saikia (2002) reportaron que ambas epidermis tienen un grosor de cutícula de 5.5 μm . Los valores obtenidos para ambos genotipos están dentro de los valores reportados por Stern y Judd (1999) para esta especie. Para el tallo el grosor fue de 4.84 μm en GVI y 3.38 μm en GIII (Figura 3C y D).

En las especies de *Vanilla* que Stern y Judd (1999) analizaron encontraron que el grosor de cutícula generalmente es de 2.5 a 7.5 μm por lo que los grosores aquí observados en ambos genotipos están comprendidos dentro de este intervalo; sin embargo, Baruah y Saikia (2002) reportaron que *V. planifolia* tiene un grosor de cutícula de 18.75 μm , este valor está muy alejado de los intervalos reportados para la misma especie. Por otro lado, se reportó que *V. barbellata* Rchb. f. y *V. madagascariensis* Rolfe tienen un grosor de cutícula de 10 μm , mientras que en *V. claviculata* Lindl., es de 25 μm ; en todos los casos la cutícula también es lisa. La epidermis en ambas caras de lámina y tallo es monoestratificada para los dos genotipos (Figuras 2A, B, C y D; 3C y D), Baruah y Saikia (2002) reportaron que la epidermis del tallo es monoestratificada, pero mencionan que la epidermis adaxial de *V. planifolia* incluye dos estratos y la abaxial tiene dos a tres estratos; posiblemente estos autores consideraron los estratos de la hipodermis como parte de la epidermis; sin embargo, el tamaño celular, el grosor de la pared

y los contenidos son aspectos que indican que estos estratos corresponden a una hipodermis y no a una epidermis múltiple (Dickison, 2000).

Las células epidérmicas en la lámina son de forma rectangular a oblongas y tangencialmente alargadas (Figura 2A, B, C y D), mientras que en el tallo son isodiamétricas y oblongas (Figura 3C y D). Stern y Judd (1999) mencionan que en ambas epidermis de la lámina, las células también pueden ser isodiamétricas, en los materiales analizados esta forma sólo se observó en las células ubicadas en los márgenes (Figura 2E y F).

El ancho de las células epidérmicas adaxiales fue de 44.16 μm en GVI y 33.31 μm para GIII, mientras que el alto fue de 17.40 μm en GVI y 14.26 μm para GIII (Cuadro 3); el ancho de las células epidérmicas abaxiales fue de 32.10 μm en GVI y 25.49 μm para GIII, mientras que el alto fue de 16.78 μm en GVI y 14.24 μm en GIII (Cuadro 3). Las células epidérmicas adaxiales son más grandes que las abaxiales, esto mismo fue reportado por Baruah y Saikia (2002); no obstante, las células epidérmicas del GVI fueron más grandes que las de GIII. En el tallo fueron de 32.64 μm por 23.65 μm en GVI y 26.22 μm por 19.16 μm en GIII (Cuadro 3).

La pared periclinal interna y las anticlinales de las células epidérmicas en ambas caras de la lámina y del tallo

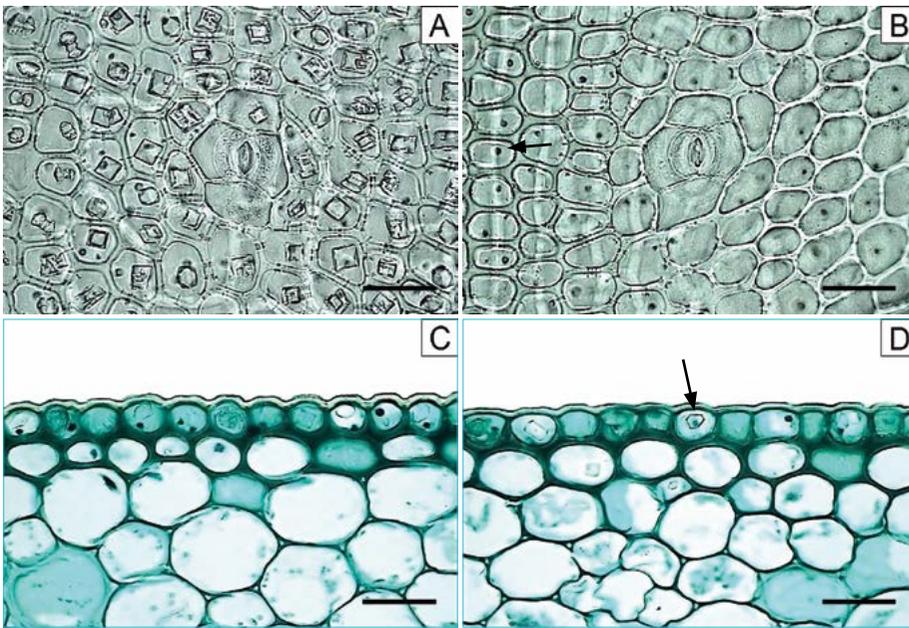


Figura 3. Tallo de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. A. Genotipo VI, vista superficial, epidermis con estoma tetracítico, cristales prismáticos. B. Genotipo III, vista superficial, epidermis con estoma tetracítico, cristales diminutos (flecha). C. Genotipo VI, sección transversal, epidermis con cutícula lisa y células isodiamétricas, oblongas y tangencialmente alargadas, con cristales prismáticos. D. Genotipo III, sección transversal, epidermis con cutícula lisa y células isodiamétricas, oblongas y tangencialmente alargadas, con cristales prismáticos (flecha). Barra=50 μm .

están engrosadas (Figuras 2A, B, C y D; 3C, D). Las células a nivel de los márgenes de la lámina tienen paredes celulares aún más engrosadas (Figura 2E y F), sin embargo, Sern y Judd (1999), reportaron engrosamientos solo

para las paredes periclinales internas, mientras que otras especies de *Vanilla* Mill., tienen paredes periclinales externas engrosadas.

Estomas superficiales, rebordes cuticulares externos pequeños y los internos inconspicuos; cámara subestomática pequeña, similar en tamaño a las células del mesofilo. Para otras especies de *Vanilla* Mill., se reporta que los estomas usualmente son superficiales, presentes generalmente solo en la epidermis abaxial, aunque en *V. insignis* Ames, *V. siamensis* Rolfe ex Downie y *V. poitaei* Rchb. f. (ésta última con hojas escuamiformes), los estomas están presentes en ambas epidermis, así mismo, se menciona que la cámara subestomática es predominantemente pequeña, los rebordes cuticulares internos pequeños a diminutos o ausentes en las especies con hojas escuamiformes (Stern y Judd 1999).

Cuadro 3. Promedio (P) y desviación estándar (D.E.) de los parámetros epidérmicos analizados en dos genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. Las letras iguales en hileras representan grupos homogéneos.

Carácter	GVI	GIII
	P \pm D.E.	P \pm D.E.
Área celular adaxial de la lámina (μm^2)	6126.66 \pm 2279.57 ^a	5906.09 \pm 912.86 ^a
Área celular abaxial de la lámina (μm^2)	4508.65 \pm 862.26 ^b	5229.82 \pm 1073.41 ^a
Longitud de células oclusivas de la lámina (μm)	38.32 \pm 3.20 ^b	39.81 \pm 2.33 ^a
Índice estomático de la lámina	1.81 \pm 0.42 ^b	2.21 \pm 0.40 ^a
Área celular del tallo (μm^2)	5106.28 \pm 1341.65 ^a	4975.84 \pm 752.14 ^a
Longitud de células oclusivas del tallo (μm)	39.28 \pm 2.61 ^a	38.80 \pm 2.64 ^a
Índice estomático del tallo	1.02 \pm 0.41 ^a	1.05 \pm 0.27 ^a
Grosor de la cutícula en el margen (μm)	9.15 \pm 1.21 ^a	8.79 \pm 1.46 ^b
Grosor de la cutícula adaxial (μm)	4.24 \pm 1.20 ^a	3.06 \pm 0.58 ^b
Ancho de células epidérmicas adaxiales (μm)	44.16 \pm 15.73 ^a	33.31 \pm 6.10 ^b
Alto de células epidérmicas adaxiales (μm)	17.40 \pm 8.60 ^a	14.26 \pm 2.16 ^b
Grosor de la cutícula abaxial (μm)	2.47 \pm 0.66 ^a	1.98 \pm 0.38 ^b
Ancho de células epidérmicas abaxiales (μm)	32.10 \pm 10.85 ^a	25.49 \pm 5.15 ^b
Alto de células epidérmicas abaxiales (μm)	16.78 \pm 6.26 ^a	14.24 \pm 2.14 ^b
Grosor de la cutícula en el tallo (μm)	4.84 \pm 0.76 ^a	3.38 \pm 1.39 ^b
Ancho de las células epidérmicas del tallo (μm)	32.64 \pm 5.99 ^a	26.22 \pm 10.53 ^b
Alto de células epidérmicas del tallo (μm)	23.65 \pm 3.00 ^a	19.16 \pm 7.17 ^b

Análisis de varianza (ANOVA) de los caracteres epidérmicos evaluados

Análisis por Localidad para cada genotipo

Los resultados mostraron que existen diferencias significativas de ciertos parámetros epidérmicos, entre localidades de los genotipos GVI y GIII. El análisis de varianza para las tres localidades del genotipo GVI indicaron que de diecisiete caracteres analizados, solo el índice estomático del tallo se mantiene sin variación entre localidades, por lo tanto, no contribuyó significativamente a la separación de grupos ($P>0.05$), mientras que los dieciséis caracteres restantes fueron estadísticamente significativos ($P<0.05$) y variables entre sus tres localidades. En las localidades del genotipo GIII, el área de las células epidérmicas



adaxiales y abaxiales, el índice estomático y el grosor de la cutícula abaxial, todos ellos de la lámina, fueron constantes para este genotipo ($P > 0.05$), el resto de los caracteres, mostraron tener variación estadísticamente significativa ($P < 0.05$). A partir de la constancia de estos cinco parámetros epidérmicos, se puede decir que estos caracteres se mantienen estables dentro de sus respectivos genotipos, independientemente de las localidades, y posiblemente están genéticamente definidos.

Cuando se consideran los caracteres cualitativos entre los genotipos GVI y GIII, no se observan diferencias entre ellos, además los resultados de los análisis de varianza y la prueba de Tukey para los caracteres cuantitativos muestran que no existen diferencias significativas ($P < 0.05$) en el área de las células epidérmicas adaxiales de la lámina, área de las células epidérmicas, longitud de las células oclusivas y el índice estomático del tallo, por lo que es posible que exista una fuerte influencia genética dentro de *V. planifolia*. En el resto de los caracteres hubo diferencias que resultaron ser estadísticamente significativas ($P < 0.05$) y que permiten distinguir a los genotipos y postular que existe variación anatómica en el germoplasma de esta especie.

El genotipo GVI está restringido al Municipio de Pantepec, Puebla, México, cuya localidad se encuentra a una altitud cercana a 450 m; no obstante, tres individuos de los nueve analizados, fueron recolectados en Papantla, Veracruz, México a una altitud cercana a 250 m, con antecedentes de haber sido introducido; lo cual podría haber afectado su crecimiento y desarrollo y sea factor determinante para una mayor cantidad de parámetros epidérmicos diferentes entre las tres localidades del genotipo. Comparando las localidades del genotipo GIII, se observó menor número de caracteres diferentes entre ellas. Si bien, dos de las localidades analizadas están en Papantla a una altitud cercana a 250 m, una está en Puntilla Aldama, Veracruz, a 50 m de altitud, donde las condiciones ambientales son diferentes; sin embargo, a pesar de ello, se registró que cuatro de los parámetros epidérmicos analizados se mantienen constantes. Se ha mencionado que este genotipo es el mayormente cultivado y su distribución es más amplia (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012) pudiendo atribuirse mayor plasticidad genética.

Del análisis de varianza entre los genotipos destaca que trece parámetros epidérmicos (76.5%) fueron significativamente distintos y permiten ver que existe variación anatómica entre ellos, de lo cual se desprende que posi-

blemente dicha variación está controlada genéticamente. Los valores más altos correspondieron en 58.8% de los parámetros al genotipo GVI, con características relacionadas a parientes silvestres y una distribución altitudinal entre 250 y 450 m; mientras que los valores inferiores atañen al genotipo GIII, considerado como el representativo de las recolectas más comerciales, ubicadas en altitudes de 50 a 250 m (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). Al parecer, el proceso de selección-domesticación de las recolectas de GIII habría propiciado reducción en el grosor de la cutícula, así como, en el ancho y alto de células epidérmicas tanto en lámina como en tallo, contribuyendo así, a la variación anatómica del germoplasma de *V. planifolia*. Para ambos genotipos se apreció una correlación positiva entre los valores de diez parámetros epidérmicos (Cuadros 1 y 3) y la altitud de la distribución geográfica de los mismos.

Si bien se ha reportado que existe una correlación positiva entre el índice estomático foliar y la altitud para *Polylepsis sericea* Wedd. (Rosaceae) y *Oyedaea verbesinoides* DC. (Asteraceae) (Colmenares-Arteaga *et al.* 2005; García y Lapp 2005), en el caso de los valores registrados para los genotipos, se observó que existe más bien una correlación negativa, es decir, el genotipo GVI que se distribuye a mayor altitud tiene un índice estomático foliar menor, esta misma relación fue mencionada para *Ribes ciliatum* Humb. & Bonpl. (Grossulariaceae) (Jiménez-Noriega *et al.*, 2015). Tanto el índice estomático foliar menor como un mayor grosor de cutícula en lámina y tallo así como, mayor tamaño del alto y ancho de las células en lámina y tallo pueden estar reflejando una adaptación a condiciones de estrés hídrico estacional, como se ha observado que sucede en las localidades del genotipo VI.

CONCLUSIONES

Existe variación significativa entre los parámetros epidérmicos de los genotipos GIII y GVI de *V. planifolia*, ya que el 76.5% de los caracteres cuantitativos epidérmicos analizados permiten distinguir a los genotipos, poniendo en evidencia la variación anatómica en el germoplasma de esta especie; mientras que 23.5% de dichos caracteres, junto con los cualitativos, se mantienen estables y pueden estar genéticamente determinados. Se determinó que el genotipo GIII aún cuando se cultiva exitosamente en localidades que incluyen amplia distribución geográfica, mantiene el tamaño de sus células epidérmicas, índice estomático y grosor de la cutícula abaxial de la lámina sin variaciones significativas, mientras que el genotipo GVI reflejó que solo el índice estomático del tallo

es constante entre sus localidades. Se puede hablar de una correspondencia entre genotipo/quimiotipo y ciertos parámetros epidérmicos en el germoplasma de *V. planifolia*. Existe una correlación positiva entre el valor de ciertos parámetros epidérmicos y la altitud geográfica de los genotipos evaluados de *V. planifolia*.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT: 2012-04-190442 (SP06), así como a, Dr. Jorge E. Campos y Dr. Victor M. Salazar por el apoyo brindado durante el trabajo de campo e identificación del material biológico. A los productores Don Veremundo Rodríguez, Ing. Raúl Deguetao, Don Edilberto Gallegos y Don Miguel A. Acosta por las facilidades otorgadas para la obtención del material biológico. Se agradece también a Ma. Concepción Guzmán, Tania G. Vallejo y Janeth Zamora por el apoyo técnico en el procesamiento histológico de las muestras.

LITERATURA CITADA

- Baruah A., Saikia N. 2002. Vegetative anatomy of the orchid *Vanilla planifolia* Andr. J. Econ. Taxon. Bot. 26(1): 161-165
- Baruah A. 1998. Vegetative anatomy of the endemic orchid *Vanilla piliifera* Holt. Phytomorphology 48 (1): 101-105.
- Cameron K., Dickinson W.C. 1998. Foliar architecture of vanilloid orchids: insights into the evolution of reticulate leaf venation in monocotyledons. Botanical Journal of the Linnean Society 128:45-70.
- Chenaut V. 2010. Capítulo 2 Totonacas. En: Florescano, E. y Ortiz Escamilla (Coordinadores). Atlas del patrimonio natural, histórico y cultural de Veracruz. Tomo III. Patrimonio cultural. Gobierno del Estado de Veracruz.
- Colmenares-Arteaga M., Rada F., Luque R. 2005. Anatomía foliar de *Polylepis sericea* Wedd. (Rosaceae) a dos altitudes en los Altos andes Venezolanos. Plantula 3(3): 141-148.
- Dickson W.C. 2000. Integrative Plant Anatomy. Academic Press, USA.
- García M., Lapp M. 2005. Anatomía foliar en especímenes de *Oyedaea verbesinoides* DC. (Asteraceae) creciendo en tres ambientes distintos. Ernstia 15(1-4): 129-143.
- Govaerts R., Campacci M.A., Holland Baptista D., Cribb P., George A., Kreuz K., Wood J. 2008. World Checklist of Orchidaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.
- Herrera-Cabrera B.E., Salazar-Rojas V.M., Delgado-Alvarado A., Campos-Contreras J.E., Cervantes-Vargas J. 2012. Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. European Journal of Environmental Sciences 2(1): 43-50.
- Jiménez-Noriega M.S., Terrazas T., López-Mata L. 2015. Variación morfo-anatómica de *Ribes ciliatum* a lo largo de un gradiente altitudinal en el norte de la Sierra Nevada, México. Botanical Sciences 93(1): 23-32.
- JMP. Versión 7. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.
- Nayar B.K., Rajendra R., Vastala P. 1976. Dermal morphology of *Vanilla planifolia* Andr. and *V. wightii* Lindl. Proc. Indian Acad. Sci. 84(5): 173-179
- Raju M.S. 1996. Morpho-anatomical study of the endemic orchid *Vanilla wightiana* Lindl. (Orchidaceae). Phytomorphology 46: 371-375.
- Rasband W.S. 2014. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, imagej.nih.gov/ij/, 1997-2012. JMP®, Versión 7. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.
- Salazar-Rojas V.M., Herrera-Cabrera B.E., Delgado-Alvarado A., Soto-Hernández M., Castillo-González F., Cobos-Peralta M. 2012. Chemotypical variation in *Vanilla planifolia* Jack. (Orchidaceae) from the Puebla-Veracruz Totonacapan región. Genet Resour Crop Evol 59: 875-887.
- Sandoval Z.E., Rojas A., Guzmán C., Carmona L., Ponce M., León C., Loyola C., Vallejo A., Medina A. 2005. Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal. Cuadernos del Instituto de Biología 38. Instituto de Biología, UNAM. México 278 pp.
- Sandoval-Zapotitla E., García-Cruz J., Terrazas T., Villasenor J.L. 2010a. Relaciones filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y matK): un enfoque combinado. Revista Mexicana de Biodiversidad 81(2): 263-279.
- Sandoval-Zapotitla E., Terrazas T., Villaseñor J.L. 2010b. Diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae). Rev. Biol. Trop. 58(2): 733-755.
- Schlüter P.M., Soto Arenas M.A., Harris S.A. 2007. Genetic Variation in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). Economic Botany 61(4): 328-336.
- Soto-Arenas M.A. 2003. Vanilla. En: Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W., Rasmussen F.N. (eds). Genera Orchidacearum, Vol 3, Orchidoideae (Part 2) Vanilloideae. Oxford University Press, p 402.
- Soto-Arenas M.A., Dressler R.L. 2010. A revision of the mexican and central american species of *Vanilla Plumier* ex Miller with a characterization of their region of the nuclear ribosomal DNA. Lankesteriana 9(3): 285-354
- Stebbins G.L., Khush G.S. 1961. Variation in the Organization of the Stomatal Complex in the Leaf Epidermis of Monocotyledons and Its Bearing on Their Phylogeny. American Journal of Botany, Vol. 48(1): 51-59.
- Stern W.L., Judd W.S. 1999. Comparative vegetative anatomy and systematics of Vanilla (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 131: 353-382.
- Verpoorte R. 2011. Prologue. En: Odoux E, Grisoni M (eds), Vanilla (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles). CRC Press.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews CON DIFERENTES ESQUEMAS DE BENEFICIADO

PHYSICAL-CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews WITH DIFFERENT CURING SCHEMES

Luna-Guevara, J.J.¹; Luna-Guevara, M.L.¹; Amador-Espejo G.G.²; Herrera-Cabrera, B.E.³; Arévalo-Galarza, M.L.⁴; Ruiz-Espinosa, H.^{1*}

¹ Colegio de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería Química. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. San Claudio y 18 Sur, Ciudad Universitaria, C.P. 72570, Puebla, México.

² Catedrático CONACYT-Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional. Carretera Sta. Inés Tecuexcomac-Tepetitla. Km 1.5. CP. 90700, Tlaxcala. México. ³ Colegio de Postgraduados-Puebla, Carretera Federal México-Puebla Km. 125.5, Santiago Momoxpan, 72760. Puebla, Pue. ⁴ Recursos Genéticos y Productividad- Fruticultura-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, km 36.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

***Autor de correspondencia:** hector.ruiz@correo.buap.mx

RESUMEN

La vainilla es una especie aromática importante y valuada a nivel global; es originaria de México, quien es el quinto productor en el mercado internacional. Los frutos (silicuas) de vainilla desarrollan características fisicoquímicas y sensoriales únicas a través de un proceso fermentativo mayoritariamente tradicional (beneficiado), y a partir de ellos se obtiene un extracto rico en vainillina, que es el principal agente aromático. Aunque existe una Norma Mexicana (NMX) que regula aspectos de calidad de las vainas, diversos criterios son poco precisos y carece de una descripción de los atributos sensoriales. Se muestrearon frutos beneficiados de diferentes locaciones de Puebla y Veracruz, México, para caracterizarlos fisicoquímicamente y correlacionarlos con la NMX; además se desarrolló un perfil sensorial de acuerdo a su origen geográfico y esquema de beneficiado. Ninguna de estas variables pudo explicar claramente las variaciones en parámetros fisicoquímicos y en los perfiles sensoriales obtenidos, por lo que se sugiere un estudio más controlado para obtener conclusiones más consistentes.

Palabras clave: Silicua, vainillina, perfil sensorial, beneficiado, propiedades fisicoquímicas.

ABSTRACT

Vanilla is an important and valuable aromatic species worldwide; it is native from Mexico, currently the fifth most important producer in the international market. The vanilla fruits (siliques) develop unique physicochemical and sensory traits through a mostly traditional fermentative process (curing) and from these a vainillin-rich extract is obtained, which is the principal aromatic agent. Although a Mexican Norm (NMX) regulates pod quality characteristics, various criteria are not very precise and lacks a description of sensory attributes. Cured fruits were sampled from different locations in Puebla and Veracruz and physicochemically characterized to correlate them to the NMX; besides a sensory profile was developed based on their geographic origin and curing scheme. None of these variables could clearly explain variations on physicochemical parameters and sensory profiles obtained. Thus, a more controlled study is suggested to obtain more consistent conclusions.

Keywords: Siliques, vainillin, sensory profile, curing, physicochemical properties.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 34-40.

INTRODUCCIÓN

La vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) es una especie cultivada, de la cual se obtiene un extracto que se utiliza para añadir sabor y aroma a diversos productos alimenticios primordialmente, aunque también tiene aplicaciones en otras industrias, incluyendo farmacéutica, de cosméticos y tabacalera. La vainilla, originaria del México precolombino, posee un gran potencial productivo y económico, sobre todo en la región del trópico húmedo donde se cuenta con las condiciones óptimas de suelo y clima que favorecen su desarrollo (Hernández-Hernández *et al.*, 2011a). México pasó de ser el mayor centro de producción a nivel mundial, a ocupar el quinto lugar, equivalente a 4% del volumen neto anual. Los principales estados productores son Veracruz, Oaxaca, San Luis Potosí y Puebla (SHCP, 2014). La mayor parte de la producción de vainilla se concentra en el estado de Veracruz con 75% del total nacional, y la zona principal de producción se sitúa en la región colindante entre Veracruz y Puebla denominada Totonacapan, que comprende la región costera limitada al norte y sur por los ríos Cazonnes y La Antigua, respectivamente e incluye poblaciones en la Sierra Norte de Puebla y Sierra Madre Oriental. En 2012, el rendimiento de fruto verde fue de 325 kg ha⁻¹, lo cual se utilizó para producir 65 t ha⁻¹ de silicuas (frutos) beneficiadas. Aunque importante, este rendimiento representó una disminución significativa con relación a lo obtenido en años anteriores (600 t ha⁻¹ en 2007; 480 t ha⁻¹ en 2009) atribuido al beneficiado; por tanto, se requiere plantear alternativas que mejoren la eficiencia del proceso de beneficiado con el fin de sostener el valor agregado del fruto beneficiado.

El beneficiado de la vainilla es un proceso de fermentación, mediante el cual los frutos verdes, los cuales carecen de aroma, se modifican drásticamente hasta exhibir un color café oscuro y brillante y perfiles de aroma y sabor, provenientes de una mezcla de cientos de compuestos donde destaca la vainillina (Reyes-López *et al.*, 2008). Estos cambios se atribuyen a una serie de reacciones químicas catalizadas enzimáticamente que incluyen la formación de pigmentos y compuestos aromáticos y saborizantes a partir de sustancias precursoras presentes en el fruto maduro. El beneficiado consta de diversas operaciones, incluyendo recepción, despezonado, enmaletado, matado de fruto, asoleado, sudado, depósito y empaque. Dependiendo del grado de incorporación al proceso de maquinaria adecuadamente diseñada y calibrada, el beneficiado se clasifica como tradicional, semi

tecnificado y tecnificado. Las variaciones en la ejecución de estas operaciones le dan un carácter único al beneficiado y pueden modificar las características fisicoquímicas y sensoriales del producto terminado (Figura 1).

Aunque la competencia de los extractos sintéticos es sustancial, diversos factores propios del sistema de producción de vainilla limitan el desarrollo adecuado de este cultivo y reducen su aprovechamiento; estos incluyen una producción irregular y de temporal, bajo nivel de tecnificado y prevalencia de criterios subjetivos para clasificar materia prima, así como, determinar la evolución de las características de las vainas durante el beneficiado y establecer criterios de calidad del producto terminado. Esto último se realiza bajo la guía de un especialista práctico (maestro vainillero) que conduce el proceso de acuerdo a su experiencia y no basado en criterios fisicoquímicos y límites de control establecidos. Además, la Norma Mexicana NMX-FF-074-SCFI-2009 define las especificaciones de las silicuas (frutos) beneficiadas (clasificadas en grados *Extra* y *Categorías I, II y III* y tipos *Gourmet* y *Ordinaria*) basadas en criterios de apariencia color, brillo, olor, humedad, tamaño, textura y contenido de vainillina, sin embargo, los términos empleados son poco claros y dificultan la clasificación. Por ejemplo, el color de las vainas se denomina como *negro*, *café oscuro* o *café*, el cual se evalúa sensorialmente y emplea una escala cromática Pantone para definir los tonos observados, pero no existe algún criterio que relacione el nombre de los colores con el código cromático sugerido. Similares limitantes se presentan con la manera en que se nombran los atributos de textura (*flexible*),



Figura 1. Beneficiado tradicional del fruto de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews.

aparición (*gruesa, delgada*) y aroma (*dulce, característico*). Por tanto, resulta necesario establecer criterios fisicoquímicos y sensoriales más objetivos y consistentes para describir a las silicuas beneficiadas, así como, la relación de estos parámetros con esquemas específicos de beneficiado. Con base en lo anterior, se realizó la caracterización sensorial a través de pruebas descriptivas y la determinación de parámetros fisicoquímicos (textura instrumental, actividad de agua, contenido de humedad de frutos de vainilla cultivada en la región de Puebla-Veracruz y sometida a diversos tipos de beneficiado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de frutos de vainilla analizados provinieron de la región perteneciente a la planicie costera del estado de Veracruz y la sierra norte del estado de Puebla. La muestra de frutos fue de los municipios Ayotoxco de Guerrero y Pantepec, en el estado de Puebla, y Papantla y San Rafael en el estado de Veracruz: Se seleccionaron frutos con la misma madurez fisiológica (nueves meses posteriores a la polinización), eligiendo aquellos con un tamaño que osciló entre 15 y 20 cm de longitud, las cuales se sometieron a un proceso de beneficiado de acuerdo al proceso tradicional acostumbrado en cada ubicación, tales como, beneficiado tradicional (Pantepec y San Rafael) o semitecnificado (Ayotoxco, Papantla). Los frutos evaluados provenían de beneficiados en el periodo 2008-2010, debidamente almacenados.

Variables fisicoquímicas

Se evaluaron color, textura, actividad de agua y contenido de humedad a los frutos con madurez fisiológica sometidos a beneficiado. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Las pruebas realizadas se describen a continuación.

Peso y tamaño: Se tomó una muestra de tres frutos de cada región indicada y calidad. Se procedió a medirlas y pesarlas, haciendo así, una selección en categorías de acuerdo al grado de calidad indicado en la NMX-FF-074-SCFI-2009 (Cuadro 1).

Actividad de agua: Se hizo un corte longitudinal para poder tomar una cantidad de muestra significativa (0.5-1 g de vaina) con espátula delgada; posteriormente, se colocó la muestra en charola de plástico y se midió la actividad de agua con higrómetro de punto de rocío Decagon Aqualab Series 3 (Decagon, Pullman, E.U.A).

Humedad: Se evaluó por medio del método gravimétrico (NOM-116-SSA1-1994) en un horno de convección forzada Binder ED-53L (Tuttlingen, Alemania). Para ello,

se prepararon charolas de aluminio con arena, poniéndolas a 90 °C por 3 h. La muestra de 2.5 a 4.5 g, se tomó de la misma sección de vaina en cada ocasión, homogeneizándola con la arena. La deshidratación se llevó a cabo a 60 °C, para evitar evaporación de compuestos volátiles, hasta alcanzar peso constante. La humedad de las vainas se expresó por la relación: masa inicial y masa final de la muestra evaporada:

$$\text{Humedad}(\%) = \frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} * 100$$

donde: M_1 =Peso de cápsula con arena o gasa (g); M_2 =Peso de cápsula con arena o gasa más muestra húmeda (g); M_3 =Peso de cápsula con arena o gasa más muestra seca (g).

Textura: Se determinó la firmeza de los frutos empleando un texturómetro TA.XT Plus (Texture Technologies, Surrey, UK), empleando una sonda de cuchilla tipo Warner Bratzler. Las pruebas se hicieron a una velocidad de 5 mm s⁻¹ con un recorrido final de 10 mm.

pH: Se obtuvo la pulpa cortando longitudinalmente un fruto retirando las semillas por raspado, separándolas de la cáscara con un chuchillo (NMX-F-317-S-1978). Se emplearon muestras de 1-2 g molidas en un vaso de precipitado pequeño, hasta formar un puré. El electrodo del potenciómetro se introdujo al vaso, procurando que éste fuera cubierto de manera uniforme, obteniendo la medición de pH tras equilibrar la lectura por aproximadamente un minuto.

Color: Se realizaron con un colorímetro Hunterlab (ColorFlex EZ, Reston, VA, EUA) con iluminante D65 a 10°. Para la medición se cortaron los frutos en cuatro partes iguales, las cuales se colocaron sobre una base de vidrio transparente con una cubierta opaca. El colorímetro se calibró previamente con tejas negra y blanca. Se empleó la escala CIE Lab (L^* , a^* y b^*) realizando mediciones por triplicado. Se obtuvo la diferencia neta de color (ΔE) entre el color triestímulo de cada muestra y los colores Pantone establecidos en la NMX-FF-074-SCFI-2009 a través de:

$$\Delta E^* = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$$

Se definió el color Pantone correspondiente como aquel que presentó la mínima diferencia de color.

Evaluación Sensorial. Para la evaluación sensorial, se reunió un grupo de personas (n=25) para elegir

participantes de acuerdo a su interés, disponibilidad de tiempo y a los resultados de una cuestionario de preselección, donde se determinó si el aspirante cumplía con los requisitos de aptitud (no fumadores, sanos) y actitud (flexible, cooperativo, capaz de trabajar en equipo) para conformar un panel sensorial; a través de pruebas de perfil sensorial. Los panelistas reconocieron y describieron atributos asociados con los frutos de vainilla beneficiados, por comparación con estándares y empleando una escala de 100 puntos con cinco categorías, desde *baja* hasta *alta* estableciendo de manera consensuada si el estímulo de la referencia está presente y la intensidad asociada con el mismo, así como, las notas primordiales inherentes al producto evaluado. El panel seleccionado evaluó, siguiendo buenas prácticas de análisis sensorial los siguientes atributos: aroma global, sabor global, sabores básicos (dulce, ácido, amargo, umami, salado) y sabores característicos de vainilla (metálico, astringente, ahumado, acre, pungente, tostado, arenoso, aroma a nardo, dulce, clavo, pimienta negra, canela, uva pasa, madera, tierra húmeda, chile seco, cacao, tamarindo, ajonjolí, mohoso) (Toth *et al.*, 2011).

Análisis Estadístico. Se estableció un diseño completamente aleatori-

zado, con 4 locaciones y 6 niveles de calidad, de acuerdo a la norma correspondiente. Todas las pruebas se realizaron por duplicado. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un modelo lineal general (GLM) realizando una comparación entre medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para cada parámetro evaluado en todas las muestras empleando el software estadístico Minitab 17 (Minitab Inc; State College, PA, EUA). Para el análisis sensorial se determinó el número de atributos de aroma requeridos para describir las muestras. El número de variables dependientes (atributos) se redujo por Análisis de Componentes Principales (PCA) empleando XLSTAT Pro (Addinsoft, 2010, EUA), estableciendo el número de factores subyacentes requerido y la proporción de la varianza total (Hariom Shyamala *et al.*, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Clasificación por calidad

El Cuadro 1 muestra los valores de calidad de frutos de vainilla de acuerdo a la norma NMX-FF-074-SCFI-2009; y según esta clasificación, de las 10 muestras evaluadas, sólo cuatro podrían pasar el filtro de calidad para su comercialización, incluyendo los frutos de la región de Papantla (*Extra gourmet*), una de la región de San Rafael (Cate-

goría 1 Gourmet) y una de Ayotoxco (*Categoría 2 Ordinaria*). Para los propósitos de este trabajo, se consideraron dos categorías adicionales a la clasificación de humedad de los frutos, *Seca* (<15% de humedad) y *Húmeda* (>30% de humedad) dado que algunas de estas vainas exhibían un perfil sensorial deseable, aún incumpliendo con el estándar de humedad. Bajo este criterio extendido, todas los frutos evaluados pudieron ser clasificados, ubicando a la mayoría en la categoría 1 de tamaño (≥ 17.5 cm) ($n=4$) y en la categoría *Extra* (≥ 20 cm) ($n=4$). Asimismo, se observó que la clasificación de vainas en términos de humedad y tamaño no está en función del tipo de beneficiado empleado. Esto se comprueba al tener muestras con beneficiado semitecnificado clasificadas por debajo del nivel mínimo de humedad (20%) y muestras que se clasificaron por encima del nivel máximo (30%) también beneficiadas por procedimiento semitecnificado en la región de Ayotoxco, Puebla, donde se obtuvo además, la mayor dispersión en cuanto a calidad de los frutos evaluados (Cuadro 2).

Tamaño de vainas

El tamaño de las vainas evaluadas se muestra en el Cuadro 2. En este aspecto, se puede observar un rango de tamaño de las vainas entre los

Cuadro 1. Clasificación por calidad de vainas de vainilla por parámetros específicos.

Parámetro	Grado de calidad					
	Extra	Categoría I		Categoría II		Categoría III
	Gourmet	Gourmet	Ordinaria	Gourmet	Ordinaria	Ordinaria
Aspecto	G, SR, SM, F, B	G, SR, SM, F, B	D, CR, R	G, SR, SM, F, B	D, CR, R	G ó D; R, RR
Humedad (%)	25 a 30	25-30	20- 24	25-30	20-24	15-20
Vainilla (%)	2.0 - 2.4	2.0 - 2.4	1.6 - 2.0	2.0 - 2.4	1.6 a 2.0	1.6
Tamaño (cm)	≥ 20	$\geq 17,5$		≥ 15		<15
Color	N- C oscuro	N-C oscuro	C, CR	C claro, FR	C, CR	C, CR

Gruesa (G), Delgada (D), Flexible (F), Brillante (B), Sin rayas (SR), Con rayas (CR), Sin manchas (SM), Negro (N), Café (C), Puede estar rajada (R), Puede estar rayada (RR), Con filamentos rojos (FR).

**Cuadro 2.** Parámetros fisicoquímicos evaluados en frutos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews de la región Puebla y Veracruz, México.¹

Muestra	Calidad ³	Beneficiado ²	Tamaño (cm)	Humedad (%)	Fuerza (N)	Aw	pH
Sn Rafael 1	C1G ⁴	1	19±0.5 ^{ABa}	26.64±1.90 ^{BCb}	0.132±0.02 ^{Ca}	0.94±0.01 ^{Aa}	5.9±0.1 ^{ABa}
Sn Rafael 2	ES	1	20.4±0.4 ^{Aa}	10.70±1.85 ^{EFb}	0.239±0.04 ^{BCa}	0.82±0.04 ^{BCDa}	5.7±0.0 ^{ABa}
Pantepec	C1S	1	19.8±0.8 ^{Aa}	6.36±0.24 ^{Fb}	0.202±0.01 ^{BCa}	0.82±0.04 ^{BCDa}	5.8±0.1 ^{ABa}
Ayotoxco 1	C1S	2	19.6±0.6 ^{Aa}	12.34±0.53 ^{DEa}	0.529±0.06 ^{Ab}	0.4±0.02 ^{Ea}	5.7±0.6 ^{ABa}
Ayotoxco 2	C3S	2	14.5±0.5 ^{Da}	16.56±2.23 ^{Da}	0.266±0.01 ^{BCb}	0.79±0.03 ^{CDa}	5.5±0.9 ^{Ba}
Ayotoxco 3	EH	2	20±1 ^{Aa}	32.33±2.06 ^{Aa}	0.271±0.11 ^{BCb}	0.88±0.01 ^{ABa}	6.1±0.4 ^{ABa}
Ayotoxco 4	C1H	2	17.5±0.9 ^{BCa}	32.82±2.67 ^{Aa}	0.224±0.08 ^{BCb}	0.88±0.01 ^{ABa}	6.1±0.2 ^{ABa}
Ayotoxco 5	C2O ⁴	2	15.7±0.6 ^{CDa}	23.87±2.04 ^{Ca}	0.195±0.03 ^{BCb}	0.85±0.01 ^{BCa}	5.9±0.0 ^{ABa}
Papantla 1	EG ⁴	2	20.6±0.7 ^{Aa}	26.15±1.57 ^{BCa}	0.325±0.08 ^{Bb}	0.86±0.01 ^{Ba}	6.5±0.3 ^{ABaa}
Papantla 2	EG ⁴	2	20.9±0.9 ^{Aa}	29.30±1.35 ^{ABa}	0.303±0.03 ^{Bb}	0.77±0.02 ^{Da}	6.6±0.0 ^{Aa}

¹Medias ± DS. n=3; ²Beneficiado. 1=Tradicional; 2=Semitecnificado; letras mayúsculas diferentes en una misma columna representa diferencias significativas (P<0.05) con respecto al parámetro evaluado. Letras minúsculas diferentes en una misma columna representa diferencias significativas (P<0.05) con respecto al tipo de beneficiado empleado y el parámetro evaluado. ³Parámetros de calidad. C1G=Categoría 1 Gourmet; C2O=Categoría 2 Ordinario; EG=Extra gourmet, C1 (Norma mexicana NMX-FF-074-SCFI-2009). S=seco (<15% humedad); H=húmedo (>30% humedad) (parámetros arbitrarios). ⁴Cumplen con la norma NMX-FF-074-SCFI-2009.

20.9 y 14.5 cm, lo cual indica una dispersión importante del tamaño de las vainas. El ANOVA mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tamaños de las muestras. Posteriormente, el análisis de Tukey agrupó las muestras en 4 grupos diferentes, quedando San Rafael, Pantepec y Papantla en un grupo junto con dos muestras de Ayotoxco (entre 19 y 20 cm) y las demás muestras analizadas en 3 grupos. Asimismo, al evaluar si el tipo de beneficiado empleado tenía efecto significativo sobre el tamaño de las vainas, los resultados muestran que no existe tal efecto ($p < 0.05$). El tamaño de la vaina puede verse afectado por las diversas condiciones del ambiente en el cual está creciendo la planta como son, la cantidad de agua disponible, la cantidad de luz, nutrientes en el suelo, calidad de la tierra, temperatura, entre otras (Hernández-Hernández *et al.*, 2011b).

La humedad de los frutos resulta crítica para los procesos de beneficiado, de los cuales se desarrollaran los compuestos químicos volátiles que le dan características únicas, debido a que la actividad enzimática dentro del fruto se ve afectada de manera importante por el contenido de humedad (Sreedhar *et al.*, 2007), y a este respecto, el análisis estadístico mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los valores de humedad observados agrupándolos en seis diferentes conjuntos, sobresaliendo estadísticamente ($p < 0.05$) que el tipo de beneficiado tradicional registró el contenido menor de humedad, respecto al semitecnificado. En este caso, sería necesario realizar mayor número de análisis, debido a la gran dispersión de los datos presentes.

Fuerza instrumental

Se evaluó la fuerza necesaria para doblar la vaina, lo cual refleja el grado de rompimiento de la estructura celular por efecto del proceso de beneficiado, y reacciones enzimáticas terminan por romper la estructura celular de la vaina pudiendo entrar en contacto la β -glucosidasa y la glucovainillina (Pacheco Reyes, 2009). Esta prueba simula la deformación manual a la que se someten los frutos para clasificarlos bajo el esquema tradicional de la Norma

Mexicana correspondiente. En este caso, el tipo de beneficiado resultó significativo ($p < 0.05$) para el mantenimiento de la estructura celular, lo cual indica en mayor fuerza para el corte. De las muestras evaluadas, las clasificadas como extra gourmet de Papantla, resultaron con una mayor fuerza, lo cual demuestra que el tipo de beneficiado semitecnificado favorece menor destrucción de la estructura celular de los frutos. Por el contrario, las muestras beneficiadas tradicionalmente, tuvieron menor fuerza al corte, lo cual refleja mayor facilidad de deformación de la estructura. Asimismo se observó que no existe una correlación entre el porcentaje de humedad y la dureza de los frutos. Muestra de lo anterior, fue la vainilla de Pantepec que obtuvo el valor más bajo de humedad (6.36%), pero un valor intermedio de dureza (0.232 N).

a_w y pH

Ambos parámetros son importantes para el metabolismo de los frutos durante el beneficiado, ya que pequeñas disminuciones pueden acarrear el incorrecto desarrollo

del perfil sensorial del fruto. Además, la posibilidad de crecimiento microbiano, principalmente hongos, se ve favorecida al aumentar estos parámetros. En el caso de la a_w , se obtuvieron valores en un intervalo muy amplio (0.40-0.94), independientes del contenido de humedad de los frutos. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre frutos evaluados ($p < 0.05$), obteniendo diversos grupos en el análisis de medias sin que reflejara relación con el lugar de procedencia. Igualmente, el tipo de beneficiado aplicado tampoco mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) en la actividad de agua de las muestras. Para el pH de los frutos, el intervalo de valores obtenido fue más reducido (5.5 y 6.6).

Las muestras con el mayor valor de pH fueron aquellas con calidad Extra Gourmet de la región de Papantla (Cuadro 2), y la de menor calidad Ayotoxco (Calidad 3 Seca) con pH bajo de 5.5, de tal forma que los frutos con valores más elevados de pH registraron también los valores más elevados de humedad y calidad. De esta manera, el análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras evaluadas con dos grupos diferenciados, sin alcanzar diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al tipo de beneficiado usado en cada muestra.

Los frutos de vainillas muestreados no presentaron variaciones significativas de color entre sí (datos no mostrados); la diferencia mínima para los promedios de color

de todas las muestras se obtuvo con Pantone 4625 EC (European Coated) de acuerdo a la clasificación de la NMX-FF-074-SCFI-2009.

Análisis de Componentes Principales (PCA)

Con los datos del análisis sensorial obtenido para los descriptores *metálicos, ahumado, acre, tostado, arenoso (textura), olor dulce, clavo, pimienta negra, uva pasa, madera, tierra húmeda, cacao, tamarindo, ajonjolí y ácido, sabor y aroma general*, registraron en conjunto 74.6% de la descripción total, y los gráficos de componentes principales bidimensionales mostraron que el factor 1 aportó 58.4% del total de la variación, resultando ser el componente de mayor importancia, mientras que el segundo factor confirió 16.2% de variabilidad. El Cuadro 3 muestra los valores de los descriptores que explican a las muestras en mayor medida, mientras que la Figura 2 permite visualizar las relaciones existentes entre los 10 tipos de frutos de vainilla evaluados. La clasificación de acuerdo a los criterios de humedad y tamaño de la NMX-FF-074-SCFI-2009 y los parámetros fisicoquímicos analizados no fue de utilidad para encontrar similitudes entre los perfiles sensoriales de las muestras; ya que frutos provenientes de Ayotoxco (1, 2, 5) exhibieron perfiles sensoriales similares, al igual que las muestras de Ayotoxco (3, 4) y Papantla (1), San Rafael (1,2) y Papantla (2), mientras que las muestras de Pantepec fueron completamente distintas al resto, probablemente por poseer el menor nivel de humedad del total de las muestras. De acuerdo a los resultados del PCA de características sensoriales, la ubicación de origen de los frutos no resultó relevante para predecir el perfil de la vainilla y deben buscarse nuevos parámetros fisicoquímicos que correlacionen apropiadamente las características de aroma y sabor, así como, la concentración de vainillina u otros precursores mayoritarios. El tipo de beneficiado si parece afectar el perfil sensorial de las muestras, aunque la considerable variación en humedad entre las ellas sometidas a beneficiado tradicional (San Rafael y Pantepec) impidieron observar un efecto claro de esta variable (Figura 3).

Cuadro 3. Valores estadísticos de descriptores en el análisis de componentes principales (PCA).

Descriptor	Primer componente	Segundo componente
Metálico	0.221	-0.267
Ahumado	0.248	-0.079
Acre	0.278	-0.327
Tostado	0.271	-0.332
Arenoso	0.289	-0.087
Olor Dulce	0.235	0.384
Clavo	0.262	-0.284
Pimienta negra	0.310	-0.143
Uva pasa	0.280	0.081
Madera	0.173	0.391
Tierra húmeda	0.228	0.248
Cacao	0.194	-0.072
Tamarindo	0.212	0.425
Ajonjolí	0.315	0.144
Ácido	0.305	0.148

CONCLUSIONES

No se encontró una relación clara entre la magnitud de las variables fisicoquímicas exploradas (porcentaje de humedad, pH, actividad de agua, textura instrumental) y el perfil sensorial (aromas, sabores) de frutos de vainilla provenientes de distintas locaciones y esquemas de beneficiado.

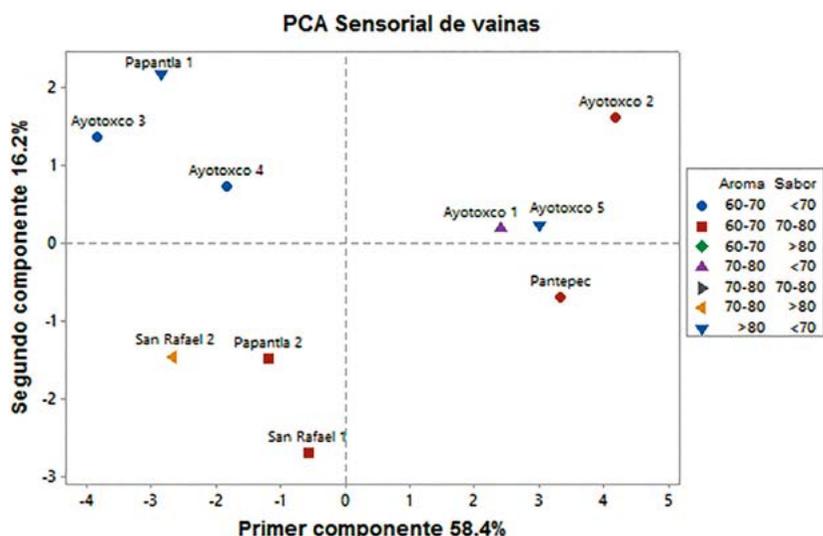


Figura 2. Análisis de componentes principales de perfiles sensoriales de frutos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, de diferentes localidades de Puebla y Veracruz, México, sometidas a distintos esquemas de beneficiado.



Figura 3. Frutos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, y de diferentes localidades de Puebla y Veracruz, México; verdes y sometidas a distintos esquemas de beneficiado.

AGRADECIMIENTOS

A los productores de vainilla de la región del Totonacapan, Puebla-Veracruz, México, y al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT, por el financiamiento otorgado como parte del: Macroproyecto: Mejoramiento de la productividad integral del cultivo de vainilla en México, que fortalezca su competitividad (Clave 190442). Subproyecto (SP09): Implementación de estudios de inocuidad y control de procesos y su impacto sobre el perfil sensorial de la vainilla mexicana.

LITERATURA CITADA

Hariom Shyamala B.N., Prakash M., Bhat K.K. 2006. Vanilla flavor evaluation by sensory and electronic nose techniques. *J. Sensory Studies*. 21(2): 228-239.

Hernández-Hernández J. 2011a. Programa Estratégico para el Desarrollo Rural Sustentable de la Región Sur – Suereste de México: Tropic Humedo 2011. (Paquete Tecnológico Vainilla (*Vanilla Planifolia* Jackson). Tlapacoyan Ver. Gobierno Federal de Veracruz. INIFAP. SAGARPA.

Hernández-Hernández J. 2011b. Mexican vanilla production. *En: D. Havkin-Frenkel, F.C. Belanger (ed). Handbook of vanilla science and technology*. Blackwell Publishing Co. West Sussex, UK.

NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

NMX-FF-074-SCFI-2009. Productos no industrializados para uso humano-vainilla - (*Vanilla fragrans* (salisbury) ames*) -especificaciones y métodos de prueba. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

Pacheco Reyes I. 2009. Evaluación del efecto de sonicación – microondas en el beneficio de vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews). Tesis con el grado de maestría en ciencias. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca.

Reyes-López D., Rodríguez Morales, B., Kelso Bucio H., Huerta Lara M., Ibañez Martínez A. 2008. Beneficiado tradicional de vainilla. México. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

Financiera Nacional de Desarrollo. 2014. Panorama de la Vainilla. [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Vainilla%20\(jul%202014\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Vainilla%20(jul%202014).pdf) Verificado en 14/09/2015

Sreedhar R.V., Roothie K., Venkatachalam L., Narayan M.S., Bhagyalakshmi N. 2007. Specific pretreatments reduce curing period of vanilla (*Vanilla planifolia*) beans. *J. Agric. Food. Chem.* 55(8): 2947-2955.

Toth S., Lee K.J., Havkin-Frenkel D., Belanger F.C., Hartman T.G. 2011. Volatile compounds in vanilla. *En: D. Havkin-Frenkel, F.C. Belanger (ed). Handbook of vanilla science and technology*. Blackwell Publishing Co. West Sussex, UK.

PATAXTE (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.): ESPECIE SUBUTILIZADA EN MÉXICO

PATAXTE (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.): SPECIES UNDERUTILIZED IN MEXICO

**Gálvez-Marroquín, L. A.¹; Reyes-Reyes, A. L.¹; Avendaño-Arrazate, C. H.^{1*}; Hernández-Gómez, E.¹;
Mendoza-López, A.²; Díaz-Fuentes V.H.¹**

¹Campo Experimental Rosario Izapa-INIFAP. Km 18 Carretera Tapachula-Cacahoatán, Tuxtla Chico, Chiapas, México. ²Empresa AMCO, Tuzantán, Chiapas, México.

***Autor de correspondencia:** avendano.carlos@inifap.gob.mx

RESUMEN

En México, el pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) puede llegar a ser materia prima para usos agroindustriales y alimentarios, entre ellos el chocolate, sin embargo, la falta de información sobre variedades, establecimiento de plantaciones, manejo del cultivo y poscosecha han restringido su uso. En razón de lo anterior se caracterizó morfológica y bioquímicamente diferentes accesiones de pataxte *in situ* a nivel procedentes de México. Se identificaron cuatro ecotipos diferenciados principalmente por características del fruto, consistencia de cáscara, rugosidad y color. La caracterización fisicoquímica de los granos mostró que es una especie con alto potencial agroindustrial, por sus bajos niveles de humedad y alto contenido de carbohidratos, reflejado además por los usos tradicionales actuales, y destaca en su diversidad diferentes formas, colores y sabores.

Palabras claves: Cacao, caracterización, usos.

ABSTRACT

In Mexico, pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) could become raw material for agro-industrial and food uses, among them chocolate; however, the lack of information about varieties, the establishment of plantations, and the crop and post-harvest management have restricted its use. Because of this, different accessions of pataxte were characterized morphologically and biochemically *in situ* at the level of proceedings from Mexico. Four differentiated ecotypes were identified primarily from characteristics of the fruit, consistency of the skin, roughness and color. The physical-chemical characterization of the grains showed that it is a species with high agro-industrial potential, because of its low moisture levels and high content of carbohydrates, also reflected by the current traditional uses; and, different shapes, colors and flavors stand out in its diversity.

Keywords: cacao, characterization, uses.



INTRODUCCIÓN

Los árboles del género *Theobroma* L., son endémicos de las regiones de Centro y Sudamérica. De las 22 especies conocidas en estas regiones, el *T. cacao* es la única especie que se cultiva comercialmente (Bressani y Furlan, 1997). Sin embargo, existen otras con alto potencial que se encuentran en proceso de domesticación, entre ellas *T. bicolor*, conocida en algunos lugares como pataxte, pataste, patashe o cacao cimarrón. Su distribución en México, incluye los estados de Chiapas, Oaxaca y Tabasco; y a nivel mundial, se ha reportado su presencia en Colombia, Venezuela y Brasil. Actualmente, se le encuentra asociado a cacaotales o traspatio, ya que no existen plantaciones comerciales. Los frutos de *T. bicolor* son los más grandes del género *Theobroma* L., de entre 25 a 35 cm de largo por 12 a 15 cm de ancho, llegando a pesar entre 0.5 a 3.0 kg. La cáscara es leñosa y dura (Bressani y Furlan, 1997). Este árbol produce aproximadamente 15 a 40 frutos por cosecha. Según Bressani y Furlan (1997), Jee (1984), Ortiz (2004) el pataxte está compuesto por 23.76% de pulpa, 62.54% de cáscara y 13.70% lo constituyen el peso de las semillas. A México se le reconoce como centro de domesticación del cacao (Ogata, 1997) y asociado a esta especie se encuentra el pataxte con una amplia diversidad de formas y sabores del fruto. En algunas regiones de México, esta especie tiene gran importancia por sus usos en bebidas tradicionales y como ingrediente del

chocolate. A pesar de esta importancia, son pocos los estudios sobre diversidad, conservación y utilización. Es por ello, que el objetivo fue contribuir a su conocimiento mediante la recolecta y caracterización *in situ* a nivel morfológico y bioquímico de genotipos de pataxte de México para su conservación y utilización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta

Durante el período 2011-2013, se realizaron recorridos en los estados de Chiapas, Oaxaca y Tabasco, México, para recolectar frutos y realizar la caracterización *in situ*. A cada recolecta se le tomaron sus datos pasaporte (Cuadro 1).

Caracterización *in situ*

Se realizó la caracterización *in situ* en frutos fisiológicamente maduros. Para ello, se utilizaron siete caracteres: forma de fruto, constricción basal, rugosidad, consistencia de cáscara, color principal en madurez fisiológica, tamaño y profundidad de costilla. Se recolectó semilla de cada fruto para obtención de planta y con ello, se estableció un banco de germoplasma en el Campo Experimental Rosario Izapa del INIFAP.

Caracterización fisicoquímica

De los genotipos recolectados, se seleccionó un genotipo para su caracterización fisicoquímica, mediante las siguientes determinaciones:

Cuadro 1. Características climáticas y coordenadas geográficas de sitios de recolecta de accesiones con frutos de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) en Chiapas, Oaxaca y Tabasco, México.

Localidad	Altitud (m)	T (°C)	Pp (mm)	LN	LO
Cantón Huamachun, Huehuetán, Chiapas	31	28.3	2239.6	14° 58' 28.9"	92° 28' 11"
1ª Sección Medio Monte, Tuxtla Chico, Chiapas	205	25.6	3212.9	14° 54' 0.4"	92° 11' 46"
Tezoatlán, Tuxtla Chico, Chiapas	35	28.6	1333.3	14° 39' 52.8"	92° 10' 4"
Estación Tuzantán, Chiapas	79	28.7	3178.7	15° 5' 56.5"	92° 26' 55"
Cuyamiapa, Huehuetán, Chiapas	46	28.3	2239.6	15° 2' 11.3"	92° 24' 30"
3 ^{er} Cantón, Tuzantán, Chiapas	58	28.7	3187.6	15° 5' 53.3"	92° 27' 1"
2ª Sección de Francisco Sarabia, Tuzantán, Chiapas	128	28.7	3187.6	15° 9' 34.9"	92° 24' 24"
Arroyo Seco, San Juan Bautista, Oaxaca	215	22	1220	17° 44' 48.6"	96° 18' 25"
Los Cantiles, San Juan Bautista, Oaxaca	420	22	1220	17° 43' 53.8"	96° 19' 56.1"
San Mateo Yetla, San Juan Bautista, Oaxaca	227	22	1220	17° 44' 53.7"	96° 19' 20.8"
San Luis Arroyo Palomo, San Juan Bautista, Oaxaca	651	22	1220	17° 50' 22.5"	96° 22' 17.9"
San Mateo Yetla, San Juan Bautista, Oaxaca	106	22	1220	17° 45' 18.5"	96° 18' 59.8"
Rafael Martínez Escobar, Huimanguillo, Tabasco	104	26.9	2290	17° 42' 39.7"	93° 24' 22.7"
Guiral y González 1ª Sección, Huimanguillo, Tabasco	29	26.9	2290	17° 53' 17.3"	93° 23' 59.6"
Ostiltlán 1ª Sección, Huimanguillo, Tabasco	35	26.9	2290	17° 46' 16.6"	93° 24' 55.3"

T=Temperatura promedio anual, Pp: Precipitación promedio anual, LN=Latitud norte y LO=Longitud oeste.

Porcentaje de humedad: Se pulverizaron 10 g de semillas completas empleando un triturador, posteriormente la muestra fue distribuida homogéneamente en una charola seca y dispuesta en una termobalanza. Se registró la pérdida de peso y el porcentaje de humedad una vez que no se observó variación en la lectura del equipo.

Cenizas: Se colocaron aproximadamente 3 g de muestra en un crisol, y fue colocado en una parrilla de calentamiento hasta lograr que el material se quemara por completo y no se observara desprendimiento de humo. Inmediatamente, los crisoles fueron colocados en una mufla y efectuar una calcinación completa.

Determinación de grasa: Mediante el método de soxhlet se emplearon 20 g de semillas fermentadas y completamente pulverizadas. La muestra fue dividida en tres partes iguales y colocadas en sobres de papel filtro. Posteriormente se empacaron en cartuchos y colocados dentro de una corneta de extracción de aceite. Finalmente el dispositivo de extracción de aceite fue ensamblado dentro de un matraz balón de 250 mL, que contenía 100 mL de hexano, expuesto a 70 °C durante 4 h.

Índice de acidez: Se pesaron 20 g de la muestra en un vaso de precipitado. Se agregó agua destilada para ajustar un volumen de 100 mL. Se llenó la bureta con 25 mL de la solución estandarizada de NaOH. Se mantuvo la muestra en agitación y se tituló rápidamente hasta llegar a un pH de 6.0. Posteriormente, se agregó lentamente solución de NaOH hasta tomar una lectura de pH 7.0. Luego se adicionó la solución de titulación gota a gota esperando la estabilización. Finalmente se tituló hasta un pH de 8.0 (puede utilizar un rango ± 0.2 , lo cual se considera aceptable).

Determinación de carbohidratos: Se siguió el protocolo descrito por Dubois *et al.* (1956).

Determinación de pH. 10 g de muestras de semillas fueron pulverizados y mezclados en agua destilada hirviendo hasta alcanzar un volumen final de 100 mL, se agitó continuamente durante cinco minutos. Cuando la mezcla registró una temperatura de 20 °C se procedió a medir el pH, determinado con dos decimales de precisión y empleando un potenciómetro electrónico hasta observar estabilidad en la lectura.

Determinación de proteína. Se siguió el protocolo descrito por Tejada (1992).

Registro de los usos. Para conocer y describir los usos del pataxte, se realizaron entrevistas a personas de San José Chiltepec, Oaxaca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica *in situ*

Baudillo y Cumana (2005), indican que el fruto de pataxte es una baya de 14–25 cm de longitud, subglobosa-elipsoidal con costillas pronunciadas, reticuladas y tomentosa. Mendoza *et al.* (2012), mencionan que existen cuatro tipos de *T. bicolor* en países como Perú, Colombia y Brasil, cuya diferencia se determina por la textura externa del fruto (rugoso y liso) y dureza del pericarpio (blando o duro). Asimismo, mencionan que en México, se encuentra tres tipos, y con mayor frecuencia el tipo rugoso con pericarpio duro, seguido del liso y pericarpio duro, y finalmente el rugoso de cáscara suave. Con base en características del fruto, se determinaron cuatro ecotipos, que se describen a continuación:

Ecotipo 1

Se caracteriza principalmente por presentar forma de fruto redonda, consistencia de cáscara dura, color principal en madurez fisiológica verde claro y verde, ligeramente rugoso hasta rugoso reticulado, cuya tamaño oscila entre 14.6–21.7 cm y costilla ligera hasta fuertemente pronunciada. Estos materiales se localizan en los municipios de Tapachula, Tecpatán y Tuzantán, Chiapas (Figuras 1a–d).

Ecotipo 2

Se caracteriza por presentar una forma de fruto elíptica, constricción basal ausente y ligeramente pronunciada, consistencia de cáscara dura, color principal en madurez fisiológica verde, rugosidad media a fuertemente pronunciada, cuyo tamaño oscila entre 14.3–19.7 cm y costilla fuertemente pronunciada. Estos materiales se localizan en los municipios de Suchiate y Tuzantán, Chiapas (Figuras 1e–i).

Ecotipo 3

Presenta forma de fruto oblongo, constricción basal ausente, consistencia de cáscara suave y dura, con una coloración en madurez fisiológica que va desde verde claro hasta amarillo, reticulación media a fuertemente pronunciada, el tamaño oscila entre 16.3–21.1 cm y costilla fuertemente pronunciada. Estos materiales se localizan en Huehuetán, Chiapas; Huimanguillo y Teapa, Tabasco; San Juan Bautista Valle Nacional, Oaxaca (Figuras 1i–l y Figura 2a–f).

Ecotipo 4

Presenta forma de fruto abovado, constricción basal ausente y ligeramente pronunciada, consistencia de

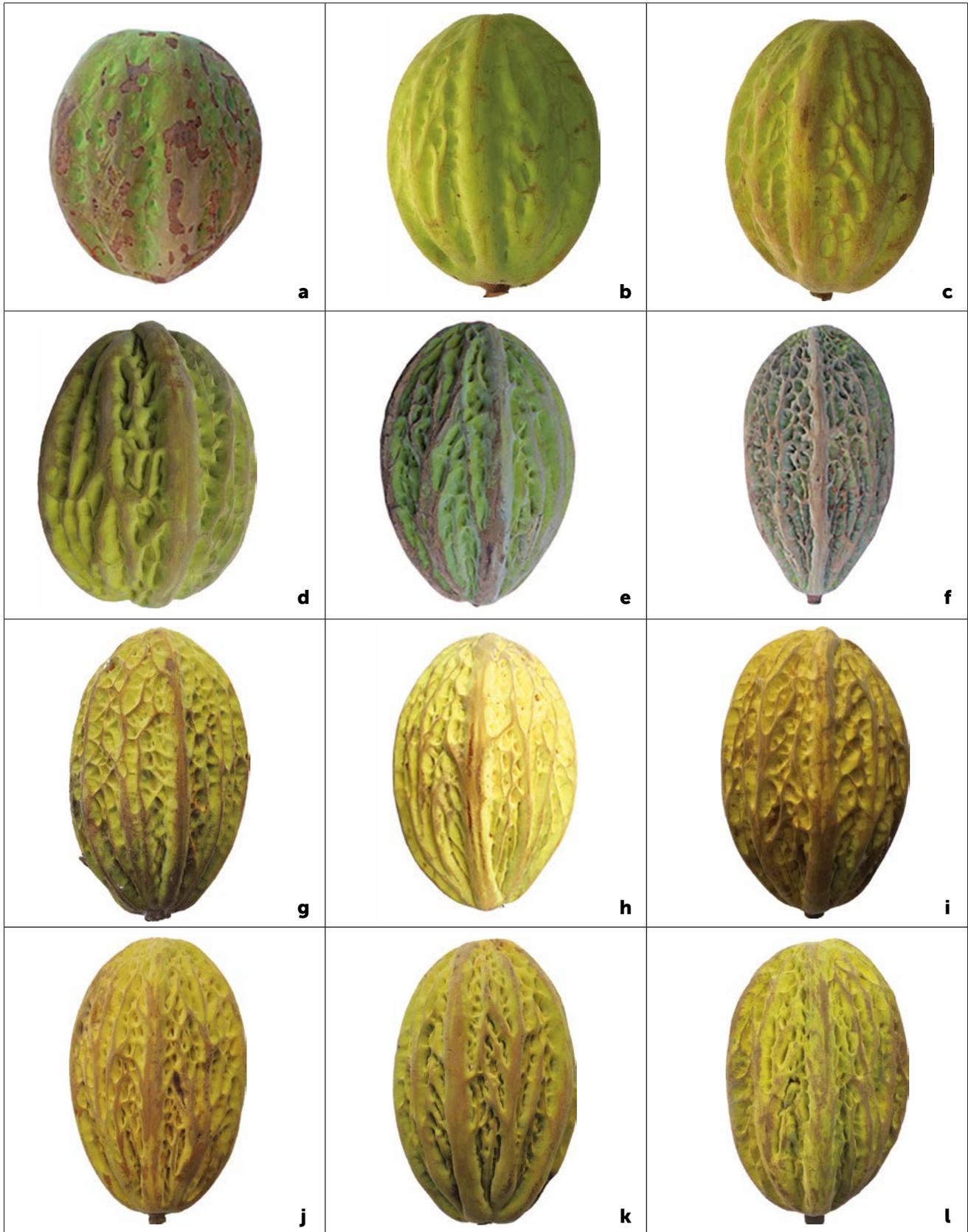


Figura 1. Aspecto externo de las diferentes accesiones de frutos de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) de México.



Figura 2. Aspecto externo de las diferentes accesiones de frutos de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) de México.

cáscara suave y dura, con una coloración en madurez fisiológica amarilla, reticulación media a fuertemente pronunciada, tamaño de entre 14.15-16.7 cm, costilla media a fuertemente pronunciada. Se encuentra en los municipios de Huehuetán, Tuxtla Chico, Chiapas, así como, en San Juan Bautista Valle Nacional, Oaxaca (Figuras 2g-l).

Caracterización fisicoquímica

Se registró un valor de 3.55% de humedad, parámetro muy inferior a 5.57% reportado por Bressani y Furlan (1997), y que permite que la muestra sea almacenada por un mayor lapso de tiempo (Cuadro 2).

De manera indirecta, el porcentaje de cenizas indica el contenido de minerales presentes en una muestra. El valor obtenido es menor que los reportados por Bressani y Furlan (1997) y Arriaga (2007), quienes determinaron 4.14% y 3.88% de cenizas, respectivamente, y generalmente los valores máximos esperados en una muestra son de 5% en materia seca. Las propiedades y contenidos de grasas presentes en la semilla o granos en cacao depende principalmente de la variedad y de las condiciones ambientales (Tannenbaum, 2004). De acuerdo a los resultados obtenidos para la muestra en estudio, se registró que 50.35% (Cuadro 2) es muy parecido al reportado por Arriaga (2007) para grasas extraídas a partir de semillas de *T. cacao* y muy inferior a 40.91% de grasas, encontradas en *T. bicolor* recolectadas en Guatemala. Los valores de acidez, se parecen a los reportados para pulpa de *T. bicolor* (Hernández et al., 1998). Los efectos de maduración de los frutos traen como consecuencia química el cambio de acidez y pH. Por otro lado, en muchos casos, la disminución de la acidez, indica la degradación de los ácidos orgánicos hasta convertirse en subproductos finales como CO₂. Cabe mencionar que el bajo grado de acidez puede deberse al proceso previo de fermentación que se realizó a las semillas en estudio (Hernández et al., 1998). El contenido de carbo-

hidratos totales en la muestra de *T. bicolor* fue más alto comparado con lo obtenido por Verdesoto (2009) de las fincas Omoa y la Masica en Honduras. Autores como Kalvatchev et al. (1998), reportan que cada 100 g de cacao (*T. cacao*), contienen 34.7 g de carbohidratos totales, sin embargo, comparando los resultados obtenidos en este estudio, 49.24 g de carbohidratos totales en 100 g de muestra, fueron menores a los 61.1 g reportados por Hernández et al. (1998) para la pulpa *T. bicolor* recolectados en Colombia. Los contenidos de carbohidratos reportados en *T. cacao* y *T. bicolor* pueden ser variables, debido al genotipo en estudio, método de recolecta y etapa de maduración del fruto.

Usos de pataxte

La pulpa y los granos de pataxte se utilizan principalmente para la elaboración de golosinas (mazapán, turrón y melcocha), chocolate (mezcla de semillas de *T. bicolor* y *T. cacao*), bebidas en agua fresca (atole, pozol, polvillo y popo) y en menor medida se consumen como fruta fresca (García et al., 2002; Bressani y Furlan, 1997). En Oaxaca, México, una de las bebidas tradicionales es el "popo", también conocida por extranjeros como "capuchino Oaxaqueño". Es elaborada con ligeras modificaciones por nahuas, mixe-popolucas, zoque-popolucas, mazatecos y chinantecos. A continuación se describe el modo de preparación del popo en la región de la Chinantla, Oaxaqueña. Para la preparación de esta bebida se utiliza arroz (1 kg), granos de pataxte (1 kg) (Figura 3 A), canela (100 g) y de 5 a 6 brotes tiernos de bejucos de Popo (*Smilax cordifolia*). Las semillas de pataxte se tuestan a fuego lento y luego se elimina la cascarilla; por separado se tuestan todos los demás ingredientes, finalmente se juntan para su molienda hasta obtener masa homogénea (Figura 3 B). Esta se coloca en un recipiente y con un litro de agua se mezcla para lograr una consistencia ligeramente pastosa. Luego, se pasa a través de una malla de tela para separar los sólidos y líquidos. Este último, con la ayuda de un molinillo, se agita fuertemente hasta formar abundante espuma (Figura 3 C, D).

Cuadro 2. Composición fisicoquímica de las semillas de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) de México.

Parámetro	Valor
Humedad (%)	3.55
pH	6.03
Acidez	0.452
Cenizas (%)	3.529
Grasa (%)	50.354
Carbohidratos (%)	49.245
Proteína (%)	21.30

CONCLUSIÓN

Se identificaron ^{cuatro} ecotipos de pataxte de los estados de Chiapas, Oaxaca y Tabasco, diferenciados principalmente por características del fruto. La diversidad del pataxte en México, está reflejada en sus diferentes formas, colores, sabores y usos. Esta especie se encuentra en amenaza debido a que son pocos



Figura 3. A: Granos secos de pataxte (*Theobroma bicolor* Humb. & Bonpl.) B: Masa base para elaboración de la bebida "popo". C: Bebida "Popo" previa a su agitación. D: Bebida "popo" listo para su consumo.



los árboles de pataxte asociados al cultivo de cacao (uno a dos árboles por parcela); esto sugiere plantear estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* para su rescate, conservación y utilización en México.

LITERATURA CITADA

- Arriaga C. 2007. Contenido de ácidos grasos de la manteca proveniente de mezclas, en distintas fracciones, de semillas de *Theobroma cacao* y *Theobroma bicolor* y su uso en la manufactura de chocolate. Tesis Profesional de Licenciatura. Licenciatura en Química. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. San Carlos, Guatemala.1-50.
- Baudillo-Rondon J., Cumana Campos L.J. 2005. Revisión taxonómica del género *Theobroma* (Sterculiaceae) en Venezuela. Acta Bot. Venez. 28 (1): 113-134.
- Bressani R., Furlan A. 1997. Chemical characterization of the seed and pulp of *Theobroma bicolor*. Coffee and Cocoa News. 2(5): 17-22.
- García D., Mancinib P., Pavan R., Mancini-filhoa J. 2002 Antioxidant activity of macambo (*Theobroma bicolor* L.) extract. Eur.J. Lipid Sci. Technol. 104: 278-281.
- Hernández M., Casas A., Martínez O., Galvis J. 1998. Caracterización fisicoquímica y fisiológica del fruto de maraco (*Theobroma bicolor* H.B.K.) durante su desarrollo. Agronomía Colombiana. Volumen 15 (23):172-180.
- Jee M. 1984. Composition of the fat extracted from the seeds of *Theobroma bicolor*. Journal of American Oil Chemistry Society. 61(25): 751-753.
- Kalvathev Z., Garzaro D., Guerra F. 1998. *Theobroma cacao* L.: Un nuevo enfoque para nutrición y salud. Revista Agroalimentaria. Caracas, Venezuela. 6: 1-3.
- Mendoza López A., Avendaño Arrazate C.H., Hernández Sandoval L., Sandoval Esquivéz A. 2012. Pataxte (*Theobroma bicolor*) especie subutilizada en México. INIFAP. CIRPAS. Campo Experimental Rosario Izapa. Folleto productores No. 23. 32 p.
- NMX-FF-103-SCFI-20003. Productos agrícolas no industrializados-Cacao en grano (*Theobroma cacao* L)- Especificaciones y métodos de prueba.
- Ortiz J. 2004. Caracterización Físicoquímica de la Grasa de semillas de *Theobroma Bicolor* de Guatemala. Trabajo de Investigación para optar al grado de maestría de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad del Valle de Guatemala. (24):1-32.
- Tannenbaum G. 2004. Chocolate: A Marvellous Natural Product of Chemistry. Journal of Education. 81(1):1131-1135.
- Tejada de Hernández L. 1992. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. Sistema de educación continua en producción animal. México. pp: 19-21.
- Verdesoto P. 2009. Caracterización química preliminar de cacao (*Theobroma cacao*) de los municipios de Omoa y La Masica, Honduras. Trabajo de Tesis de la Carrera de Agroindustria Alimentaria. Zamorano, Honduras. 74.
- Ogata N., Gomez P., Aguilar A., Castro R., Plummer O.E. 1999. Árboles tropicales comunes del área maya. Sistema de identificación taxonómica. CD-ROM. University of California, Riverside-CONABIO-Gestión de Ecosistemas, A.C. México.

INFLUENCIA DEL TIPO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL FERMENTO Y SECADO

INFLUENCE OF THE TYPE OF CACAO (*Theobroma cacao* L.) IN THE CHARACTERISTICS OF FERMENTING AND DRYING

Caballero-Pérez, J.F.¹, Avendaño-Arrazate, C.H.^{1*}, González-Ávila, N.A.², López-Escobar, S.²

¹Instituto Nacional De Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México. Av. Progreso No. 5. Santa Catarina Coyoacán. D.F. C.P. 04010. México. ²Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Chapingo, México.

*Autor de correspondencia: avendano.carlos@inifap.gob.mx

RESUMEN

Para evaluar la influencia del tipo de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre características del cacao fermentado en cajas de madera y secado en secador solar tipo invernadero; de los clones H12, H13, RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO, CRIOLLO INIFAP y LAGARTO, fueron procesados al siguiente día de la recolección. La fermentación se realizó durante cinco días, con remociones de la masa fermentante cada 24 h. El secado se hizo por cinco días. Al grano se le midió las características físicas, así como el perfil de calidad química. El índice de fermentación presentó un incremento a medida que transcurrió el proceso fermentativo, alcanzando de 45 a 58 % en el día 2 y valores mayores a 95 % en el día 5. El tiempo de fermentación, en cajas de madera, de los granos de los clones RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO, CRIOLLO INIFAP es de cuatro días. El secado a humedad de 7 % en secador tipo invernadero tuvo una duración de cinco días en los granos de los clones RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO y CRIOLLO INIFAP. En estas condiciones los granos de los clones H12, H13 y LAGARTO fueron secados en seis días. En el secado disminuyeron la humedad, acidez, taninos, proteínas del cotiledón, pero se incrementó el pH. En conclusión, el perfil físico-químico del grano seco varió en función de los clones evaluados, los cuales presentan una gran potencial en la industria chocolatera por su alto contenido de grasa y buena capacidad antioxidante.

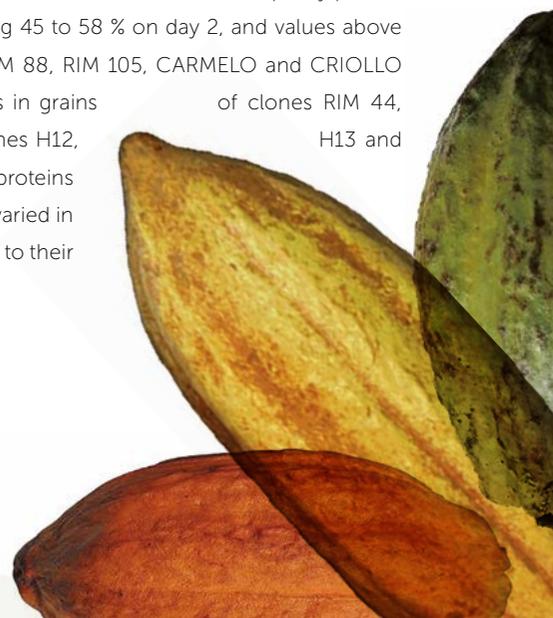
Palabras claves: calidad, beneficiado, chocolate.

ABSTRACT

The influence of the type of cacao (*Theobroma cacao* L.) on the characteristics of fermented cacao in wood boxes and dried in a greenhouse-type solar dryer was evaluated, of the clones H12, H13, RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO, CRIOLLO INIFAP and LAGARTO, which were processed the day after collection. The fermentation was carried out for five days, with removal of the fermented pulp every 24 h. The drying was done for five days. The physical characteristics of the grain were measured, as well as the chemical quality profile. The fermentation index presented an increase as the fermentative process advanced, reaching 45 to 58 % on day 2, and values above 95 % on day 5. The fermentation time in wooden boxes, of the grains of clones RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO and CRIOLLO INIFAP, is four days. The drying to 7 % moisture in a greenhouse-type drier lasted five days in grains of clones RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO and CRIOLLO INIFAP. Under these conditions, the grains of clones H12, H13 and LAGARTO were dried in six days. During drying, the moisture, acidity, tannins and cotyledon proteins decreased, but the pH increased. In conclusion, the physical-chemical profile of the dry grain varied in function of the clones evaluated, which presented great potential in the chocolate industry due to their high fat content and good antioxidant capacity.

Keywords: quality, Cocoa processing, chocolate.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016, pp: 48-54.



INTRODUCCIÓN

México

tiene una cultura rica en tradiciones, y una por la que es internacionalmente reconocido es la del cacao (*Theobroma cacao* L.). La llegada del cacao en México se dio con los Olmecas (1500 a.C. a 400 a.C.), quienes fueron los primeros en domesticarlo y utilizarlo. Los Olmecas dieron paso a los Mixezoqueanos (2500 a.C.-1000 d.C.) cuya cultura se desarrolló de Tabasco hasta Guatemala, posicionándose sobre todo en el sitio Izapan, reconocido como centro de dicha civilización ubicada en la llanura de las costas de Chiapas (Beckett, 2009). Uno de los procesos heredados en el cacao es su transformación a bebida, donde en la actualidad, la fermentación de sus almendras es sin duda una operación indispensable para la manifestación apropiada de los precursores del aroma de chocolate. Durante esta etapa, la pulpa que envuelve las semillas son metabolizadas por microorganismos que producen compuestos como el etanol, ácido acético y láctico formados en primera instancia, los cuales son absorbidos por los cotiledones, promoviendo varios cambios físico-químicos, que tendrán notable influencia en el sabor final (Owusu *et al.*, 2011; Wollgast *et al.*, 2000). Mientras que en la etapa de secado ocurre la oxidación de los compuestos polifenólicos que sufren polimerización para la formación de productos de color marrón, matices característicos en la producción del chocolate (Copetti *et al.*, 2012). Sobre el secado se han realizado pocos estudios, a pesar de que los cambios que se producen en la fermentación afectan las características del grano seco al continuar las reacciones iniciadas en el proceso fermentativo (Jinap *et al.*, 1994). Dichos procesos tienen efectos importantes en el perfil de compuestos volátiles y en los compuestos no volátiles del cacao, que a su vez definen la calidad final del chocolate (Schinella *et al.*, 2010). La fermentación y el secado por tanto, son las principales causas de la degradación de polifenoles en el grano de cacao, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia del tipo de cacao sobre índices físicos y características químicas usando almendras de clones de alto rendimiento, fermentado en cajas de madera y secado en secador solar tipo invernadero, así como, describir los factores involucrados en el procesamiento del cacao para la obtención de un producto de alta calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

La evaluación se llevó a cabo en el Campo Experimental Rosario Izapa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), municipio de Tuxtla el Chico, Chiapas, México (14° 58' N, 92° 09' O) a una altitud de 435 m, con temperatura media anual de 23 °C, 85% de humedad relativa y precipitación de 3100 mm (INAFED, 2005). Para el proceso se cosecharon al azar 200 frutos sanos fisiológicamente maduros de los clones de cacao H12, H13, RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO, CRIOLLO INIFAP y LAGARTO. Con las almendras despulpadas, se realizó la fermentación por cinco días en cajas cuadradas (50×50×50cm) de madera de huanacaxtle (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.), y durante dicho tiempo, la masa de almendras fue removida cada 24 h y se determinó el índice de fermentación con el uso de la técnica descrita por Graziani de Fariñas *et al.* (2003) hasta el final del proceso.

Caracterización físico-química

Se realizó la caracterización física en almendras de cacao secados al 7% de humedad, y se determinó el largo, ancho, grosor y peso de las almendras secas. Después se realizó la caracterización química considerando las siguientes variables:

pH y acidez titulable por el método AOAC (1990).

Obtención de manteca de cacao. Las almendras de cacao, secas y molidas (6 g) de cada clon evaluado fueron sometidas a un proceso de extracción mediante un equipo Soxhlet, previa maceración durante 48 h con hexano. Después de evaporar el hexano, se determinó el contenido total de grasas y el residuo se conservó.

Obtención de extractos polares. El material vegetal seco, molido y libre de grasa (1 g) se mezcló con etanol al 30% (20 mL) y se acidificó con HCl al 10% hasta alcanzar un pH de 3. Esta mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, de esta manera se aseguró solubilizar los componentes polares, transcurrido dicho tiempo se sometió a centrifugado durante 15 min, y finalmente se filtró y se reservó. El residuo se mezcló con acetona al 70% (20 mL). El filtrado resultante se mezcló con el primer filtrado para ser centrifugados durante 10 min a 4000 rpm, los extractos polares obtenidos se aforaron a 50 mL con agua destilada. De la muestra resultante, 25 mL se destinaron para cuantificar los fenoles y la actividad antioxidante, los restantes 25 mL se vaciaron en cajas petri para ser evaporados.

Cuantificación de fenoles totales. En una microplaca de 96 pozos se mezclaron, en cada pozo 25 μ L de extractos polares de muestra y de diferentes diluciones de ácido gá-

lico, 30 μL de carbonato de sodio al 20%, 125 μL de agua destilada y 20 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu. El contenido fenólico total se calculó a partir de la capacidad de reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como referencia, llevando a cabo la cuantificación colorimétrica a 750 nm en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron como miligramos de fenoles equivalentes al ácido gálico por gramo de muestra seca.

Actividad antioxidante. La evaluación de la actividad antioxidante se llevó a cabo de acuerdo con el método de (Cheng *et al.*, 2006). Se realizó un análisis de varianza considerando un diseño completamente al azar, donde los tratamientos fueron los clones y las variables respuesta los parámetros evaluados. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapas de fermentación de los granos de cacao

Respecto al índice de fermentación se detectó un incremento a medida que transcurrió el proceso fermentativo, alcanzando de 45% a 58% en el día dos y valores mayores a 95% en el día cinco (Cuadro 1). El tiempo

de fermentación de los granos de los clones RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO, CRIOLLO INIFAP fue de cuatro días; mientras que en los clones H12, H13 y LAGARTO fue de cinco.

La fermentación se da cuando se combinan los alcoholes, ácidos, pH y humedad, de tal forma que estas condiciones permiten que el embrión en la almendra muera, el sabor amargo por la pérdida de teobromina disminuya, y se produzca un olor y sabor más acentuado a chocolate (Beckett, 2009). Para esto se recomienda colocar las almendras de cacao fresco en un cajón de madera libre de aroma. El cajón debe cubrirse con hojas de plátano (*Musa paradisiaca*) y la masa de almendras se deja en reposo por un periodo de 5 a 7 días, periodo en el que se genera un lixiviado que llega a representar hasta 18% del volumen de la masa de almendras de cacao (Figura 1).

El primer volteo (remoción) de la masa de almendras de cacao se realiza a las 48 h, con volteos posteriores cada 24 h para favorecer las reacciones bioquímicas dentro de la almendra que darán origen a los precursores del sabor y aroma (Figura 2).

La producción de ácido acético durante la fermentación es fundamental, provoca la inhibición del germen, sin embargo, debe ser eliminado durante las etapas de secado y tostado para obtener un chocolate con acidez e intensidad a vinagre baja (Rodríguez *et al.*, 2011). En esta operación se disminuye el contenido de agua, acidez y astringencia de la almendra que se ha ido desarrollando, y es importante que el secado sea lento y a bajas temperaturas especialmente en el comienzo de esta operación.

Etapas de secado los granos de cacao

El secado hasta 7% de humedad en el secador tipo invernadero (Figura 3) tuvo una duración de cinco días en las almendras de los clones RIM 44, RIM 88, RIM 105, CARMELO y CRIOLLO INIFAP; mientras que, en las de los clones H12, H13 y LAGARTO fue de seis bajo las mismas condiciones. De acuerdo con Wan y Meor (2007) en el secado se deben considerar factores tales como, el tiempo de almacenamiento, temperatura y contenido de humedad para garantizar la calidad de la almendra, ya que el fin último es reducir la humedad de cosecha en la almendra para su posterior almacenamiento y comercialización con seguridad (Tinoco y Yomali, 2010).

Calidad físico-química del grano de cacao

El genotipo tiene influencia en la calidad e intensidad del sabor del chocolate de acuerdo a cada variedad de cacao, probablemente por que determina la cantidad de precursores y la actividad enzimática que contribuyen a la formación del sabor (Afoakwa *et al.*, 2011). En el Campo Experimental Rosario Izapa-INIFAP

Cuadro 1. Índice de fermentación (IF) de almendras de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) con potencial productivo. $n=9 \pm$ Desviación Estándar.

Clon de cacao	Días de fermentación		
	2	4	5
RIM 44	57.12 \pm 1.16	98.12 \pm 1.13	-
RIM 88	56.11 \pm 0.87	99.58 \pm 0.74	-
RIM 105	56.42 \pm 0.96	99.15 \pm 0.88	-
CARMELO	58.34 \pm 1.01	98.95 \pm 0.64	-
CRIOLLO INIFAP	58.45 \pm 0.74	98.32 \pm 0.75	-
H 12	45.17 \pm 0.89	65.58 \pm 0.93	98.56 \pm 1.17
H 13	47.35 \pm 1.20	63.89 \pm 0.87	99.23 \pm 1.05
LAGARTO	56.11 \pm 0.91	64.35 \pm 0.94	97.35 \pm 1.16



Figura 1. A: Cajón fermentador de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.). B: Cobertura del fermentador con hojas de plátano. C: Monitoreo de temperatura interna de la masa de almendras con registro de temperatura y humedad relativa ambiental. D-E: Recolección del lixiviado del cacao.



Figura 2. A: Volteo de la masa de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el fermentador de madera. B: Mezcla homogénea de la masa de cacao.

se cuenta con clones de cacao que se caracterizan por de alto rendimiento que se someten a la fermentación en cajas de madera y secado de los granos en secador tipo invernadero (Figura 4).

Perfil de calidad físico-química de clones de cacao

El Cuadro 2 muestra las características físicas de las almendras de cacao con un valor máximo para la longitud de 22.14 mm correspondiente al clon RIM 88 y un valor mínimo de 19.81 mm para el clon LAGARTO, sin diferencia significativa entre estos dos clones. En cuanto al ancho de los granos los valores oscilaron entre 13.39 mm como máximo para RIM 88 y como mínimo

para H12 de 11.23 mm, indicando diferencia significativa entre estos. Aunque CARMELO fue el clon que tuvo el mayor grosor (9.26 mm), con diferencias significativas. El clon RIM 88 registró mayor masa (1.45 g) y la mínima fue para H12 con 0.90 g.

Los valores de pH en los clones evidenciaron que existen diferencias significativas, principalmente entre H 13 y RIM 105 (pH de 6.04 y 5.03 respectivamente) (Cuadro 3). El porcentaje de acidez es un factor que determina la calidad del cacao, por lo que su contenido es de gran importancia para la industria chocolatera. De acuerdo con trabajos donde se describen los procesos de fermen-



Figura 3. A: Secador solar tipo invernadero. B: Secado de almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) en cajones de madera. C: Control de humedad relativa y temperatura en el interior del secador. D: Almendras de cacao al final del secado.

tación (Jinap *et al.*, 2008), las almendras fermentadas presentan una acidez mayor al 1%, con base en ácido acético. Tomando en cuenta que los granos estudiados en este trabajo se sometieron a fermentación y secado se obtuvieron valores por debajo de los mencionados.

La manteca de cacao es muy demandada por la industria alimentaria, ya que es uno de los principales componentes del chocolate. Existe una diferencia significativa entre los genotipos RIM 88 que registró mayor porcentaje (60.62%) y CRIOLLO INIFAP el menor (48.18%) (Cuadro 3). Un estudio realizado por Mendoza *et al.* (2011) reportan que los materiales identificados como RIM e híbridos son los más sobresalientes por rendimiento y contenido de grasa, datos que coinciden con lo que obtenido en este trabajo; además mencionan que el cacao tiene en promedio 50% de grasa valor muy semejante a del grupo de clones evaluados con una media de 51.46%.

Los polifenoles son compuestos presentes en el cacao en grandes cantidades (Misnawi *et al.*, 2004). En un estudio que se llevó a cabo en almendras de cacao secas en Caracas, Venezuela, se obtuvo un promedio de fenoles totales de 60.66 mg GAE g⁻¹ muestra seca, este valor coincide con algunos obtenidos en este trabajo (Padilla, 2008). Los clones como LAGARTO, CRIOLLO INIFAP y RIM 105 presentaron mayor cantidad de dichos compuestos (108.26, 99.31, 92.68 y 91.44 mg GAE·g⁻¹ de muestra seca, respectivamente) (Cuadro 3).

Al evaluar la actividad antioxidante de las almendras de los diferentes genotipos, el clon CARMELO presentó el valor más bajo de IC₅₀ con 11.99 μg mL⁻¹ de muestra seca, lo cual implica que se requiere una cantidad más baja de extracto polar libre de grasa para reducir en 50% el radical DPPH utilizado en esta investigación. A partir del ensayo de alto rendimiento se obtuvo el valor de RDSC para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras estudiadas con respecto al trolox que es un compuesto análogo a la vitamina E. Los valores de RDSC se expresaron en mmol de equivalentes de trolox por gramo de muestra en base seca. De acuerdo a los valores obtenidos de los clones (Cuadro 3), el clon CARMELO registró capacidad antioxidante superior con valor de RDSC de 0.30 TE mmol·g⁻¹ respecto al resto de los clones.

Existe diferencia significativa entre los clones evaluados, y los genotipos CARMELO, CRIOLLO INIFAP y RIM 105 fueron los clones que requieren de menor cantidad de extracto polar libre de grasa, para reducir en 50% el radical DPPH con los valores de IC₅₀ 11.9918, 17.9808 y 24.8430 μg mL⁻¹ de muestra seca obteniendo de esta manera una actividad antioxidante superior al resto de los genotipos, además, las almendras de CARMELO, CRIOLLO

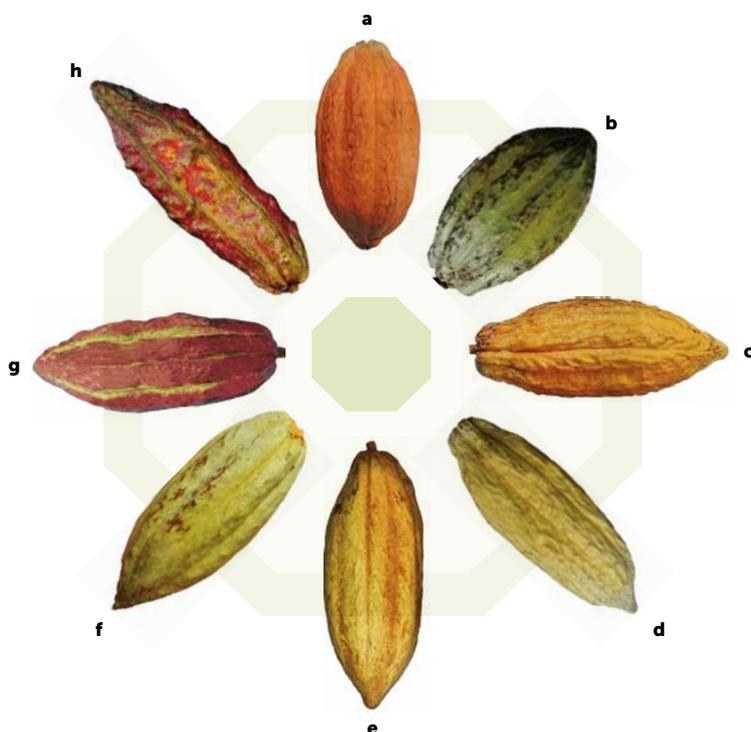


Figura 4. Frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.): a: H12, b: H13, c: RIM 44, d: RIM 88, e: RIM 105, f: CARMELO, g: CRIOLLO INIFAP, h: LAGARTO (*Theobroma pentagona*).

INIFAP, seguido de RIM 105 tuvieron valores superiores de RDSC con 0.87, 0.54 y 0.46 TE mmol g⁻¹ de muestra seca respecto a los otros clones.

CONCLUSIONES

El tipo de cacao influye sobre las propiedades de la almendra variando los índices físicos y características químicas en función del clon, fermentado en cajas de madera y secado del grano en secador solar tipo invernadero. El perfil físico-químico del grano está en función del genotipo, mismos que muestran alto potencial industrial por su contenido de grasa y actividad antioxidante.

LITERATURA CITADA

- Afoakwa E.O., Quao J. 2011. Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal Food Science and Technology* 9.
- Beckett S.T. 2009. Industrial Manufacture and use. Fourth edition. Volume 1. Blackwell Publishing. 360 p.
- Cheng Z., Moore J., Liangli L. 2006. High throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7429-7436.

Cuadro 2. Características físicas de almendras de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.). n=15 ± desviación estándar.

Clon	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Grosor (mm)	Peso (g)
H 12	20.85 ± 1.91 a	11.23 ± 0.83 c	6.64 ± 0.76 d	0.90 ± 0.13 d
H 13	22.26 ± 2.09 a	12.75 ± 0.68 ab	7.65 ± 1.03 bcd	1.21 ± 0.15 ab
RIM 44	20.40 ± 1.06 a	11.65 ± 0.68 bc	7.25 ± 0.80 cd	0.91 ± 0.08 d
RIM 88	22.14 ± 1.37 a	13.39 ± 0.87 a	8.68 ± 0.63 bc	1.45 ± 0.16 a
RIM 105	21.33 ± 1.92 a	12.92 ± 1.03 ab	8.69 ± 1.17 bc	1.37 ± 0.33 ab
CARMELO	20.88 ± 1.47 a	12.91 ± 1.05 ab	9.26 ± 1.63 ab	1.13 ± 0.09 bcd
CRIOLLO INIFAP	20.98 ± 0.97 a	11.96 ± 0.52 bc	6.99 ± 0.81 d	0.94 ± 0.02 cd
LAGARTO	19.81 ± 1.72 a	11.62 ± 0.88 bc	10.39 ± 1.09 a	1.20 ± 0.14 bc

Medias con letra diferente, muestra diferencia estadística según la prueba de Tukey con una P≤0.05.

Cuadro 3. Características físicas de almendras de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) evaluados. n=15 ± desviación estándar.

Clon	pH	Acidez (% ácido acético)	Grasa (%)	Fenoles totales (mg GAE g ⁻¹ ms)	IC50 μg mL ⁻¹	RDSC (mmol mL ⁻¹)
H 12	5.72 ± 0.09 b	0.14 ± 0.002 d	50.91 ± 0.79 bc	87.48 ± 1.41 cd	53.58 c	1 ms)
H 13	6.04 ± 0.05 a	0.13 ± 0.002 def	51.06 ± 1.11 bc	81.17 ± 4.79 d	30.79 d	0.34 e
RIM 44	5.71 ± 0.04 b	0.12 ± 0.001 f	49.37 ± 1.24 bc	51.31 ± 1.71 e	61.42 a	0.16 h
RIM 88	5.79 ± 0.09 b	0.13 ± 0.005 ef	60.62 ± 1.15 a	50.17 ± 1.63 e	54.54 b	0.18 g
RIM 105	5.03 ± 0.09 c	0.24 ± 0.002 a	48.48 ± 1.75 c	92.68 ± 3.38 bc	24.84 f	0.46 c
CARMELO	5.68 ± 0.02 b	0.17 ± 0.004 c	50.74 ± 1.34 bc	80.72 ± 1.18 d	11.99 h	0.87 a
CRIOLLO INIFAP	5.61 ± 0.07 b	0.14 ± 0.012 de	48.18 ± 0.52 c	99.31 ± 4.88 b	17.98 g	0.54 b
LAGARTO	5.72 ± 0.09 b	0.20 ± 0.001 b	52.34 ± 2.06 b	108.26 ± 2.06 a	30.00 e	0.35 d

Medias con diferente letra, muestra diferencia estadística según la prueba de Tukey con una P≤0.05.

- Copetti M.V. 2012. The effect of cocoa fermentation and weak organic acids on growth and ochratoxin a production by *Aspergillus* species. *International Journal of Food Microbiology* 30: 1-7.
- Graziani de Fariñas L., Ortiz de Bertorelli L., Álvarez N., Trujillo de Leal A. 2003. Fermentación del cacao en dos diseños de cajas de madera. *Agronomía Tropical*. 53:175-187.
- INAFED. 2005. Los municipios del estado de Chiapas. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. Enciclopedia de los municipios de México. www.inafed.gob.mx/work/templates/enciclo/chiapas/municipios/municipios.htm (Consultado el 21 de julio, 2014).
- Jinap S., Ikrawan Y., Bakar J., Saari N., Lioe H.N. 2008. Aroma Precursors and Methylpyrazines in Underfermented Cocoa Beans Induced by Endogenous Carboxypeptidase. *Journal of Food Science* 73: 141-147.
- Mendoza-López, A., Gallardo-Méndez, R. A., Avendaño-Arrazate, C. H. 2011. El mundo del cacao. *Agroproductividad* 2:18-26.
- Misnawi S., Jinap, Jamilah B. (2004). Sensory properties of cocoa liquor as affected by polyphenol concentration and duration of roasting. *Elsevier* 15: 403-409.
- Owusu, M.T., Agerlin, P.M., Heimdal, H. 2011. Effect of fermentation method, roasting and conching conditions on the aroma volatiles of dark chocolate. *Journal of Food Processing and Preservation* 10: 1-9.
- Padilla F.C. 2008. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 58: 303-308.
- Rodríguez C., Escalona B., Orozco A., Lugo C.E., Jaramillo F. 2011. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Elsevier* 14: 250-258.
- Schinella G., Mosca S., Cienfuegos E., Pasamar M.A., Muguera B., Ramón D., Ríos J.L. 2010. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Research International* 43: 1614-1623.
- Tinoco H.A., Yomali O.D. 2010. Análisis del proceso de deshidratación de cacao para la disminución del tiempo de secado. *Revista EIA* 13: 53-63.
- Wan R., Meor Z. 2007. Drying with chemical reaction in cocoa beans. *Taylor & Francis*, 25: 867-875.
- Wollgast J., Anklam E. 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423-447.



INFLUENCIA DEL PROCESO DE BENEFICIADO TRADICIONAL MEXICANO EN LOS COMPUESTOS DEL AROMA DE *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews

INFLUENCE OF THE TRADITIONAL MEXICAN CURING PROCESS ON AROMA COMPOUNDS OF *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews

Xochipa-Morante, R. C.¹; Delgado-Alvarado, A.^{1*}; Herrera-Cabrera, B. E.¹; Escobedo-Garrido, J. S.¹; Arévalo-Galarza, L.²

¹ Programa de Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. *Campus* Puebla. Colegio de Postgraduados. Boulevard Forjadores de Puebla No. 25, Santiago Momoxpan, Municipio San Pedro Cholula Estado de Puebla. 72760 Puebla, Puebla, México. ² Programa de Recursos Genéticos y Productividad. *Campus* Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Carretera México-Texcoco, Km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

***Autor de correspondencia:** adah@colpos.mx

RESUMEN

El control de calidad durante el beneficio de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) es un proceso complejo, ya que la realización de cada paso depende del índice de madurez del fruto, condiciones climáticas, cantidad de frutos a beneficiar, y mano de obra entre otros factores. En el presente estudio se describen las etapas y variantes que se consideran en el proceso de curado de frutos (silicuas) procedentes de una plantación de vainilla de la región del Totonacapan, México, y procesadas en diferentes beneficios, con el fin de evaluar la calidad final. Se aplicó una entrevista a los responsables de cinco beneficios de Veracruz y uno de Tamazunchale, San Luis Potosí, acerca de los pasos del proceso de beneficio. Posteriormente a cada beneficiador se le otorgaron frutos de vainilla de 32 semanas de edad, para beneficiarse junto con frutos del mismo beneficiador (frutos de referencia). Después de tres meses de proceso se evaluó el contenido de compuestos aromáticos (vainillina, *p*-hidroxibenzaldehído, ácido vanillico, ácido *p*-hidroxibenzoico) de los frutos. Los resultados mostraron que el beneficiado tradicional comprende siete etapas generales con variaciones entre beneficios principalmente en las etapas de marchitado y lavado, que afecta significativamente la calidad aromática de la vainilla beneficiada.

Palabras Clave: compuestos aromáticos, Totonacapan, San Luis Potosí, Papantla, Veracruz, vainillina.

ABSTRACT

Quality control during vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) curing is a complex process, since the performance of each step depends on the maturity index of the fruit, the climatic conditions, the amount of fruits to be cured, and the workforce among other factors. In this study, the stages and variants considered in the curing process of fruits (siliques) are presented, from a vanilla plantation in the Totonacapan region, Mexico, and processed in different curing plants, with the aim of evaluating the final quality. An interview was applied to the people responsible of five curing plants from Veracruz, and one from Tamazunchale, San Luis Potosí, about the steps in the curing process. Later, each curing plant was given 32-week-old vanilla fruits, to be cured with fruits from the curing plant itself (reference fruits). After three months of processing, the content of aromatic compounds (vanillin, *p*-hydroxybenzaldehyde, vanillic acid, *p*-hydroxybenzoic acid) of the fruits was evaluated. Results show that traditional curing comprises seven general stages with variations between curing plants, primarily in the stages of wilting and washing, which significantly affect the aromatic quality of the cured vanilla.

Keywords: aromatic compounds, Totonacapan, San Luis Potosí, Papantla, Veracruz, vanillin.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 55-62.

INTRODUCCIÓN

La vainilla mexicana (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) por su excelente calidad aromática con notas dulces e intensas, olor a tabaco y carácter cremoso (Tenailleu *et al.*, 2004), se utiliza en las industrias agroalimentaria, refresquera, licorera, farmacéutica, cosmética, tabacalera y artesanal (ASERCA, 2002). Entre los parámetros que determinan su calidad están el origen geográfico, especie, madurez de los frutos y proceso de beneficiado (Karthik y Balamohan, 2013). En México durante siglos se ha llevado a cabo el proceso de curado o beneficio que permite el desarrollo de sabor y aroma característico de la vainilla. En este proceso se libera la glucovainillina acumulada en diferentes partes del fruto verde, que se hidroliza por acción catalítica de las enzimas β -glucosidasa y celulosa, para la formación de los compuestos responsables del aroma (Sharma *et al.*, 2006; Waliszewski, 2007). En las principales zonas de producción como el Totonacapan y la Huasteca Potosina, en México, los beneficiadores aplican diferentes procesos que definen de acuerdo a las condiciones climáticas, disponibilidad del producto, destino o uso de la vainilla, o si utilizan el sistema tradicional (bajo sol) o tecnificado (horno de convección) (Jaramillo *et al.*, 2013). Aun cuando ambos sistemas son diferentes tienen en común cuatro etapas principales: marchitado, sudado, secado y acondicionado (Ramachandra-Rao y Ravishankar, 2000). Sin embargo, dentro de cada uno de estos pasos existen variantes dependiendo de cambios en el clima donde se ubica el beneficiado, madurez de los frutos, volumen de los mismos a beneficiar, así como, disponibilidad y experiencia en la mano de obra (Curti, 1995; Odoux, 2011). Como resultado de la interacción de esos factores que cada beneficiador enfrenta y aplica al proceso, se presenta gran variabilidad en la calidad de los frutos beneficiados, que impacta significativamente en su perfil de aroma, y que puede o no satisfacer los estándares nacionales e internacionales. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue conocer a detalle las etapas y pasos que se consideran en seis procesos de beneficiado que se realizan tradicionalmente en la región del Totonacapan Puebla-Veracruz y en la Huasteca Potosina, México, con el fin de evaluar el efecto del proceso de beneficiado en la calidad de vainilla expresado por el contenido de los componentes más abundantes del aroma (vainillina, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzoico), que contribuya a entender los puntos críticos de control en el proceso de curado de la vainilla mexicana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó el clon de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) denominado quimiotipo seis (Q6), el cual fue caracterizado previamente por sus componentes del aroma (Salazar-Rojas *et al.*, 2011), y que se destaca por sus notas intensas a vainillina, con una participación de medio a alto de los compuestos menores (ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzoico). Durante el 2013, en una plantación comercial ubicada en el ejido 1° de Mayo en Papantla Veracruz, México se polinizaron y etiquetaron 120 flores del Q6. Después de 32 semanas, los frutos se cosecharon y agruparon en seis lotes de 20 frutos cada uno; se entregaron a cinco beneficiadores de la Región del Totonacapan y uno en la Huasteca Potosina (Cuadro 1) para realizar el proceso de beneficio. Además, cada beneficiador proporcionó 20 frutos propios que beneficio durante el mismo periodo como frutos de referencia (R1-R6). Una vez concluido el beneficiado (100-120 días), los frutos del Q6 y de referencia se recolectaron de cada beneficiador y depositaron en bolsas ziploc, para su análisis en laboratorio. Durante el proceso de beneficiado del 2014, se entrevistó a un beneficiador clave de la región de Papantla, para estructurar y estandarizar un cuestionario. Una vez aprobado y ajustado se aplicó a cada beneficiador (B1-B6) (Cuadro 1). Las entrevistas se grabaron para obtener la descripción detallada de los procesos de beneficiado. Finalmente, en una segunda visita a cada beneficiador se validó el contenido de la información transcrita de las entrevistas para asegurar la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Cuantificación de los componentes del aroma

Después del beneficio de las frutos, se cuantificó el contenido de compuestos aromáticos (vainillina, ácido vaníllico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzoico) por cromatografía líquida de alta presión (HPLC)

Cuadro 1. Información de los beneficios entrevistados.

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) Tilixochitl	Tamazunchale, San Luis Potosí

(Betazzi *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2006). Mediante el análisis de varianza y prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) se compararon los frutos de los diferentes beneficios (B1-B6) y los de referencia (R1-R6), con cada variable evaluada en los principales compuestos del aroma, para determinar diferencias significativas entre los distintos procesos de beneficiado (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El beneficiado de la vainilla conserva y agrega valor a los frutos para su comercialización, por lo que es de gran importancia que se realice de manera adecuada, para que puedan desarrollar el aroma y sabor característicos. La Figura 1 presenta en forma resumida, el esquema del proceso de beneficiado de la vainilla, y se indica el orden de las etapas generales seguidas de diferentes actividades particulares, con base en seis procesos de beneficiado practicados en las regiones de estudio. Cabe mencionar que la mayoría de los beneficiadores también son productores, de manera que el proceso de beneficio se realiza en el hábitat donde se cultiva la vainilla.

Descripción del proceso

Acopio: Consiste en cuantificar el volumen, y conocer el estado de madurez y calidad de la vainilla que se recibe del productor. El Cuadro 2 muestra la cantidad de frutos de referencia procesadas durante el trabajo y la selección que realizan los beneficiadores B1 y B4 por el tamaño y apariencia de los frutos, mientras que B2, B3 y B5 lo realizan al momento de despezonar con el fin de acomodar uniformemente los frutos sin dañarlos cuando se depositan en el cajón (Cuadro 2).

Despezonado: Esta es una etapa crítica, realizada por personal con

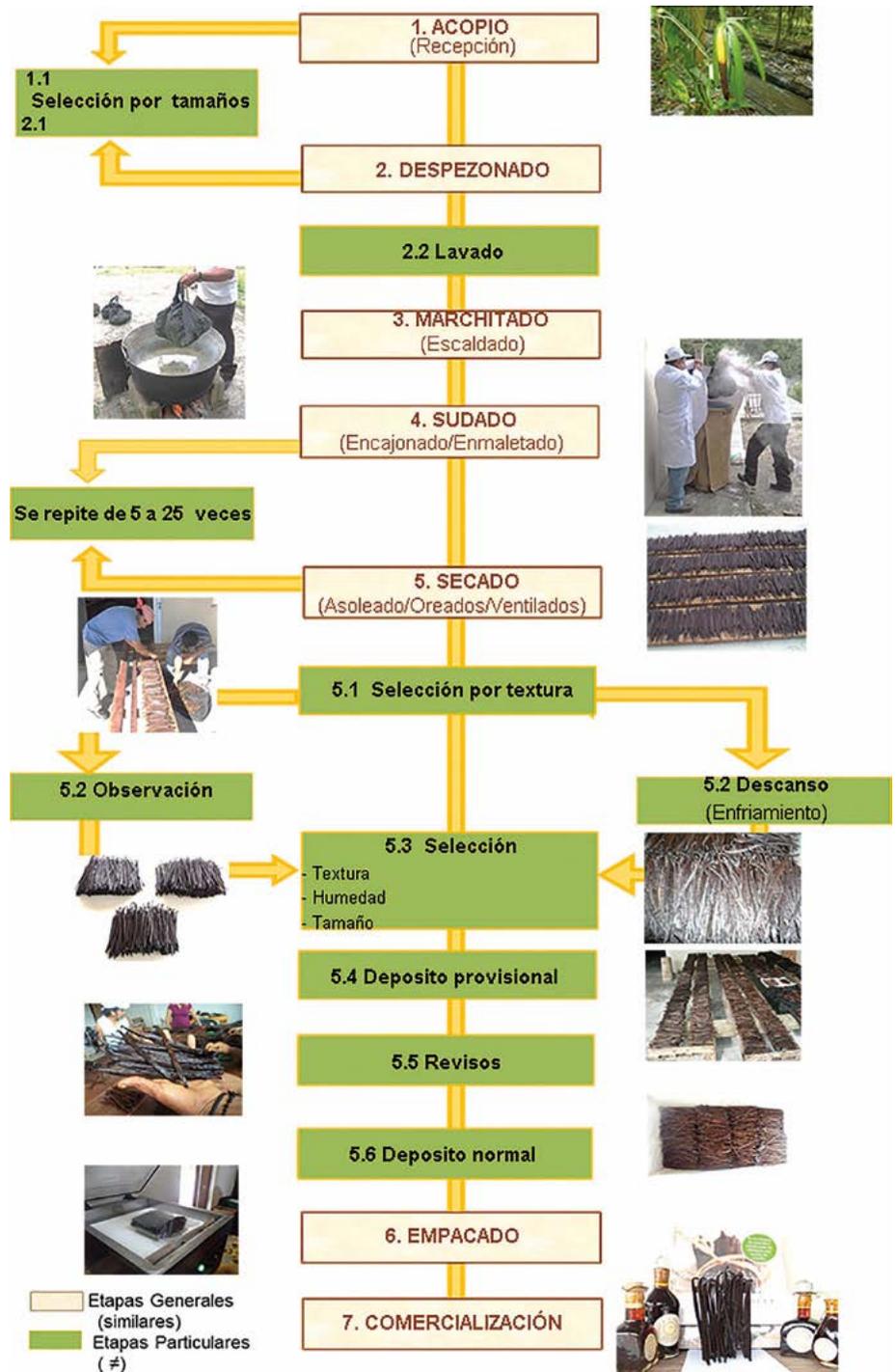


Figura 1. Esquema general del proceso tradicional mexicano de beneficio de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews); Región Totonacapan Puebla-Veracruz y Huasteca Potosina.

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 del fruto, pues es vía de escape de los aceites y semillas del fruto, lo que demerita la calidad de la vainilla. El objetivo de un buen despezonado es mantener la integridad del fruto.

Lavado del fruto: A diferencia de los demás beneficiadores, B4 antes del despezonado sumerge dos veces los frutos en una solución de agua con cloro al 0.6% de concentración (10 mL de cloro comercial al 6% por cada 100 mL de

Cuadro 2. Actividades durante el acopio de frutos de *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews.

Beneficio	Cantidad y estado de madurez			Selección del fruto por tamaño y/o calidad			
	Volumen		Edad meses	V. grandes (cm)	V. chicas (cm)	V. pinta rajadas	V. zacatillo (cm)
	(kg)	(t)					
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			

Frutos de referencia (R) a beneficiar.

agua), esta operación puede repetirse varias veces hasta que el agua de lavado quede clara, en el B6, el fruto se lava con agua después del despezonado.

Marchitado: Consiste en detener la actividad fisiológica del fruto verde, además de evitar que el ápice del mismo se abra. El método tradicional y más común es utilizando agua caliente bajo diferentes condiciones (Cuadro 3) y después de su inmersión, los frutos deben tener un color entre verde y café, el cual es el indicador de que se hizo un buen marchitado del fruto.

Sudado: Después del marchitado, los frutos se colocan en cajones de madera de cedro o de pino, con una dimensión aproximada 2.5×1.2×0.8 m de largo, ancho y alto respectivamente, y se tapan con tres cobijas (algodón, lana o poliéster), petates (hoja seca de palma trenzada) y una lona. Los frutos se dejan reposar toda la noche para incrementar la temperatura y que transpiren, a esta actividad se le conoce como primer sudor. Al finalizar esta etapa los frutos deben ser de color café "chocolate" y aroma suave. La humedad de los frutos es

de entre 60-70%. Si los frutos no cambian el color, se colocan en bolsas de nylon negro y se exponen al sol hasta que se oscurezcan y el color se homogenice. Los siguientes sudores se realizan paralelamente con el secado o soleado.

Secado/soleado: Posterior al sudado, cada mañana los frutos se sacan del cajón y se colocan sobre lonas o tarimas al aire libre para exponerlas a los rayos del sol e incrementar su temperatura entre 45-60 °C por periodos de 30 minutos a 2 h (Cuadro 4). Al medio día se recogen los frutos y por la tarde se depositan nuevamente en el "cajón sudador" acomodándolas en forma alternada (cuatrapeada) para que no se dañen y garantice que la temperatura se mantenga (hasta ese momento cuenta como segundo sudado). Este ciclo (exposición al sol y guardado en cajones), debe realizarse dos o tres veces a la semana, hasta completar de 5 a 25 sudores o soles (para ser un sol, tuvo que haberse dado un sudor). El número de soles lo determina el beneficiador y depende de la humedad y grosor de los frutos, con el objetivo

de tener frutos homogéneos. Una vez cumplido lo anterior, los frutos han quedado homogéneos, han perdido dos terceras partes de su peso, desarrollado un color café chocolate oscuro, están brillosas, y con una textura rugosa (similar a una uva pasa) (Cuadro 4).

Selección por textura: Inmediatamente después del secado, B2 selecciona los frutos crudos, blandos y entresecos, si están crudos se regresan al cajón sudador, pero si están blandos (mayor flexibilidad, color achocolatado y con 30% de humedad) requieren exponerse al sol por media hora,

Cuadro 3. Parámetros del marchitado de frutos de *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews.

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

Cuadro 4. Parámetros del secado de los frutos de *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews.

Beneficio	Número de soles	Temperatura (°C)
B1	25	45
B2	8-20	45
B3	Frutos maduros: 18-20	50-55
	Frutos tiernos: <15	
B4	20	50-60
B5	20-25	Al sol
B6	Frutos gruesos: 15-20	50
	Frutos delgados: 5-10	

mientras que los frutos entresecos, ásperos y rígidos con 25% de humedad seorean por 3 ó 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 los frutos no desarrollen hongos, mohos o liberen agua (sudán). Finalizado este tiempo, los frutos aumentan la liberación del aroma característico de la vainilla.

Descanso/Enfriamiento: Consiste en extender los frutos a la sombra por tres y hasta ocho días, y en ciertos casos hasta un mes, con el objetivo de verificar que no se encuentren frutos gruesos o con hongos. Los beneficios B2, B5 y B6 depositan los frutos 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 los frutos se separan por humedad, tamaño o calidad, además se determina si continúan deshidratándose o están listas para empacarse (Cuadro 5).

Depósito provisional: El beneficio B2 es el único que realiza el depósito provisional para separar el fruto con una textura rígida y seca, hacer paquetes de 15-20 kilos de frutos y

libres de plagas y hongos; B4 considera que para vender los frutos se tienen que dejar como mínimo un mes en el depósito y revisar cada 15 días. B6 deposita en cajas los frutos que tienen entre 25% y 30% de humedad, cada 15 días o cada mes durante ocho meses muestrea los frutos para que no se “enmielen” (pegajosos) o salgan hongos, hasta que generen el aroma característico de la vainilla.

Empacado: Consiste en acomodar y sellar uniformemente las frutos beneficiados 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 los frutos beneficiados conforme a los criterios de aspecto y longitud. Una vez clasificados B2 las envuelve en papel encerado y empaca en bolsas de plástico, B5 en tres bolsas de nylon grueso, y el resto al vacío hasta su comercialización (Cuadro 6).

Comercialización: De acuerdo con la calidad organoléptica de la vainilla beneficiada será el mercado destino. Con la información proporcionada

los deposita en cajones forrados con papel encerado. Esos frutos se dejan en el depósito provisional por 10 días.

Revisión: A los 10 días, el beneficio B2 saca los frutos 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 los frutos no se contaminaron o se dañaron, están listas para empaque y venta.

Depósito normal: Tres de los beneficiadores llevan a cabo este almacenamiento, por ejemplo B2 destina al depósito normal los frutos de calidad garantizada,

Cuadro 5. Selección de frutos de *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews por tamaño, calidad y humedad.

Beneficio	Humedad	Tamaño	Calidad
	(%)	(cm)	
B1	Deshidratada como uva pasa	12-22	Fruto recio
			Fruto negro
			Fruto brillante
			Fruto opaco
			Fruto con aceite
B2	30		Fruto blando (flexible, color achocolatado)
	25		Fruto entreseco (ásperos y rígidos)
B3	Deshidratada como uva pasa		
B4	>25		
	<25		
B5		>15	
		<15	
B6	>30		
	<30		

Cuadro 6. Empacado de frutos beneficiados de referencia (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews).

Beneficio	Clasificación										Empacado Forma
	Aspecto					Longitud					
	Característica					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 todo el fruto	22	18-20	13-17	>12			Al vacío
B2	Dulce con notas a chocolate	Achocolatado			20-25	18-22	15-17				Papel encerado Bolsas de plástico
B3	Notas suaves	Café achocolatado			25-32	20-25	18-19.9	16-17.9	14-15.9	12-13.9	Al vacío
B4	Dulce con toque a anís, canela o achocolatado	Café oscuro achocolatado			27-30	>18	14-17	<14			Al vacío
B5	Suave	Café oscuro			20-25	>15	<15				Bolsas de nylon
B6	Dulce	Achocolatado			25-30	>18	16-17	<15			Al vacío

por los beneficiadores, se identificó que además de vender al mercado nacional, B1, B3 y B5 exportan. Los beneficios B2, B4 y B6 dependiendo del tamaño y calidad de las frutas, los destinan para la elaboración de artesanías, extractos, o venta al menudeo (Figura 2).

Contenido de compuestos aromáticos

Los resultados de la cuantificación de los cuatro compuestos aromáticos, mostró diferencias significativas entre beneficiadores (B) con su referencia (R) (Cuadro 7). La concentración de ácido *p*-hidroxibenzoico estuvo



Figura 2. Formas de comercialización de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) procesada por cada tipo de beneficiador.

Cuadro 7. Compuestos principales del aroma de seis beneficios de *Vanilla planifolia* Jack ex Andrews.

Beneficio	ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico (mg kg ⁻¹)	ácido vaníllico (mg kg ⁻¹)	<i>p</i> -hidroxibenzaldehído (mg kg ⁻¹)	vainillina (mg kg ⁻¹)
B1	180.21 ^{cd}	1027.42 ^a	722.74 ^{ef}	15809 ^{dc}
B2	607.76 ^a	741.04 ^{bc}	1092.24 ^{bc}	17000 ^{bcd}
B3	433.72 ^b	904.47 ^{ab}	1018.59 ^{bcd}	16238 ^{cd}
B4	87.75 ^d	418.72 ^e	835.94 ^{de}	18665 ^{abcd}
B5	337.88 ^b	718.26 ^{bc}	1176.88 ^b	17604 ^{abcd}
B6	695.78 ^a	731.94 ^{bc}	1501.26 ^a	20071 ^{abc}
R1	217.85 ^c	888.61 ^{ab}	739.91 ^{ef}	15295 ^d
R2	343.60 ^b	877.22 ^{ab}	879.54 ^{cde}	17935 ^{abcd}
R3	342.50 ^b	905.27 ^{ab}	879.69 ^{cde}	17592 ^{abcd}
R4	119.33 ^d	653.49 ^{cd}	582.52 ^{fg}	18938 ^{abcd}
R5	234.86 ^c	618.37 ^{cde}	1178.67 ^b	21944 ^a
R6	168.26 ^{cd}	493.26 ^{de}	489.42 ^g	20986 ^{ab}
NOM-182-SCFI-2011	58-100	219-498	411-861	20000 (mínimo)
Havkin-Frenkel y Belanger (2011)	10-255	887-994	635-1549	9296-22757

Medias con la misma letra en cada variable y por cada tratamiento no son estadísticamente diferentes (Tukey $p \leq 0.05$).

en el rango de 87.75 y 695.78 mg kg⁻¹, los frutos del B4 y R4 fueron las de menor concentración, sin embargo, cumplen con la NOM-182-SCFI-2011, mientras que las de mayor concentración fueron del B2 y B6, incluso superando lo reportado por Havkin-Frenkel y Belanger (2011) con valores mayores hasta 255 mg kg⁻¹. El rango de variación de ácido vaníllico fue de entre 418.72 y 1027.42 mg kg⁻¹, mayor a lo reportado por Ranadive (1992), quien registró variación en el mismo compuesto en muestras cultivadas en diferentes regiones geográficas. Lo anterior sugiere que el contenido de ácido vaníllico puede estar influenciado por condiciones climáticas de los diferentes sitios donde se localizan los beneficiadores. Los frutos B4 y R6 tuvieron los valores más bajos pero cumplen con la NOM-182-SCFI-2011, mientras que las demás frutos sobrepasaron los valores indicados en la norma, siendo el B3 y los frutos de referencia R1, R2 y R3 las de mayor contenido.

En relación a *p*-hidroxibenzaldehído el intervalo fue muy amplio (489.42-1501.26 mg kg⁻¹). Los frutos de R4 y R6 presentaron menor concentración, aunque dentro de la NOM-182-SCFI-2011, mientras que B6 registró la mayor concentración con valores superiores a lo indicado en la norma. Los frutos del B4, R4 y B6, sometidos a un tratamiento de lavado, a pesar de que cumplen con la NOM-182-SCFI-2011, las concentraciones de ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido vaníllico y *p*-hidroxibenzaldehído son menores, posiblemente provocado por el lavado de los frutos verdes (utilizando agua con y sin cloro) ya que el proceso de beneficio de la vainilla involucra actividad microbiana (bacterias y levaduras). Lo cual se observa principalmente en los frutos beneficiados del proceso B4 (donde se obtuvo la menor concentración de los compuestos menores), en el que realizan el lavado después del despezonado del fruto. De manera que cuando se realiza esta actividad, el fruto al tener la abertura de donde

fue separado del raquis o rajaduras ocasionadas quizás por mal manejo en el despezonado, genera las condiciones que permiten la filtración del agua clorada al tejido celular, lo que es probable que al presentarse este fenómeno pudieran cambiar o desestabilizar las funciones de las poblaciones microbianas, que son necesarias para el pleno desarrollo de los compuestos aromáticos.

El contenido de vainillina de 15295 a 21944 mg kg⁻¹, de los frutos de B6, R6 y R5 cumplen con la NOM-182-SCFI-2011, beneficios en donde se realiza el matado a temperatura de ebullición y tiempos más prolongados, condiciones similares a las utilizadas por Pardo *et al.* (2009) quienes describen que los frutos curados por medio de inmersiones en agua a punto de ebullición (80 °C) y durante un tiempo prolongado (10 s) forman mayor contenido de vainillina. Estos resultados demuestran que existen frutos de alta calidad, mientras que otros frutos registran valores inferiores a

la norma, ya que no alcanzan el contenido mínimo de vainillina (2%). Gassenmeier *et al.* (2008) compararon frutos de *V. planifolia* Jacks. ex Andrews beneficiadas en diferentes países y registraron que frutos mexicanos tienen alrededor de 1.9% de vainillina. Por lo tanto es importante destacar que los frutos B2, B3 y B5 con su referencia R2, R3 y R5 a pesar de tener un porcentaje menor al 2% de vainillina, tienen alto contenido de *p*-hidroxibenzaldehído, e intermedio de ácido vanílico y ácido *p*-hidroxibenzoico, que en conjunto crean un balance adecuado para una calidad aceptable de vainilla (Rivera-Espinoza y Muriel, 2013). No obstante es importante destacar que el contenido de vainillina puede incrementarse con el tiempo de almacenamiento.

CONCLUSIONES

Independientemente de que los frutos de vainilla sean del mismo clon, mismo estado de madurez y sitio de producción, las diferentes actividades a las que se someten durante el proceso de beneficiado afectan el contenido de los componentes más abundantes del aroma (vainillina, ácido vanílico, *p*-hidroxibenzaldehído y ácido *p*-hidroxibenzoico) en cada región de estudio. Los resultados mostraron diferencias significativas dentro de cada paso del proceso del beneficio de la vainilla, dentro de los cuales el lavado y condiciones de marchitado tuvieron impacto significativo en la calidad aromática de la vainilla beneficiada.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue apoyada por el Fondo Sectorial de Investigación en materias Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Fitogenéticos (SNITT-CONACYT-SAGARPA: 2012-04-190442 "Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la vainilla en México").

LITERATURA CITADA

- ASERCA. 2002. De nuestra cosecha. La vainilla en México, una tradición con un alto potencial. Claridades agropecuarias. 101: 3-26.
- Betazzi F., Palchetti I., Sisalli S., Mascini M. 2006. A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta*. 555: 134-138
- Curtí D.E. 1995. Cultivo y beneficiado de la vainilla en México. Folleto técnico para productores. Organización Nacional de Vainilleros Indígenas. Papantla, Veracruz. 96 p.
- 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.
- Havkin-Frenkel D., Belanger F.C. 2011. *Handbook of Vanilla Science and Technology*, First Edition. Wiley – Blackwell Publishing USA. 22-141.
- Jaramillo V.J.L., Escobedo G.J.S., Barrera R.A., Herrera C.B.E. 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.
- Karthik K.R.B., Balamohan T.N. 2013. Factors affecting the quality of vanilla. *Journal of Agriculture and Allied Sciences* 2: 37-41.
- NOM-182-SCFI-2011. Vainilla de Papantla, extractos y derivados. Especificaciones, información comercial y métodos de ensayo (prueba). *Diario Oficial de la Federación*.
- 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.
- Pardio V.T., Mariezcurrena M.D., Waliszewski K.N., Sánchez V., Janczur M.K. 2009. Effects of killing conditions of vanilla (*Vanilla planifolia*, Andrews) pods during the curing process on aroma composition of pod ethanol extract. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 2417-2423.
- Ramachandra-Rao S., Ravishankar G.A. 2000. Vanilla flavour: Production by conventional and biotechnological routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 189-304.
- Ranadive A.S. 1992. Vanillin and related flavour compounds in Vanilla extracts made from beans of various origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 1922-1924.
- Rivera-Espinoza Y., Muriel P. 2013. Vanilla. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*. 2(11): 203-210.
- Salazar-Rojas V.M., Herrera-Cabrera B.E., 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.
- SAS. 2002. *SAS/STAT Users guide*, version 9. SAS Institute Inc, North Carolina.
- Sharma A., Verma S.C., Saxena N., Chadda N., Singh N.P., Sinha A.K. 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.
- Tenailleu E.J., Lancelin P., Robins R.J., Akoka S. 2004. Authentication of the origin of vanilling using Quantitative Natural Abundance C NMR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 7782-7787.
- Waliszewski K.N., Ovando S.L., Pardio V.T. 2007. Effect of hydration and enzymatic pretreatment of vanilla beans on the kinetics of vanillin extraction. *Journal of Food Engineering*. 78: 1267-1273.



EFFECTO DE LA MADUREZ Y SECADO DE SEMILLA DE *Capsicum chinense* Jacq. EN LA GERMINACIÓN Y CALIDAD FISIOLÓGICA DE PLÁNTULA

EFFECT OF MATURITY AND DRYING OF *Capsicum chinense* Jacq. SEEDS ON THE GERMINATION AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF THE SEEDLING

Moo-Muñoz, A.J.¹; Ayala-Garay, O.J.²; Latournerie-Moreno, L.¹; Tzec-May, Y.A.¹; Pinzón-López, L.L.^{1*}

¹ Instituto Tecnológico de Conkal. División de Estudios de Posgrado e Investigación. Km. 16.3, Antigua Carretera Mérida-Motul. Conkal, Yucatán, México. ² Colegio de Postgraduados_Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. Km 36.5, Carretera México-Texcoco. Montecillo, Texcoco, Edo. de México:

*Autor responsable: luispinzon96@yahoo.com.mx

RESUMEN

Conforme transcurre el tiempo de desarrollo de la semilla, el contenido de humedad se reduce y la germinación aumenta, a esto se le denomina adquisición de tolerancia a la desecación. En semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) se desconoce si este comportamiento ocurre de igual, por lo que se estudió la calidad fisiológica durante el desarrollo de la semilla y su relación con dos tipos de secado de semillas. Se cosecharon frutos a los 20, 28, 36, 44 y 52 días después de la antesis (DDA) extrayendo las semillas y aplicándoles dos tratamientos de secado, uno a temperatura ambiente (28 ± 3 °C) y otro en horno de secado a 35 °C; un tercer grupo de semillas se sembró inmediatamente después de la cosecha (testigo). La semilla de esta especie presentó tolerancia a la desecación a partir de los 36 DDA, lo cual indica que a este tiempo de desarrollo que alcanza la madurez fisiológica que le permite germinar al ser desecada, aunque la desecación no mejoró la calidad fisiológica en la germinación y emergencia, sí lo hizo en la altura del vástago y longitud de radícula con relación al testigo sin secar lo que evidencia que el secado no afecta la germinación pero sí el vigor de la semilla de esta especie.

Palabras clave: *Capsicum chinense* Jacq., germinación, tolerancia a la desecación, vigor.

ABSTRACT

As time passes during seed development, the moisture content is reduced and germination increases; this is called acquisition of tolerance to desiccation. In habanero chili seeds (*Capsicum chinense* Jacq.), it is unknown whether this behavior occurs regularly, so that the physiological quality during seed development and its relationship with two types of seed drying was studied. Fruits were harvested at 20, 28, 36, 44 and 52 days after anthesis (DAA), extracting the seeds and applying two drying treatments to them, one at room temperature (28 ± 3 °C) and another in a drying oven at 35 °C; a third group of seeds was sown immediately after the harvest (control). The seed of this species presented tolerance to desiccation from 36 DAA, which indicates that it reaches physiological maturity at this developing time, allowing germination when being dried; although desiccation did not improve the physiological quality in germination and emergence, it did improve the height of the offspring and the length of the radicle with regard to the control without drying, which evidences that drying does not affect germination but it can affect the vigor of the seed of this species.

Keywords: Habanero, germination, tolerance to desiccation.





INTRODUCCIÓN

Debido a la alta demanda que el chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) tiene en los últimos años, el sector agrícola de la Península de Yucatán ha sido beneficiado económicamente, el sector agrícola de la Península de Yucatán, México, ha sido beneficiado económicamente; para el año 2012 la producción total anual alcanzó las 2,615.25 t, con un valor de producción de \$28,487,070 (SIAP, 2012), sin embargo, a pesar de que el estado de Yucatán es uno de las principales productores mundiales, se han registrado importantes problemas asociados a carencia de semilla de alta calidad que asegure la producción sostenida y rentable, ya que la actual simiente, además de ser bajo volumen, proviene de almacenamiento y secado inadecuado, lo que provoca pérdida rápida de viabilidad conforme pasa el tiempo en que ha sido cosechada. La calidad de semilla está determinada básicamente por la genética, fisiología y sanidad de la planta madre, así como, beneficio y condiciones durante su almacenamiento (Figura 1).

Estos factores juegan un papel importante en los atributos físicos, fisiológicos y sanitarios, que en conjunto definen su calidad y determina el vigor y viabilidad. El momento de cosecha para la obtención de semilla se define por la madurez del fruto; una vez que alcanzan su máxima acumulación de materia seca, que coincide con el estado de madurez fisiológica, se relaciona directamente con máximos valores de germinación, velocidad de crecimiento de la plántula (vigor), y tolerancia a condiciones adversas (Bradford, 2004). En este sentido, se asume que la semilla está fisiológicamente formada y empieza a perder humedad hasta entrar en equilibrio con el ambiente (Leprince y Buitink, 2010). A esta última fase de formación de la semilla, y particu-

larmente al hecho de poder acelerar el secado de manera artificial para adelantar su uso, se conoce como tolerancia a la desecación, sin embargo, no todas las semillas toleran esta variable en sus estados de desarrollo (Tweddle *et al.*, 2003); y en el caso de las semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) hay poca información sobre su madurez fisiológica y deterioro durante el secado, la etapa en que ocurren estos cambios, y si el secado prematuro tiene efecto sobre la germinación y vigor de la semilla. En este contexto, en el presente trabajo evaluó la tolerancia a la desecación durante el desarrollo fisiológico de la semilla de chile habanero para la producción de plántula.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Fisiología Vegetal del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, México, ubicado en el km 16.3 antigua carretera Mérida-Motul. Se utilizó semilla de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) variedad "Jaguar" producidas bajo condiciones de invernadero ciclo primavera-verano 2011 en Motul, Yucatán. Se etiquetaron 300 flores durante la antesis de los cuales se cosecharon 120 frutos a los 20, 28, 36, 44 y 52 días después de la antesis (DDA). Al momento de extraer la semilla, se determinó su contenido de humedad tomando muestras de 1 g con tres repeticiones registrando este dato como peso fresco; posteriormente se colocaron en cajas Petri destapadas e introdujeron en una estufa (Fisher Scientific Isotemp®) durante 72 h a 70 ± 2 °C. Después del periodo de secado se pesaron para registrar el peso seco de cada uno, utilizando la fórmula de Bewley y Black (1994). Las semillas restantes de cada momento de cosecha, se dividieron en tres lotes similares de 9 g, y a cada uno se aplicó un tratamiento de desecación: semilla sin secar las cuales se pusieron a germinar al



Figura 1. A: Frutos en madurez fisiológica de (*Capsicum chinense* Jacq.). B: Extracción de semillas. C: Pruebas de viabilidad.

momento de la extracción (Testigo), semilla secada a la sombra a temperatura ambiente a 28 ± 3 °C con 65% de humedad relativa (T1) y semilla secada con aire caliente en horno de convección a 35 °C (T2). Las semillas se mantuvieron en ambos tratamientos de secado hasta alcanzar peso constante ($8 \pm 2\%$ de humedad). Después, se sometieron a pruebas de germinación y vigor. Para la primera se realizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por cosecha en cajas Petri de 9 cm de diámetro sobre papel toalla (sanitas); posteriormente se humedecieron con 5 mL de agua destilada y sellaron con plástico con el fin de prevenir la pérdida de humedad; los datos de germinación se registraron a 21 días (ISTA, 2004). El vigor se determinó mediante la prueba de emergencia en sustrato, Peat moss[®], sembrando cuatro repeticiones de 25 semillas en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Al iniciar la emergencia, se realizaron conteos de plántulas emergidas cada 24 h, registrando la tasa de emergencia a 21 después y se calculó con la fórmula de Maguire (1962). En esta misma prueba, después de 45 días, se midió longitud del vástago (10 plántulas), del cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja más joven y longitud de la radícula del cuello de la raíz hasta el extremo terminal principal en cm con vernier digital (AutoTEC[®]). Al final de la prueba, se tomaron 10 plántulas al azar y se secaron en un horno a 70 °C durante 72 h (Fisher Scientific Isotemp[®]) y posteriormente se determinó el peso de biomasa seca de la parte aérea y raíz. En cada prueba se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tres métodos de secado, por cinco tiempos de extracción de semilla ("edades"). Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias con prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el programa SAS para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de humedad (CH). Las semillas sin secar (Testigo) presentaron los mayores valores de CH en las cinco edades del fruto, comparadas con las secadas al ambiente (T1) y las secadas a 35 °C en el horno (T2), debido al secado aplicado en estos dos últimos (Figura 2). A los 20 DDA, las semillas tenían un CH superior al 80%, y a 28 DDA el contenido de CH de la semilla disminuyó y osciló entre 46% y 52% hasta los 52 DDA. Lo anterior indica que esta semilla posee altos contenidos de humedad al llegar a su madurez fisiológica en la planta madre. Caso contrario en los tratamientos de secado T1 y T2, cuyo CH se redujo sin diferencia estadística, quedando entre 5% y 11.3% a lo largo del desarrollo y madurez del fruto.

Germinación y emergencia. En cuanto al tratamiento de secado probado, el Testigo presentó mayor germinación (57%), tasa de emergencia (48%) y 1.15 plántula día⁻¹, lo que indica que el secado no tiene efecto sobre estos atributos de la semilla. Para el factor día de cosecha, debido a la inmadurez de la semilla, a los 20 DDA no hubo germinación, esto puede deberse a que la semilla aun no contenía las cantidades adecuadas de reserva o el embrión era fisiológicamente

inmaduro (Copeland y McDonald, 2001). Al realizar la cosecha a partir de los 36 DDA (Cuadro 1), se registraron valores altos de germinación (82%).

En cuanto al factor día de cosecha, tanto a 20 y 28 DDA la germinación y emergencia fue nula atribuido a falta de desarrollo de la semilla. A partir de los 36 DDA éstas emergen, y a los 52 DDA alcanzaron 82% y 83% de germinación y emergencia respectivamente, así como, 1.67 de tasa de emergencia debido a que la semilla gradualmente alcanza mayor madurez fisiológica y capacidad germinativa (Cuadro 1). Para los 36, 44 y 52 DDA, donde se presentaron los más altos valores de germinación; se observó un incremento paulatino de la emergencia conforme aumentaron los DDA, lo cual pudo deberse a que durante este periodo hay acumulación progresiva de azúcares y nutrimentos que contribuyen al desarrollo de la semilla (Yordanov *et al.*, 2003), por lo que se puede inferir que a partir de los 36 DDA la semilla de esta especie alcanza madurez fisiológica con porcentajes de germinación y emergencia superiores a 80%.

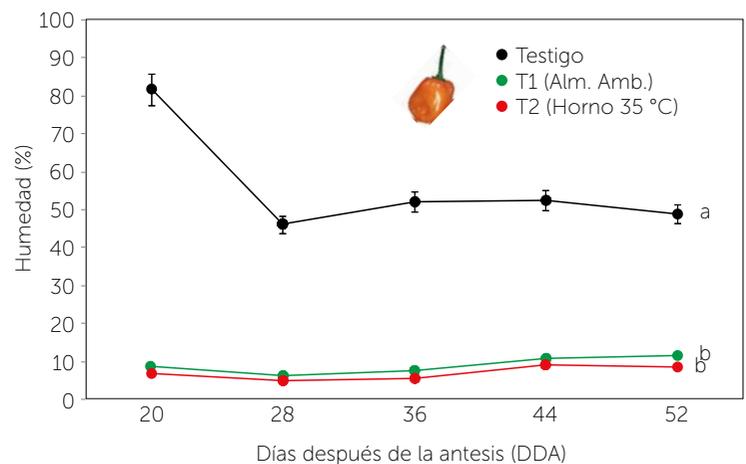


Figura 2. Contenido de humedad en semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) extraídas a los 20, 28, 36, 44 y 52 DDA con dos tratamientos de secado y un testigo sin secar. Letras diferentes difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 1. Germinación, emergencia y tasa de emergencia en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con dos tratamientos de secado en cinco días de cosecha después de la antesis.

Factor	Nivel	Germinación (%) ^x	Emergencia (%) ^x	Tasa de emergencia (plántula día ⁻¹)
Tratamiento secado	Testigo	57.03 a ^x	48 a	1.15 a
	T ₁	45.65 a	47.7 a	0.86 b
	T ₂	46.32 a	47.25 a	0.87 b
DDA ^y	20	0.00 b	0.00 c	0.00 b
	28	10.89 b	0.00 c	0.00 b
	36	82 a	72 b	1.55 a
	44	73.31 a	82.58 a	1.59 a
	52	82.13 a	83.17 a	1.67 a
CV ^z (%)		30.52	11.65	17.14

^x Letras diferentes dentro de columnas para cada factor difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

^y Datos transformados según Arcsen. ^z DDA=Días después de la antesis, T₁=semilla secada a la sombra a temperatura ambiente, T₂=Semilla secada con aire caliente a 35 °C. ^z CV=Coeficiente de variación

Longitud y biomasa del vástago y radícula. Para los tratamientos de secado, la mayor altura del vástago y longitud de la radícula se presentó en el T2 con 7.50 cm y 7.21 cm, contrario a ello, el menor valor lo registró el Testigo sin secado. En la biomasa seca del vástago, destacaron el T1 y T2, y en el caso de la radícula no se registró diferencia en los tratamientos de secado y Testigo. En los días de cosecha, los mayores valores se presentaron en 44 y 52 DDA, y no hubo diferencia en biomasa seca de radícula (Cuadro 2). Los resultados indican que el secado en horno con temperatura constante de 35 °C promueve mayor altura del vástago y longitud de radícula (Dasgupta *et al.*, 1982), por lo que es posible darle a la semilla un secado artificial con efectos benéficos en estas variables, ya que no se pre-

sentan condiciones que puedan afectar a la semilla. Demir *et al.* (2008), mencionan que el vigor de la semilla está influenciada por el secado después de la cosecha, así como por rasgos genéticos, condiciones ambientales, fecha de cosecha, daños mecánicos, y condiciones de almacenamiento (Figura 3).

CONCLUSIONES

Las semillas de frutos cosechados a los 20 y 28 DDA no toleran la desecación ya que reducen su germinación atribuido a

inmadurez del embrión. Las semillas de chile habanero presentan tolerancia a la desecación a partir de 36 días DDA cuando el contenido de humedad es superior 40%, lo que podría ser muy útil en circunstancias de apremio ambiental o económico. La desecación no mejora la calidad fisiológica con respecto a germinación y emergencia, pero si la altura de plántula y longitud de radícula.

LITERATURA CITADA

- Bewley D.J., Black M. 1994. *Seed. Physiology of development and germination*. 2nd Edition, New York, London, Plenum Press. 421 p.
- Bradford K.J. 2004. *Seed Production and Quality*. Department of Vegetable Crops. University of California. Davis, California, U.S.A. 134 p.

Cuadro 2. Altura, biomasa seca de vástago, longitud y biomasa seca de radícula de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con dos tratamientos de secado, y cinco días de cosecha después de antesis.

Factor	Nivel	Altura vástago (cm)	Longitud radícula (cm)	Biomasa seca vástago (mg)	Biomasa seca radícula (mg)
Tratamiento de Secado	Testigo	6.04 c ^x	5.74 c	510.00 b	80.00 a
	T ₁	6.68 b	6.46 b	595.00 a	91.67 a
	T ₂	7.50 a	7.21 a	550.00 ab	82.50 a
Cosecha (DDA ^y)	36	6.18 b	5.92 b	505.83 b	84.17 a
	44	7.04 a	6.80 a	597.50 a	87.50 a
	52	6.99 a	6.70 a	551.67 ab	82.50 a
CV ^z (%)		8.12	5.71	9.08	14.05

^x Letras diferentes dentro de columnas para cada factor difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

^y DDA=Días después de la antesis, T₁=semilla secada a la sombra a temperatura ambiente, T₂=Semilla secada con aire caliente a 35 °C.

^z CV=Coeficiente de variación.



Figura 3. A: Plántula, B-C: Frutos fisiológicamente maduros cosechados y en planta madre de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.)

- Copeland O.L., McDonald M.B. 2001. Principles of Seed Science and Technology. 4th edition. Kluwer Press, New York. USA. 488 p.
- Dasgupta J., Bewley J.D., Yeung E.C. 1982. Desiccation-tolerant and desiccation intolerant stages during the development and germination of *Phaseolus vulgaris* seeds. Journal of Experimental Botany 33: 1045-1057.
- Demir I., Tekin A., Okmen Z.A., Okcu G., Kenanoglu B.B. 2008. Seed quality, and fatty acid and sugar contents of pepper seeds (*Capsicum annuum* L.) in relation to seed development and drying temperatures. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 32(6): 529-536.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2004. Rules 2004. International Seed Testing Association. Zurich, Suiza. 243 p.
- Leprince O., Buitink J. 2010. Dessication tolerance: From genomics to the field. Plant Science 179: 554-564. Maguire, J. D., 1962. Speed of germination—aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, Madison, v. 2, p.176-177.
- SIAP. 2012. Chile habanero de la península de Yucatán. URL: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=338:chile-habanero-de-la-peninsula-de-yucatan&catid=91:infogramas&Itemid=570
- Tweddle J.C., Dickie J.B., Baskin C.C., Baskin J.M. 2003. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. Journal of Ecology 91: 294-304.
- Yordanov I., Velikova V., Tsonev T. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. Bulg. J. Plant Physiol. Special issue: 187-206.

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE VINO CON *Vitis vilifolia* L.

BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF WINE MADE WITH *Vitis vilifolia* L.

**Cheluca-Guillermo, S.¹; Suastegui-Rizo, R.¹; Vargas-Álvarez, D.^{1*}; Cruz-Cruz, E.²; Damián-Nava A.³;
Palemón-Alberto, F.³; Rodríguez-Batáz, E.¹; Godínez-Jaimes, F.⁴**

¹Laboratorio de Producción Integral de Alimentos y Productos Naturales, Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas S/N, Chilpancingo, Guerrero, CP 39090, México. Tel: 74 74 72 55 03. ²Instituto nacional de investigaciones forestales agrícolas y pecuarias km 0.5, Zacatepec-Galeana Zacatepec, Edo de Morelos C. P. 62780. ³Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Ambientales; Universidad Autónoma de Guerrero; km. 2.5 carretera Iguala-Tuxpan, Iguala, Gro. tel. 01 733 1-10-15-36. ⁴Unidad Académica de Matemáticas Universidad Autónoma de Guerrero, Segundo piso del Edificio Administrativo, Chilpancingo, Gro. Tel. 747 4715651.

* **Autor de correspondencia:** alvamatil@hotmail.com

RESUMEN

Se determinó el efecto de diferentes técnicas en la vinificación y su efecto en las características fisicoquímicas tales como, actividad antioxidante y compuestos fenólicos del vino tinto elaborado con uva silvestre (*Vitis vilifolia* L.). Se analizaron tres vinos procedentes de diferentes áreas de Guerrero, México, denominadas, Vicario, Reyna y un testigo elaborado en laboratorio. El vino testigo presentó mayor concentración de taninos y abundante contenido de antocianinas (4.5383 mg L^{-1}), fenoles totales ($270.743 \text{ mg L}^{-1}$) ácido tánico y mayor capacidad antioxidante (62.27%), en comparación con los vinos Reyna y Vicario, sin embargo éstos últimos, registraron mayor contenido de saponinas (++) y °Brix con valores de 22.7333 para Vicario y 21.4333 en Reyna. El contenido de alcohol fue de $27.6 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ para Vicario y $17 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ en Reyna, y en cuanto a acidez titulable los tres vinos presentaron valores similares obteniendo una media general de $0.683222 \text{ meq L}^{-1}$ de ácido tartárico y media general de IC_{50} de $0.016577 \mu\text{l}$. las diferencias principales se atribuyeron a la adición de azúcar estándar y piloncillo.

Palabras clave: uva, vino, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

ABSTRACT

The effect of different techniques on wine-making was determined, as well as their effect on the physical-chemical characteristics, such as antioxidant activity and phenolic compounds of red wine made with a wild grape (*Vitis vilifolia* L.). Three wines were analyzed from different areas in Guerrero, Mexico, called Vicario, Reyna and a witness made in the laboratory. The control wine presented higher concentration of tannins and abundant content of anthocyanins (4.5383 mg L^{-1}), total phenols ($270.743 \text{ mg L}^{-1}$), tannic acid, and higher antioxidant capacity (62.27 %), compared to the Reyna and Vicario wines; however, the latter showed a higher content of saponins (++) and °Brix with values of 22.7333 for Vicario and 21.4333 in Reyna. The alcohol content was $27.6 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ for Vicario and $17 \text{ ml } 100 \text{ mL}^{-1}$ in Reyna, and in terms of titrable acidity, the three wines presented similar values obtaining a general mean of $0.683222 \text{ meq L}^{-1}$ of tartaric acid and general mean of IC_{50} of $0.016577 \mu\text{l}$. The main differences were attributed to the addition of standard and brown sugar.

Keywords: grape, wine, phenolic compounds, antioxidant activity.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 68-73.



INTRODUCCIÓN

El vino era conocido en todos los pueblos antiguos, desde la India, pasando por Egipto, hasta la Galia y España. En Egipto, el vino que bebían los sacerdotes llegaba desde Fenicia y Grecia. Los romanos heredaron la afición al vino de los griegos, gracias a las viñas plantadas por los etruscos. Los chinos fueron conocedores en el arte de fermentar mostos de uva (*Vitis vinifera* L.) y fueron los primeros en reglamentarlo. Durante la edad media en Europa, la elaboración del vino fue una importante tarea en los monasterios, ya que cada uno poseía su propio viñedo, de donde extraían vinos litúrgicos, de tal modo que los monjes medievales pueden considerarse precursores de la viticultura moderna (cultivo de uva) y vinicultura (fabricación del vino) (Barbado, 2005). El vino es una bebida milenaria proveniente de la uva y sin lugar a dudas la más importante de todas, es la única para la cual se acepta la denominación de vino. Este se realiza a partir de diferentes variedades de *V. vinifera*, cuyo cultivo aún desde el siglo I de nuestra era, se extendía desde el valle del Rin hasta las costas del norte de África, pasando por países del Mediterráneo (Ramírez, 2008). Existen en la actualidad, esfuerzos aislados, que pretenden lograr productos de alta calidad. Hay tantos factores, que influyen en la calidad final de un buen vino, que hacen de esta actividad productiva una combinación de ciencia y arte. Desde tiempos remotos la producción del vino de uva ha logrado poco a poco afinar todos aquellos detalles de calidad que influyen directa o indirectamente en sus características organolépticas, y el vino moderno, sea de uva u otras frutas de partida, pueden lograr altos niveles de calidad (Ortiz, 2007). Es ampliamente conocido, que el consumo moderado de vino es benéfico para la salud, y se relacionan con el contenido de compuestos polifenólicos y propiedades antioxidantes (De Beer *et al.*, 2003; Kanner *et al.*, 1994; Pinho *et al.*, 2012; Rockenbach *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2011; Torres *et al.*, 2002). Los compuestos antioxidantes son capaces de proteger los sistemas biológicos contra la acción dañina de los radicales libres. La evidencia epidemiológica indica que el consumo de alimentos

y bebidas ricos en antioxidantes reduce la incidencia de varios trastornos degenerativos tales como la mutagénesis, carcinogénesis, arteriosclerosis, enfermedad isquémica del corazón, enfermedades neurodegenerativas y envejecimiento (Briviba *et al.*, 2002; Fernández-Mar *et al.*, 2012; Bekhit *et al.*, 2011).

Los vinos son variados de acuerdo al origen por ejemplo: las variedades específicas de fruta como materia prima, cepas especiales de levadura con mayor poder de formación de alcohol, equipos industriales con mejores sistemas de control de proceso, aditivos que ayudan a optimizar la producción y mejorar los niveles de conservación o características organolépticas, entre otros, son herramientas que permiten lograr productos de gran aceptación comercial. Estas transformaciones están

dirigidas a asegurar aspectos fundamentales, tales como, viabilidad del proceso, optimización organoléptica y rentabilidad (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2010). En el estado de Guerrero, México, se recolecta uva silvestre (*Vitis vilifolia* L.), cuya astringencia es elevada y escasos azúcares, sin embargo, se hace vino tradicional en diferentes partes del estado. Los vinos presentan su calidad a partir de la materia prima con la que iniciaron el proceso de fermentación, y el reposo, durante el cual se monitorean las antocianinas, fenoles y taninos. Últimamente se ha evaluado su actividad antioxidante, la acidez y concentración de azúcar, y al final el producto debe reunir las características de sabor, aroma, color, untuosidad, etcétera, de tal forma que sea agradable al consumidor. Para lograr esto, se debe considerar las características intrínsecas de la fruta a emplear, y de ser necesario diluir, hacer mezclas, agregar aditivos o reforzar sabores (Kennedy, 2008). Con base en lo anterior, se caracterizó fisicoquímicamente diferentes vinos elaborados con *Vitis vilifolia* L.

MATERIALES Y MÉTODO

Se llevó a cabo la recolecta de uvas de la especie de vid *Vitis vilifolia* L. en la comunidad de Machito de las Flores Municipio de Cocula, Guerrero, México para preparar el vino; el muestreo fue por conveniencia eligiendo uvas en buen estado, maduras de plantas silvestres, y cortadas de distintas partes del racimo (aproximadamente 10 kg), se maceraron, (epidermis, semillas y pulpa) y el jugo se fermentó durante 30 días con un sello de agua; después de esto, el vino fue filtrado, embotellado y reposado para estabilización y análisis a temperatura de cava de 18 °C. (Figura 1).





Figura 1. Planta y racimos de uva (*Vitis vilifolia* L.). verdes y maduros en condición silvestre en selva baja caducifolia de Guerrero, México.

Para la comparación del vino se recolectaron otros dos vinos elaborados con la misma especie de uva en la misma comunidad. Los vinos recolectados y el obtenido directamente en laboratorio, se analizaron por triplicado el contenido de saponinas, taninos °Brix, pH, acidez titulable, antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante Para la determinación de saponinas, se procedió a agregar 2 ml de vino y 2 aforo a 10 ml con agua destilada, se homogenizó y después agregó cinco gotas de aceite de oliva y se agitaron fuertemente durante cinco minutos, una reacción positiva es cuando se ve la formación de espuma (con apariencia de panal) y que ésta tarde más de 15 min en desaparecer. Para determinar taninos a cada tubo se le agregó 2 ml de vino, y aforo a 10 ml de agua destilada, se homogenizó, y posteriormente se agregó de tres a cinco gotas de FeCl₃, una reacción positiva es cuando da una coloración café verdosa o azul oscura.

La determinación de °Brix se realizó utilizando un refractómetro digital (marca SPER SCIENTIFIC, modelo 300017, 1.3330 to 1.4098 nD, brix 0-45%) con corrección incorporada de temperatura, ajustando a cero con agua destilada, agregando una gota de vino al refractómetro. Para determinar acidez titulable se agregó

a cada tubo 5 ml de vino, y aforo a 30 ml con agua destilada, posteriormente, se tomó una alícuota de 10 ml y depositó en un matraz de 50 ml; inmediatamente se agregó una a dos gotas de indicador fenolftaleína, mientras que en una bureta se colocó NaOH al 0.1 N y dejó caer gota a gota a la muestra hasta que alcanzó un vire de color rosa este debió permanecer de 10-15 segundos, y se calculó el porcentaje de acidez en base al ácido que se encuentra en mayor proporción de acuerdo a la siguiente fórmula (CEE, 1990):

$$\% \text{ de ácido} = \frac{\text{ml NaOH} * \text{N} * \text{Meq.} * \text{V} * 100}{\text{Peso de muestra} * \text{Alicuota}}$$

Para la determinación de pH se utilizó un equipo marca CORNING modelo 7, en la cual se sumergió un electrodo al vino, cabe mencionar que el aparato se calibró utilizando agua destilada y buffer de pH 7.0 y 4.0, una temperatura de 20 °C.

Para la determinación de antocianinas, se agregó a cada tubo 100 µl de vino, después se le agregaron 10 ml de HCl 0.1 N, posteriormente se cubrieron los tubos con papel aluminio por que las antocianinas se degradan con la luz, se agitaron los tubos por un tiempo de

10 min, transcurrido este tiempo se centrifugó (centrifuga SOL-BAT modelo J-500) para clarificar la solución a 1400 rpm durante 30 min, transcurrido este tiempo se leyó el valor de la Absorbancia a 516 nm (espectrofotómetro Thermo Spectronic, modelo Genesys 20) y los cálculos se realizaron utilizando el coeficiente de extinción molar 4.48 nM⁻¹ CM⁻¹ de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{ANTOCIANINAS} = \frac{\left(\text{ABS} \frac{516}{4.48} \text{NM} \right) * 100}{\text{PESO MUESTRA}} * F$$

Para determinar fenoles totales el procedimiento consistió que en agregar a cada tubo 15 μl de vino, 485 μl de agua des ionizada hasta aforar 500 μl , posteriormente se agregaron 8 ml de agua des ionizada, 500 μl de reactivo de Folin después de un minuto, pero antes de ocho minutos se le agregó 1.5 ml de Na₂CO₃ al 20%, se agito vigorosamente y dejó reposar dos horas sin luz, transcurrido el tiempo se leyó el valor de la Absorbancia a 760 nm (espectrofotómetro Thermo Spectronic, Genesys 20). La concentración de fenoles en la muestra se calculó en base a la curva de calibración expresada en mg L⁻¹ de ácido Tánico.

La actividad antioxidante se determinó agregando a cada tubo 5 μl de vino, 995 μl de DPPH, se dejaron reposar durante dos horas en oscuridad, transcurrido el tiempo se leyó el valor de la Absorbancia a 517 nm (espectrofotómetro Thermo Spectronic, Genesys 20), la actividad antioxidante fue expresada como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \% \frac{A - A_1}{A} \cdot 100$$

Los resultados de este método fueron expresados en IC₅₀, el cual se define como la concentración necesaria de muestra para reducir el 50% de la cantidad inicial de DPPH y se expresa como la relación molar de cada componente por radical. Para determinar el grado de alcohol de los tres vinos, se tomaron 250 ml de cada uno, y de forma separada se destilaron en un Rotavapor (CAFRAMO, modelo WB2000) para obtener el contenido de alcohol (CEE, 1990). El diseño experimental fue completamente al azar, triplicando las muestras y analizadas mediante ANDEVA y pruebas de comparación de medias (Tukey; $p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los taninos juegan un papel importante tanto en el plano organoléptico como nutrimental ya que son responsables de la astringencia de los vinos tintos y contribuyen significativamente al sabor amargo (De la Cruz *et al.*, 2012). Los vinos presentaron diferencia significativa entre medias en °Brix correspondiendo el mayor valor a la marca Vicario, seguida de Reyna y finalmente el testigo. Los resultados indican, que el vino vicario

fue enriquecido con azúcares extraordinarios por el alto contenido de alcohol y °Brix, y el origen de los azúcares se asume pudo ser piloncillo lo que provoco un cambio de pH altero las antocianinas y disminuyo el contenido de fenoles totales. En cuanto al vino Reyna se considera que el enriquecimiento de azúcares fue con azúcar granulada, ya que mantuvo el pH y contenido medio de alcohol, sin embargo, tanto los fenoles como las antocianinas fueron diferentes estadísticamente respecto al testigo; estos resultados coinciden con lo reportado por Ghetak *et al.* (2014), quienes mencionan, que los vinos de diferente procedencia tienen diferente comportamiento en la actividad antioxidante, fenoles y contenido de azúcares.

La característica, más importante de los vinos es el contenido de taninos, antocianinas y actividad antioxidante (Cuadro 1) (Heras Roger *et al.*, 2014), los vinos comerciales fueron diferentes significativamente en los tres parámetros, esto puede ser debido a las características regionales del procedimiento de cada vino, sin embargo, el contenido de alcohol rebasa, la consignación de vino lo que otros autores mencionan que están fuera de la normatividad debido a suministro de otros azúcares (Cuadro 2) (Di Soto *et al.*, 2013; Yuwa *et al.*, 2012). El vino control (testigo) indicó, que la fermentación natural tiene un mayor contenido de taninos, menor cantidad de alcohol reglamentada para vinos de mesa; mientras que el vino Reyna presentó mayor concentración de alcohol debido a la adición de azúcares, sin embargo la normatividad permite en vinos entre 10% y 15% de volumen de alcohol (Arcari *et al.*, 2013).

Estos resultados son similares a los valores informados por diferentes autores para vinos de otros orígenes (Avalos *et al.*, 2009). Los fenoles presentes protegen al organismo contra enfermedades cardiovasculares y enfermedades degenerativas. Químicamente pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático teniendo uno o más sustituyentes hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales (Heinonen *et al.* 1998).

CONCLUSIONES

El contenido de fenoles y antocianinas del vino testigo fue diferente estadísticamente y de la actividad antioxidante mostro un IC₅₀ mayor a los dos vinos comerciales (Cuadro 2), lo que coincide con Villaño *et al.* (2006), Roussis *et al.* (2006) Mildner *et al.* (1994) Granato *et al.* (2011) Busuricu *et al.* (2013), que el contenido fenólico le confiere actividad biológica a los vinos, debido al anillo fenólico dentro de sus estructuras, sin embargo, el proceso debe ser cuidadoso para evitar que se deterioren en presencia de luz o métodos de elaboración y dosificación. De igual forma, los vinos evaluados elaborados con *Vitis vilifolia* indicó que el testigo presentó mayor concentración de antocianinas compuestos fenólicos y actividad antioxidante, mientras que los vinos comerciales Vicario y Reyna presentaron mayor contenido de °Brix y acidez, atribuido a la adición de azúcares para favorecer mayor palatabilidad y contenido de alcohol.

LITERATURA CITADA

Arcari S.G., Chaves E.S. Vanderlinde R., Rosier J.P., Bordignon-Lui, M.T. 2013. Brazilian fortified wines: Chemical composition, chromatic properties and antioxidant activity. *Food Research International*. 53:164-173.

Ávalos G.A., Pérez-Urria E. 2009. Metabolismo secundario de plantas, *Reduca (Biología)*, Serie Fisiología Vegetal 2:119-145.

Barbado J. 2005. *Vinos de elaboración casera*, Editorial Albatros, Primera edición, Buenos Aires. República Argentina.

Bekhit A., Cheng V.J., McConnell M., Zhao J.H., Sedcole R., Harrison R. 2011. Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion. *Food Chemistry*. 129:837-845.

Briviba K., Pan L., Rechkemmer G. 2002. Red wine polyphenols inhibit the growth of colon carcinoma cells and modulate the activation pattern of mitogen-activated protein kinases. *Journal of Nutrition*. 132:2814-2818.

Busuricu F., Negreanu-Pirjol T., Popescu A., Margaritti D., Lupu C., Schroder V. 2013. Evaluation of the antioxidant activity of certain romanian wines. *Journal of Environmental Protection and Ecology*. 14: 1828-1835.

CEE. 1990. *Analyses des Mouts et des Vins*. Office des Publications Officielles des Communautés Européennes. Paris, France. 192 p.

De Beer D., Joubert E., Gelderbom C.A.W., Manley M. 2003. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: free radical scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 902-909.

Cuadro 1. Determinación de saponinas y taninos en tres tipos de vino de *Vitis vilifolia* L.

Vino	Repeticiones	Saponinas	Taninos
Testigo	1	+	+++
	2	+	+++
	3	+	+++
Vicario	1	++	+
	2	++	+
	3	++	+
Reyna	1	++	++
	2	++	++
	3	++	++

Abundante (+++), Moderado (++), Escaso (+), Negativo (-).

Cuadro 2. Características fisicoquímicas de tres vinos de *Vitis vilifolia* L.

Variable\Vino	Vicario	Reyna	Testigo
Grados Brix	22.7333a	21.4333b	4.9333c
antocianinas mg ⁻¹ L	0.2973c	2.0083b	4.5383a
mg ⁻¹ L de ácido tánico	61.033c	91.977b	270.743a
DPPH % de inhibición	8.438b	25.36b	62.27a
% Alcohol en volumen	27.6a	17b	14.8c
PH	3.6a	3.9b	3.7a

Valores por fila seguidos de la misma letra, no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Fernández-Mar M.I., Mateos R., García-Parrilla M.C., Puertas B., Cantos-Villar E. 2012. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*. 130:797-813.

Ghetak A.A., Chaturvedi P.A., Desai N.S. 2014. Indian grape wines: a potential source of phenols, polyphenols, and antioxidants. *International Journal of Food Properties*. 17: 818-828.

Granato D., Katayama F.C.U. De Castro I.A. 2011. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chemistry*. 129: 366-373.

Heinonen I.M., Lehtonen P.J., Hopia A.I. 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46:25-31.

Heras-Roger J., Pomposo-Medin, M., Díaz-Romero C., Darias-Martín J. 2014. Copigmentation, colour and antioxidant activity of single-cultivar red wines. *European Food Research and Technology*. 239: 1-7.

Kanner J., Frankel E., Granit R., German B., Kinsella J.E. 1994. Natural antioxidants in grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42:64-69.

Kennedy J.A. 2008. Grape and wine phenolics: observations and recent findings. *Ciencia e Investig. Agraria* 35: 77-90.

De la Cruz-de Aquino M.A., Martínez-Peniche R.A., Becerril-Román A.E., Chávaro-Ortiz M.S. 2012. Caracterización física y química de vinos tintos producidos en Querétaro. *Rev. Fitotec. Mex.* 35(5):61-67.

- Mildner-Szkudlarz S., Szwengiel A., Bajerska J., Obuchowski W., Remiszewski M. 2009. Phenolic compounds and antioxidant activity from wine-making wastes. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 55:511-5016.
- Pinho C., Couto A.I., Valentão P., Andrade P., Ferreira I.M.P.L.V.O. 2012. Assessing the anthocyanic composition of Port wines and musts and their free radical scavenging capacity. *Food Chemistry*. 131: 885-892.
- Rockenbach I.I., Rodrigues E., Gonzaga L.V., Caliari V., Genovese M.I., Goncalves A.E.D.S.S. 2011. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*. 127: 174-179.
- Rodríguez-Pérez C., Molina J.M., De La Serrana H.L. 2010. Relación entre las temperaturas máximas y los distintos parámetros de calidad en vinos. *Ars Pharmaceutica*. 51:31-39.
- Roussis Ioannis G., Lambropoulos I., Tzimas P., Gkoulioti A., Vasilios M., Tsoupeis D. 2008. Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21:614-621.
- Santos L.P., Morais D.R., Souza N.E., Cottica S.M., Boroski M., Visentainer J.V. 2011. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. *Food Research International*. 44: 1414-1418.
- Torres J.L., Varela B., García M.T., Carilla J., Matito C., Centelles J.J. 2002. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:7548-7555.
- Villaño D., Fernández-Pachón M.S., Troncoso A.M., García-Parrilla M.C. 2006. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. *Food Chemistry*. 95:394-404.
- Yuwa-Amornpitak T., Koguchi M., Teramoto Y. 2012. Antioxidant activity of herbal wine made from cassava starch *World Applied Sciences Journal*. 16:874-878.



FACTORES ESTRUCTURALES EN LA CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA REGIONAL DE INNOVACIÓN DE VAINILLA (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews) EN MÉXICO

STRUCTURAL FACTORS IN THE CONSTRUCTION OF THE REGIONAL VANILLA (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews) INNOVATION SYSTEM IN MEXICO

Espejel-García, A.¹; Barrera-Rodríguez, A.^{2*}; Herrera-Cabrera B.E.³; Cuevas-Reyes V.⁴

¹Catedrático CONACYT-Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, 56230 Texcoco, México. ²Innovación y Servicio Profesionales S.A. de C.V. Allende 206, Colonia San Juan de Dios, C.P. 56169. ³Colegio de Postgraduados. Campus Puebla. Carretera Federal México-Puebla Km. 125.5, Santiago Momoxpan, 72760 Puebla. ⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-CEVAMEX). Km.13.5 Carretera México- Texcoco, Coatlinchan, Texcoco, Estado de México, C.P. 56250.

*Autor de correspondencia: ariadna.barrera@gmail.com

RESUMEN

El concepto de sistema de innovación ha tomado gran relevancia en los últimos años en los países en desarrollo ya que es un medio para estimular los procesos de innovación en el sector agrícola, considerando los procesos de interacción entre investigación y actividad económica, prácticas para la interacción y aprendizaje, y creación de un ambiente facilitador que incentiva la innovación, favoreciendo la generación de conocimiento social y económicamente útil. Se analizaron los factores estructurales (actores, instituciones, interacción e infraestructura) en la construcción del sistema de innovación de *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews, en Veracruz, Puebla y San Luis Potosí, México, como un primer paso en la construcción del sistema de innovación. Los resultados sugieren avances en los procesos de interacción, infraestructura y actores, mientras que las instituciones que dan forma a las organizaciones han permanecido estáticas ante los cambios del entorno.

Palabras clave: adopción, factores estructurales.

ABSTRACT

The concept of innovation has acquired great relevance in recent years in developing countries, since it is a means to stimulate innovation processes in the agricultural sector, considering the interaction processes between research and economic activity, practices for interaction and learning, and the creation of an enabling environment that fosters innovation, favoring the generation of socially and economically useful knowledge. The structural factors (actors, institutions, interaction and infrastructure) present in the construction of the innovation system for *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews, in Veracruz, Puebla and San Luis Potosí, Mexico, were analyzed, as a first step in the construction of the innovation system. The results suggest advances in the interaction, infrastructure and actors processes, while the institutions that shape the organizations have remained static in face of changes in the environment.

Keywords: adoption, structural factors.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 1, enero. 2016. pp: 74-78.



INTRODUCCIÓN

En el contexto actual del desarrollo agrícola, se enfatiza la importancia de la investigación y transferencia de tecnología, se reconoce a la innovación como un proceso interactivo entre individuos y organizaciones que procesan diversos tipos de conocimiento, y que se desarrolla en un ambiente político, económico y social específico. Se hace relevante la perspectiva sistémica y se presta mayor atención a los procesos de interacción entre la investigación, actividad económica, prácticas que promueven la interacción, aprendizaje y creación de un ambiente facilitador para la innovación que contribuya a generar conocimiento socioeconómico útil (Banco Mundial, 2008). En México está ausente una política que cohesione a los diversos actores a nivel nacional (Ekboir *et al.*, 2006; Muñoz, *et al.*, 2007); en lo local, diferentes estudios han mostrado poca interacción entre actores involucrados con la generación y la difusión de la innovación. Factores tales como, bajo nivel de adopción de innovaciones, débil interacción de instituciones de enseñanza e investigación con el sector productivo, así como, escasa generación de estrategias para vincular a los productores con mercados rentables son parte de la causalidad (Espejel *et al.*, 2014; FAO, 2007).

En este contexto surge el concepto de Sistema Regional de Innovación definido como un *entramado constituido por subsistemas de generación y explotación de conocimiento que interactúan para la creación de nuevo conocimiento* (Cooke *et al.*, 2003). Resulta de interés conocer la interacción entre los actores que colaboran en la cadena productiva vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews), la adopción de innovaciones, y la velocidad con que éstas son adoptadas. Estudios recientes señalan que existe poca articulación entre sectores académico, científico, gubernamental y productivo dentro de la cadena, lo cual restringe el flujo de información y materialización de proyectos que atiendan los problemas prioritarios (Barrera *et al.*, 2014). Debido a la complejidad de la cadena de vainilla y los actores involucrados, es necesario hacer el análisis considerando una visión sistémica y en la cual se identifiquen los factores estructurales (Kebebe *et al.*, 2015). A este respecto, los agentes que intervienen en los procesos de innovación son variados; Von Hippel (1998) resalta el rol de los usuarios; Mowery y Sampat (2005) destacan el papel estratégico de las universidades, la función específica de las multinacionales (Narula y Zanfei, 2005) y recientemente en el ámbito agropecuario de México destaca el mercado que incentiva y dinamiza el sistema de innovación (Espejel *et al.*, 2014).

El análisis de los sistemas de innovación propone la identificación de los *actores, instituciones, infraestructura e interacciones*, como dimensiones estructurales; los tres primeros se consideran componentes clave para el funcionamiento, mientras que las interacciones son vínculos y relaciones entre éstos. Con base en lo anterior, se identificaron los factores estructurales en la conformación del sistema de innovación en la cadena vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews) en México para generar recomendaciones que contrarresten los fallos estructurales del sistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en los estados de Veracruz, Puebla y San Luis Potosí, México, quienes aportan 88% de la producción nacional y el 85% del valor. Se aplicaron encuestas a 49 productores clave seleccionados mediante muestreo simple aleatorio. La encuesta incluyó: datos generales, unidad de producción, organización y dinámica de innovaciones. El análisis de la red de innovación incluyó obtención de indicadores tales como, densidad, índice de centralización, tamaño de la red, actores estructuradores, cobertura y adopción de innovaciones.

Variables:

Densidad: expresada como relaciones existentes del total de relaciones posibles en la red; y es el número de relaciones existentes entre las posibles (Borgatti *et al.*, 1992). Dónde: D =densidad, L =número de relaciones existentes, $n(n-1)$ =número de relaciones posibles:

$$D = \frac{2L}{n(n-1)} * 100 \quad [1]$$

Centralización: Detecta el control o influencia de un actor o pequeño grupo de actores dentro de la red. El valor del índice obtenido es la proporción entre la suma de las diferencias del grado de todos los puntos (d) con el valor mayor grado del grafo, D , y la suma de los grados de todos los actores; si el de uno de ellos fuera el máximo posible ($n-1$) y el de los demás el mínimo (Borgatti *et al.*, 1992).

$$C = \sum (D - d) / [(n-1)(n-2)] \quad [2]$$

Índice de cobertura: Se calculó a partir de identificar a los actores clave con Key Player 2; e indica el grado de cobertura que tienen los actores clave dentro de la red, expresada como la capacidad de un grupo de actores para llegar al resto (Borgatti *et al.*, 1992).

Actor difusor (diffuse): Se calculó empleando el algoritmo. Considerando que la distancia d_{mj} del último nodo a cualquier otro nodo es 1, y N es el total de nodos.

$$R = \frac{\sum_j \frac{1}{d_{mj}}}{N} \quad [3]$$

La adopción de innovaciones se calculó a partir de la tasa de adopción de innovaciones (TAI), el cual expresa las innovaciones que realiza cada productor del total de innovaciones^[1], utilizando la siguiente ecuación (Muñoz *et al.*, 2007):

$$TAI = \sum_{i=1}^j \left(\frac{\text{Número de productores que realizan la innovación}}{\text{Número de productores totales}} \right) * 100 \quad [5]$$

Para los factores estructurales en la construcción del sistema de innovación se consideró la metodología propuesta por (Wieczorek *et al.*, 2012) que analizan factores estructurales tales como, los actores, instituciones, interacciones e infraestructura (Cuadro 1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los productores de vainilla poseen en promedio 0.40 hectáreas en producción con rendimientos promedio de 200 kg ha⁻¹. La producción de vainilla no es la actividad económica principal, representa una cuarta parte de sus ingresos. El análisis de redes sociales (Cuadro 2) identificó que los flujos de información e interacción entre productores e instituciones son bajos. En Puebla existe mayor comunicación entre actores de la cadena, y el valor de densidad fue 10%, en SLP, 4.4% y 7.1 % en Veracruz.

La centralización mide la preponderancia de algún (os) actor(es) de la red, y en este aspecto, se identificó que los productores referencian a actores específicos y existe preponderancia de algunos. Como difusores de la innovación se identificaron en los tres estados a los productores, sin embargo, su cobertura fue baja (Cuadro 2). Los recolectores concentran 80% de la información de la red en Puebla y son familiares y productores referidos; en Veracruz concentran 61.5% de la información de la red y son familiares y productores referidos. En SLP se registró que otros actores de la red y productores

Cuadro 1. Factores estructurales en los sistemas de innovación.

Dimensión estructural	Subcategorías
Actores	Sociedad Civil, Empresas: grandes firmas, compañías multinacionales; Instituciones de conocimiento (Universidades, institutos tecnológicos y centros de investigación); Gobierno y ONG's, etcétera
Instituciones	Duras: Reglas, leyes, regulaciones, instrucciones Blandas: Consumidores, usos y costumbres, rutinas, practicas establecidas, tradiciones, normas, expectativas
Interacciones	A nivel de redes; a nivel de contactos individuales.
Infraestructura	Físicas (Instrumentos, maquinas, construcciones, carreteras, puentes, redes de comunicación, puertos); Conocimiento (experiencia, saber hacer, información estratégica); Financiera (Subsidios, programas, subvenciones).

Fuente: Adaptado de Wieczorek *et al.*, 2012.

Cuadro 2. Indicadores de la red de innovación.

Indicador	Puebla	San Luis Potosí	Veracruz
Nodos	12	38	15
Relaciones	14	62	15
Densidad (Desviación estándar)	10.6 (30.7)	4.4 (20.5)	7.1 (25.7)
Centralización de salida (%)	8.26	6.57	15.30
Centralización de entrada (%)	57.85	39.88	45.91
Colector de información	80%: "Familiares" "Productor referido"	63.9%: "Otros Actores" "Productor referido"	61.5%: "Familiares" "Productor referido"
Difusor de innovación	30%: "Productor 32" "Productor 44"	16.6%: "Productor 01" "Productor 04"	30.7%: "Productor 35" "Productor 38"
Estructurador de la red	"Familiares" "Productor Referido" (90% fragmentación)	"Otros actores" "Productor referido" (97.7% fragmentación)	"Familiares" "Productor referido" (94% fragmentación)

Fuente: Encuesta a productores de vainilla, 2015

¹ Se implementaron once innovaciones: 1) selección de esqueje, 2) siembra de esqueje de 80 a 120 cm de largo, 3) desinfección de esqueje, 4) aplicación de materia orgánica, 5) control de maleza, 6) poda de tutor, 7) encauzamiento de guías para promover los brotes vegetativos, 8) enraizamiento, 9) poda de esquejes, 10) construcción de drenes, 11) cosecha en racimo.

referidos concentran 63.9% de la información. Los estructuradores, son los actores que sostienen la red y corresponden a los mismos actores identificados como recolectores; si estos actores se excluyeran, las relaciones disminuirían en 87% en SLP, 90% en Puebla y 94% en Veracruz (Cuadro 2).

Adopción de innovaciones. Los productores de Puebla presentaron mayor adopción de innovaciones, específicamente en el control de malezas, encauzamiento de guías y enraizamiento, las cuales se han adoptado al 100% (TAI) por productores. Las de menor adopción correspondieron a la siembra de esquejes vigorosos con 35% de productores adoptantes en SLP; la construcción de drenes en Puebla y San Luis Potosí fue adoptada por % y 12% respectivamente.

Velocidad de adopción de innovaciones. Para conocer la madurez del sistema y la rapidez con que los actores reaccionan (Figura 1), se calculó la velocidad de adopción. En 1965 apareció la primera innovación en Puebla y pasaron 35 años para que el 40% de los productores adoptara otra innovación, y en sólo 10 años cerca de 50% de los productores adoptó esas innovaciones. En Veracruz el proceso de adopción inició en 1985; en 15 años el 35% de

los productores había adoptado las innovaciones y en 13 años lo hizo el 60%. En SLP, en los últimos cinco años 50% de productores adoptó innovaciones y en los primeros 40 años solo el 40% lo hizo.

Factores Estructurales. Se asocian a fallas determinadas por el desempeño de las instituciones, por la infraestructura y por interacciones entre actores. El Cuadro 3 muestra el análisis considerando dos periodos en el tiempo, antes del año 2000 y después del año 2000 y a la fecha.

En la cadena vainilla en México, no ha habido cambios sustanciales, prevalecen pequeños productores parcialmente vinculados. Un cambio estructural posterior al 2000 ha sido la desaparición del mercado oligopólico de capital extranjero y la aparición de empresas comercializadoras de capital nacional, incursión de instituciones de enseñanza e investigación tales como, Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma Chapingo, INIFAP, BUAP, Universidad Veracruzana, y empresas privadas proveedoras de insumos, asistencia técnica y capacitación (Cuadro 3). Entre los actores predominantes como fuentes de aprendizaje se ubicaron a la Universidad el resto de las instituciones tiene baja presencia, en SLP prevalece una diversidad de actores que participan en el sistema de innovación. Hasta antes del año 2000 no existían Programas de fomento a la innovación y desarrollo tecnológico y participación de las instituciones. Posteriormente se crearon programas de extensión y desarrollo tecnológico con poca incidencia en el tema de mercado. Se creó el Sistema Producto Nacional Vainilla, y se generó mayor participación de instituciones (públicas, sociales y privadas) en la definición de estrategias para la cadena productiva vainilla. Respecto a la interacción, antes del año 2000, no existía marco institucional de fomento a la vinculación entre instituciones y actores públicos y/o privados. La creación del Sistema Nacional de Investigación y Transferencia de Tecnología (SNITT) buscó fomentar la interacción entre los diversos actores de las cadenas de valor.

Mediante el análisis de redes, se midió el nivel de interacción entre las fuentes de aprendizaje y la adopción las innovaciones definidas (Figura 2).

A partir del año 2000 se registra incremento en la inversión en investigación, desarrollo e innovación) *I+D+i* en la cadena, operados por instituciones de investigación, incremento de infraestructura agroindustrial para hacer más eficiente los procesos de agregación de valor (mediante financiamiento o

apoyos gubernamentales); y en cuanto a infraestructura carretera y comunicaciones, aún existe rezago en comunidades rurales, que restringe al productor el acceso a la información necesaria para la toma de decisiones

CONCLUSIONES

El análisis estructural del *sistema de innovación* permitió identificar las fallas en su conformación, considerando a los actores, instituciones, interacciones e infraestructura de soporte. Es necesario analizar todos los factores en su conjunto para poder emitir recomendaciones. La participación de *actores* ha sido limitativa debido a los problemas socio-económicos que presenta la cadena,



Figura 1. Velocidad de adopción de innovaciones de los productores de vainilla. Fuente: Encuesta a productores de vainilla, 2015

Cuadro 3. Actores que participan en el sistema de innovación vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex Edwards) como fuente de aprendizaje.

Estado	Otro productor (%)	Familiar (%)	Agencia o Técnico (%)	INIFAP (%)	Gobierno (%)	Agroindustria (%)	Comercializador (%)	Universidad (%)	TOTAL
SLP	26	3	14	17	14	1	9	17	100
Puebla	61	23	9	0	0	0	3	4	100
Veracruz	44	34	3	0	0	0	1	17	100

Fuente: Encuesta a productores de vainilla, 2015. SLP: San Luis Potosí.

destaca el papel protagónico de las agencias de desarrollo y de las agroindustrias, quienes están iniciando un proceso donde el mercado incentiva la producción e innovación, que a su vez contribuye a configurar el sistema de innovación. Las instituciones *entendidas* como reglas, principios y normas que rigen a las organizaciones están conformando un arreglo institucional que permitirá en el mediano y largo plazo fortalecer el sistema de innovación vainilla en México. No obstante, hacen falta instituciones que privilegien la **interacción** entre los diferentes actores del sistema de innovación ya que no es un elemento que se haya promovido activamente en la política pública; es necesario dotar de mayor protagonismo e **infraestructura** a los agentes nacionales y locales que promueven estos procesos como el SNITT y agencias locales de desarrollo.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue apoyada por el Fondo Sectorial SAGARPA-CO-NACYT: 2012-04-190442. "Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México (SP-13)"

LITERATURA CITADA

Banco Mundial. 2008. Incentivar la Innovación Agrícola, Banco Mundial y Mayor Ediciones. Bogotá, 204 pp.

Barrera R.A., Herrera C.E., Jaramillo V.J.L., Escobedo G.S., Bustamante G.A. 2009. Caracterización de los sistemas de producción de vainilla (*Vanilla planifolia* A.) bajo naranjo y en malla sombra en el Totonacapan. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10: 199-212.

Barrera-Rodríguez A.I., Santoyo-Cortés V.H., Baca del Moral J., Altamirano Cárdenas J.R. 2014. Perspectives d'avenir et compétitivité des organisations de producteurs de vanille du Mexique. Cah Agric 23: 374-381.

Borgatti S.P., Everett M.G., and Freeman L.C. 2002. UCINET 6 for Windows Software for Social Network Analysis. Harvard: Analytic Technologies.

Cooke P. 1992. Regional Innovation Systems: Competitive Regulation in the New Europe. Geoforum 23: 365-382.

Cooke P., Roper S., Wylie P. 2003. The Golden Thread of Innovation and Northern Ireland's Evolving Regional Innovation System. Regional Studies 37 (4): 365-379.

Espejel G.A., Cuevas R.V., Muñoz R.M., Barrera R.A., Cervantes E.F., Sosa M.M. 2014. Sistema Regional de Innovación y Desarrollo Rural Territorial; pequeños productores de leche del Valle del Mezquital, Estado de Hidalgo, México. Spanish Journal of Rural Development 5 (2).

Ekboir J.M., Dutrénit G., Martínez G., Torres V.A., Vera-Cruz A. 2006. Las Fundaciones "Produce" a los diez años de su creación: Pensando en el futuro. Informe Final de Evaluación. Coordinadora Nacional de Fundaciones Produce. COFUPRO, México.

FAO. 2007. Evaluación Nacional del Subprograma de Investigación y Transferencia de Tecnología (SITT).

Foster V., Morella E. 2011. Ethiopia's infrastructure: a continental perspective. World Bank Policy Research Working Paper Series 2011.

Hernández H. J. 2010. Tecnología integral para la producción de vainilla en México, INIFAP.

Kebebe E., Duncan A.J., Klerkx L., De Boer I.J.M., Oosting S.J. 2015. Understanding socio-economic and policy constraints to dairy development in Ethiopia: A coupled functional-structural innovation systems analysis. Agricultural Systems 141(2015): 69-78.

Klerkx L., Aarts N., Leeuwis C. 2010. Adaptive management in agricultural innovation systems: the interactions between innovation networks and their environment. Agric. Syst. 103, 390-400.

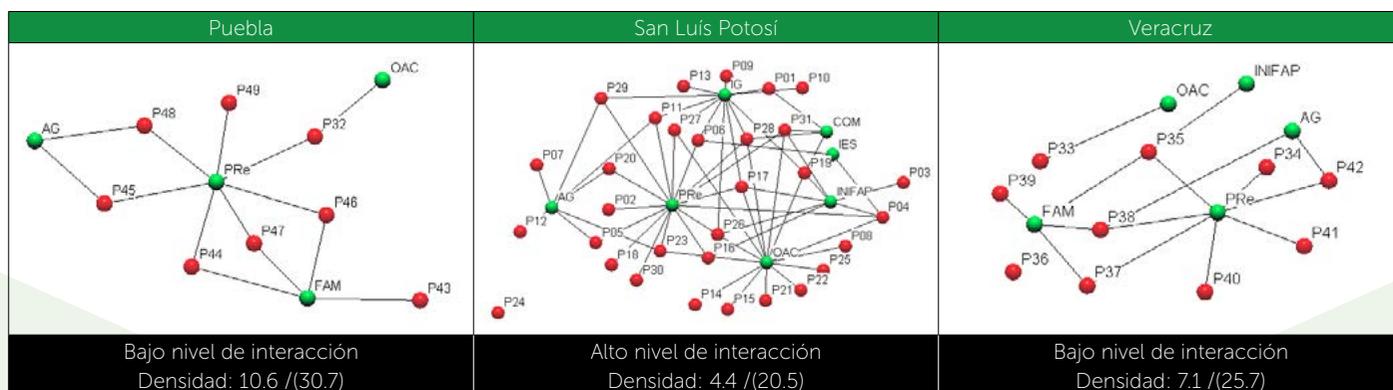
Muñoz R.M., Aguilar J., Altamirano J.R., Rendón M.R., Espejel A. 2007. Innovación Motor de la competitividad agroalimentaria. Políticas y estrategias para que en México ocurra. CIESTAAM-UACH-Fundación Produce Michoacán. 310 pp.

Mowery D.C., Sampat B.N. 2005. Universities and national innovation systems. En Fagerberg, J., Mowery, D. and Nelson, R. R. (eds) The Oxford Handbook of Innovation, Oxford: OUP. pp. 209-239.

Narula R., Zanfei A. 2005. Globalisation of innovation: The role of multinational enterprises. En Fagerberg, J., Mowery, D. and Nelson, R. R. (eds) The Oxford Handbook of Innovation, pp. 318-45.

Von Hippel E. 1998. The Sources of Innovation. Cambridge, MA: MIT Press.

Wieczorek A.J., Hekkert M.P. 2012. Systemic instruments for systemic innovation problems: a framework for policy makers and innovation scholars. Sci. Public Policy 39,74-87.



Fuente: Encuesta a productores de vainilla, 2015

Figura 2. Patrones de interacción en el sistema de innovación Vainilla en los principales estados productores.

ASOCIATIVIDAD EMPRESARIAL DE ORGANIZACIONES PRODUCTORAS DE VAINILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) EN EL TOTONACAPAN

ENTREPRENEURIAL ASSOCIATION FORMATION OF VANILLA (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) PRODUCERS' ORGANIZATIONS IN TOTONACAPAN

Barrera-Rodríguez A.¹; Espejel-García A.^{2*}; Herrera-Cabrera B.E.³; Cuevas-Reyes V.⁴

¹Investigadora de la empresa INNSERP. Innovación y Servicio Profesionales S.A. de C.V. Allende 206, Colonia San Juan de Dios, C.P. 56169. ²Catedrático Conacyt-Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, 56230 Texcoco de Mora, Méx. ³Profesor Investigador del Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla. Carretera Federal México-Puebla Km. 125.5, Santiago Momoxpan, 72760 Puebla, Pue. ⁴Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-CEVAMEX). Km.13.5 de la Carretera los Reyes- Texcoco, Coatlinchan, Texcoco, Estado de México, C.P. 56250.

***Autor de correspondencia:** anastacio.espejel@gmail.com

RESUMEN

Se diseñó y calculó el índice de asociatividad de organizaciones económicas rurales de vainilla (OER), para estimar su impacto en la rentabilidad. Se empleó el método de estudios de caso y mediante la aplicación de encuestas y realización de talleres participativos con los asociados, se obtuvo información para el desarrollo de los indicadores de asociatividad. Los resultados indican que las OER muestran un índice de asociatividad bajo de $39.9\% \pm 57.1\%$, destacando los indicadores de confianza, principios cooperativos, y adopción de innovaciones, mientras que indicadores de estructura gerencia-administrativa, rendición de cuentas y capacidad de gestión de apoyos, registraron índices menores a 50%. Mediante la correlación de Pearson $P > 0.700$ y la regresión múltiple con coeficiente de determinación R^2 de 0.99 se estimó que la confianza y participación de socios son las variables explicativas de la relación beneficio-coste registrado por las organizaciones. La asociatividad debe considerarse como estrategia de desarrollo competitivo para las organizaciones económicas rurales.

Palabras clave: Asociación, confianza, principios cooperativos, beneficio-coste.

ABSTRACT

The index of association formation for vanilla rural economic organizations (REOs) was designed and calculated, to estimate their impact and profitability. The method of case study was used, and information was obtained through applying surveys and holding participant workshops with associates, for the development of association formation indicators. The results indicate that the REOs show a low association formation index of $39.9\% \pm 57.1\%$, with the indicators of trust, cooperative principles and innovation adoption standing out, while the indicators of management-administrative structure, accountability, and support negotiation capacity showed indexes below 50%. Through the Pearson correlation of $P > 0.700$ and the multiple regression with determination coefficient R^2 of 0.99, it was estimated that trust and participation of the associates are the explicative variables in the benefit-cost relationship shown by the organizations. Association formation must be considered as a strategy for competitive development of rural economic organizations.

Keywords: association, trust, cooperative principles, benefit-cost.

INTRODUCCIÓN

Las organizaciones económicas rurales (OER) de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) en la región del Totonacapan en México, son importantes en los procesos socioeconómicos, ya que procesan 25% de la producción nacional. Estas organizaciones realizan actividades de producción primaria y transformación, y han desarrollado segmentos del mercado, sin embargo, presentan problemas estructurales (financieros, administrativos, asociativos y comerciales) que han generado la deserción de algunos integrantes. De 2006 a 2014, en la región del Totonacapan las organizaciones de productores han disminuido en más de 70%, tanto en número como en tamaño, atribuido a que no cuentan con estrategias de proveeduría consolidadas que permitan contar con materia prima de calidad y volumen que requieren para atender la demanda de sus canales de comercialización. Lo anterior genera subutilización de la capacidad instalada, tales como, las casas de beneficio que aunado a costos por almacenamiento de inventarios, hace que su operación sea poco rentable, además que la escasa capacidad gerencial, financiera y comercial restringe el ingreso de sus productos a segmentos de mercado diferenciados y con mayor valor agregado (Barrera *et al.*, 2014).

El mercado internacional de vainilla impone a los productores nuevas y estrictas reglamentaciones de calidad e inocuidad que deben acatar a fin de ser competitivos. En este contexto surge el concepto de asociatividad definido como el proceso de agrupamiento voluntario de individuos u organizaciones que trabajan en forma coordinada para alcanzar sus objetivos y metas en común. Se busca el uso más efectivo de los factores de producción, hacer más eficiente los procesos administrativos, financieros, y comerciales que se traducen en mayores ingresos para la organización (Linares *et al.*, 2014; Amézaga *et al.* 2013). La asociatividad es junto con la gestión, la articulación comercial, gestión de la calidad y financiamiento un eje transversal de la competitividad, y todos son medios para lograr la inserción competitiva de pequeños productores agropecuarios a los mercados e impulsar el desarrollo económico y social de la comunidad rural (Amézaga *et al.* 2013; Riveros *et al.*, 2011). Con base en lo anterior, se identificaron los factores estructurales que definen la asociatividad de organizaciones económicas rurales de vainilla (OER), para diseñar y calcular su índice de asociatividad, y estimar el impacto en la rentabilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mediante la metodología de estudios de caso (Castro, 2010) se analizó a cuatro organizaciones locales de productores de vainilla a fin de identificar los factores estructurales que determinan su nivel de asociatividad y grado de incidencia en la rentabilidad de las mismas. Los instrumentos de recolecta de información fueron: talleres participativos y encuestas para la caracterización de las OER. Se aplicó una encuesta a 49 productores socios de cuatro organizaciones económicas rurales de vainilla. La encuesta se integró por una sección de datos generales para definir el perfil del productor; otra sobre la unidad de producción, información técnico-productiva de la plantación, sanidad, nutrición, costo de producción, comercialización e ingreso; una más sobre la organización, información sobre el nivel asociativo de los produc-

tores; y la última sobre la dinámica de innovaciones donde se identificaron las tecnologías adoptadas. Se seleccionaron cuatro organizaciones locales considerando su capacidad productiva, grado de desarrollo industrial, y cobertura comercial denominadas: Suame Titekijtok Tonnantzin SPR de R.L de C.V., ubicada en el municipio de Ayototxco de Guerrero, en la Sierra Nororiental de Puebla; Sociedad de Productores de Vainilla de Cachikin S.C. de R.L. de C.V., en la localidad de Cuyuxquihui en Papantla, Veracruz; Comité Estatal Sistema Producto ubicado en Matlapa, San Luis Potosí; así como, Sembradores de vainilla Fuente de Vida SPR de RL, localizado en Jalpilla, San Luis Potosí.

Para calcular el índice de asociatividad de las organizaciones de productores se definieron diez indicadores, cada uno se calculó con escalas diferentes, sin embargo, para fines de construir un índice se realizó una conversión asignándole un valor proporcional a cada indicador de diez por ciento (Cuadro 1).

Con la finalidad de diagnosticar el nivel de interacción entre los socios de cada organización se realizó un análisis de redes con el uso de UNICENT 6.0 (Borgatti *et al.*, 2002). Se calculó el indicador de densidad, que es el porcentaje de relaciones existentes entre las posibles Ecuación [1]. La densidad (D) se calculó de acuerdo a:

$$D = \frac{2l}{n(n-1)} * 100 \quad [1]$$

Dónde, (l): número de relaciones existentes entre $n(n-1)$: número de relaciones posibles. Un valor de 100% de densidad indicaría que la

Cuadro 1. Indicadores para el cálculo del índice de asociatividad de las OER de vainilla.

Indicador	Escala	Valor (%)	Descripción
Grado de densidad	1-100	10	Número de relaciones existente en un grupo entre las posibles. Expresa el grado de interacción entre los actores, y por lo tanto el flujo de información (Borgatti <i>et al.</i> , 2002).
Nivel de confianza entre socios	1-10	10	Valoración de los socios sobre el nivel de confianza hacia su organización en una escala de 1 a 10.
Aplicación de principios cooperativos	1-3	10	Auto-responsabilidad (asociación abierta-voluntaria-consciente), democracia, igualdad, equidad y honestidad (honradez), la transparencia, solidaridad y vocación social responsabilidad (social mutua), participación de los socios (Linares <i>et al.</i> , 2014); autonomía e independencia, formación e información (Pedrosa y Hernández, 2011).
Estructura gerencial y administrativa	1-3	10	Existe y se ejercen los cargos administrativos dentro de la organización; existe distribución de obligaciones; se cuenta con misión y visión empresarial establecidas; existe un reglamento interno; se realizan informes de actividades de la organización; se cuenta con una adecuada contabilidad (Mazariegos-Sánchez <i>et al.</i> , 2014).
Sistema de rendición de cuentas y transparencia	1-3	10	La comunicación es continua y suficiente entre integrantes de la empresa sobre planes, programas, acciones, resultados y perspectivas de la organización. Transparencia en el manejo de recursos y democracia en la toma de decisiones y acciones (SAGARPA, 2012; Camacho y Zambrano, 2007).
Capacidad de gestión de apoyos	1-3	10	La organización ingresa proyectos para gestionar apoyos a dependencias de gobierno; los socios elaboran los proyectos productivos (Pérez-Hernández, 2014); contratan técnicos para elaboración de propuestas; los socios conocen las ROP, y el mecanismos para ingresar las propuestas a las ventanillas de gestión gubernamental.
Beneficios	0-3	10	Gestionar apoyos, mejorar su precio, disminuir costos, ingresar a mejores mercados, poder acceder a apoyos de capacitación y asistencia técnica; agregar valor a su producto, otros (Machado, 2000; Moyano, 2006; Pérez-Hernández, 2014).
Vinculación con otros actores	1-3	10	Existe vinculación con Instituciones de Educación Superior (IES) y centros de investigación; existe vinculación con el sector privado, y existe vinculación con técnicos y extensionistas (Pedrosa y Hernández, 2011; Ministerio de Agricultura y Riego, Alianza de Aprendizaje Perú, 2014).
Adopción de innovaciones	1-100	10	Índice de adopción de innovación (Muñoz <i>et al.</i> , 2007).
Participación de socios	1-3	10	Existen aportaciones económicas de parte de los socios, en especie, mano de obra y participación en eventos, actividades, etcetera (Pedrosa y Hernández, 2011).

red está completamente articulada y existe un flujo de información óptimo entre los actores que la integran.

Para el indicador de confianza se consideró la valoración que cada socio realizó de su respectiva organización la escala fue de 1 a 10. Los indicadores aplicación de principios asociativos, estructura gerencial y administrativa, rendición de cuentas y transparencia, capacidad de gestión de apoyos, vinculación con otros actores complementadores y participación de los socios se calcularon mediante la valoración de cada variable definida (Cuadro 1) utilizando la escala de likert (Hair *et al.*, 2004) con la siguiente valoración: 1=No se aplica; 2=se aplica medianamente; 3=Se aplica.

El indicador de beneficios de los socios se definió con base en un listado de siete beneficios y los productores indicaron aquellos que recibieron (Cuadro 1). Se determinaron las categorías y valoraciones: 0=no hay benefi-

cios, 1=pocos beneficios (1 a 2), 2=buenos beneficios (3 a 4), 3=excelentes beneficios (más de 5).

La información sobre el uso (adopción) de innovaciones se obtuvo mediante las encuestas, y se calculó el índice de adopción de innovaciones (INAI), que expresa que innovaciones realiza cada productor dentro del total de innovaciones, utilizando la Ecuación [2] (Muñoz *et al.*, 2007):

$$INAI = \sum_{i=1}^j \left[\frac{\text{Innovaciones realizadas por el productor } i}{\text{Máximo número de innovaciones por los productores } j} \right] * 100$$

[2]

Dónde: *i*: Innovaciones realizadas por productor; *j*: Máximo número de innovaciones adoptadas por el productor.

Se identificaron 11 actividades técnicas que el productor realiza como innovaciones para lograr mayor rendimiento en campo, tales como, 1) selección de esquejes sanos con yemas viables; 2) esquejes vigorosos que tengan un 1 cm de diámetro y 80-120 cm de largo; 3) desinfección de esquejes previo a la siembra; a) aplicación de materia orgánica (residuos de madera y material vegetal descompuesta) para favorecer el desarrollo de micorrizas; 5) control de maleza; 6) regulación de luz mediante poda del tutor en la época húmeda; 7) encauzamiento de guías para promover floración y emisión de brotes vegetativos; 8) enraizamiento (dar pie) para mantener a la planta mejor nutrida y adquirir mayor tolerancia contra el fusarium (*Fusarium* sp.); 9) poda de esqueje para el saneamiento de plantas; 10) construir drenes en terreno que se inundan; 11) cosechar en racimo para evitar deshidratación (Hernández, 2010; Barrera et al., 2009).

El cálculo de rentabilidad se estimó en función de la relación beneficios-costo a nivel de organización en la etapa de producción de vainilla verde (frutos); y una vez calculados los indicadores, mediante la correlación Pearson en el programa de MINITAB®, se identificaron las variables que registraron mayor correlación ($P > 0.700$) (Hair, et al., 2004). Posteriormente, se generó un modelo de regresión múltiple con base en beneficio-costo como variable dependiente, y como independientes, a los indicadores con mayor correlación, tales como, confianza y participación de los socios Ecuación [3].

$$Y = X_1 + X_2 \quad [3]$$

Dónde: Y: relación beneficio-costo, X_1 : confianza, X_2 : participación de los socios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A raíz de la prosperidad de los precios de la vainilla en 2003, se incrementó la creación de organizaciones de productores, su objetivo inicial fue mejorar la capacidad de negociación frente a las casas de beneficio en torno a precios, y dotarse de infraestructura para el procesamiento de frutos beneficiados y transitar hacia el segundo eslabón de la cadena productiva. Sin embargo, la caída de los precios internacionales, la falta de competitividad de las unidades de producción, el limitado tamaño del mercado doméstico, y los exigentes canales de comercialización en términos de certificación

han provocado el abandono del cultivo por la baja rentabilidad registrada (Barrera et al., 2014). Prevalece en el contexto de las OER un bajo nivel de asociatividad, falta de estructuras administrativas, gerenciales y organizacionales, escasas fuentes de financiamiento; falta de liquidez financiera; limitada base de proveeduría; canales de comercialización poco dinámicos y restringido acceso a información de mercado. Todos ellos son problemas estructurales, por lo que resulta necesario que las políticas públicas e instituciones promuevan un modelo de asociatividad empresarial en las OER de vainilla.

La asociatividad medida con base en los diez indicadores (con un valor proporcional de 10%) mostró bajos valores. La organización OE₃ registró un índice de 57.1% mientras que las organizaciones OE₁, OE₄, y OE₂ tuvieron valores de 52.9%, 46.3% y 39.9% respectivamente. La OE₃ registró un indicador de confianza de 85% y los indicadores de aplicación de principios cooperativos, estructural gerencial, rendición de cuentas, beneficios y vinculación con un valor de 66.7% cada uno (Figura 1). Los socios manifiestan tener un mayor nivel de confianza, destacando que la organización está integrada por 32 grupos de productores, quienes cuentan con representatividad y tienen una injerencia en la toma de decisiones. La OE₁ registró en los indicadores de confianza y adopción de innovaciones valores de 72% y 71.6% respectivamente (Figura 1). Este último se explica por su vinculación con instituciones académicas, y capacidad de gestión de

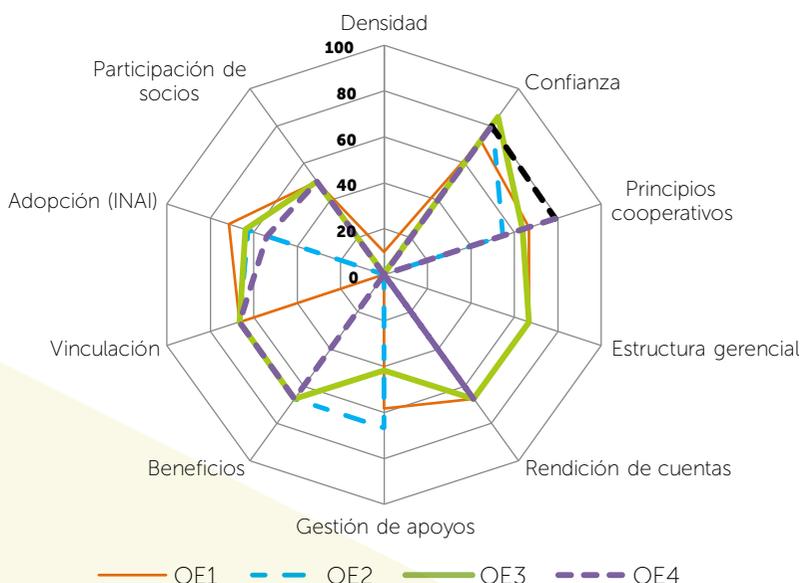


Figura 1. Indicadores del índice de asociatividad de las Organizaciones Económicas Rurales de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews). Fuente: Elaboración propia, 2015.

apoyos ante dependencias de gobierno.

La OE₄ registró en el indicador de aplicación de principios cooperativos 78.8%, y en el indicador de confianza 80% (Figura 1), lo cual indica que los socios tienen credibilidad en la organización, sin embargo, no se han tenido los beneficios esperados, dado que se tiene baja capacidad para gestionar apoyos y escasa vinculación con instituciones académicas y de investigación. Finalmente la OE₂ obtuvo 81% en el indicador de confianza, y el resto de los indicadores correspondientes a rendición de cuentas y participación de socios registraron 66.7% (Figura 1).

El indicador de densidad registró los valores más bajos, la OE₁ registró 10% mientras que las otras organizaciones mostraron valores menores a 1. Lo anterior significa que no existe una interrelación entre los socios, por tanto el flujo de información y conocimiento es muy limitado. El indicador de adopción de innovación (INAI) fue bajo, sólo la OE₁ registró

un INAI de 71.6%, mientras que las OE₃, OE₂ y OE₄ registraron 63.9%, 62.7% y 54% respectivamente (Figura 1). Se ha identificado que la permanencia de las organizaciones en parte responden a la participación de los agentes complementadores (instituciones gubernamentales, académicas, científicas, sector privado) que mediante la trasferencias de recursos, tecnologías e inducción de innovaciones, así como, valor agregado han contribuido a mejorar las condiciones técnicas para la producción, industria y comercio de las organizaciones (Barrera et al., 2014). El indicador de aportación de los socios registró 50%, lo cual indica que los socios no ejercen un compromiso real con la organización y esperan que sea financiada mayormente con recursos externos, más no con aportaciones económicas propias de la actividad que desarrollan. De acuerdo con Linares et al. (2014), los aportes tanto económicos como de otro tipo, son determinantes en el éxito de las cooperativas agrarias y organizaciones económicas.

Los socios de las organizaciones OE₃ y OE₄ registraron rentabilidad elevada en la producción de vainilla verde con una relación beneficio costo de 2.37 y 1.76 respectivamente, derivado de su rendimiento y precio recibido por kilogramo de vainilla en el ciclo 2014. Cabe destacar que los productores de dichas organizaciones han obtenido capacitación y asistencia técnica a través de programas gubernamentales, mediante los cuales adoptaron tecnologías que indujeron innovaciones; mientras que la organización OE₁ registró baja rentabilidad (1.05), y la OE₂ no registró rentabilidad para los socios (0.96), debido a bajo rendimiento de vainilla y costo de producción, lo cual no pudo ser compensado con el precio de venta recibido. El análisis de correlación señala que los indicadores más relacionados fueron la confianza, mientras que para los indicadores de beneficios, la vinculación con actores complementadores, y la relación beneficio-costos; así como, la adopción y densidad; beneficios y vinculación; y participación y la relación beneficio-costos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Correlación de indicadores de asociatividad de organizaciones de productores de *Vanilla planifolia* Jakcs ex Andrews.

Indicador	Densidad	Confianza	Estructura gerencial	Gestión de apoyo	Beneficios	Vinculación	Participación
Confianza	-0.726						
P-value	0.274						
Gestión apoyos			-0.853				
P-value			0.147				
Beneficios	-0.810	0.918*					
P-value	0.190	0.082					
Vinculación	-0.810	0.918*			1.000*		
P-value	0.149	0.082					
Adopción	0.950*			0.562	-0.790	-0.790	
P-value	0.050			0.438	0.210	0.210	
Participación			0.522	-0.816			
P-value			0.478	0.184			
Beneficio-Costo	-0.732	0.692*			0.489	0.489	0.579*
P-value	0.268	0.308			0.511	0.511	0.421

Nota: Variables con una mayor correlación. Fuente: Elaboración propias, con base en datos de campo 2014-2015.

La construcción de confianza en la empresa es un proceso gradual que se desarrolla conforme se observan las ventajas económicas que derivan del actuar de manera conjunta (Amézaga *et al.*, 2013). Un componente importante de la asociatividad es la capacidad de establecer y gestionar una red de contactos institucionales que facilite acceder a fuentes de financiamiento; asistencia técnica, capacitación, capacidad de innovar en productos y proceso de producción, comercialización y profesionalización de los recursos humanos (Amézaga *et al.*, 2013; Riveros *et al.*, 2011). Mientras que los indicadores con una correlación negativa mayor fueron: densidad y los indicadores de beneficios, vinculación, y beneficio-costo; gestión de apoyos y estructura gerencial y participación de los socios. Sin embargo, la participación activa y protagónica de los asociados en las decisiones de las cooperativas en las asambleas tienen una determinante influencia en la gestión, desarrollo y crecimiento económico y social de estas organizaciones. De acuerdo con Linares *et al.* (2014) la estructura de la organización y su funcionamiento son determinantes en el éxito de las organizaciones económicas. De acuerdo con Machado (2000) y Moyano (2006), las organizaciones facilitan la ejecución de proyectos; prestan servicios a sus miembros; suministran bienes públicos a través de apoyos gubernamentales y facilitan alianzas productivas entre actores.

El impacto de la asociatividad en el desarrollo competitivo

El rol de las organizaciones de productores es ser un medio para enfrentar las dificultades que presentan los pequeños productores y facilitar, mediante la acción colectiva, el acceso a mercados más exigentes y rentables, y se plantea que las funciones y actividades efectivas desempeñadas por las organizaciones contribuyen

a aumentar sus ingresos económicos (Rondot y Collion, 2001; Banco Mundial, 2003; Bernard y Spielman, 2009; Ramírez *et al.*, 2006).

El modelo de regresión múltiple registró que las variables independientes con mayor coeficiente de determinación R^2 (0.99) que inciden en la relación beneficio costo de las OER fueron: la confianza y la participación de los socios (Cuadro 3). De acuerdo con Gordon (2005) la confianza entre socios y el sentido de pertenencia permite el fortalecimiento del capital social y humano de los socios. Se ha señalado que quienes más confían en los otros tienden a participar más en la organización, esta confianza está determinada por el grado de respuesta a las necesidades de los socios (Amézaga *et al.*, 2013).

En la medida en que incrementa la confianza aumentará la participación de los socios dentro de la organización y ambas variables inciden positivamente en el ingreso del productor. La confianza es el sustento de las relaciones de reciprocidad en que se basa el capital social, de ahí el carácter que reviste como recurso del que se pueden obtener beneficios individuales (Gordon, 2005). La participación de los socios en diversas formas laborales, administrativas, logística y específicamente económicas representa también un elemento fundamental que es la constitución de los fondos cooperativos, los recursos patrimoniales, el capital de inversión necesario para su funcionamiento.

CONCLUSIONES

Las OER cuentan con estructuras internas asociativas endeble, que deben ser fortalecidas para hacer frente a cambios de mercado. Las organizaciones necesitan fortalecer principios cooperativos y asociativos, mejorar su gestión profesional, administrativa, y adquirir nuevas competencias. Es necesario desarrollar liderazgo y visión de futuro, así como, transparencia de actividades, mecanismos óptimos para la toma de decisiones y gestión recursos humanos y financieros. Se requiere fortalecer la gestión participativa con la capacidad para motivar y educar a los socios actuales y potenciales de la organización. Las condiciones actuales del mercado de vainilla son un incentivo para que los productores vean la asociatividad como estrategia de competitividad, sin embargo, requieren del acompañamiento de complementadores que les apoyen en el proceso de profesionalización de su estructura interna, de tal manera que se transformen en empresas rurales sólidas y autogestoras.

Cuadro 3. Modelo de regresión múltiple del indicador Beneficio-costo y los indicadores de confianza y participación de socios.

Indicador	Valor
Coefficiente de correlación múltiple	0.99738709
Coefficiente de determinación R^2	0.994781
R^2 ajustado	0.984343
Error típico	0.08280218
Observaciones	4
Intercepción	8.13562016
Variable $\times 1$	1.00348837
Variable $\times 2$	0.96736434

Fuente: Elaboración propia.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue apoyada por el Fondo Sectorial SAGARPA-CO-NACYT: 2012-04-190442. "Estrategia de investigación aplicada para el fortalecimiento, innovación y competitividad de la producción de vainilla en México (SP-13)"

LITERATURA CITADA

- Amézaga C., Rodríguez D. Nuñez M., Herrera D. 2013. Orientaciones estratégicas para el fortalecimiento de la gestión asociativa. IICA, San Salvador, El Salvador. Pp 98.
- Banco Mundial. 2003. Reaching the Rural Poor: A Renewed Strategy for Rural Development. Banco Mundial, Washington, DC. 174 p.
- Barrera R.A., Herrera C.E., Jaramillo V.J.L., Escobedo G.S., Bustamante G.A. 2009. Caracterización de los sistemas de producción de vainilla (*Vanilla planifolia* A.) bajo naranjo y en malla sombra en el Totonacapan. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10: 199-212.
- Barrera-Rodríguez A.I., Santoyo-Cortés V.H., Baca del Moral J., Altamirano Cárdenas J.R. 2014. Perspectives d'avenir et compétitivité des organisations de producteurs de vanille du Mexique. Cah Agric 23: 374-381.
- Bernard T., Spielman D.J. 2009. Reaching the rural poor through rural producer organizations? A study of agricultural marketing cooperatives in Ethiopia. Food Policy 34: 60-69
- Borgatti S.P., Everett M.G., Freeman L.C. 2002. UCINET 6 for Windows Software for Social Network Analysis. Harvard: Analytic Technologies.
- Camacho P., Marlin C., Zambrano C. 2007. Elementos orientadores para la gestión de Empresas Asociativas Rurales (EMARs). Plataforma RURALTER. Quito, Ecuador. 93 pp.
- Castro M.E. 2010. El estudio de casos como metodología de investigación y su importancia en la Dirección y administración de empresas. Revista Nacional de Administración. Julio-diciembre. 1 (2): 31-54.
- Gordon S.R. 2005. Confianza, capital social y desempeño de organizaciones. Revista Mexicana de Ciencias Políticas y Sociales. Universidad Nacional Autónoma de México vol. XLVII, núm. 193, enero-marzo. pp. 41-55.
- Hair J.F., Bush R., Ortinau D.J. 2004. Investigación de mercados. McGrawHill. Segunda Edición. p 420.
- Hernández H.J. 2010. Tecnología integral para la producción de vainilla en México, INIFAP.
- Linares M. E.H., Cañas J.A., Gómez-Limón J.A., Casanova Á. 2014. Análisis de los principios cooperativos en el éxito de las cooperativas agrarias en el estado Zulia. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 31. pp 290-312.
- Machado A. 2000. El papel de las organizaciones en el desarrollo rural. Red de bibliotecas virtuales de ciencias sociales de América Latina y el Caribe (CLACSO). Agosto. 11 p.
- Mazariegos-Sánchez A., Águila-González J.M. Martínez-Chávez J., Milla-Sánchez A.I. 2014. Planificación estratégica en una organización productora de café Orgánico y de comercio justo. Revista Agroproductividad. Noviembre-diciembre. Año 7 (7): 59-65.
- Ministerio de Agricultura y Riego, Alianza de Aprendizaje Perú. 2014. Guía para la promoción de la asociatividad empresarial rural para el acceso al mercado. Lima, Perú. 198 p.
- Moyano E. 2006. El asociacionismo en el sector agroalimentario y su contribución a la generación de capital social. Documentos de trabajo. Instituto de Estudios Sociales Avanzados. CSIC. 20 p.
- Muñoz R.M., Aguilar J., Altamirano J.R., Rendón M.R., Espejel A. 2007. Innovación-Motor de la competitividad agroalimentaria. Políticas y estrategias para que en México ocurra. CIESTAAM-UACH-Fundación Produce Michoacán. 310 pp.
- Pedrosa O.C., Hernández O. Ma.J. 2011. ¿Cómo aplican las sociedades cooperativas de éxito los principios cooperativos? El caso del Grupo Hojiblanca. CIRIEC-España, Revista de Economía Pública, Social y Cooperativa. Centre International de Recherches et d'Information sur l'Economie Publique, Sociale et Coopérative. No. 71. Octubre. pp 156-185.
- Pérez-Hernández L.M., Guajardo-Hernández L.G., Almeraya-Quintero S.X., Paredes-Romero J. Vázquez-López P., Méndez-Cortés V., Hidalgo-Reyes M. 2014. Asociatividad y participación de Organizaciones locales en el desarrollo rural territorial. Agroproductividad. Noviembre-diciembre Año 7 (7): pp. 40-46.
- Ramírez E., Pino R., Escobar G., Quiroz O., Ruiz R., Sarmiento L.D., Echeverría J.A. 2006. Experiencias de territorios rurales pobres y tradicionalmente marginados de América Latina y el Caribe que han tenido éxito en vincularse a mercados dinámicos. Grupo Chorlavi. RIMISP. 27 pp.
- Riveros H., Baquero M., Lucio-Paredes A., Andrade L., Demenus W., Jácome C., Jerez M. 2011. Enfoques de Asociatividad entre Actores del Sistema Productivo: Conceptos, Casos Reales y Metodologías. IICA y CONCOPE, Quito, Ecuador. Pág. 17.
- Rondot P., Collion M. 2001. Organizaciones de productores agrícolas: su contribución al fortalecimiento de las capacidades rurales y reducción de la pobreza. Banco Mundial. Departamento de Desarrollo Rural. 80 p.
- SAGARPA. 2012. Las organizaciones económicas del sector rural. Principios y Bases jurídicas. Dirección de Organización Rural. INCA/SAGARPA. 98 pp.



Suscripciones, ventas, publicidad,
contribuciones de autores:
Guerrero 9, esquina Avenida Hidalgo,
C.P. 56220, San Luis Huexotla,
Texcoco, Estado de México.

Teléfono: 01 (595) 928 4703
jocadena@colpos.mx; jocadena@gmail.com



AP
AGRO
PRODUCTIVIDAD

The logo consists of the letters 'AP' in a large, bold, maroon font. Below it, the word 'AGRO' is written in a smaller, bold, white font, and 'PRODUCTIVIDAD' is written in an even smaller, bold, white font. The background of the entire page is a blurred image of a large, circular, metallic object, possibly a turbine or a large wheel, with a central hub and a circular opening. The image is overlaid with a pattern of binary code (0s and 1s) in a light gray color, arranged in concentric circles and radial lines, creating a digital or technological aesthetic.