



## CAMBIOS MORFOMÉTRICOS DURANTE EL BENEFICIO TRADICIONAL DE LAS VAINAS DE VAINILLA (*Vanilla planifolia*; Orchidaceae) EN MÉXICO

### MORFOMETRIC CHANGES DURING THE TRADITIONAL CURING PROCESS OF VANILLA PODS (*Vanilla planifolia*; Orchidaceae) IN MEXICO

A.P. Tapia-Ochoategui<sup>1</sup>, B.H. Camacho-Díaz<sup>1,3</sup>, M.J. Perea-Flores<sup>1</sup>, I.M. Ordóñez-Ruiz<sup>2</sup>, G.F. Gutiérrez-López<sup>1</sup> y G. Dávila-Ortiz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. Carpio y Plan de Ayala s/n, Casco de Santo Tomás, Miguel Hidalgo, Cd. de México, 11340, México.

<sup>2</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, I.P.N. Barrio La Laguna, Ticomán s/n, Gustavo A. Madero, Cd. de México, 07340, México.

<sup>3</sup>Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, I.P.N. Carretera Yautepec-Jojutla, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos, México.

Recibido 17 de Octubre 2010; Aceptado 12 de Enero 2011

#### Resumen

En esta investigación se planteó medir los cambios en la microestructura de los tejidos de la vainilla durante el beneficio a través de parámetros morfométricos como el área (A), perímetro (P), diámetro de Feret (DF), factor de forma (FF) y compactación (C), empleando Análisis Digital de Imágenes (ADI) aplicado a micrografías de tejidos de vainilla obtenidas con un Microscopio Electrónico de Barrido Ambiental (MEBA). Los resultados obtenidos indicaron que, durante el beneficio existe una deformación estructural de la vaina y que es mayoritaria en el mesocarpio. Los valores de deformación cuantificados por el factor de forma y la compactación del mesocarpio, presentaron el mayor valor en las vainas con 10 ciclos de soleado-sudoración (10 SS), valor que correspondió con la máxima concentración de vainillina y la mínima pérdida en el contenido de humedad. Asimismo, esto sugirió que sería factible reducir de 20-25 ciclos de soleado-sudoración a 10 ciclos lo que impactaría en la eficiencia del beneficio.

**Palabras clave:** *Vanilla planifolia*, beneficio tradicional, microestructura, cambios morfométricos, MEBA.

#### Abstract

In this work, microstructural changes of the tissues of vanilla were evaluated during the curing, using an Environmental Scanning Electron Microscope (ESEM). The morphometric parameters: area (A), perimeter (P), shape factor (SF) and compactness (C) of each tissue (epicarp, mesocarp and vascular bundle) were quantified by Digital Image Analysis (DIA). Results indicated that curing induces structural disruptions of the vanilla tissues which is more pronounced in the mesocarp. Shape factor and compactness showed highest values in pods subjected to 10 cycles of sunning-sweating (10 SS) in which the highest concentration of vanillin and the lowest water looses were detected. It is possible to recommend a reduction of curing time from 20-25 SS cycles to 10.

**Keywords:** *Vanilla planifolia*, traditional curing, microstructure, morfometric changes, ESEM.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: gdavilao@yahoo.com  
Tel. (555) 729 6000, Ext. (62462), Fax (62463)

## 1 Introducción

La vainilla común pertenece a la familia de las orquídeas y recientemente ha sido clasificada dentro de una nueva subfamilia, Vanilloideae (Cameron, 2005); el género *Vanilla* abarca 110 especies de las cuales únicamente tres se cultivan: *Vanilla planifolia* Jackson ex Andrews; *Vanilla pompona* Schiede y *Vanilla tahitensis* J. W. Moore (Ramachandra y Ravishankar, 2000; Besse y col., 2004). La vainilla verde carece de sabor y aroma, por lo que es necesario un proceso artesanal (beneficio) para la formación de los compuestos volátiles responsables del aroma (Dignum y col., 2001; Dignum y col., 2002; Ruiz-Terán y col., 2001; Havkin-Frenkel y Frenkel, 2006; Pérez-Silva y col., 2006). El beneficio toma entre 3-6 meses, dependiendo de las regiones y de los países productores (Ramachandra y Ravishankar, 2000), la forma de hacerlo es diferente para cada región del mundo y de acuerdo con algunos investigadores (Odoux, 2000; Ramachandra y Ravishankar, 2000) se divide en cuatro etapas principales: marchitamiento, sudoración, secado y acondicionamiento. Algunas investigaciones han mostrado que la eficiencia en la hidrólisis de la glucovainillina en las vainas de vainilla está regulada por la *compartimentación* celular de los tejidos y que el nivel de actividad de la  $\beta$ -glucosidasa no es un factor limitante para una hidrólisis completa, de tal forma que si los tratamientos aplicados durante el marchitamiento y en las etapas consecutivas del beneficio permiten una *descompartimentación* total de los tejidos, con algo de actividad residual de la  $\beta$ -glucosidasa, entonces la hidrólisis de la glucovainillina sería completa (Odoux y col., 2006).

Por otra parte, algunos autores han enfocado su atención en estudiar el efecto de las condiciones de marchitamiento (inmersión de las vainas en agua caliente a 65 °C, congelación a -10 °C, o inmersiones en NaOH al 1% y etanol) en los cambios estructurales de las vainas de vainilla sometidas al beneficio tradicional en México (Mariezcurrena y col., 2008), sin embargo los cambios microestructurales observados en las vainas han sido analizados a nivel descriptivo y empleando técnicas histológicas en las que la manipulación del tejido no asegura su integridad. El ADI permite describir cuantitativamente el tamaño, la forma y los cambios microestructurales de tejidos vegetales analizados con diferentes tipos

de microscopía (Du y Su, 2004; Mendoza y col., 2007). El ADI aplicado a las micrografías, involucra cuatro pasos esenciales: 1) adquisición o captura, 2) tratamiento, 3) extracción de parámetros o rasgos y, 4) reconocimiento, clasificación e interpretación de las imágenes (Pedreschi y col., 2004; Fernández y col., 2005; Campos-Mendiola y col., 2007; Jiménez-Martínez y col., 2009). El ADI tiene la ventaja de ser una herramienta precisa capaz de generar datos cuantitativos de las formas y los cambios estructurales que ocurren en los tejidos por efecto de un tratamiento (Erasmus y Taylor, 2004). Dentro de todos los tipos de microscopios empleados para la captura de imágenes, el MEBA posee la ventaja de que la muestra puede ser observada en su estado nativo y no es necesario someterla a un pretratamiento para volverla conductora como en el caso del Microscopio Electrónico de Barrido (MEB); debido a estas ventajas, este tipo de microscopio puede ser empleado para el estudio microestructural y morfológico de sistemas biológicos como las vainas de vainilla que poseen un alto contenido de agua (Reyntjens y Kübel, 2005). El objetivo de este trabajo fue evaluar y analizar los cambios ocurridos en la microestructura de vainas de vainilla (*Vanilla planifolia*; Orchidaceae) cultivadas en Papantla de Olarte, Veracruz durante el beneficio tradicional en México mediante herramientas como MEBA y ADI.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Material biológico

Las muestras fueron colectadas en la región totonaca de Papantla de Olarte, Veracruz (20° 27' Latitud Norte y a 97° 19' Longitud Oeste). En diciembre de 2008 fueron colectadas vainas verdes maduras de vainilla (*Vanilla planifolia*; Orchidaceae) en estado *sazón* (nueve meses a partir de la polinización), y beneficiadas (*in situ*) de acuerdo al método tradicional en México. La longitud de las vainas verdes maduras fue de 18 a 20 cm, mostrando una coloración verde en la superficie y ligeramente amarilla en la punta (extremidad floral); además, el proceso de *dehiscencia* aún no comenzaba.

## 2.2 Beneficio en México

Las vainas verdes maduras fueron beneficiadas durante los meses de diciembre de 2008 a marzo de 2009 en el *Beneficio del Consejo Nacional de Productores Vainilleros, A. C.*, localizado en Papantla de Olarte, Veracruz. Esta organización de productores desde hace dos años utiliza el método tradicional para beneficiar vainilla cultivada en Veracruz y Puebla, cuya producción para el 2008 fue estimada en 11 ton (CONAVAI, 2008). En este trabajo fue empleado un lote de 40 kg de vainas verdes maduras previamente seleccionadas por tamaño, coloración de la superficie y edad fisiológica, “despezonadas” de forma manual y sumergidas en una paila con agua caliente a 97 °C durante 6-8 s (marchitamiento), las vainas aún calientes fueron envueltas en cobijas de lana y colocadas en un cajón de madera con capacidad para 50 kg durante 18-20 h (primer sudor). Después del primer sudor, las vainas fueron apartadas del cajón de madera, inmediatamente acomodadas sobre tendales (patios con piso de cemento cubiertos con petates de palma) y asoleadas durante la mañana (4-6 h aproximadamente); entre las doce y la una de la tarde y cuando las vainas aún se encontraban calientes (48-50 °C), fueron acopiadas manualmente, envueltas en cobijas de lana y depositadas en un cajón de madera, el cual de nuevo fue cubierto con petates de palma y rodeado con plástico para retener la temperatura alcanzada por efecto de la radiación solar; finalmente, el cajón y su contenido fueron colocados a temperatura ambiente (25 °C) durante 18-20 h (primer soleado y sudoración).

Con la temperatura y la humedad relativa que prevalecían en las instalaciones del beneficio (35-40 °C y 80-85 %), las actividades de soleados y sudoraciones fueron repetidas 20 veces, verificándose periódicamente la flexibilidad de las vainas beneficiadas hasta el momento en que mostraron una flexibilidad sensorial que aparentemente correspondió a una humedad de 20 %; a partir de este momento, fueron almacenadas en las bodegas del *Consejo Nacional de Productores Vainilleros, A. C.*, donde permanecieron por espacio de una semana colocadas sobre los espigueros (acondicionamiento).

## 2.3 Muestreo

Se seleccionaron 50 vainas para cada etapa del proceso de beneficio: vainas verdes maduras (V), marchitamiento y primer sudor (PS), diez ciclos de soleado-sudoración (10 SS), 20 ciclos de soleado-sudoración (20 SS) y una semana de acondicionamiento (AC). Las muestras que no se emplearon inmediatamente fueron empacadas en bolsas de polietileno de alta densidad con sello hermético y almacenadas en un ultracongelador a -70 °C.

## 2.4 Contenido de humedad

El contenido de humedad de las vainas verdes maduras y de las vainas provenientes de cada etapa del beneficio fue determinada por diferencia de peso en una estufa a 40 °C, de acuerdo al método 925.09 (AOAC, 2005).

## 2.5 Extracción y cuantificación de la vainillina

### 2.5-1 Extracción de la vainillina

La vainillina fue extraída de acuerdo al método 984.13 (AOAC, 2005) con algunas modificaciones las cuales consistieron en el empleo de tela de organza y papel filtro de la manera que se describe a continuación: las vainas fueron descongeladas y trituradas manualmente. Posteriormente los fragmentos fueron mezclados con agua destilada a una temperatura de 40 °C en una proporción 1:2 (p/v) y agitadas moderadamente en un baño de agua durante 12 h. Consecutivamente fueron adicionados 50 mL de etanol absoluto mezclando perfectamente y macerando durante 72 h. El homogeneizado fue filtrado a través de tela de organza de poro cerrado y papel filtro de poro fino, compactando firmemente los sólidos y lavando lentamente con una solución etanol-agua al 50 %, hasta un volumen de 100 mL.

### 2.5-2 Cuantificación de la vainillina

La cuantificación de vainillina fue realizada de acuerdo al método 966.12 (AOAC, 2005), para lo cual 10 mL de cada solución fueron colocados en matraces de 100 mL y aforados con agua destilada. De las soluciones anteriores, fueron tomados 2 mL y nuevamente aforados a 100 mL (solución neutra). La solución alcalina respectiva para cada muestra fue preparada a partir de

2 mL de muestra, 80 mL de agua, 2 mL de NaOH 0.1 N y nuevamente aforada a 100 mL con agua destilada. La absorbancia de las soluciones alcalinas fue obtenida a 348 nm, utilizando las soluciones neutras como blanco de ajuste. Las concentraciones de vainillina se reportaron por triplicado en porcentaje (g vainillina • 100 g<sup>-1</sup> muestra en base seca) ± D.E.

## 2.6 Microscopio electrónico de barrido ambiental (MEBA)

Con el objetivo de evaluar los cambios en la microestructura ocurridos en las vainas verdes maduras de vainilla durante el beneficio, se obtuvieron con un MEBA (XL30, Philips, USA) imágenes de cortes transversales de vainas congeladas provenientes de cada etapa del proceso; las vainas fueron cortadas manualmente con una navaja de bisturí en bloques de 5 mm de grosor, adheridas a una base metálica. Fueron capturadas tres imágenes para cada etapa del beneficio (V, PS, 10 SS, 20 SS, y AC) y de cada región estructural identificada (epicarpo, mesocarpo, y haces vasculares) fueron analizados 80 objetos. Las imágenes se almacenaron en formato TIFF con un tamaño de 484 x 712 pixeles y un tamaño de pixel de 1.16  $\mu\text{m}$ .

## 2.7 Determinación de los parámetros morfométricos de los tejidos de vainilla durante el beneficio

Con la finalidad de evaluar los cambios morfométricos ocurridos en las vainas de vainilla durante el beneficio, fue aplicado el ADI a las micrografías obtenidas con el MEBA mediante el programa ImageJ 1.34 (National Institute of Health, Bethesda, M.D., U.S.A.). Las imágenes capturadas fueron procesadas mediante el cambio a imágenes de 8 bits. Para segmentar los elementos de interés del resto de la micrografía, las imágenes en escala de grises fueron convertidas a imágenes binarizadas (blanco y negro) a través de la herramienta *Threshold* del programa ImageJ y nuevamente mediante este programa, fueron cuantificados los parámetros morfométricos: A, P y DF, en tanto que el FF y la C de los tejidos de cada región estructural fueron cuantificados mediante las ecuaciones:

$$FF = \frac{4\pi A}{P^2} \quad (1)$$

$$C = \frac{P^2}{A} \quad (2)$$

donde:

A = área del tejido

P = perímetro del tejido

## 2.8 Cálculo del encogimiento tisular

La relación entre las áreas y los espesores final e inicial de los objetos fue calculada según Guiné *y col.*, 2006; Pinto y Tobinaga, 2006; Khraisheh *y col.*, 2004; Hernández *y col.*, 2000, con la siguiente ecuación:

$$\text{Encogimiento} = \frac{A}{A_o} \quad (3)$$

$$\text{Encogimiento} = \frac{DF}{DF_o} \quad (4)$$

donde:

A = área del tejido después del beneficio

A<sub>o</sub> = área inicial del tejido

DF = diámetro de Feret del tejido después del beneficio

DF<sub>o</sub> = diámetro de Feret inicial del tejido

## 2.9 Análisis estadístico

Los datos de A, P, DF, FF y C de cada región estructural identificada (epicarpo, mesocarpo y haces vasculares) de las vainas de vainilla en cada etapa del beneficio fueron examinados mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA) empleando el programa Microsoft Office Excell 2007 (Sreedhar *y col.*, 2007).

## 3 Resultados y discusión

En la Fig. 1, se muestran las micrografías obtenidas con el MEBA de tres tejidos: epicarpo, haz vascular y mesocarpo de las vainas de vainilla verde y durante el beneficio, en ella se observó que la estructura de los tejidos de las vainas beneficiadas se encogió por el tratamiento térmico inicial (marchitamiento) y por la deshidratación que sufrieron durante los ciclos de soleado-sudoración. Este fenómeno ha sido observado en otros frutos sometidos a procesos de deshidratación (Santacruz-Vázquez *y col.*, 2008a; Prothon *y col.*, 2003).

De acuerdo con las imágenes segmentadas obtenidas a partir de las micrografías capturadas

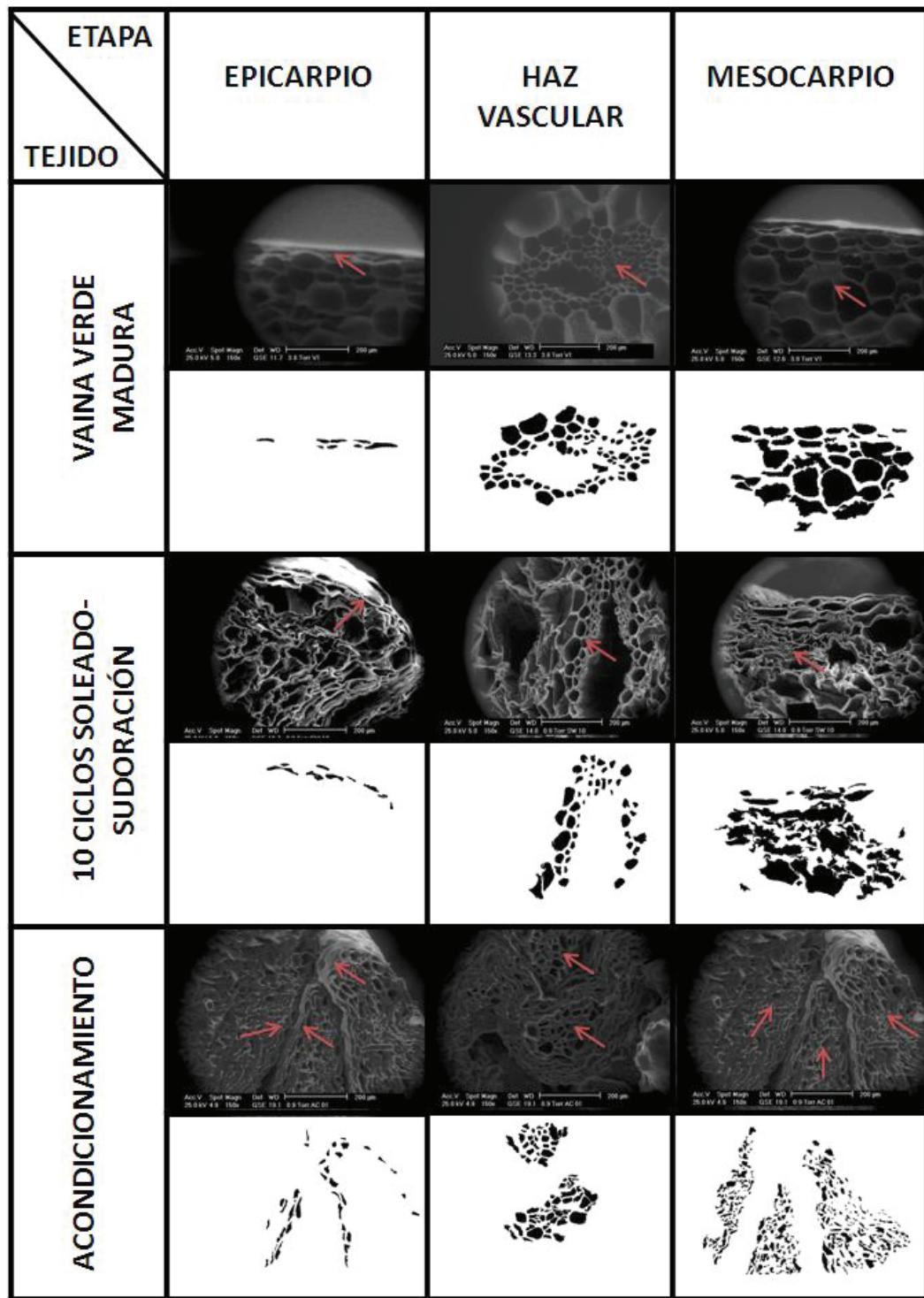


Fig. 1: Micrografías obtenidas con un MEBA de los tejidos del epicarpo, haz vascular y mesocarpo de las vainas de vainilla durante el beneficio. Escala de la barra 200  $\mu\text{m}$ . También se muestran las imágenes binarizadas correspondientes a cada tejido obtenidas con el programa ImageJ. Las flechas indican el tejido segmentado.

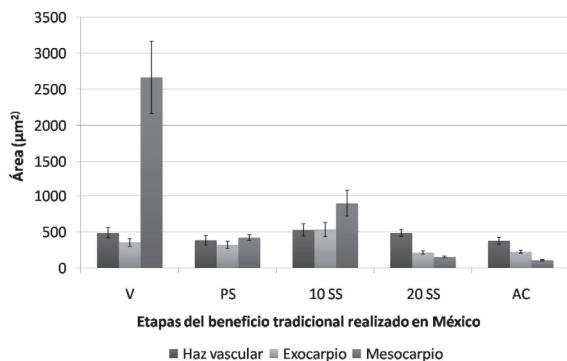


Fig. 2: Área ( $\mu\text{m}^2$ ) de los tejidos de las vainas de vainilla durante el beneficio.

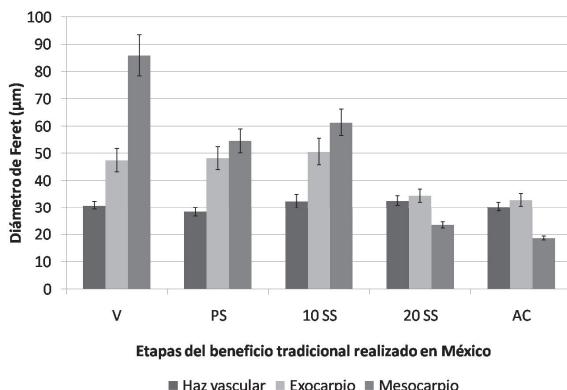


Fig. 3: Diámetro de Feret ( $\mu\text{m}$ ) de los tejidos de las vainas de vainilla durante el beneficio.

al MEBA y los datos mostrados en los gráficos de las figs. 2 y 3, durante el beneficio se evidenció el encogimiento en los tejidos del epicarpio y mesocarpio con la disminución significativa ( $p \leq 0.05$ ) en los valores de A y DF registrados para cada uno, sin embargo el mesocarpio fue el que mostró una mayor disminución y ésta fue significativa ( $p \leq 0.05$ ) en las etapas de marchitamiento y primer sudor; en tanto que, los tejidos de los haces vasculares no mostraron un encogimiento significativo ( $p \leq 0.05$ ) en cada etapa del beneficio. Ésto puede explicarse por la composición química y función de cada tipo de tejido, mientras que las células del mesocarpio presentan paredes delgadas y su función principal es acumular líquidos y sustancias de reserva, los haces vasculares se encargan del transporte de nutrientes y sustancias de desecho, por lo que se trata de células que presentan paredes gruesas y altamente lignificadas. Por lo que respecta a las células del epicarpio son células con forma plana y paredes celulares gruesas formadas por celulosa,

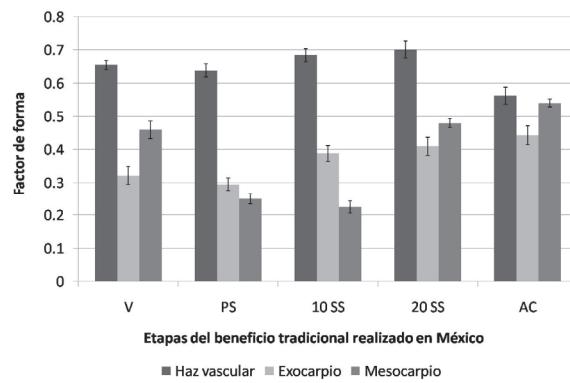


Fig. 4: Factor de forma de los tejidos de las vainas de vainilla durante el beneficio

hemicelulosa y sustancias pécticas (Odoux *y col.*, 2003).

Por otra parte, retomando el concepto de encogimiento (Rahman, 1997; Hernández *y col.*, 2000; Khraisheh *y col.*, 2004; Guiné *y col.*, 2006; Pinto y Tobinaga, 2006; Santacruz-Vázquez *y col.*, 2008b) y empleando los datos mostrados en las Figs. 2 y 3 correspondientes al A y al DF fue posible calcular el valor de encogimiento para cada tejido y en cada etapa del beneficio, empleando la relación entre el área final e inicial de los tejidos Ec. (3) y el diámetro final e inicial de los tejidos Ec. (4); a través de estas ecuaciones se observó que en el caso del área, durante el beneficio el tejido del mesocarpio fue el que presentó mayor encogimiento (0.04), seguido por el epicarpio (0.64) y finalmente el haz vascular (0.78) ya que la unidad (1.00) para este parámetro representaría un tejido sin encogimiento; en la Tabla 1 se muestran los valores de encogimiento de los tejidos del haz vascular, epicarpio y mesocarpio de la vainilla durante el beneficio.

De acuerdo con los datos mostrados en la Tabla 1, el encogimiento en el haz vascular fue por deformación del contorno de la célula y no por pérdida de tamaño, en el mesocarpio el encogimiento fue por la pérdida proporcional de tamaño, y en el epicarpio aunque también se debió a la pérdida proporcional de tamaño, se conservó la forma alargada de las células del tejido.

En la Fig. 4, se muestran los datos correspondientes al FF de los tejidos de las vainas de vainilla durante el beneficio. Los tejidos del epicarpio y mesocarpio mostraron diferencia significativa en el FF ( $p \leq 0.05$ ) en cada etapa, mientras que los tejidos de los haces vasculares no mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ )

Tabla 1. Encogimiento de los tejidos del haz vascular, epicarpio y mesocarpio de las vainas de vainilla durante el beneficio

Tejido	Parámetros morfométricos iniciales		Parámetros morfométricos después del beneficio		Encogimiento
Haz vascular	$A_0$	$488.53 \pm 67.41$	A	$379.31 \pm 49.30$	0.78
	$DF_0$	$30.77 \pm 1.51$	DF	$30.25 \pm 1.70$	0.98
Epicarpio	$A_0$	$354.61 \pm 51.98$	A	$227.39 \pm 22.77$	0.64
	$DF_0$	$47.48 \pm 4.23$	DF	$32.93 \pm 2.37$	0.69
Mesocarpio	$A_0$	$2663.64 \pm 42.34$	A	$108.84 \pm 7.81$	0.04
	$DF_0$	$85.92 \pm 7.58$	DF	$18.64 \pm 0.71$	0.22

Las áreas están expresadas en  $\mu\text{m}^2$  y los diámetros de Feret en  $\mu\text{m}$ .

Promedio de 80 objetos para cada tejido  $\pm$  D. E.

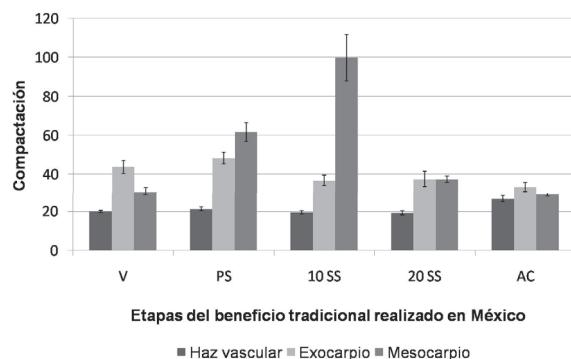


Fig. 5: Compactación de los tejidos de las vainas de vainilla durante el beneficio.

durante el beneficio. En la Fig. 4 se observa que las células de los tejidos de los haces vasculares conservaron la forma en cada etapa del proceso con valores de FF que fluctuaron entre (0.55 y 0.70). El FF es una medida de qué tanto se aproxima la forma de un objeto a la de un círculo perfecto. Un FF de uno corresponde a una partícula circular, en tanto que un valor menor a uno indica una partícula con forma irregular. Los valores de deformación cuantificados por el FF del mesocarpio podrían estar relacionado con la turgencia de la célula, la cual fue mayor en los tejidos de las vainas verdes maduras con valores significativamente más elevados ( $p \leq 0.05$ ) para el FF y, a medida que transcurrió el proceso de beneficio, las células fueron perdiendo la turgencia por efecto del marchitamiento y los ciclos de soleado-sudoración, lo que se vio reflejado en una mayor irregularidad de las vainas con 10 ciclos de soleado-sudoración (10 SS).

En la Fig. 5, se muestran los datos

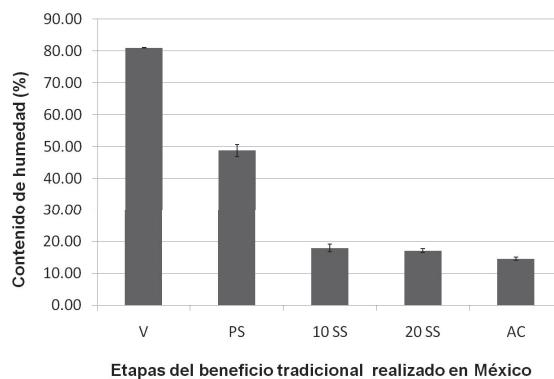


Fig. 6: Contenido de humedad (%) de las vainas de vainilla durante el beneficio.

correspondientes a la compactación que sufrieron los tejidos de las vainas de vainilla durante el beneficio. La compactación es una medida de la forma de un objeto que cuando tiende a ser la de un círculo, toma un valor de 12.56 o  $(4\pi)$ . Cualquier valor que se aleje de 12.56 al infinito positivo, indica que el objeto en cuestión tiende a ser ramificado. En los datos mostrados en la Fig. 5, se observa que aunque a los diez ciclos de soleado-sudoración (10 SS), se presenta un mínimo en el valor de compactación en las células de los tres tipos de tejido, este valor es significativamente más bajo ( $p \leq 0.05$ ) para las células que describen la compactación que sufre el mesocarpio, lo que indica que las células se deformaron.

El contenido de humedad de las vainas de vainilla se determinó por diferencia de peso en una estufa a 40 °C de acuerdo al método 925.09 (AOAC, 2005). La metodología seguida se apoya en trabajos previos descritos en la literatura

(Odoux, 2000; Odoux *y col.*, 2000; Odoux *y col.*, 2006; Sreedhar *y col.*, 2007; Kumar *y col.*, 2010; Perera y Owen, 2010) realizados por diferentes autores. En la Fig. 6, se muestra el valor promedio de la humedad inicial de las vainas verdes maduras (V) antes de someterlas al beneficio así como la humedad de las vainas en cada etapa del proceso. De acuerdo con los datos mostrados en el gráfico, al finalizar el marchitamiento y primer sudor (PS) se presentó una importante disminución en la humedad del sólido respecto a la humedad inicial de las vainas verdes ( $81.02 \pm 0.09$  a  $48.80 \pm 1.85$  %), durante los diez ciclos de soleado-sudoración (10 SS) el contenido de humedad disminuyó nuevamente a  $17.96 \pm 1.13$  %, posterior a esta etapa la pérdida de humedad en las vainas de vainilla fue mínima ( $17.10 \pm 0.63$  y  $14.55 \pm 0.47$  %) a los veinte ciclos de soleado-sudoración (20 SS) y durante la semana de acondicionamiento (AC) respectivamente.

Odoux *y col.* (2003), mencionaron que el mesocarpo representa más del 60 % del volumen en la región pseudoprismática de la vaina, además de tratarse de tejido parenquimático de tipo fotosintético, con pared celular poco significada que posee abundantes vacuolas, por lo que este tipo de tejido es susceptible a experimentar cambios microestructurales debidos a la pérdida del agua proveniente de los compartimentos vacuolares y en menor proporción del citoplasma (Hills y Remigereau, 1997). De acuerdo con los datos anteriores, se observó que aunque el beneficio aplicado a las vainas tiene como finalidad promover las características organolépticas deseables en la vainilla (liberación de aromas, brillo, coloración oscura, modificaciones en la textura) y que no se trata de un proceso de secado como tal, lleva intrínseca la pérdida de agua que repercute en el encogimiento del tejido y cambios en la microestructura.

En la Tabla 2 se muestra el contenido de vainillina en cada etapa del beneficio, si bien la vainillina incrementó en las primeras etapas del proceso, a los 10 ciclos de soleado-sudoración alcanzó la mayor concentración ( $4.52 \pm 0.21$  % bs) para luego disminuir de manera gradual.

Según la Norma (NMX-FF074-1996-SCF), la calidad aromática de la vainilla en México está en función del contenido de humedad y la concentración de vainillina y mediante esta investigación se obtuvo que la tendencia de los parámetros morfométricos que caracterizan a la

Tabla 2. Contenido de vainillina (% base seca) en las vainas de vainilla durante el beneficio

Etapa de beneficio	Vainillina (% bs) <sup>a</sup>
V	$0.92 \pm 0.01$
PS	$1.20 \pm 0.03$
10 SS	$4.52 \pm 0.21$
20 SS	$3.15 \pm 0.02$
AC	$3.02 \pm 0.03$

<sup>a</sup>Expresado en base seca (g vainillina • $100$  g<sup>-1</sup> muestra).

Promedio de tres repeticiones  $\pm$  D. E.

deformación de los tejidos correspondió con la máxima concentración de vainillina y un contenido de humedad prácticamente constante a partir de los diez ciclos de soleado-sudoración (10 SS), lo que distinguió a esta etapa como un punto crítico del proceso, por lo tanto puede sugerirse acortar a 10 ciclos de soleado-sudoración el proceso que tradicionalmente involucra entre 20 y 25 ciclos. Esta reducción en el tiempo del beneficio tradicional de la vainilla mexicana puede tener un impacto económico relevante.

## Conclusiones

Los cambios en la microestructura de las vainas de vainilla a nivel de tres tejidos (epicarpo, haz vascular y mesocarpo) por efecto del beneficio, fueron referidos de manera específica y cuantitativa para cada tejido a diferencia de cómo han sido previamente descritos en otros trabajos. Los resultados obtenidos indicaron que durante el beneficio existe una deformación estructural de la vaina y que de acuerdo con los datos proporcionados por el área y el diámetro de Feret el encogimiento de los tejidos fue evidente y mayoritario en el mesocarpo. Los valores de deformación cuantificados por el factor de forma y la compactación del mesocarpo, presentaron el mayor valor de irregularidad en vainas con 10 ciclos de soleado-sudoración ( $17.96 \pm 1.13$  % humedad), valor que correspondió con la máxima concentración de vainillina ( $4.52 \pm 0.21$  % bs). Esto último sugiere que sería factible reducir el número de ciclos de soleado-sudoración lo que impactaría en la eficiencia del beneficio.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Productores Vainilleros, A. C. (CONAVAI) de Papantla de Olarte, Veracruz. Al Dr. Terres-Rojas, E. y al Dr. Garibay-Febles, V. del Laboratorio de Microscopía Electrónica de Ultra Alta Resolución del IMP. A Chanona-Pérez, J. J. del DGIA-IPN. Al Conacyt y la SIP-IPN por los apoyos económicos otorgados.

## Referencias

- AOAC (2005). *Methods of Analysis* (18<sup>th</sup> ed.). Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C.
- Arana, F. E. (1943). Action of  $\beta$ -Glucosidase in the vanilla curing. *Food Research* 8, 343-351.
- Besse, P., Da Silva, D., Bory, S., Grisoni, M., Le Bellec, F. y Duval, M. F. (2004). RAPD genetic diversity in cultivated vanilla: *Vanilla planifolia*, and relationships with *V. Tahitensis* and *V. pompona*. *Plant Science* 167, 379-385.
- Cameron, K. M. (2005). Recent advances in the systematic biology of vanilla and related orchids (Orchidaceae: subfamily Vanilloideae). En: *Vanilla*, (D. Havkin-Frenkel, ed.), Pp. 89-93. Allured Publishing, Illinois.
- Campos-Mendiola, R., Hernández-Sánchez, H., Chanona-Pérez, J. J., Alamilla-Beltrán, L., Jiménez-Aparicio, A., Fito, P. y Gutiérrez-López, G. F. (2007). Non-isotropic shrinkage and interfaces during convective drying of potato slabs within the frame of the systematic approach to food engineering systems (SAFES) methodology. *Journal of Food Engineering* 83, 285-292.
- Dignum, M. J. W., Kerler, J. y Verpoorter, R. (2001).  $\beta$ -Glucosidase and peroxidase stability in crude enzyme extracts from green beans of *Vanilla planifolia* Andrews. *Phytochemical Analysis* 12, 174-179.
- Dignum, M. J. W., Kerler, J. y Verpoorter, R. (2002). Vanilla curing under laboratory conditions. *Food Chemistry* 79, 165-171.
- Du, C. y Sun, D. (2004). Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. *Trends in Food Science and Technology* 15, 230-249.
- Erasmus, C. y Taylor, J. N. R. (2004). Optimising the determination of maize endosperm vitreousness by a rapid non-destructive image analysis technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 920-930.
- Fernández, L., Castillero, C. y Aguilera, J. M. (2005). An application of image analysis to dehydration of apple discs. *Journal of Food Engineering* 67, 185-193.
- Guiné, R.P.F., Ramos, M.A. y Figueiredo, M. (2006). Shrinkage characteristics and porosity of pears during drying. *Drying Technology* 24, 1525-1530.
- Havkin-Frenkel, D. y Frenkel, C. (2006). Postharvest handling and storage of vanilla beans. *Stewart Postharvest Review* 4, 6.
- Hernández, J.A., Pavón, G. y García, M.A. (2000). Analytical solution of mass transfer equation considering shrinkage for modeling food-drying kinetics. *Journal of Food Engineering* 45, 1-10.
- Hills, B. y Remigereau, B. (1997). NMR studies of changes in subcellular water compartmentation in parenchyma apple tissue during drying and freezing. *International Journal of Food Science and Technology* 32, 51-61.
- Jiménez-Martínez, C., Campos-Mendiola, R., Sánchez-Espíndola, M. E., Jiménez-Aparicio, A., Gutiérrez-López, G. F. y Dávila-Ortiz, G. (2009). Microstructural changes in *Lupinus campestris* seed in response to three thermal debittering treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89, 2399-2404.
- Khraisheh, M. A., McMinn, W.A. y Magee, T.R. (2004). Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying. *Food Research International* 37, 347-503.

- Kumar, K. K., Ananthakumar, A. A., Ahmad, R., Adhikari, S., Variyar, P. S. y Sharma, A. (2010). Effect of gamma-radiation on major aroma compounds and vanillin glucoside of cured vanilla beans (*Vanilla planifolia*). *Food Chemistry* 122, 841-845.
- Mariezcurrera, M. D., Zavaleta, H. A., Waliszewski, K. N. y Sánchez, V. The effect of killing conditions on the structural changes in vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) pods during the curing process. (2008). *International Journal of Food Science and Technology* 43, 1452-1457.
- Mendoza, F., Dejmek, P. y Aguilera, J. (2007). Colour and image texture analysis in classification of commercial potato chips. *Food Research International* 40, 1146-1154.
- NMX-FF-074-1996. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - Especias y condimentos - Entera y en estado seco - Vainilla (*Vanilla fragans* Salisbury Ames o *Vanilla planifolia* Andrews) - Especificaciones.
- Odoux, E. (2000). Changes in vanillin and glucovanillin concentrations during the various stages of the process traditionally used for curing *Vanilla fragans* beans in Réunion. *Fruits* 55, 119-125.
- Odoux, E., Languille, S., Leblé, J. P., Lombard, A. (2000). The effect of the nature of the soil amendments on the main aromatic compounds in *Vanilla fragans* beans. *Fruits* 55, 63-71.
- Odoux, E., Escoute, J., Verdeil, J. L., y Brillouet, J. M. (2003). Localization of  $\beta$ -D-glucosidase activity and glucovanillin in vanilla bean (*Vanilla planifolia* Andrews). *Annals of Botany* 92, 437-444.
- Odoux, E., Escoute, J. y Verdeil, J. L. (2006). The relation between glucovanillin,  $\beta$ -D-glucosidase activity and cellular compartmentation during the senescence, freezing and traditional curing of vanilla beans. *Annals of Applied Biology* 149, 43-52.
- Pedreschi, E., Mery, D., Mendoza, F. y Aguilera, J. M. (2004). Classification of potato chips using pattern recognition. *Journal of Food Science* 69, 264-270.
- Pérez-Silva, A., Odoux, E., Brat, P., Ribeyre, F., Rodríguez-Jimenes, G., Robles-Olvera, V., García-Alvarado, M. A. y Günata, Z. (2006). GC-MS and GC-olfatometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chemistry* 99, 728-735.
- Perera, C. O. y Owen, E. (2010). Effect of tissue disruption by different methods followed by incubation with hydrolizing enzymes on the production of vanillin from Tongan vanilla beans. *Food and Bioprocess Technology* 3, 49-54.
- Pinto, L. A. y Tobinga, S. (2006). Diffusive model with shrinkage in the thin-layer drying of fish muscles. *Drying Technology* 24, 509-516.
- Prothon, F., Ahrné, L., Sjöholm, I. (2003). Mechanism and prevention of plant tissue collapse during dehydration: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43, 447-479.
- Rahman, S. (1997). Physical meaning and interpretation of fractal dimensions of fine particles measured by different methods. *Journal of Food Engineering* 32, 447-456.
- Ramachandra, S. R. y Ravishankar, G.A. (2000). Review: Vanilla flavour: production by conventional and biotechnological routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 289-304.
- Reyntjens, S. y Kübel, C. (2005). Scanning/transmission electron microscopy and dual-beam sample preparations for the analysis of crystalline materials. *Journal of Crystal Growth* 275, 1849-1856.
- Ruiz-Terán, F., Pérez-Amador, I. y López-Munguia, A. (2001). Enzymatic extraction and transformation of glucovanillin to vanillin from vanilla green pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5207-5209.

Santacruz-Vázquez, V., Santacruz-Vázquez, C., Jaramillo-Flores, M.E., Farrera-Rebollo, R.R., Chanona-Pérez, J.J., Welti-Chanes, J. y Gutiérrez-López, G.F. (2008a). Usos de procesos de secado e impregnación para el desarrollo de alimentos funcionales: enriquecimiento de placas de manzana con  $\beta$ -caroteno. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 39, 12-17.

Santacruz-Vázquez, V., Santacruz-Vázquez, C., Welti-Chanes, J., Farrera-Rebollo, R.R., Chanona-Pérez, J. y Gutiérrez-López,

G.F. (2008b). Effects of air-drying on the shrinkage, surface temperatures and structural features of apples slabs by means of fractal analysis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 7, 1-9.

Sreedhar R. V., Roohie, K., Venkatachalam, L., Nayaran, M. S. y Bhagyalakshmi, N. (2007). Specific pretreatments reduce curing period of vanilla (*Vanilla planifolia*) beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 2947-2955.