

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

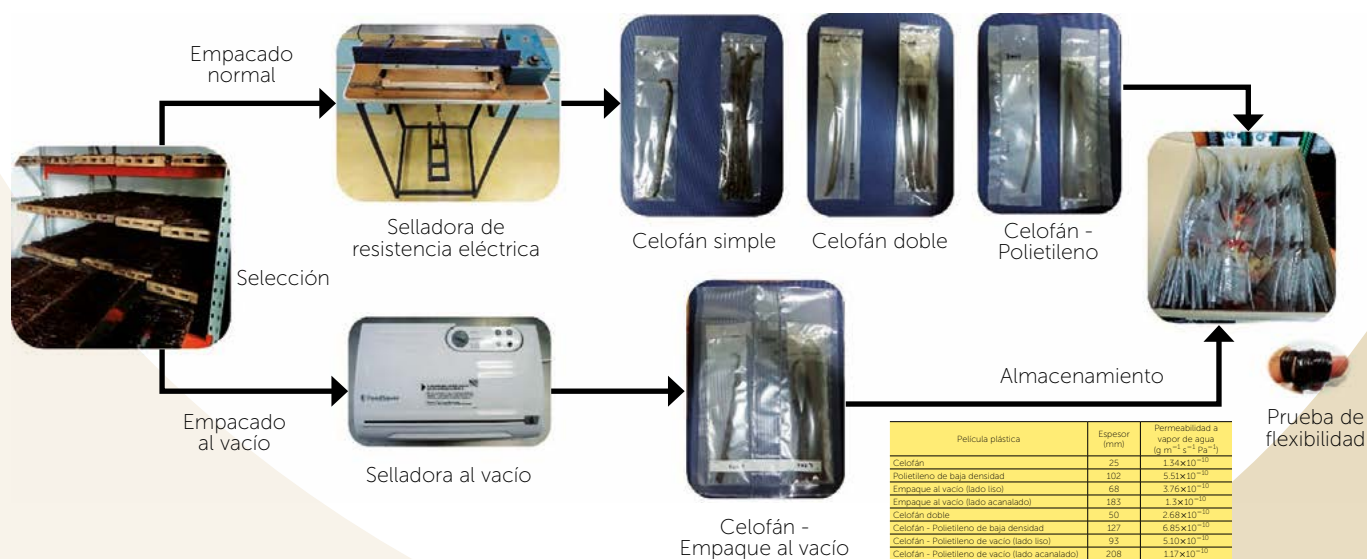


Figura 1. Proceso de empaque de frutos de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) y características de permeabilidad de las películas plásticas.

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 acetoni-trilo: 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

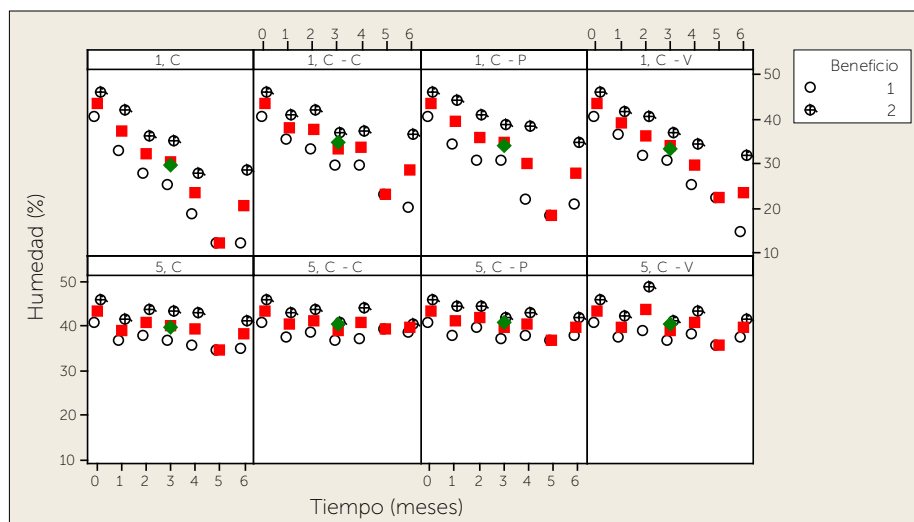


Figura 2. Multivariado para humedad, para factores beneficio, empaque, tiempo y número de frutos por empaque de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. C: Celofán, CC: Celofán doble, CP: Celofán-Polietileno, CV: Celofán-Vacío.

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 (Pardio *et al.*, 2009). El comportamiento del 4-hidroxibenzaldehído es muy similar al de la vainillina,

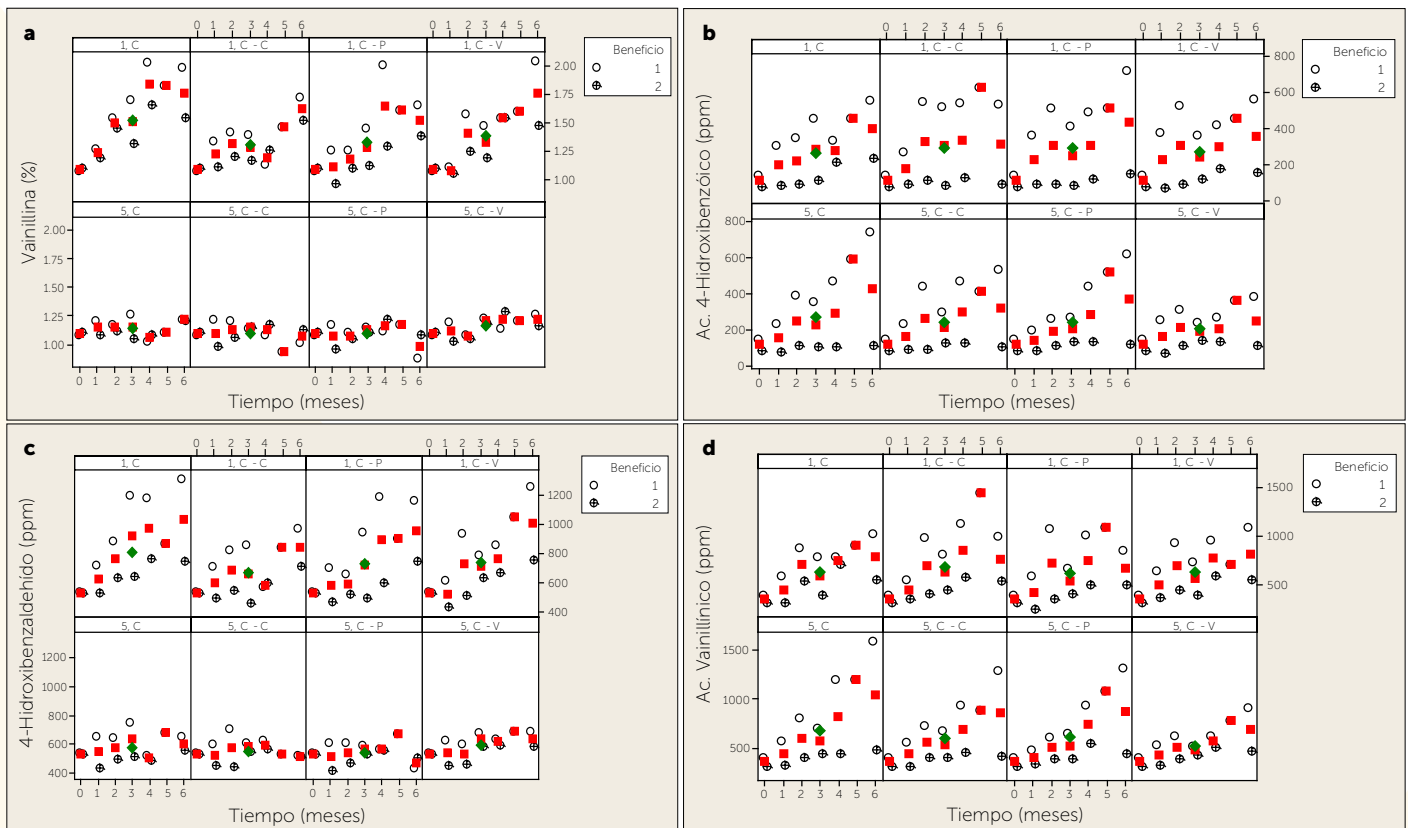


Figura 3. Gráficas multivariadas para los cuatro compuestos fenólicos principales de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) para los factores: beneficio, empaque, tiempo y número de vainas por empaque. (C: Celofán, CC: Celofán doble, CP: Celofán-Polietileno, CV: Celofán-Vacío). [Vainillina (a), ácido 4-hidroxibenzóico (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-hidroxibenzóico, 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-hidroxibenzóico fue mínimo, mostrando el valor máximo de 238 mg kg⁻¹ en el tratamiento de celofán con un fruto (Figura 3b). El ácido 4-hidroxibenzóico, 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-hidroxibenzóico (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-hidroxibenzóico 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

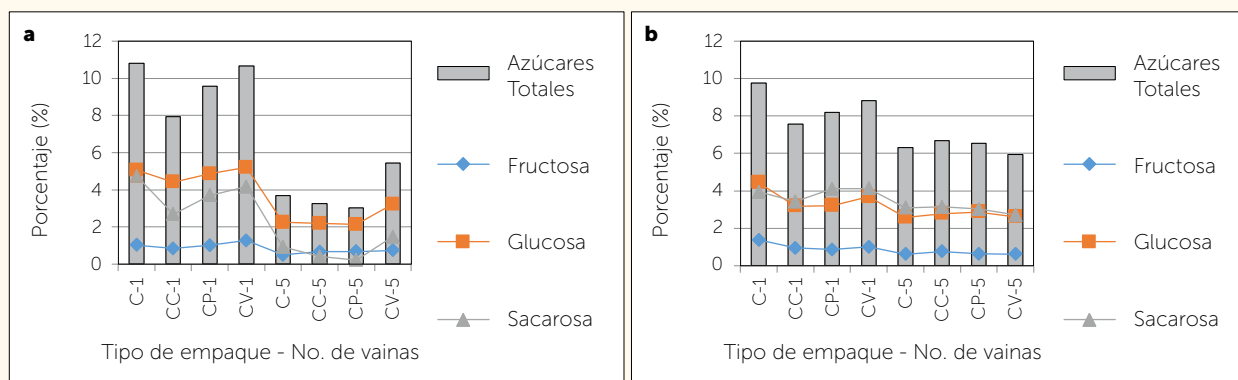


Figura 4. Contenido de azúcares en frutos de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) de las empresas beneficiadora 1 (a) y beneficiadora 2 (b), almacenadas durante seis meses. (C: Celofán; CC: Celofán doble; CP: Celofán – Polietileno; CV: Celofán – Vacío), con uno y cinco frutos.

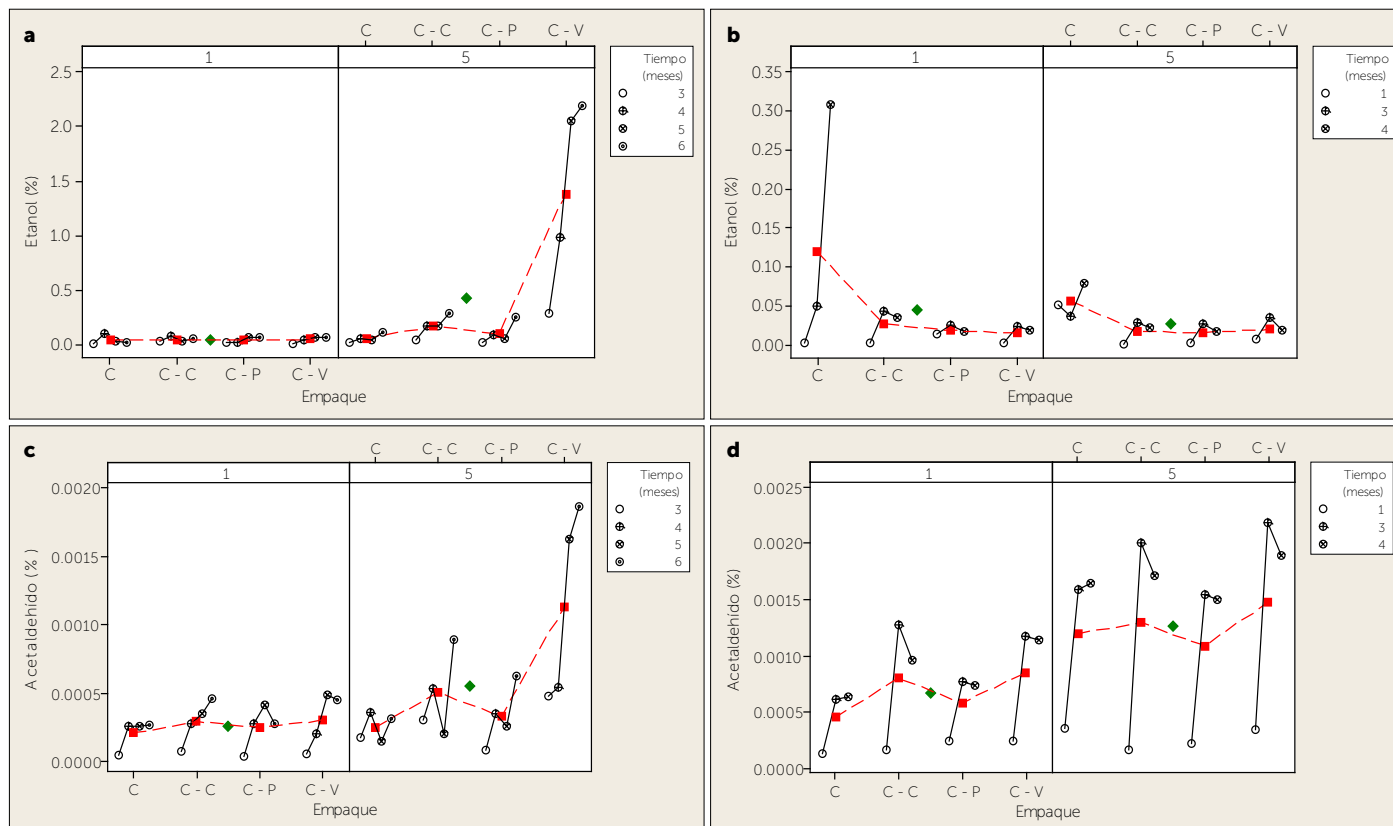


Figura 5. Contenido de etanol y acetaldehído para los frutos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews de las empresas beneficiadoras 1 (a-c) y 2 (b-d) almacenadas durante seis meses. (C: Celofán; CC: Celofán doble; CP: Celofán – Polietileno; CV: Celofán – Vacío), con una y cinco vainas.

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.

