



UTPL

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CARRERA DE INGENIERIA QUÍMICA

**Diseño de metodología para obtener el extracto de vainilla
(*Vanilla tahitensis*) mediante percolación**

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de:

INGENIERO QUÍMICO

Autor: Jiménez Cango, Jhonatan Fabian

Director: Malagón Avilés, Omar Germán

LOJA

2024



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2024

Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular

Loja, 14 de marzo del 2024

Título académico completo, Ingeniero químico

Mgtr. Natalí Elizabeth Solano Cueva

Director de la carrera de Ingeniería química

Ciudad.- Loja

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Integración Curricular denominado: Diseño de metodología para obtener el extracto de vainilla (*Vainilla tahitensis*) mediante percolación realizado por Jhonatan Fabian Jiménez Cango ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Director: Omar Germán Malagón Avilés, PhD

C.I.: 1725761322

Correo electrónico: omalagon@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

Yo, Jhonatan Fabian Jiménez Cango, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: Diseño de metodología para obtener el extracto de vainilla (*Vainilla tahitensis*) mediante percolación, de la carrera de Ingeniería química, específicamente de los contenidos comprendidos en: en el marco teórico, metodología como en los resultados y discusión de resultados, siendo Omar Germán Malagón Avilés, director del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual de este trabajo. Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”, en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....

Autor: Jhonatan Fabian Jiménez Cango

C.I.: 110510205

Correo electrónico: fjimenez17@utpl.edu.ec

Dedicatoria

El presente trabajo de integración curricular quiero dedicar primeramente a mi padre Beymer por darme la oportunidad de estudiar una carrera que en realidad me gusta, mi madre Maira por siempre darme motivación cuando sentía que no podía seguir y a mis hermanos quienes siempre han sido unos catalizadores para siempre seguir luchando por mis sueños.

Agradecimiento

Quiero agradecer a mis padres por brindarme el apoyo en hacer las cosas que realmente me gustan y siempre siendo mentores en mi crecimiento intelectual, de valores y al momento de cumplir con mis responsabilidades recordándome que siempre puedo mejorar. A mis hermanos por siempre estar presentes cuando las cosas se tornaban de color gris, a mis tíos de parte de mi mamá también guiarme y aconsejarme cuando hacía las cosas mal y finalmente, a mi tutor de tesis PhD. Omar Malagón por acogerme como su tesista y compartir sus conocimientos conmigo

Índice de contenidos

Carátula	I
Aprobación del director del Trabajo de Integración Curricular.....	II
Declaración de autoría y cesión de derechos	III
Dedicatoria	V
Agradecimiento	VI
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Capítulo uno	5
Marco Teórico	5
1.1 Origen de la vainilla	5
1.2 Descripción general de <i>Vainilla tahitensis</i>	5
1.3 Composición química y componentes principales en vainas curadas de vainilla 6	
1.4 El extracto de vainilla	8
1.5 Análisis de calidad del extracto.	9
1.6 Usos de la vainilla en la industria	10
1.7 Percolación como método de extracción	12
1.7.1 <i>Efecto de la temperatura en el proceso de extracción</i>	13
1.7.2 <i>Efecto del tamaño de partícula en el proceso de extracción</i>	13
1.7.3 <i>Efecto de la concentración de solvente en un sistema de percolación</i>	14
Capítulo dos	15
Metodología	15
2.1 Muestras de vainilla.....	15

2.2	Ejecución de los experimentos a pequeña escala	15
2.3	Extracto a mediana escala	18
2.4	Determinación del porcentaje de vainillina por HPLC	18
2.5	Análisis sensorial	21
Capítulo tres		23
Análisis e interpretación de resultados		23
3.1	Porcentajes de vainilla	23
3.2	Mejores condiciones para obtener el extracto respecto al %vainillina	26
3.3	Efecto del tamaño de partícula, temperatura y concentración del solvente....	28
3.4	Comparación con otros métodos de extracción	30
3.5	Evaluación sensorial	31
3.5.1	<i>Color</i>	31
3.5.2	<i>Aroma</i>	32
3.5.3	<i>Sabor</i>	33
Conclusiones		35
Recomendaciones		36
Referencias		37
Apéndice		41
Apéndice A. Cuantificación de vainillina		41
Apéndice B. Cuestionario para evaluación sensorial		41

Índice de tablas

Tabla 1 Recopilación de compuestos volátiles presentes en la vainilla según su grupo funcional	7
Tabla 2 Recopilación de usos de vainilla en productos de la industria	10

Tabla 3 Condiciones definidas para obtener extracto de vainilla	15
Tabla 4 Códigos asignados a cada uno de los extractos	21
Tabla 5 Resultados obtenidos de las diferentes extracciones a pequeña escala	24
Tabla 6 Resultados a mediana escala.....	25
Tabla 7 Análisis de varianza datos por medio de regresión lineal múltiple	26
Tabla 8 Estimación de parámetros	27

Índice de Figuras

Figura 1 Vainas disminuidas a ¼ pulg	16
Figura 2 Maceración en agua a temperatura ambiente	16
Figura 3 Maceración a 45°C cuando se agregó etanol	17
Figura 4 Sistema de percolación	17
Figura 5 Equipo de percolación a mediana escala	18
Figura 6 Equipo HPLC	19
Figura 7 Diagrama de la gradiente de solventes programada en el HPLC para la corrida de las muestras	20
Figura 8 Cromatograma HPLC del extracto de vainilla con las condiciones descritas en la parte experimental	21
Figura 9 Curva para cuantificación del % de vainillina	23
Figura 10 Concentración de vainillina expresado en % (w/w) según los 3 parámetros estudiados	27
Figura 11 Resultados del análisis ANOVA del escalado en donde únicamente varia el tamaño de partícula	29
Figura 12 Colores obtenidos en la encuesta de los extractos de Vainilla tahitensis	31

Figura 13 Aroma predominante presente en los extractos de Vanilla tahitensis
.....**33**

Figura 14 Sabor predominante en los diferentes extractos de Vanilla tahitensis
.....**34**

Resumen

La *Vanilla tahitensis* es una orquídea perteneciente al género *Vanilla* la cual, forma parte de las 3 especies comerciales existentes actualmente donde no únicamente las vainas curadas son de interés si no, también su extracto donde es ampliamente usado en las diferentes industrias, aunque, principalmente en la industria cosmética y alimenticia. El objetivo de este trabajo de integración curricular fue obtener un extracto con un %vainillina (w/w) superior a 0.1; en el que se diseñó una metodología por extracción sólido-líquido utilizando la maceración junto con la percolación, tomando como variables de estudio de temperatura de extracción, la concentración de disolvente y el tamaño de partícula.

Los resultados obtenidos dictaminaron que para el modelo experimental propuesto existe una influencia de la concentración de etanol, seguido del tamaño de partícula. Las condiciones óptimas establecidas fueron un tamaño de $\frac{1}{4}$ de pulg, etanol al 45% y temperatura de 45°C se obtuvo un 0.1199% de vainillina. La temperatura tuvo mayor influencia en la extracción de pigmentos como en la de compuestos polifenólicos.

Palabras clave: Extracto de vainilla, *Vanilla tahitensis*, percolación.

Abstract

Vanilla tahitensis is an orchid belonging to the genus *Vanilla*, which is part of the three commercially existing species today where not only the cured pods are of interest, but also their extract, which is widely used in various industries, primarily in the cosmetic and food industry. The aim of this curricular integration work was to obtain an extract with a vanillin content (%w/w) greater than 0.1. A methodology was designed for solid-liquid extraction using maceration combined with percolation, with extraction temperature, solvent concentration, and particle size as study variables.

The results obtained determined that, for the proposed experimental model, there is an influence of ethanol concentration, followed by particle size. The established optimal conditions were a particle size of ¼ inch, 45% ethanol, and a temperature of 45°C, resulting in a 0.1199% vanillin content. Temperature had a greater influence on the extraction of pigments as well as polyphenolic compounds.

Palabras clave: Vanilla extract, *Vanilla tahitensis*, percolation.

Introducción

El presente proyecto de trabajo de integración curricular tiene un enfoque en el que, a partir de la *Vanilla tahitensis* curada se busca obtener tener las mejores condiciones en base a la temperatura, tamaño de partícula y concentración de solvente para extraer la vainillina, uno de los compuestos más relevantes que presenta la orquídea, mediante un proceso de maceración-percolación. Con el objetivo de generar un extracto enriquecido con vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), uno de los compuestos aromáticos esenciales que contribuyen al característico aroma. La vainillina constituye la mayoría de este concentrado, representando entre el 80% y el 90% en peso en comparación con otros compuestos aromáticos, en el caso de *V. planifolia*, y hasta de un 30% en *V. tahitensis*. El extracto de vainilla a su vez es un producto muy demandado en la elaboración de productos como: alimenticios, bebidas, fármacos, cosméticos, tabacos y artesanías (Uzcátegui Izurieta, 2014).

La relevancia de esta investigación radica, como se ha mencionado previamente, en la alta demanda del extracto de vainilla en diversas industrias, destacando especialmente su importancia en la industria alimentaria debido a su distintivo aroma y sabor. La metodología propuesta tiene como objetivo la producción a gran escala de un extracto que contenga un porcentaje de vainillina superior al 0.1%. Además, considerando la importancia económica, ecológica y cultural del cultivo de vainilla en Ecuador, donde se producen vainas de calidad gourmet con precios elevados, surge la necesidad de desarrollar una metodología para la obtención de este extracto.

La metodología consiste primeramente en la revisión de la materia prima por medio de un control del estado de las vainas de vainilla, así como, la cuantificación del porcentaje de vainillina. Segundo, el proceso de extracción consiste en según las condiciones decididas con apoyo de la literatura son: el tamaño de partícula cortando la vaina a un tamaño de $\frac{1}{4}$ de pulgada y $\frac{1}{2}$ de pulgada, el experimento se realiza a temperatura ambiente y como solvente alcohol etílico de 45%. En cambio, para la temperatura se realiza con el tamaño de partícula

con los mejores resultados en términos de porcentaje de vainillina siguiendo la metodología impartida por la norma AOAC 960.25. Finalmente, para la concentración de solvente se realiza la extracción con las condiciones resultaron con un mejor $\%(w/w)$ de vainillina de temperatura donde se hace las pruebas con $\%(v/v)$ EtOH al 35 y 45 respectivamente. Cabe recalcar en cada experimentación se hace un análisis de la muestra el cual, se realiza un análisis por medio de la norma AOAC 960.25.

El capítulo 1 contiene el marco teórico el cual, habla de la historia de la vainilla, sus características generales, datos sobre los extractos de vainilla que incluye: la composición química de los compuestos, el sabor, los métodos para verificar la autenticidad del extracto y los usos de un extracto genuino de vainilla en las diferentes industrias. Mientras, el capítulo 2 se habla detalladamente de la metodología aplicada para la obtención del extracto de vainilla optimizando las variables de estudio mientras que el capítulo 3 habla sobre cuáles son las mejores condiciones del modelo experimental con el que se puede obtener un extracto de en vainillina superior al 0.1%.

Capítulo uno

Marco Teórico

1.1 Origen de la vainilla

La vainilla es originaria de México siendo el centro de origen y domesticación de la vainilla. Luna Guevara y colaboradores (2016) afirman:

El primer embarque de vainilla fue hecho por Cortes en el año de 1519 cuando se envió a España a Francisco de Montejo y a Porto, como portadores de los réditos de la conquista, consistentes en joyas, mantas y curiosidades entre las cuales en encontraba la vainilla (pp. 1).

El género *Vanilla* pertenece a la familia Orchidaceae, incluye de 90-100 especies dependiendo del autor. El hábitat del género *Vanilla* se encuentra principalmente en regiones de América, África y, Asia que presentan hábitats naturales tropicales y subtropicales. La mayoría de estas especies son silvestres donde únicamente se han reportado 3 especies la *V. pompona*, la *V. planifolia* y la *V. tahitensis*, las cuales son cultivadas con fines comerciales. La *V. planifolia* ronda el 95 % de la producción mundial; además, su taxonomía es muy antigua, incompleta e imprecisa. En cambio, investigaciones actuales han dado a conocer que la especie *V. tahitensis* es el resultado entre el cruzamiento de *V. planifolia* con *V. odorata* (Oudou & Grisoni, 2009).

1.2 Descripción general de *Vainilla tahitensis*

Vanilla tahitensis, también conocida como vainilla tahitiana, es una especie de vainilla originaria de la Polinesia Francesa, específicamente de la isla de Tahití y sus alrededores. Se distingue de entre otras variedades de vainilla por su perfil aromático y sabor único (Covarrubias, 2023).

Las vainas de vainilla tahitensis, son relativamente largas en donde han registrado vainas de tamaños medir hasta los 20 centímetros de longitud, aunque, comúnmente suelen ser de 15-20 cm con una apariencia lisa y suave al tacto mientras su color cuando la vaina es sometida a un proceso de curado es de marrón oscuro. A diferencia de otras especies de vainilla, las vainas de *V. tahitensis* son menos aceitosas y más flexibles (Covarrubias, 2023).

En lo que respecta a su aroma, esta especie ha sido descrita con notas florales distintivas, toques anisados y almendrados, con una delicada sensación frutal que evoca la cereza. Además, las vainas también presentan un sutil matiz superficial de vainilla, acompañado por notas fenólicas, matices amaderados, y tonos balsámicos y ahumados más tenues en comparación con la especie *V. planifolia*. En conjunto, el perfil aromático se describe como poseedor de un carácter exótico y refrescante (Oudou & Grisoni, 2009). Por otro lado, el sabor no es intenso de hecho es más suave en comparación con otras variedades donde su sabor es dulce y delicado, con matices florales y frutales. Su perfil de sabor se asemeja a una combinación de vainilla y frutas tropicales, lo que la hace popular en postres y preparaciones culinarias que buscan resaltar sabores frescos y exóticos (Covarrubias, 2023).

1.3 Composición química y componentes principales en vainas curadas de vainilla

En la vainilla se encuentran alrededor de 200 compuestos que son los responsables del perfil aromático de esta. Algunas vainas de vainilla han presentado una concentración en porcentaje de vainillina superior al 2% (Sharp, 2009). El análisis de la composición química se realiza en base a los compuestos volátiles en el cuál, el compuesto 3-metoxi-4-hidroxibenzaldehído (vainillina) es el principal que caracteriza a la vainilla, pero no es el único que forma parte del aroma como del sabor característicos de la vainilla (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018).

La vainilla tendrá diferentes perfiles aromáticos de sabor y aroma, estos dependen de factores como: la región geográfica del cultivo, los métodos de cultivo, el proceso de curado, proceso de extracción o incluso las condiciones de almacenamiento. Cabe recalcar que, las cualidades del sabor y aroma experimentan una transición constante a medida que la vainilla verde inicialmente sin sabor es sometida al proceso de curado y posteriormente se realiza un proceso de extracción con una mezcla de agua-etanol para producir el extracto de vainilla (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018). Según este autor:

La formación de los compuestos se debe a las reacciones que ocurren en el proceso de curado en donde la gran mayoría de estas reacciones son enzimáticas e involucran la conversión de moléculas precursoras fenólicas o

no volátiles unidas glucosídicamente como la glucovainillina en formas libres (206-209 pp).

Conforme se ha ido investigando la composición química que presenta la vainilla se han identificado compuestos como: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, lactonas, ácidos, terpenoides, heterocíclicos y fenoles (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018). La tabla 1 presenta una lista en la cual se presentan los compuestos que se han encontrado comúnmente ordenados por su grupo funcional presentes en la vainilla, donde vainilla hace referencia tanto a las vainas o extractos que fueron preparados a partir de estas.

Tabla 1

Recopilación de compuestos volátiles presentes en la vainilla según su grupo funcional.

Grupo funcional	Nombre del compuesto
Fenoles	Vainillina
	Ácido 4-Hidroxibenzoico
	4-Hidroxibenzaldehído
	4-Hidroxibencil metil éter
	Éster metílico del ácido 2-hidroxibezoico
	Acetovanilona
Aldehídos	2-Heptanal
	β -Ciclocitral
Cetonas	3-Hidroxi-2-butanona
	Acetofenona
Alcoholes	2,3-Butanediol
	Alcohol bencílico
	Linalol
Esteres	Éster etílico del ácido linoleico
	Éster metílico del ácido cinámico
	Acetato de α -terpenilo
	Limoneno
	Benceno

Hidrocarburos	α -Pino
	1-Hentriaconteno
	<i>n</i> -Pentacosano
Ácidos carboxílicos	Ácido acético
	Ácido benzoico
	Ácido linoleico
	Ácido vanílico

Nota. En esta tabla enlista los compuestos volátiles más comunes presentes en *V. planifolia*.

Como ya se ha mencionado *V. tahitensis* es una especie híbrida conocida por tener una matriz florar/perfumada debido a la presencia de altas concentraciones de 4-anisaldehído, alcohol anisílico, ácido anísico y ésteres anisílicos, los cuales se encuentran en concentraciones mucho más bajas o simplemente no se encuentran en lo absoluto en la especie *V. planifolia* (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018). Los compuestos fenólicos son los más representativos cualitativa y cuantitativamente de la fracción volátil de la vainilla curada que, también pueden portar las funciones aldehído como la vainillina, funciones ácidas, funciones de alcohol y funciones cetónicas (Odou & Grisoni, 2009).

Cuantitativamente, el componente principal de las vainas de la vainilla curada es la vainillina, que puede alcanzar concentraciones de 10000 ppm. Además de la vainillina, otros tres compuestos son también comúnmente cuantificados como indicadores de calidad y autenticidad. Se trata del p-hidroxibenzaldehído, el ácido vanílico, cuya concentración es cercana a las 1000 ppm, siendo 10 veces inferior a la de la vainillina. Y, finalmente, el ácido p-hidroxibenzoico, cuya concentración media ronda las 100 ppm, es decir, 100 veces inferior a la concentración de vainillina. Cabe recalcar que las concentraciones varían según la calidad del producto (Odou & Grisoni, 2009).

1.4 El extracto de vainilla

A lo largo de la historia, desde la obtención de extractos a partir de especies vegetales, el extracto de vainilla se ha utilizado como colorante, aromatizante, en preparación de alimentos, como sustancia analgésica, antiséptica y antidiabética en algunas partes del

mundo (Torres Ramón, 2019). Debido a ello, el extracto de vainilla es muy cotizado en la actualidad.

Para la obtención de un extracto de vainilla ya sea a gran escala o artesanalmente se utiliza etanol como solvente, el cual es aprobado tanto por la FDA, como en la norma mexicana (Arroyo, 2016). Además, a pesar de las numerosas especies que presenta esta orquídea, únicamente es permitido comercializar su extracto si se usa *V. pompona*, *V. planifolia*, o *V. tahitensis* (Torres Ramón, 2019).

1.5 Análisis de calidad del extracto.

Debido al elevado costo de la vainilla y su limitada oferta, se ha llegado al punto de adulterar los extractos vainilla. Por ello se han creado metodologías analíticas para determinar su composición química. Existe una variedad de métodos cromatográficos para la identificación y cuantificación como: Cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y, electroforesis capilar (CE) (Michael Dennis Sharp, 2009).

TLC fue una de las primeras técnicas utilizadas para la identificación de compuestos en la vainilla siendo, fácil de realizar, económica y rápida, sin embargo, fue remplazada por el método analítico alta eficiencia TLC (HPTLC). Por otro lado, GC tiene una ventaja en comparación de otros métodos cromatográficos por el hecho de separar mezclas de componentes volátiles eficientemente y con una alta resolución, además, de que es complementada con espectrometría de masa (MS) que permite una mejor cuantificación y análisis de los volátiles en la vainilla, llegando a identificar más de 150 compuestos (Michael Dennis Sharp, 2009).

HPLC es una de las técnicas preferidas y poderosas para la cuantificación de moléculas orgánicas como para la detección de adulterantes en la vainilla gracias a su sensibilidad, precisión y selectividad. Generalmente, cuando se trabaja con muestras de vainilla se utiliza una columna fase reversa y solventes orgánicos polares como fase móvil (Sharp, 2009). Este autor también afirma que “Los tiempos de elución según la literatura varía entre 7-36 min con longitudes de onda de 254-340 nm” (Sharp, 2009, pp. 5).

CE tiene varias ventajas sobre HPLC, como la velocidad, eficiencia, reproducibilidad, volumen de muestra pequeño y bajo consumo de solvente (Michael Dennis Sharp, 2009). Debido a 5 de estas ventajas, la CE está ganando popularidad como técnica para analizar los constituyentes químicos de la vainilla. Una técnica capilar más reciente es la cromatografía capilar electrocinética micelar (MEKC) y se ha utilizado para identificar nueve constituyentes de la vainilla y tres posibles adulterantes (Butehorn y Pyell, 1996) demostraron que MEKC es una mejor alternativa a HPLC debido a su tiempo de análisis más corto y alta resolución.

1.6 Usos de la vainilla en la industria

A pesar de las más de 110 especies que tiene la vainilla únicamente *V. planifolia* y *V. tahitensis*, son permitidas dentro de los estados unidos según lo estableció la FDA en el código de regulaciones federales para la vainilla título 21 donde para el uso en comidas las vainas tienen que ser curadas apropiadamente, con no más del 25% del contenido de humedad. A pesar de que *V. pompona* no se encuentre dentro de las regulaciones que establece la FDA, esta especie tiene una acogida en países de Centro América (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018). “Un extracto de vainilla se define como el total de principios de sabor y olor de 13 onzas de vainas por galón de mezcla etanol-agua donde el contenido de alcohol debe tener un mínimo de 35% en porcentaje volumen/volumen” (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018, pp. 339).

La vainilla en la industria se le puede dar una infinidad de usos, sin embargo, el uso se divide entre las vainas y el extracto de vainilla. La tabla 2 recopila algunos usos de la vainilla para el desarrollo de productos en general.

Tabla 2

Recopilación de usos de vainilla en productos de la industria

Producto	Uso	Fuente bibliográfica
Productos para el hogar	Se utiliza como modificadores secundarios del aroma en productos como: detergentes, líquido lavaplatos, como	

	aroma, artículos de pegamento, etc.	(Oudou & Grisoni, 2009)
Lácteos	Es donde más se utiliza la vainilla como saborizante para helados, yogurt, leche saborizada, cremas para café, entre otras.	
Lácteos Congelados	Como saborizante de helado sabor vainilla donde según la FDA tiene 3 categorías. La primera contiene únicamente extracto de vainilla, la segunda contiene 1 onza de vainillina sintética por galón de extracto de vainilla y, la categoría 3 contiene únicamente ingredientes sintéticos	
Chocolate	Es ingrediente esencial en productos derivados de chocolate, la vainilla suaviza las características de sabor fuerte y seco del cacao por su solubilidad en aceite. Su valor va entre 0.01 y 0.1% según el nivel de cacao y dulzura del producto	
Dulces	La vainilla es usada como principal modificador de sabor de dulces como: caramelos,	

	gomas de mascar y gomitas principalmente	
Productos farmacéuticos	Ayuda a cubrir los sabores amagos y desagradables.	
Pastelerías	Principalmente por el sabor.	
Perfumes	Por su aroma agradable, el extracto con alto contenido de vainillina es usado para impartir fragancias finas.	

Nota. La tabla recopila los principales usos que se le da a la vainilla que refiriéndose tanto a vainas curadas o el extracto de vainilla.

1.7 Percolación como método de extracción

La percolación es un fenómeno físico que ocurre cuando un líquido o gas en el cual, el solvente atraviesa un medio poroso como un sólido granular o un material poroso, el fluido penetra en el medio poroso y se mueve a través de estos logrando un contacto más directo con el medio (Sharapin, 2000).

La percolación como método de extracción es muy utilizado en el procesamiento de plantas aromáticas, siendo muy común su uso en la extracción de componentes aromáticos del zumo de naranja y del tamarindo (Bueso, 2008). En la percolación, el material vegetal seco o pulverizado se coloca en un tanque de percolación en el cual, se hace pasar continuamente el solvente de extracción, mientras que el extracto de percolado se recoge simultáneamente (Sharapin, 2000). Este método es aplicable a una amplia gama de materiales porque es muy fácil de realizar, sin embargo, también presenta desventajas, como el alto consumo de solvente, el largo tiempo de extracción y el alto consumo de energía en los procesos de concentración posteriores (Ortega et al., 2013).

El método de percolación para la obtención del extracto de vainilla comúnmente consiste en el uso de un recipiente de acero inoxidable provisto de una serie de bandejas perforadas para contener las vainas picadas donde el disolvente rocía la bandeja luego, se

filtra de bandeja en bandeja, se acumula en la base del recipiente y se recircula mediante una bomba (Divya et al., 2013).

Merory (1956) en Divya et al., 2013 “recomienda tres extracciones consecutivas por al menos cinco días, usando un disolvente con 60% de etanol en la primera extracción, en la segunda extracción de 30-35% y en la terca de 15%” (capítulo 2).

1.7.1 Efecto de la temperatura en el proceso de extracción

La temperatura es un parámetro importante en los procesos de extracción que puede afectar en el rendimiento como en la calidad de los componentes deseados. En la extracción de vainilla, la temperatura es una de las principales preocupaciones en largos períodos de extracción para obtener una oleorresina o un aceite absoluto (Salas et al., 2017).

En el proceso de percolación, se hace circular una mezcla calentada de etanol y agua a través de las vainas de vainilla durante un período de tiempo para absorber los componentes deseados. En sí la temperatura juega un rol muy importante en la cinética de extracción porque a mayor temperatura incrementa la rapidez de extracción, sin embargo, si la temperatura no es la adecuada puede ocurrir el efecto contrario por lo cual, es importante jugar cuidadosamente con esta variable (Babío Núñez et al., 2019).

1.7.2 Efecto del tamaño de partícula en el proceso de extracción

En la extracción por percolación de vainilla, el tamaño de partícula utilizado puede tener un impacto en la eficiencia y calidad del proceso de extracción (Galindo, 2021). El tamaño de partícula puede influir en la velocidad a la que se extraen los compuestos de la vainilla. Generalmente el uso de partículas pequeñas es utilizado en este tipo de extracción porque tiene una mayor área superficial en comparación con partículas más grandes, lo que facilita una mayor interacción entre el disolvente y los compuestos de interés, lo que resulta en una extracción más rápida de los compuestos deseados (Gonzalez, 2019).

Por lo tanto, cuando el tamaño de partícula es demasiado grande pueden dificultar la penetración del disolvente en la matriz de la vainilla, lo que puede resultar en una extracción incompleta de los compuestos aromáticos (Gonzalez, 2019). Por otro lado, partículas demasiado pequeñas pueden compactarse o formar grumos, dificultando el flujo del

disolvente a través de las vainas. Por eso es de suma importancia encontrar el tamaño de partícula óptimo que equilibra la penetración del disolvente y el flujo adecuado (Galindo, 2021).

El tamaño de partícula también puede afectar la calidad del extracto de vainilla obtenido como se mencionó las partículas más pequeñas tienen una mayor superficie de contacto con el disolvente, lo que puede favorecer una mayor extracción de los compuestos aromáticos, sin embargo, también pueden extraerse compuestos no deseados, como sabores amargos o astringentes (Galindo, 2021).

Es importante tener en cuenta que el tamaño de partícula adecuado puede variar según el método de extracción utilizado, el tipo de disolvente y las características que presenta la vainilla. Por lo tanto, se recomienda realizar búsqueda bibliográfica que donde sobre el tamaño de partícula utilizado o de no tener una referencia realizar una serie de experimentos (Gonzalez, 2019).

1.7.3 Efecto de la concentración de solvente en un sistema de percolación

La concentración del solvente puede tener efectos negativos en la extracción por percolación si es demasiado alta o baja, por ejemplo, cuando se utiliza una concentración de solvente demasiado baja puede resultar en una baja eficiencia de extracción, ya que el solvente no será capaz de disolver suficientes compuestos de interés (Ortega et al., 2013).

Por otro lado, una concentración de solvente demasiado alta puede dañar los componentes de interés, ya que puede causar una desnaturalización o degradación de estos (Ortega et al., 2013). La concentración del solvente también puede afectar la velocidad de extracción, ya que una concentración demasiado alta puede disminuir la velocidad de extracción debido a la viscosidad del solvente, mientras que una concentración demasiado baja puede aumentar la velocidad de extracción debido a la menor viscosidad del solvente, aunque, esto depende del tipo de disolvente que se ocupe en la extracción (Garnica, 2019).

Capítulo dos

Metodología

2.1 Muestras de vainilla

Las vainas de vainilla para obtener los extractos fueron brindadas por la empresa Yura Ecuador el mes de marzo del 2023 correspondiente a la especie *Vanilla tahitensis* con una longitud de entre 8-15 cm y un porcentaje de humedad del 25%. De quién se adquirieron, las fechas establecidas.

2.2 Ejecución de los experimentos a pequeña escala

La experimentación se realizó en una serie de ocho experimentos donde se tomaron en cuenta los aspectos que se buscan tratar en el presente trabajo. Un resumen de las condiciones aplicadas se puede visualizar en la tabla 3.

Tabla 3

Condiciones definidas para obtener extracto de vainilla

N° experimento	Temperatura (°C)	Tamaño de partícula (pulg)	Concentración de EtOH (%)	Flujo de percolado (mL/min)
1	45	½	45	1
2	45	¼	45	1
3	t.a	½	45	1
4	t.a	¼	45	1
5	45	½	35	1
6	45	¼	35	1
7	t.a	½	35	1
8	t.a	¼	35	1

Nota. Las temperaturas diferentes a 45°C corresponden a la temperatura ambiente del día que se empezó a llevar a cabo el experimento.

La cantidad de extracto obtenida fue de 100 mL donde se utilizó una (relación 1:10) respecto a la cantidad de vainas utilizadas para obtener cierto volumen de extracto. La

obtención del extracto empezó cortando 10 gramos de vainilla las vainas a su tamaño que corresponde con el número del experimento (Figura 1). Posteriormente, se sometió la vainilla a una interacción con 22 mL y 26 mL de agua destilada por 12 horas (Figura 2); luego, se agregó 18 mL y 14 mL de etanol absoluto con la finalidad de cumplir con los experimentos concentración establecida de 45% como de 35% para cada experimento, en la Figura 3 se puede apreciar el montaje de la maceración a 45°C que a su vez se dejó macerar por 3 días.

Figura 1

Vainas disminuidas a ¼ pulg



Figura 2

Maceración en agua a temperatura ambiente

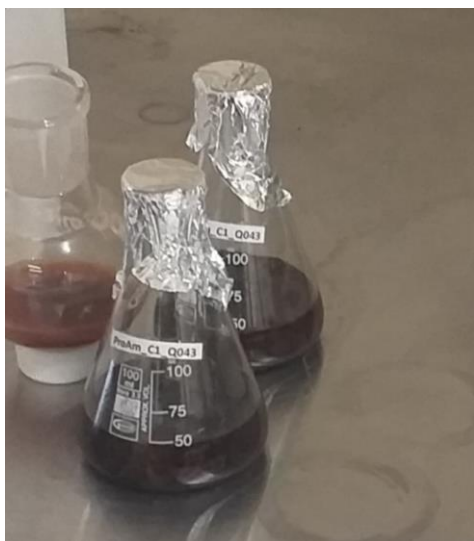


Figura 3

Maceración a 45°C cuando se agregó etanol

**Figura 4**

Sistema de percolación



Finalmente, el producto macerado se sometió a un proceso de percolación con la concentración de etanol respectiva hasta llegar a un volumen de 100 mL de extracto ver Figura 4, de esta manera se obtuvo cada uno de los ocho extractos de vainilla.

2.3 Extracto a mediana escala

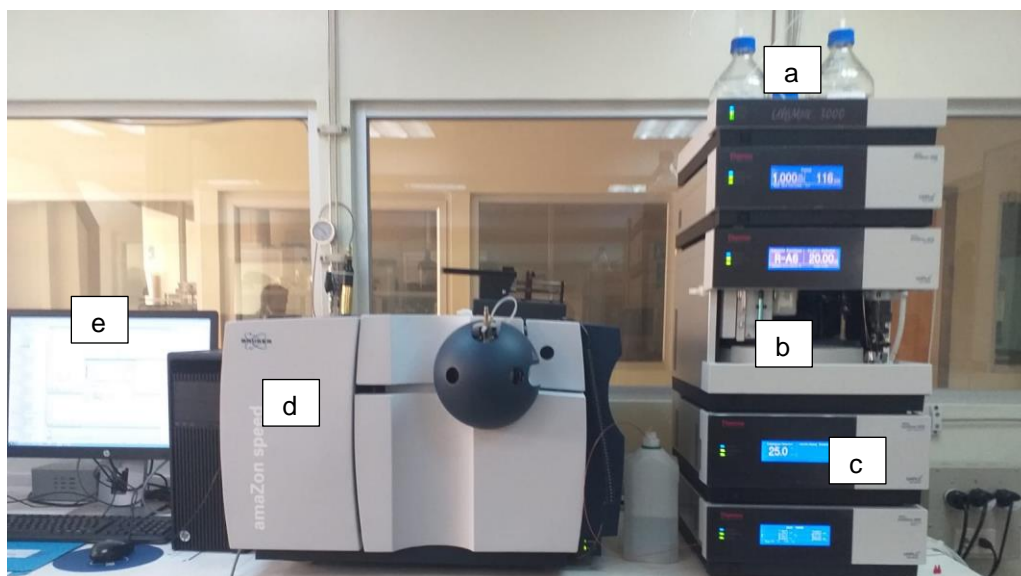
Una vez que se determinaron los experimentos con mayor extracción de vainilla, se escaló 10 veces el ensayo (Figura 5), con el fin de obtener 1 litro de extracto. Se utilizaron las mismas condiciones de los experimentos realizados que se encuentran en la tabla 3.

Figura 5 Equipo de percolación a mediana escala



2.4 Determinación del porcentaje de vainillina por HPLC

Para la cuantificación a través de HPLC, primeramente, se tomó una alícuota de 1000 μL de los extractos obtenidos con su respectiva metodología los cuales, se filtraron y se colocaron en un vial ámbar de 1 mL.

Figura 6*Equipo HPLC*

Nota. a) reservorio para las fases móviles, b) automuesteador, c) horno para la columna, d) detector de masas, e) computadora: sistema de datos.

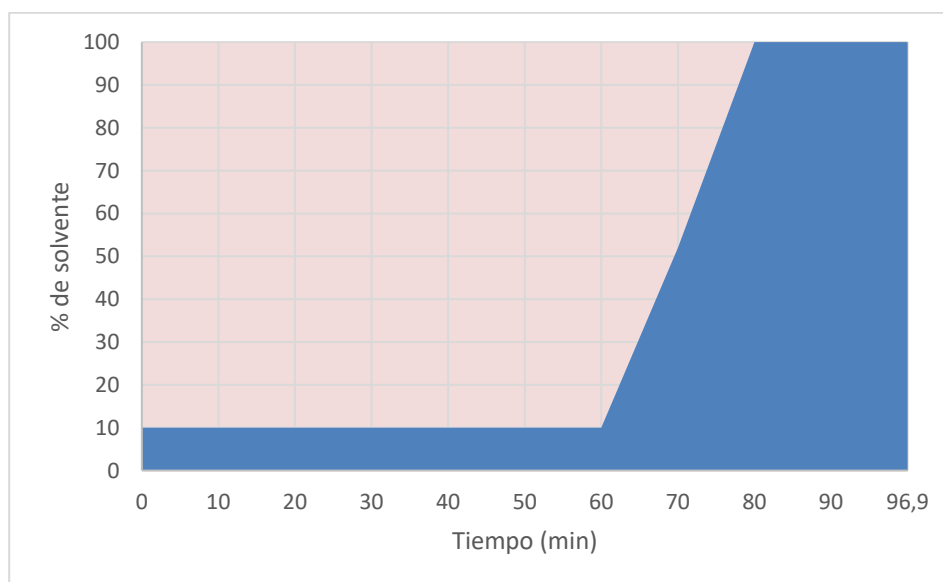
Se prepararon los estándares vainilla utilizando un factor de dilución (FD) de 2. Las concentraciones utilizadas para el análisis fueron 2000 ppm, 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm y 125 ppm respectivamente. Además, se utilizó como estándar interno guaiacol con el fin de minimizar cualquier error al momento de preparar las diferentes concentraciones de los estándares, así como, la replicabilidad del método. Cabe recalcar que se utilizó insertos para los estándares debido a la pequeña cantidad que se preparó del estándar interno como consecuencia, únicamente llevó ocupar un volumen de 100 μL por inserto siendo 75 μL de vainillina 25 μL de guaiacol. Es importante realizar la lectura de las muestras como de los estándares el mismo día que se preparen debido que se pueden evaporar y, como consecuencia tener una lectura errónea.

El equipo que se utilizó es de la marca Thermo Scientific modelo Dionex Ultimate 3000 ver figura 1. Se utilizaron como fases móviles metanol y agua acidificada al 1.25%, como fase estacionaria una columna RP C18 Hypersil GOLD™ de la marca thermo scientific con número de catálogo 25005-254630, una longitud de (250 mm) y diámetro (4.6 mm) con un paso

máximo de partícula de 5 μm . El análisis se realizó con un flujo de 1mL/min con método gradiente como se ve en la Figura 7.

Figura 7

Diagrama de la gradiente de solventes programada en el HPLC para la corrida de las muestras

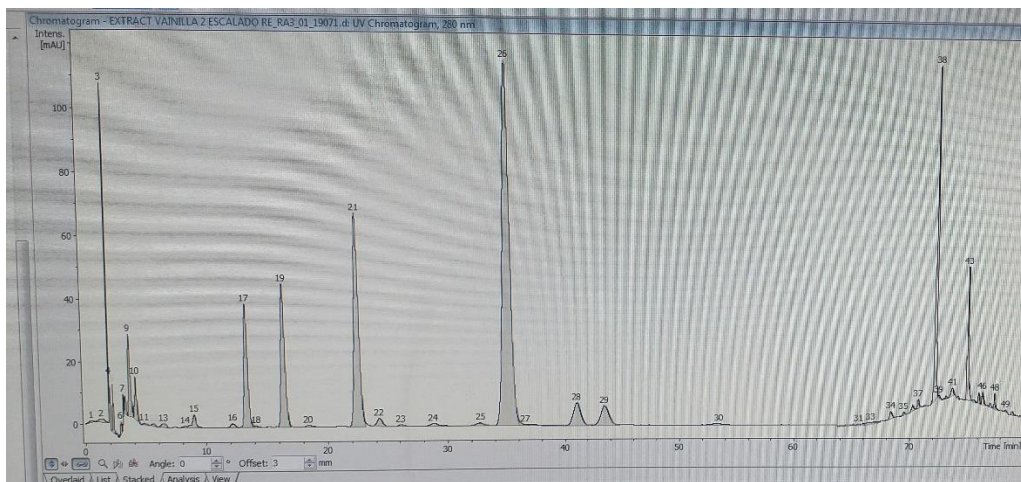


Nota. El área de color azul corresponde a metanol mientras el color rosa corresponde al agua acidificada.

La lectura se realizó con una longitud de onda de 280 nm, donde a partir del espectro que proporcionó el equipo se obtienen las áreas de vainillina y guaiacol ver en Figura 8. Cabe recalcar que este procedimiento se siguió según lo establecido en la norma AOAC 960.25.

Figura 8

Cromatograma HPLC del extracto de vainilla con las condiciones descritas en la parte experimental



Nota. El pico 26 corresponde a vainillina mientras el 28 a guaiacol.

Finalmente, para determinar el porcentaje de se dedujo la siguiente ecuación:

$$\% \text{Vainillina} \left(\frac{w}{w} \right) = \frac{\text{mg de Vainillina}}{\text{mg Guaiacol en la solución}} * \text{mg guaiacol colocados en el vial de la solución}$$

La deducción de la ecuación utilizando estándar interno se puede observar en el apéndice A.

2.5 Análisis sensorial

El análisis se realizó por medio un cuestionario que se puede ver en el apéndice C. A los jueces seleccionados se los juntó en una sala donde dieron su perspectiva sobre las características sensoriales (sabor, aroma y color) de cada uno de los 8 extractos que se elaboraron.

Tabla 4

Códigos asignados a cada uno de los extractos

N° Experimento	Código
1	2022
2	2002
3	2000

4	2001
5	2023
6	2005
7	2021
8	2019

Con la finalidad de evitar sesgos a cada uno de los extractos se codificó a cada uno de los extractos los mismo que se pueden visualizar en la tabla 4. El proceso de evaluación se realizó por rondas en el cuál, se servía 5 mL de cada uno de los extractos de manera aleatoria a los jueces donde se procuró que durante la ronda cada juez analice un extracto con diferente código hasta que los 8 códigos sean analizados por los 6 jueces. Terminada la ronda cada juez debía enjugarse la boca con agua para evitar un cruzamiento de sabor entre los extractos.

Capítulo tres

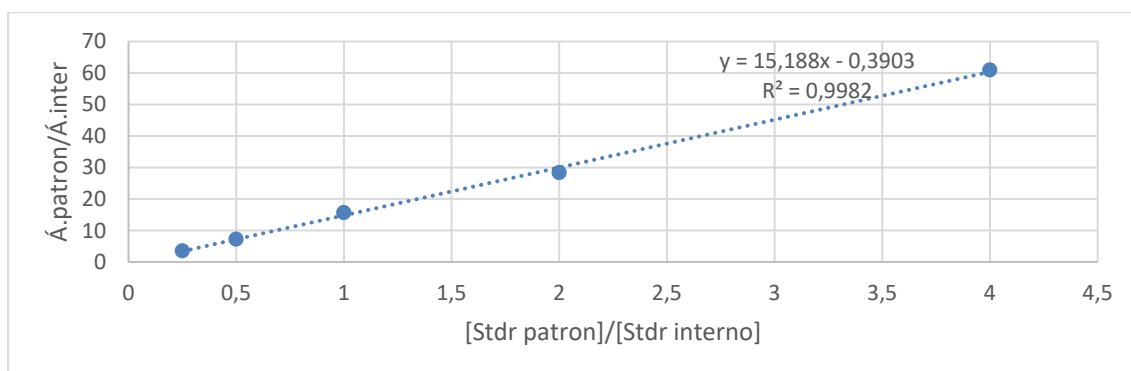
Análisis e interpretación de resultados

3.1 Porcentajes de vainilla

Una vez culminada la extracción de las ocho muestras y luego de haber realizado la cuantificación de cada uno de los extractos se puede apreciar el porcentaje de vainillina expresado en % w/w de cada uno de estos en la tabla 4. Estos datos fueron ajustados mediante la curva de calibración de la Figura 9 que presenta un comportamiento lineal con $R^2 \geq 0.995$ lo cual, convierte al método en aceptable para realizar la cuantificación del % vainillina.

Figura 9

Curva para cuantificación del % de vainillina



Nota. El área patrón hace referencia a vainillina mientras interno lo hace para guaiacol.

Las condiciones de los experimentos 1 y 2 presenta un porcentaje mejor de vainillina en comparación al resto de experimentos como se puede observar en la tabla 5 por lo cual, estos fueron seleccionados como los mejores y con sus ellos se realizó el escalamiento. Respecto al porcentaje de vainillina obtenido en los extractos, se ha encontrado que *V. planifolia* (Cicchetti & Chaintreau, 2009) debe llegar 1.6% w/w de vainillina. Sin embargo, para un extracto genuino de *V. tahitensis* se considera que la cantidad de vainillina puede variar entre un 0.1% y un 0.25% (Winton & Silverman, 1902).

Tabla 5*Resultados obtenidos de las diferentes extracciones a pequeña escala*

Nombre del experimento	Replicaciones	Vainillina (%) w/w	Promedio	C.V. (%)
1	Inicial	0.0831	0.0923±0.0119	13
	Duplicado	0.1058		
	Triplicado	0.0880		
2	Inicial	0.0945	0.0947±0.0007	1
	Duplicado	0.0954		
	Triplicado	0.0941		
3	Inicial	0.0936	0.0895±0.0140	16
	Duplicado	0.1009		
	Triplicado	0.0739		
4	Inicial	0.0698	0.0878±0.0166	19
	Duplicado	0.1024		
	Triplicado	0.0912		
5	Inicial	0.0826	0.0808±0.0115	14
	Duplicado	0.0914		
	Triplicado	0.0685		
6	Inicial	0.0820	0.0791±0.0034	4
	Duplicado	0.0753		
	Triplicado	0.0801		
7	Inicial	0.0737	0.0730±0.0015	2
	Duplicado	0.0743		
	Triplicado	0.0713		
8	Inicial	0.0702	0.0721±0.0019	3
	Duplicado	0.0716		
	Triplicado	0.0742		

Nota. (σ) corresponde a la desviación estándar y (C.V.) al coeficiente de variación

Únicamente los extractos obtenidos en el escalamiento entran en el rango de aceptación que menciona (Winton & Silverman, 1902) por otro lado, ninguna extracción de vainillina a pequeña escala llegó a 0.1%. Estos resultados se pueden deber netamente a las razones que mencionó (Havkin-Frenkel & Belanger, 2018) por las que no se obtiene un extracto con vainillina alta: condiciones de operación no adecuadas para una extracción efectiva, el tratamiento desde polinización a mano en los cultivos hasta el proceso de curado no fueron las adecuada, las vainas utilizadas para la presente investigación no fueron de la mejor calidad o incluso a la combinación de estas. Sin embargo, durante el resto del capítulo se va a desglosar un análisis más detallado de los efectos de las variables estudiadas, así como, la comparación con otros métodos encontrados en bibliografía.

Tabla 6

Resultados a mediana escala

N° experimento	Replicaciones	Vainillina (%)	Promedio	C.V. (%)
1	Inicial	0.1135	0.1125±0.0044	3.9197
	Duplicado	0.1077		
	Triplicado	0.1163		
2	Inicial	0.1268	0.1199±0.0083	6.9197
	Duplicado	0.1224		
	Triplicado	0.1106		

Nota. (σ) corresponde a la desviación estándar y (C.V.) al coeficiente de variación.

En cambio, al momento de realizar el escalado el porcentaje de vainilla mejora para los experimentos 1 y 2 de la tabla 5 en comparación a lo realizado a pequeña escala, llegando a entrar en el rango propuesto por (Winton & Silverman, 1902). Además, se ve una tendencia mejor respecto al porcentaje de coeficiente de variación esto se puede deber principalmente a que la muestra es mucho más significativa al tomar 100 gramos de vainas mientras a pequeña escala fue de únicamente de 10 gramos. En consecuencia, las fluctuaciones en los cálculos del coeficiente de variación tienen un mayor impacto cuando la muestra es pequeña

llevando a que la desviación estándar tienda a ser más influenciada por valores atípicos, lo que lleva a que se eleve el coeficiente de variación (Daoudi, 2014).

3.2 Mejores condiciones para obtener el extracto respecto al %vainillina

Como se puede observar en los resultados del análisis de regresión lineal en la tabla 6 el valor de P global cuando se realizó la regresión resulto se menor a 0.05 dando a entender que se rechaza la hipótesis nula, es decir, las variables independientes (temperatura, tamaño de partícula y concentración de disolvente) influyen totalmente cuando se va a realizar una extracción de vainillina a partir de vainilla con la metodología propuesta.

Tabla 7

Análisis de varianza datos por medio de regresión lineal múltiple

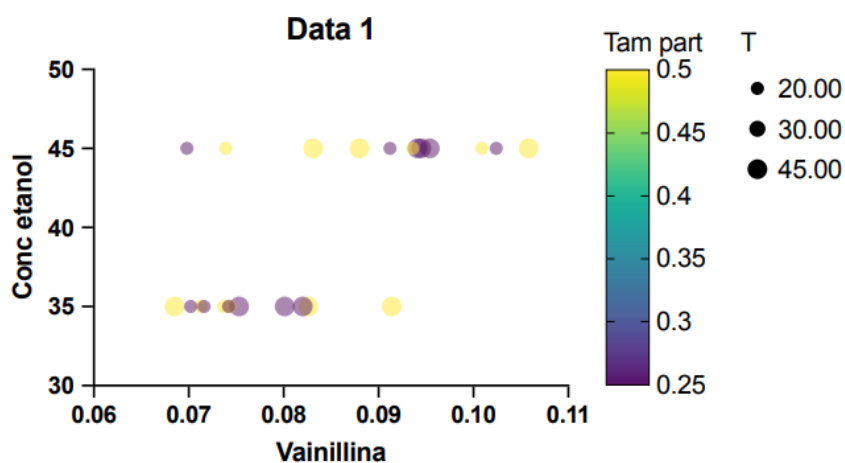
Parámetro	SS	DF	F-tasa	P-valor
Regresión	0.001541	3	6.60	0.0028
Concentración de etanol	0.001313	1	16.87	0.0005
Tamaño de partícula	1.654×10^{-6}	1	0.02125	0.8855
Temperatura	0.0002263	1	2.909	0.1036

Nota. (SS) corresponde a la suma de cuadrados y (DF) a los grados de libertad.

A pesar de la información que nos da el coeficiente global, este análisis estadístico también permite calcular los valores de P por variable de estudio en el cual, estos valores son superiores a 0.05 significando que no existe un cambio notable cuando se realizó la extracción de vainillina en el rango de temperaturas de 20 a 45°C ni a su vez con los tamaños de partícula planteados de $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ de pulgada respectivamente en sí, únicamente la variable de concentración de etanol es relevante para nuestro modelo experimental.

Figura 10

Concentración de vainillina expresado en % (w/w) según los 3 parámetros estudiados.



Nota. La concentración de etanol es expresada en % (v/v), T hace referencia a la temperatura en °C y Tam part al tamaño de partícula en pulgada.

Según los parámetros de prueba para extraer el compuesto aromático vainillina de las vainas curadas realizado en el apartado de metodología se pudo determinar con ayuda del análisis estadístico de regresión lineal múltiple en el cual, se puede observar como con un tamaño de partícula de $\frac{1}{2}$ o $\frac{1}{4}$ de pulgada que en la Figura 10 equivale al 0.5 y 0.25 respectivamente, con una concentración de etanol al 45% y una temperatura correspondiente a 45 °C o 20 °C son los más adecuados para obtener un extracto de vainilla con un % de vainilla superior a 0.1 recalando que a mayor concentración de etanol la extracción para vainillina será mejor; además, que entrarían en el rango de aceptación para un extracto genuino de vainilla según se comentó en el punto 3.1.

Tabla 8

Estimación de parámetros

Parámetro	Variable	Valor estimado	VIF
β_0	Intercepto	0.01572	-
β_1	Concentración de etanol	0.001479	1

β_2	Tamaño de partícula	0.0021	1
β_3	Temperatura	0.0002457	1

Nota. El coeficiente β_0 está expresado en unidades de % vainillina mientras el resto de los coeficientes como β_1 (%vainillina/Concentración de etanol), β_2 (%vainillina/Tamaño de partícula) y β_3 (%vainillina/Temperatura) y VIF corresponde al factor inflación de varianza.

Como ya se conoce gracias al análisis estadístico únicamente la concentración de etanol tiene una relación directa con nuestro modelo experimental con un coeficiente de determinación aproximadamente del 0.5, la función lineal queda expresada de la siguiente manera:

$$\%vainillina = \beta_0 + \beta_1 * \text{Concentración de etanol} + \beta_2 * \text{Tam. par} + \beta_3 * \text{Temperatura}$$

Cabe recalcar que la ecuación anterior es establecida para una predicción asertiva del 50% la cual fue establecida por el coeficiente de determinación, sin embargo, esta predicción del porcentaje de vainillina no debe salir del rango entre 35% a 45% de EtOH finalmente, en la tabla 8 aparte de brindar el valor de los coeficientes nos otorga el valor de VIF donde este valor al ser menor que 5 denota que no existe multicolinealidad, es decir, que no existe una correlación entre las variables independientes que de existir influiría en un error en la determinación de los coeficientes β .

3.3 Efecto del tamaño de partícula, temperatura y concentración del solvente

Como se mencionó en el marco teórico, el tamaño de partícula interfiere en la velocidad de extracción específicamente en la transferencia de masa donde teóricamente entre menor es el tamaño de partícula, beneficia a la tasa de transferencia del soluto hacia la disolución en consecuencia la extracción será más efectiva. En este caso se pudo determinar con el análisis estadístico no existió un beneficio de los tamaños de partícula seleccionados para la extracción de vainillina, esto se puede deber a que el tamaño propuesto no fue el adecuado para al máximo beneficiar la transferencia de masa.

Figura 11

Resultados del análisis ANOVA del escalado en donde únicamente varía el tamaño de partícula

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Experimento 1	3	0,337485423	0,112495141	1,94436E-05		
Experimento 2	3	0,359808009	0,119936003	6,95686E-05		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	8,30496E-05	1	8,30496E-05	1,866029055	0,24369246	7,708647422
Dentro de los grupos	0,000178024	4	4,45061E-05			
Total	0,000261074	5				

Cuando (Dong et al., 2014) realizó una comparación utilizando diferentes métodos de extracción por microondas asistido, ultrasonido asistido y maceración a partir de *V. planifolia* donde estudió el efecto del tamaño de partícula como el de la concentración de solvente obtuvo como resultado que en microondas como en maceración su rendimiento es mejor cuando se pulverizaron las vainas. En nuestro caso se aplicó inicialmente un proceso de maceración por lo cual es un aspecto que se puede tomar en cuenta y se podría afirmar que cuando se efectuó el escalamiento se obtuvo una mejora del 0.01 en %vainillina (w/w) con ¼ de pulg respecto a ½ de pulg.

Además, la teoría la transferencia de masa para la extracción sólido-líquido menciona que a menor de partícula se tendrá una mayor superficie de contacto de tal manera que, aumentando la elusión externa desde la superficie al disolvente, llegando a facilitar la transferencia de masa del soluto al disolvente (Ramírez Hernández et al., 2016). Sin embargo, el análisis ANOVA (Figura 11) no respalda lo antes mencionada debido a que se rechaza la hipótesis nula porque el valor calculado para F de 1.86 es menor al valor crítico de para F de 7.71 que lo ubica en la región de rechazo, es decir, el tamaño de partícula no tiene un efecto significativo respecto a la extracción de vainillina con la metodología propuesta.

En cambio, con la concentración de etanol sucede el efecto contrario. Cuando aumenta la concentración de etanol mejora la extracción de vainillina; como se observó en la tabla 6, este comportamiento sucede debido a que el disolvente a 45% (v/v) EtOH se acercaba a una polaridad similar a la vainillina, provocando una mejor extracción del compuesto aromático. Lo mencionado es respaldado por (Dong et al., 2014) quienes

mencionan que a una concentración de etanol al 70% (v/v) penetra en la célula causando deshidratación o disolviendo las membranas celulares puede llevar a la rotura o deformación de las células.

Finalmente, con la temperatura también se puede observar que en el nivel de 45°C los experimentos poseen un mejor porcentaje de vainillina respecto a los realizados a temperatura ambiente, sin embargo, con la temperatura mayor se puede observar como el extracto se tornaba más a un color marrón, es decir, que favorecía mayormente a la extracción de compuesto polifenólicos y pigmentos que posee la vainilla (Arroyo, 2016).

3.4 Comparación con otros métodos de extracción

Los extractos con mejor porcentaje de vainillina resultaron ser de 0.11% y 0.12% aproximadamente, cuando se realizó el escalamiento utilizando como método de extracción maceración estática y luego percolación. En este caso se logró la presencia mínima de vainillina para un extracto genuino de vainilla. Olmedo & Canizares (2015) proponen la extracción de vainillina utilizando como método el uso de microondas, obteniéndose un porcentaje de vainillina de 0.24%. Estos autores recalcan que su extracción es eficiente debido a la maceración dinámica que aplicaron durante 2 minutos, dos veces por día y por el uso del equipo microondas; ya que este libera energía que “emite radiación no ionizante que provoca movilización de las moléculas debido a la migración de iones y la rotación bipolar como resultado, mejora la eficiencia de la extracción debido a que aumenta el momento polar en las moléculas” (pp. 29-30).

Debido a la escasa literatura de obtención de extracto de vainilla respecto utilizando *V. tahitensis* se realizó una cuantificación de vainillina de un extracto comercial pure vainilla extract distribuido por la empresa TAHITIAN GOLD CO., INC. Para la cuantificación de este extracto se siguió la misma que se describió en el apartado de la metodología por HPLC en donde se obtuvo como resultado un 0.0871% (w/w) de vainillina, tomando este valor como referencia con respecto al mejor experimento con 0.1199% (w/w) se puede decir que los resultados de los mejores experimentos que se obtuvieron superan al extracto comercial

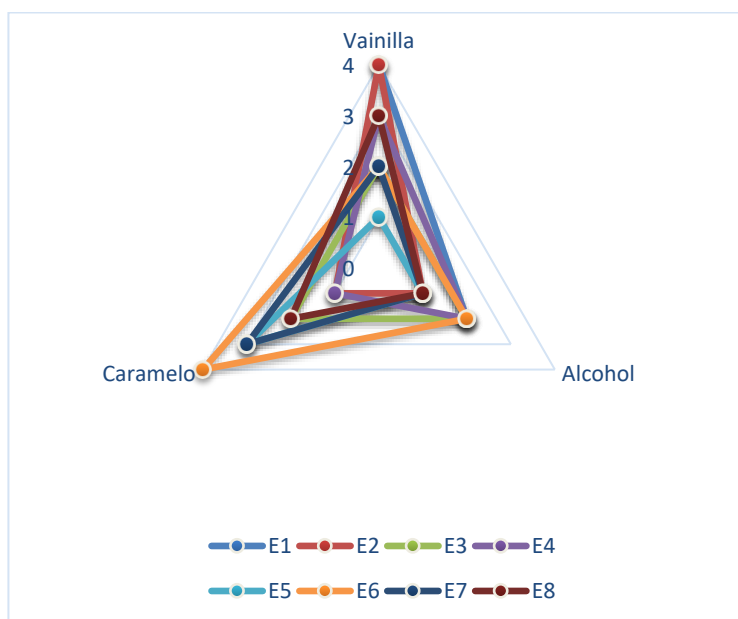
Un extracto de vainilla (Ahmad et al., 2020) manifiesta que suele ser de color marrón oscuro, debido al proceso de extracción que consiste en someter las vainas de vainilla en alcohol y agua es gracias a ello que el líquido resultante adquiere el color obscuro de las vainas. Según lo mencionado se puede decir que los experimentos 1 y 2 son los adecuados en cuanto al color debido a que según la gráfica de la Figura 12 presentan el color chocolate que es lo más cercano al color marrón oscuro.

3.5.2 Aroma

El aroma más representativo que presenta un extracto de vainilla para los catadores, como se puede observar en la Figura 13, se encuentra entre caramelo y vainilla seguido de presencia de alcohol. El extracto con más votos de aroma a vainilla resultó ser el experimento 2; mientras el experimento 6 fue caracterizado con aroma a caramelo. Brunschwig et al., (2016), quienes hicieron una investigación respecto a composición volátil y las propiedades sensoriales de *Vainilla tahitensis*, mencionan que el aroma depende principalmente del lugar de cultivo y de las condiciones del curado a las que fue sometida las vainas, por ejemplo: *V. tahitensis* de la polinesia francesa presentó un aroma afrutado fuerte en cambio, vainilla cultivada en Tahití tuvo una característica intensa a anís y caramelo.

Figura 13

Aroma predominante presente en los extractos de *Vanilla tahitensis*



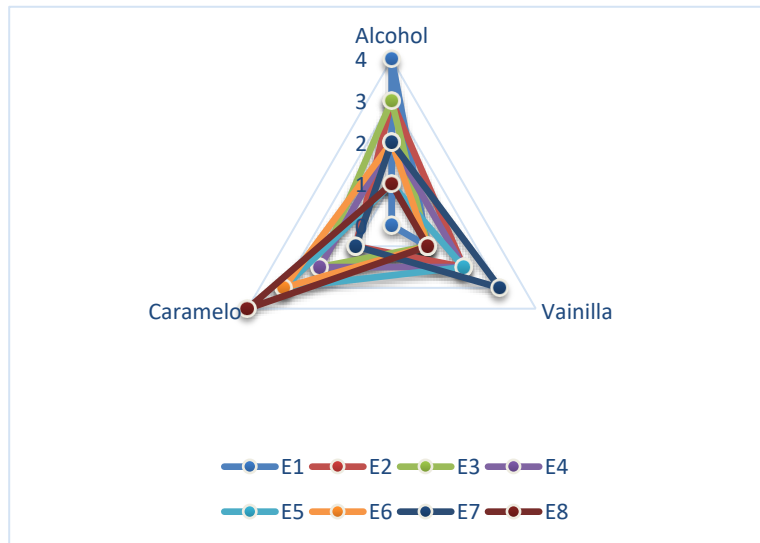
En otro estudio sobre el aroma que presenta la *V. tahitensis* (Takahashi et al., 2013) procedente de la polinesia francesa se encontró que esta especie de igual que lo que obtuvo (Brunschwig et al., 2016) maneja un perfil floral, afrutado a frutos secos y dulce. En sí, la información obtenida da a entender que en general un extracto para esta especie de vainilla presenta generalmente un aroma dulce, afrutado o floral.

3.5.3 Sabor

En cuanto al sabor se puede ver en la Figura 14 una tendencia a sabor caramelo y a alcohol donde predominaron estos dos sabores siendo obviamente los experimentos 1 y 2, los cuales presentan un sabor más alcohólico, porque se realizó su extracción con etanol al 45 %, mientras en el experimento 7 predomina una tendencia de gusto a vainilla. A diferencia del aroma donde persistía el aroma a vainilla como a caramelo se puede observar cómo, en el sabor persiste más la presencia de caramelo en los experimentos con una concentración de etanol al 35%.

Figura 14

Sabor predominante en los diferentes extractos de *Vainilla tahitensis*



Los resultados son casi similares a lo que obtuvo (Ruiz et al., 2020), sin embargo, en unos de su extracto comercial Virginia Dare presenta un sabor a caramelo y leche, aunque, los autores no mencionan la especie con la que se obtuvo los extractos.

Conclusiones

La metodología propuesta para la extracción del compuesto aromático vainillina a partir de la especie *V. tahitensis* es la adecuada para obtener extracto de vainilla superior a 0.1% cuando el tamaño de la muestra es mucho mayor a 10 gramos, usando una relación de materia prima-disolvente de 1:10, concentración de disolvente al 45% (v/v), tamaño de partícula de ¼ de pulg, temperatura 45 °C y con un flujo de percolación de 1 mL/min.

Para el método propuesto, únicamente la concentración de solvente es el factor que define la eficiencia de la extracción de vainillina, en el cual, a medida que aumenta la concentración de etanol la extracción mejora debido a que el disolvente al 45% de etanol se vuelve más polar, lo que facilita la extracción.

La obtención de extracto de vainilla utilizando como materia prima *Vanilla tahitensis* con el fin de que contenga un % (w/w) de vainillina que alcance los límites de 0.1-0.24 es una opción adecuada, sin embargo, no se espera tener porcentajes muy elevados de vainillina ya que presenta únicamente el 25% de todos los compuestos presentes en sus vainas en comparación a la especie típica para obtener extractos *V. planifolia* que representa un 80% de vainillina.

Recomendaciones

Se recomienda agregar como variable de estudio el tiempo de extracción de tal manera que se pueda definir el tiempo adecuado para extraer la vainillina en el método propuesto.

Se recomienda continuar con el estudio del método de extracción propuesto con tamaño de partícula menores a ½ de pulg y con una concentración de etanol superior al 45% (v/v).

Se recomienda por un periodo corto la maceración tornarla dinámica al menos 2 minutos por día.

Si el objetivo es obtener extracto de vainilla altos se recomienda utilizar como materia prima la *V. planifolia*.

Se recomienda realizar el estudio de la presencia del ácido vainílico, el *p*-hidroxibenzaldehído, el ácido *p*-hidroxibenzoico y de algunos compuestos anísicos como el anisaldehído, el alcohol anisílico, ácido anísico que presenta la especie *V. tahitensis* en los extractos.

Referencias

- AOAC. (2005). *AOAC official method 960.37: Plant Material (Formeign) in Vanilla extract: Paper Chromatographic Method*.
- Ahmad, H., Khera, R. A., Hanif, M. A., Ayub, M. A., & Jilani, M. I. (2020). Vanilla. En *Medicinal Plants of South Asia* (pp. 657–669). Elsevier.
- Arroyo, N. (2016). *Alternativas para mejorar el rendimiento de extracción de vainillina en frutos curados de vainilla*. [Tesis de pregrado, Universidad de Costa Rica]. <https://hdl.handle.net/10669/73545>
- Babío Núñez, B., González, M., Emilio, M., & González Gómez, J. (2019). *Extracción de vainilla y ácido vainílico empleando disolventes eutécticos profundos*. [Tesis de maestría, Universidad Politécnica de Madrid]. Repositorio digital de la Universidad Politécnica de Madrid. <https://oa.upm.es/65458/>
- Brunschwig, C., Collard, F.-X., Lepers-Andrzejewski, S., & Raharivelomanana, P. (2017). Tahitian vanilla (*Vanilla xtahitensis*): A vanilla species with unique features. En *Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants*. InTech.
- Brunschwig, C., Rochard, S., Pierrat, A., Rouger, A., Senger-Emonnot, P., George, G., & Raharivelomanana, P. (2016). Volatile composition and sensory properties of *Vanilla xtahitensis* bring new insights for vanilla quality control. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(3), 848–858. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7157>
- Bueso, J., M. J. (2008). *Constituyentes aromáticos del zumo de naranja. Efecto del procesado industrial*. [Tesis doctoral, Universidad de Murcia]. Repositorio digital de la Universidad de Murcia. <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/207>
- Butehorn U, Pyell U. 1996. *Micellar electrokinetic chromatography as a screening method for the Analisis of vanilla flavorings and vanilla extracts*. *J Chromatogr A* 736:321-332.
- Chambers, A., Moon, P., Edmond, Bassil, E., & Valdes, D. (2019). *Cultivo de vainilla en el sur de Florida*. *EDIS*, 2019(6), 8. <https://bit.ly/48AvB1P>

- Cicchetti, E., & Chaintreau, A. (2009). Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors. *Journal of separation science*, 32(11), 1957–1964. <https://doi.org/10.1002/jssc.200800650>
- Covarrubias, R., M. I. (2023). *Descripción morfológica y molecular de vainilla sp., (Orchidaceae) de la región Costa Sur del Estado de Jalisco*. [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana]. Repositorio institucional de la Universidad Veracruzana <https://bit.ly/3H4LRMS>
- Daoudi, J. (2014). *Nuevos modelos y técnicas estadísticas para el estudio de datos financieros*. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Divya, E., S, N. N., Parvathi, S., & V, P. M. (2013). Fabrication and Testing of Vanilla Extractor. *Kcaetlibrary.ml*. <http://14.139.181.140:8080/jspui/handle/123456789/81>
- Dong, Z., Gu, F., Xu, F., & Wang, Q. (2014). Comparison of four kinds of extraction techniques and kinetics of microwave-assisted extraction of vanillin from *Vanilla planifolia* Andrews. *Food Chemistry*, 149, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.052>
- Galindo, H. (2021). *Evaluación del desarrollo y la estabilidad de una emulsión de vainilla (Vanilla planifolia) a partir de un extracto no alcohólico*. *Biotecnia*, 23(3), 22-29. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i3.1409>
- Garnica, M. (2019). *Efecto del tipo de solvente sobre la concentración de compuestos bioactivos, saponinas y características físicas de extractos de hojas de guayaba (Psidium guajava L.) y aguacate (Persea americana Mill)*. *Uaemex.mx*. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/99169>
- Gonzalez Gonzales, M. (2019). *Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla liofilizado*. [Tesis de posgrado, Instituto Tecnológico de Veracruz]. Repositorio institucional del tecnológico nacional de México *Tecnm.mx*. <https://rinacional.tecnm.mx/jspui/handle/TecNM/2516>
- Luna Guevara, J. J., Luna Guevara, M. L., Amador Espejo G.G, Herrera Cabrera, B. E., Arévalo-Galarza, M. L., & Ruiz Espinosa, H. (2016). Caracterización fisicoquímica y

sensorial de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews con diferentes esquemas de beneficiado. *Agroproductividad*, 9(1), 34–40.

<https://biblat.unam.mx/es/revista/agroproductividad/articulo/caracterizacion-fisicoquimica-y-sensorial-de-vanilla-planifolia-jacks-ex-andrews-con-diferentes-esquemas-de-beneficiado>

Havkin Frenkel, D., & Belanger, F. C. (2018). *Handbook of vanilla science and technology* (Daphna Havkin-Frenkel & F. C. Belanger, Eds.). John Wiley & Sons

Salas, Y., Chávez, L., Hernández, I., & Hernández, J. (2017). Extracción y caracterización de aceite absoluto de Vainilla. *Revista de Sistemas Experimentales Vol. 4 (13)*, 1-8.

Sharp, M. D. (2009). *Analysis of Vanilla Compounds in Vanilla Extracts and Model Vanilla Ice Cream Mixes Using Novel Technology* [Master's thesis, Ohio State University]. OhioLINK Electronic Theses and Dissertations Center. http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=osu1258043461

Odoux, E., & Grisoni, M. (2009). *Vanilla* (Eric Odoux & M. Grisoni, Eds.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/ebk1420083378>

Olmedo-Suarez, M. A., & Canizares-Macías, M. P. (2015). Method for the production of natural vanilla extracts using a conventional microwave oven. *Current Microwave Chemistry*, 2(1), 24–31. <https://doi.org/10.2174/221333560201150212103234>

Ortega, A., Borges, P., Roncal, E., Rogert, E., & A, P. J. (2013). *Obtención de extracto de café por percolación*. *Aquadocs.org*. <https://doi.org/0864-4497>

Ramírez Hernández, D., Moreno Quintero, M., Curbelo Hernández, C., & Crespo Zafra, L. (2016). Influencia del tamaño de partícula y la velocidad de agitación sobre el rendimiento de pectina. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(1), 98-105.

Rodríguez Deméneghi, M. V., Ramírez Mosqueda, M. A., Armas-Silva, A. A., Aguilar-Rivera, N., & Gheno-Heredia, Y. A. (2022). Biofábricas de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks.) en México como oportunidad de desarrollo agrario. *Cuadernos de biodiversidad*, 63, 49–54. <https://doi.org/10.14198/cdbio.21952>

- Ruiz, L., Ramírez, S., Mota, L., Galván, O., Flores, A. (2020). *Correlación del análisis sensorial de vainilla de vaina verde y la presencia de sus principales componentes aromáticos* [Congreso]. XVIII Congreso Nacional de Ingeniería química, Veracruz, México. <https://docplayer.es/78230060-Correlacion-del-analisis-sensorial-descriptivo-de-los-extractos-de-vainilla-de-vaina-verde-y-la-presencia-de-sus-principales-componentes-aromaticos.html>
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (Vol. 78). CAB
- 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(4), 299–326. <https://doi.org/10.1080/09687630701539350>
- Torres Ramón, E. (2019). *Síntesis del proceso para la producción de una suspensión concentrada de extracto de vainillina libre de alcohol*.
- Takahashi, M., Inai, Y., Miyazawa, N., Kurobayashi, Y., & Fujita, A. (2013). Identification of the key odorants in Tahitian cured vanilla beans (*vanilla tahitensis*) by GC-MS and an aroma extract dilution 40nálisis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(3), 601–605. <https://doi.org/10.1271/bbb.120840>
- Uzcátegui Izurieta, N. (2014). *Plan de negocios para Cocoa-Nilla licor cremosos de cacao y vainilla*. [Tesis de maestría, Universidad San Francisco de Quito]. Repositorio digital USFQ. <https://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/3759>
- Valdez Flores, C., & Cañizares Macias, M. (2007). On-line dilution and detection of vainillin in vanilla extracts obtained by ultrasound. *Food Chemistry*, 105(3), 1201–1208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.028>
- Winton, A. L., & Silverman, M. (1902). The Análisis of vanilla extract. *Journal of the American Chemical Society*, 24(11), 1128–1135. <https://doi.org/10.1021/ja02025a019>

Apéndice

Apéndice A. Cuantificación de vainillina

Figura A1

Áreas obtenidas a partir de los cromatogramas de cada experimento realizado

	#Experimento	Área pico vainillina	Área pico guaiacol	Área relativa	Con relativa	mg guayacol	% vainillina
Inicial	1	3351,1221	345,11496	9,710161797	0,665029089	0,125	0,083128636
	2	4054,1272	365,5234	11,0912932	0,755964788	0,125	0,094495598
	3	3862,8419	351,637	10,98531127	0,748986784	0,125	0,093623348
	4	2987,4321	369,2816	8,089848235	0,558345288	0,125	0,069793161
	5	3329,9631	345,0701	9,650106167	0,661074939	0,125	0,082634367
	6	3672	383,7277	9,56928572	0,655753603	0,125	0,0819692
	7	2947,4331	344,2163	8,562735408	0,589480867	0,125	0,073685108
	8	2907,6331	355,4863	8,17931127	0,564235664	0,125	0,070529458
Duplicado	1	4260,1240	343	12,4640221	0,846347254	0,125	0,105793407
	2	4054,2043	362	11,19988326	0,763114515	0,125	0,095389314
	3	4234,7197	356	11,88108283	0,807965685	0,125	0,100995711
	4	4245,9810	352	12,05352573	0,819319577	0,125	0,102414947
	5	3809,3682	356	10,71032838	0,73088151	0,125	0,091360189
	6	3054,8945	349	8,759142222	0,602412577	0,125	0,075301572
	7	3120,1221	361	8,631463385	0,594006017	0,125	0,074250752
	8	2923,0898	352	8,303913912	0,572439683	0,125	0,07155496
Triplicado	1	3757,9504	364,56	10,30818082	0,70440353	0,125	0,088050441
	2	3940,3035	356,9367	11,03922208	0,75253635	0,125	0,094067044
	3	3357,0193	390,7347	8,591556624	0,591378498	0,125	0,073922312
	4	3736,4233	349,6153	10,68724195	0,729361466	0,125	0,091170183
	5	2870,7751	361,9206	7,93205775	0,547956133	0,125	0,068494517
	6	3562,1162	381,4901	9,337375203	0,640484277	0,125	0,080060535
	7	3093,5498	374,0465	8,270495246	0,57023935	0,125	0,071279919
	8	3136,7866	363,7892	8,622539097	0,593418429	0,125	0,074177304

Figura A2

Áreas obtenidas en el escalado y para el extracto comercial

Inicial	1	4432,1348	330,7829	13,39892	0,907902527	0,125	0,113487816
	2	4961,7065	330,4827	15,0135	1,014209479	0,125	0,126776185
Duplicado	1	4137,4521	325,9758	12,6925	0,861391432	0,125	0,107673929
	2	4564,1182	315,1952	14,4803	0,979101326	0,125	0,122387666
Triplicado	1	4615,745	335,8495	13,7435	0,930589429	0,125	0,116323679
	2	4318,7539	330,8526	13,0534	0,885153264	0,125	0,110644158
Inicial		5022,8087	469,3032	10,7027	0,730378874	0,125	0,091297359
Duplicado		4733,1279	477,2774	9,9169	0,678643192	0,125	0,084830399
Triplicado		4864,3286	488,8258	9,9510	0,680889333	0,125	0,085111167

Nota. El color celeste hace referencia a las áreas del extracto comercial.

Apéndice B. Cuestionario para evaluación sensorial

VALIDACIÓN SENSORIAL

La presente prueba sensorial tiene como objetivo principal validar un **extracto de vainilla**, que se ha desarrollado dentro del proyecto o trabajo de titulación denominado **Diseño de metodología para obtener el extracto de vainilla (*Vainilla tahitensis*) mediante percolación**.

Se realizarán algunas validaciones por lo que se le pide de la manera más comedida conteste con sinceridad cada una de las siguientes interrogantes:

Agradecemos de antemano su predisposición

1. A continuación, se le presentan ocho muestras de extracto de vainilla, entre ellas difiere la concentración de vainilla agregada, se recomienda que entre muestras se beba un sorbo de agua para limpiar las papilas gustativas. Se le pide de la manera más comedida ordene de mayor a menor según su agrado de aceptación.

Ordene las muestras según su grado de aceptación

MUESTRAS	ORDENE DE MAYOR A MENOR SIENDO 1 EL MENOR Y EL 8 EL DEL MAYOR ACEPTACIÓN
2022	
2019	
2021	
2005	
2023	
2001	
2000	
2002	

EJEMPLO

MUESTRAS	ORDENE DE MAYOR A MENOR SIENDO 1 EL MENOR Y EL 5 EL DEL MAYOR ACEPTACIÓN
2456	2
4892	1
0765	4
3256	3

2. A continuación, de la muestra que presentó en la pregunta anterior su mayor aceptación le pedimos comedidamente nos describa los atributos sensoriales que usted reconoce de este y que mejoras le consideraría hacer.

Código:.....

Describe cada uno de los atributos sensoriales del producto según su percepción

Color:

.....

Aroma:

.....

Sabor:

.....

Otros:

.....

Desde el punto de vista como consumidor, ¿Adquiriría el extracto de vainilla que se le acaba de presentar?

Si () No () Tal vez ()

3. Una vez validado el extracto de su preferencia ¿Qué aplicación le daría?

- Industria Alimentaria (como saborizante, elaboración de licores, etc.)
- Industria Cosmética (perfumes, cremas, etc.)
- Industria Gastronómica (repostería, etc.)

OBSERVACIONES:

.....
.....
.....

¡MUCHAS GRACIAS!