BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

METABOLOMA DEL FRUTO de *Vanilla* spp.

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

VALERIA FRAGOSO GUTIÉRREZ

DIRECTOR: DR. DELFINO REYES LÓPEZ
(FCA y P-BUAP)

CODIRECTOR: DR. JOSÉ JUAN ORDAZ ORTIZ
(UGA-Langebio-CINVESTAV)

JUNIO 2024

AGRADECIMIENTOS

A mis papás, por brindarme su apoyo, por ayudarme a tener oportunidades, por darme su cariño desde la distancia y esforzarse para cumplir nuestros anhelos.

A Dani, por estar, aunque nos separen kilómetros, por ser ejemplo de perseverancia y brindarme su apoyo.

A Cris, por motivarme a seguir siempre, por estar y ser mi apoyo, por ser ejemplo de poder.

Al Dr. Delfino Reyes López, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y ayudarme a abrirme nuevas oportunidades profesionales y personales. Por los conocimientos que me brindó y por su calidez humana como asesor y como persona.

Al Dr. Fernando López Morales, por la orientación en mi tesis y los conocimientos que me compartió. Por brindarme su apoyo tanto en el ámbito académico como en el personal, además de su amistad.

Dr. José J. Ordaz Ortiz, por permitir integrarme en su laboratorio y brindarme nuevos conocimientos que me sirvieron para desarrollarme mejor académicamente.

Dr. Moisés Esperanza Guerrero, por guiarme durante la elaboración de mi investigación y brindarme su apoyo.

Al equipo de vainilla/maíz, por brindarme un espacio seguro en el que poder aceptar cuando desconozco algo y ayudarme a aprender. Por apoyarme y por las alegrías que compartimos. Especialmente a Regi, Dani, Jorge, al Dr. Delfino y al Dr. Fernando.

Al equipo de Metabolomics Lab por brindarme su apoyo y hacer mi estancia más amena. Principalmente a Naye, Anita y Fer.

A quienes estuvieron en mi vida y me brindaron su apoyo, porque siempre ha habido alguien.

DEDICATORIA

A Mo, que ha sido compañera de vida y de desvelos. Por darme la tranquilidad en los momentos complicados. Por ser la mejor vivencia. Por ser parte de mí.

A Ro, con quien siempre puedo encontrarme aprendiendo de la vida y disfrutando de ella.

A mis abuelos, que siempre han estado, porque nos brindan el amor a su manera.

A Adri, que podemos elegir lo que nos haga feliz y seguir coincidiendo.

“Porque nadie se convierte en algo de un día para otro.”

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 14

II. ANTECEDENTES 17

2.1. Género *Vanilla* 17

2.1.1. Origen y taxonomía 17

2.1.2. Características del género 18

2.2. Importancia de la vainilla 19

2.2.1. La vainilla como cultivo 19

2.2.3. Conservación del género *Vanilla* 25

2.3. Metabolitos 28

2.3.1. Origen y función 28

2.3.2. Metabolitos primarios y secundarios en plantas 30

2.3.3. Metabolitos de la vainilla 32

2.4. Metabolómica 33

2.4.1. Fundamentos de la metabolómica 33

2.4.2. Metabolómica dirigida y no dirigida 35

2.4.3. Aplicación de la metabolómica en el estudio de plantas 35

2.4.4. Técnicas analíticas 37

III. JUSTIFICACIÓN 39

IV. HIPÓTESIS 41

V. OBJETIVOS 42

***5.1.* Objetivo general** 42

5.2. Objetivos específicos 42

VI. MATERIALES Y MÉTODOS 43

6.1. Material vegetal 43

6.2. Extracción de metabolitos 44

6.3. Análisis metabolómico no dirigido 46

6.4. Análisis metabolómico dirigido 47

6.5. Análisis de datos 50

6.5.1. Identificación de metabolitos 50

6.5.2. Cuantificación de metabolitos principales 51

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 53

7.1. Análisis metabolómico no dirigido 53

7.1.1. Ánálisis no dirigido en *Vanilla inodora* 61
7.2. Análisis dirigido 64
VIII. CONCLUSIONES 68
IX. BIBLIOGRAFÍA 70
X. ANEXOS 80

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de la vainilla de acuerdo con el grado de calidad. **21**

Cuadro 2. Producción agrícola del año 2022 de los estados mexicanos productores de vainilla. **24**

Cuadro 3. Los cuatro principales tipos de metabolitos secundarios presentes en plantas. **31**

Cuadro 4. Material biológico de vainilla utilizado para el estudio metabolómico. . **44**

Cuadro 5. Estándares empleados para el análisis metabolómico **45**

Cuadro 6. Método cromatográfico en gradiente. **46**

Cuadro 7. Método cromatográfico en gradiente**.** **48**

Cuadro 8. Longitud de onda analítica correspondiente a los estándares. GlucVan: glucovainillina; Van: vainillina; VA: ácido vainíllinico; HBD: 4-hidroxibenzaldehído; HBA: ácido 3,4-hidroxibenzoíco; EtVan: etilvainillina. **49**

Cuadro 9. Parámetros considerados para la curva de calibración. GlucVan: glucovainillina; Van: vainillina; VA: ácido vainillínico; HBD: 4-hidroxibenzaldehído; HBA: ácido 3,4-hidroxibenzoíco; EtVan: etilvainillina. **49**

Cuadro 10. Diluciones por especie. VP: *V. planifolia*; VOB: *V. planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia*; VO: *V. odorata*; VIN: *V. inodora*; VIS: *V. insignis*; VO-24: *V. odorata*-24. ..... **50**

Cuadro 11. Curva de calibración de los estándares **52**

Cuadro 12. Algunos de los metabolitos estadísticamente significativos **55**

Cuadro 13. Concentración en cada especie de metabolitos contemplados en la NMX-FF-074-SCFI-2009, expresado en µg/mg ± la desviación estándar. GlcVan: glucovainillina, Van: vainillina, VA: ácido vainíllico**,** HBD: 4-hidroxibenzaldehído, HBA: ácido 3,4-hidroxibenzóico **64**

Cuadro 14. Porcentaje de metabolitos expresado en mg por cada 100 mg de tejido ± la desviación estándar. GlcVan: glucovainillina, Van: vainillina, VA: ácido vainíllico, HBD: 4-hidroxibenzaldehído, HBA: ácido 3,4-hidroxibenzóico. **66**

Cuadro 15. Concentraciones de los principales compuestos de frutos de vainilla requeridas por la NMX-FF-074-SCFI-2009. ..... **66**

Cuadro 16. Metabolitos pre-identificados. En la tabla se muestra el nombre del compuesto y su característica molecular (m/z). **80**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rutas para la síntesis de vainilla natural. Se hace referencia a las empresas que han desarrollado diferentes técnicas para la síntesis de vainillina a partir de fuentes naturales. **22**

Figura 2. Rutas metabólicas de sintesís de la vainillina. **37**

Figura 3. Mapa de la ubicación del banco de germoplasma de la BUAP en el municipio de Tenampulco, Puebla. **43**

Figura 4. Método cromatográfico en forma de rampa del análisis no dirigido **47**

Figura 5. Método cromatográfico en forma de rampa del análisis dirigido **48**

Figura 6. Cromatograma y tiempos de retención en ionización negativa de los estándares empleados. **53**

Figura 7. Cromatograma y tiempos de retención en ionización positiva de los estándares empleados **53**

Figura 8. Los metabolitos marcados con mayor intensidad de color son aquellos que presentaron un p-value < 0.05 de acuerdo con la prueba de ANOVA**.**..... **54**

Figura 9. Boxplot que muestra el valor de p-value del compuesto lesinina **56**

Figura 10. Análisis de componentes principales correspondiente a los frutos de *Vanilla* spp. Componente 1: 39.8 %; componente 2: 23.6 %. El significado de color se encuentra indicado en la leyenda: **V in (***V. inodora***), V ins (***V. insignis***), V od (***V. odorata***), V plan (***V. planifolia***), Vo-24 (***V. odorata* -24, **Vp "OB" (***V. planifolia* cv. "oreja de burro" x *V. planifolia***).** **57**

Figura 11. Los metabolitos mostrados en el gráfico de PLS-DA son aquellos que mejor identifican a cada grupo. En el eje x se indica la importancia de las variables en la proyección (VIP); el eje y corresponde al metabolito. En la parte derecha, de acuerdo con el color, se indica la concentración relativa del metabolito correspondiente en cada grupo de vainilla. **V in (***V. inodora***), V ins (***V. insignis***), V od (***V. odorata***), V plan (***V. planifolia***), Vo -24 (***V. odorata* -24**), Vp "OB" (***V. planifolia* cv. "oreja de burro" x *V. planifolia***).** **58**

Figura 12. Gráfico de boxplox construidos a partir de las variables normalizadas partiendo de los metabolitos más representativos entre las muestras. **59**

Figura 13. Representación en heatmap de los metabolitos preidentificados en las muestras de *Vanilla* spp. El color de cada celda corresponde a un valor de concentración, teniendo una escala de -2 a 2: **V in (***V. inodora***), V ins (***V. insignis***), V od (***V. odorata***), V plan (***V. planifolia***), Vo -24 (***V. odorata* -24**), Vp "OB" (***V. planifolia*** cv. "oreja de burro" x *V. planifolia***).** **60**

Figura 14. Los metabolitos marcados con mayor intensidad de color son aquellos que presentaron un p-value < 0.05 de acuerdo con la prueba de T. **61**

Figura 15. Volcanoplot. Del lado derecho (color rojo) del gráfico se sitúan los metabolitos que presentan un valor de significancia mayor **62**

Figura 16. Los metabolitos mostrados en el gráfico de PLS-DA son aquellos que mejor identifican a cada grupo. En el eje x se indica la importancia variable en la proyección (VIP); el eje y corresponde al metabolito. En la parte derecha, de acuerdo con el color, se indica la concentración relativa del metabolito correspondiente en cada grupo de vainilla. **V in (***V. inodora***), *Vanilla spp*** **(**engloba al resto de especies incluidas dentro del análisis). **63**

Figura 17. Graficos de boxplot que muestran el promedio de la concentración de cada metabolito cuantificado. VIN (*V. inodora*), VIS (*V. insignis*), VOD (*V. odorata*), VP (*V. planifolia*), VO-24 (*V*. *odorata* -24), VOB (*V. planifolia* cv. "oreja de burro" x *V. planifolia*). GlcVan: glucovainillina, Van: vainillina, VA: ácido vainíllico, HBD: 4-hidroxibenzaldehído, HBA: ácido 3,4-hidroxibenzóico..... **65**

Figura 18. A partir del PCA de obtiene el gráfico de sedimentación en el cual la línea superior indica el valor de la varianza acumulada explicada, mientras que la inferior corresponde a la varianza de cada componente. **95**

Figura 19. Curvas de calibración de los metabolitos cuantificados en. GlcVan: glucovainillina, Van: vainillina, EtVan: etilvainillina, AHB: ácido 3,4-hidroxibenzóico, VA: ácido vainíllico, HBD: 4-hidroxibenzaldehido. **96**

METABOLOMA DE *Vanilla spp*.

RESUMEN

Vanilla es el único género de la Familia Orchidaceae que se encuentra compuesto por especies apreciadas en la industria alimenticia. Está integrado por alrededor de 110 especies distribuidas en regiones tropicales. Las plantas de vainilla son apreciadas por sus propiedades aromáticas y saborizantes, *Vanilla planifolia* es la principal especie comercializada. Sin embargo, son diversas las especies del género las que no se cultivan pues no se conocen a profundidad muchas de sus propiedades y potencial en la industria. Incluso, algunas especies de vainilla se consideran amenazadas, principalmente por la destrucción del hábitat, aunada a su colecta desmedida.

Por ser un género apreciado a causa de su carácter aromático y saborizante debido a los metabolitos que sintetiza, y que, además posee especies dentro de él de las que se desconocen sus propiedades, se llevó a cabo un estudio metabolómico del fruto verde de algunas cruzas de cultivares y especies del género. Las muestras utilizadas pertenecen a *V. planifolia*, la cruza *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x *V. planifolia*, *V. inodora*, *V. insignis*, *V. odorata* y *V. odorata*-24, siendo esta última la aplicación de un tratamiento hídrico. Dicho estudio consistió en la aplicación de un enfoque dirigido en el que se cuantificaron algunos de los principales metabolitos de la ruta de la vainillina y otro no dirigido con el propósito de obtener un perfil global metabolómico.

A partir del análisis realizado se pre-identificaron un total de 742 metabolitos de los cuales 632 mostraron ser estadísticamente significativos (p-value < 0.05). En concordancia con el análisis de componentes principales (PCA) y el heatmap obtenidos, *Vanilla inodora* presentó las mayores diferencias con el resto de las especies analizadas. A partir de la cuantificación se determinó que todas las especies incluidas en el análisis presentan un contenido de vainillina, la mayor concentración se presentó en *V. planifolia* y la cruza *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x *V. planifolia.* Aunque se conocen algunos de los aspectos que componen el metaboloma de *Vanilla spp*. es importante realizar nuevos estudios que

permitan conocer con certeza los procesos relacionados con la síntesis de metabolitos, sus rutas metabólicas y la función que tienen en el organismo.

ABSTRAC

Vanilla is the only genus of the Orchidaceae family that is integrated by species appreciated in the food industry. It is composed of about 110 species distributed in tropical regions. Vanills plants are appreciated for their aromatic and flovoring properties, *Vanilla planifolia* is the most commercialized species. However, there are several species of the genus that are not cultivated because many of their properties and potential in the industry are not well know. Many vanilla species are threatened mainly due to habitat destruction and excessive collection. Vanilla plants are valued for their aromatic and flavoring properties, with *Vanilla planifolia* being the main commercialized species. However, there are several species of the genus that are not cultivated because many of their properties and potential in the industry are not well known, and some of them are at risk of extinction.

Since this genus is appreciated because of its aromatic and flavoring character due to the metabolites it synthesizes and has species within it whose properties are unknown, a metabolomic study of the fruit of some species of the genus was carried out. The samples used belong to *V. planifolia*, the cross *V. planifolia* cv. "oreja de burro" x *V. planifolia*, *V. inodora*, *V. insignis*, *V. odorata* and *V. odorata*-24, the latter being the applicatin of a hydric treatment. This study consisted of the application of a targeted approach in which some of the main metabolites of the vanillin pathway quantified and a non-targeted approach with the propuse of obtaining a global metabolomic profile.

In this analysis, a total 742 metabolites were pre-identified, of which 632 were statistically significant (p-value < 0.05). According to the principal component analysis (PCA) and heatmap obtained, *Vanilla inodora* presented the greatest differences with the rest of the species analyzed. From the quantification, it was determined that all the species included in the analysis present a vanillin content, the highest concentration being in *V. planifolia* and the cross *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x V. planifolia. Although some aspects that compose the metabolome of *Vanilla spp.* are known, it is important to carry out new studies that allow us to

know with certainty the processes related to the synthesis of metabolites, their metabolic routes and they function in the organism.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Vanilla* se compone por alrededor de 110 especies de distribución pantropical, con mayor diversidad en América (Fouché y Jouve, 1999). Pese a ser un género que se encuentra bien definido, existe controversia en torno al número de especies y nombres que deberían ser incluidos dentro de su clasificación (Gamboa-Gaitán, 2014). Junto a otras especies del género, las poblaciones de vainilla en estado silvestre son cada vez más difíciles de encontrar a causa de las amenazas que presentan, siendo la destrucción y degradación del hábitat las más impactantes, así como, la intensidad de colecta (Villanueva-Viramontes, 2017). La especie *Vanilla planifolia*, considerada una de las más importantes debido a sus propiedades aromáticas y saborizantes, se encuentra dentro de las especies enlistadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 en respuesta a los riesgos que presentan las poblaciones silvestres (Villanueva-Viramontes, 2017; Pardío *et al*., 2018).

En México, gran parte de la producción de vainilla se ha destinado a la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y perfumería, e inclusive en la industria tabacalera como aromatizante (Zamora-Flores, 2015). Sin embargo, alrededor de los años 50´s del siglo pasado, su producción comenzó a presentar un decremento por los costes y prácticas culturales, ocasionando el inicio de la síntesis de metabolitos de vainilla de manera industrial, elaborada a partir de compuestos inorgánicos, representando un riesgo para el cultivo de vainilla (Guevara-Arroyo y Martel-Lozada, 2018).

Pese a ser pocas las especies de vainilla que se cultivan, esta práctica es importante porque posee gran valor cultural al mantener un profundo arraigo con alguno pueblos ancestrales, principalmente el Totonaca. Su importancia económica se debe al comercio del fruto de esta planta, al ser la única orquídea demandada en la industria alimenticia por sus propiedades saborizantes, resultado principalmente de la síntesis de vainillina, 4-hidroxibenzaldehído, ácido 3,4-hidroxibenzóico y ácido vainíllico (Cervantes-Castillo, 2017; Babío-Núñez, 2019).

El cultivo de vainilla depende en gran medida de los trabajos de fitomejoramiento, por lo que es importante considerar aquellas especies subcultivadas, de las cuales aún se desconocen diversos aspectos, como fases de crecimiento, maduración del fruto y manejo del cultivo (Herrera-Cabrera *et al*., 2016). Existen diversas formas de manejo del cultivo adecuadas a los sitios de cultivo que, aunado al proceso de beneficiado, influye en la calidad del fruto (Ibarra-Cantún *et al*., 2018; Tavares de Oliveira *et al*., 2022). Dentro del género se sintetizan compuestos que entre sus propiedades se encuentra un potencial antimicrobiano y antioxidante. Sin embargo, aún son poco conocidos estos compuestos, así como, la manera en la que factores ambientales y formas de manejo del cultivo influyen en su síntesis (Ibarra-Cantún *et al*., 2018a).

Los seres vivos se encuentran constituidos como sistemas abiertos, generándose un intercambio de energía y materia con su medio a través de diversos procesos físicos y químicos denominados metabolismo (Lozano *et al*., 2005). Como parte de éste, los seres vivos presentan una serie de reacciones en las que participan distintas enzimas encargadas de regularlo, a la par de la producción de biomoléculas mucho más complejas mediante el proceso denominado anabolismo o la degradación de las mismas mediante catabolismo (López-Riojas *et al*., 2015). Como producto final o intermedio de las distintas reacciones metabólicas y químicas que ocurren en el organismo de los seres vivos, se obtienen metabolitos los cuales reflejando la fisiología de éste (Méndez-Rodríguez *et al*., 2019). Es así como, en las plantas existe el metabolismo primario encargado de funciones vitales de la planta y el metabolismo secundario, responsable de la síntesis de compuestos químicos naturales específicos, muchos de ellos como respuesta adaptativa al medio (Carrari *et al*., 2004; Lustre-Sánchez, 2022).

La metabolómica se fundamenta principalmente en el estudio del conjunto de metabolitos que se encuentran presentes en un organismo desde un enfoque analítico completo no selectivo (Heinrich, 2015; Portoles *et al.,* 2021). Resultan bastante complejas las aplicaciones que se le pueden dar, a causa de la gama de compuestos metabólicos que poseen los seres vivos, los cuales pueden ser

encontrados a concentraciones diferentes y propiedades fisicoquímicas particulares (González-Ibarra, 2018). Así mismo, indica los patrones metabólicos de cada sistema biológico, lo que constituye el perfil metabólico de células, tejidos y organismos (Carrari *et al.,* 2004; Heinrich, 2015; Bernal-Ruíz, 2015).

Junto al uso de otras ciencias ómicas, la metabolómica permite la obtención de conocimiento holístico de los sistemas biológicos y su respuesta ante determinados cambios (Barallobre-Barreiro *et al*., 2013). Para la realización de este tipo de estudios es necesario determinar la cantidad de metabolitos que se desean analizar, para así, definir el tipo de enfoque que se llevará a cabo, ya sean éstos del tipo dirigidos, enfocados en la detección de metabolitos ya estandarizados, y no dirigidos, constituyendo un perfil global de los mismos (Yanes, 2015).

Resulta necesario la realización de estudios enfocados a la identificación del conjunto de compuestos fitoquímicos que se encuentran presentes en el género *Vanilla* para conocer a profundidad sus propiedades y posibles aplicaciones, así como, su estado de conservación y variabilidad genética (Cervantes-Castillo, 2017). Por ello, el objetivo de la presente investigación fue caracterizar el metaboloma de algunas especies pertenecientes al género *Vanilla*, partiendo del análisis de los metabolitos presentes en los frutos, se buscó su identificación y cuantificación de aquellos considerados en la NMX-FF-074-SCFI-2009, mediante análisis de metabolómica dirigida y no dirigida.

II. ANTECEDENTES

2.1. Género *Vanilla*

2.1.1. Origen y taxonomía

La vainilla ha sido nombrada de formas distintas en diferentes partes del mundo, siendo *Caxi Xánath* (flor recóndita) el nombre por el que se le conoce en la cultura totonaca, misma con la cual posee un profundo arraigo (Castelán-Culebro *et al*., 2021). En 1703, el reverendo Charles Plumier acuñó por primera vez el término "*Vanilla*" como nombre genérico durante su estudio de plantas en el Caribe.

El género *Vanilla* está constituido por alrededor de 110 especies, las cuales se distribuyen entre los 27° latitud norte y sur, encontrándose en todos los continentes exceptuando Australia. Debido a esto, es una especie pantropical, con distribución geográfica bien definida, lo que sitúa al continente americano como el lugar de origen de la vainilla con base en la filogenia molecular (Fouché y Jouve, 1999; Bory *et al*., 2008; Soto Arenas y Cribb, 2010). En México, la distribución de poblaciones de vainilla se encuentra correlacionada principalmente a ecosistemas con climas tropicales del suroeste del país, como Chiapas, Oaxaca y Quintana Roo, al igual que en Puebla y Veracruz (Armenta-Montero *et al*., 2022).

El género se clasifica dentro de la Familia *Orchidacea*e, plantas monocotiledóneas que se caracterizan por un crecimiento herbáceo y hermafroditas, para lo cual destaca su arreglo floral y las interacciones ecológicas que pueden ser un tanto complejas con determinados agentes polinizadores y micorrícicos. A su vez, a la familia la constituyen las subfamilias Cypripedioideae y Vanilloideae, siendo miembros de ésta última todas las especies de vainilla, grupo monofilético, integrando a su vez la tribu Vanilleae y subtribu Vanillinae (Gamboa-Gaitán, 2014; Li *et al*., 2019; Tavares- de Oliveira *et al*., 2022).

De acuerdo con Soto-Arenas y Cribb (2010), el grupo de vainillas cuenta con una clasificación infragenérica, en la que se reconocen dos secciones: Aphyllae y Foliosae; proponiendo a su vez una división en dos subgéneros: Vainilla y Xanata (Xanata y Tethya). En los tipos de vainilla cultivadas ha sido posible identificar quimiotipos a partir de diferencias genéticas o polimorfismos generados por el

proceso de selección (domesticación) al que se ha sometido. Sin embargo, Flores-Jiménez y colaboradores (2017), consideran que el género no ha pasado por una etapa de domesticación en su totalidad, ya que muchas especies que lo integran aún conservan características de sus parientes silvestres (Herrera-Cabrera *et al*., 2016).

2.1.2. Características del género

De acuerdo con Tavares-de Oliveira y colaboradores (2022), el género *Vanilla* está conformado por plantas perennes herbáceas hemiepífitas y epífitas, con algunas excepciones de hábitos terrestres. Presentan crecimiento monopodial con raíces subterráneas pilosas, tallo grueso y carnoso con entrenudos en los que se desarrollan raíces aéreas, mismas que le sirven para adherirse a un soporte.

Las flores miden entre 6 y 8 cm, de crecimiento racemoso, presentando dos pétalos similares a sépalos, teniendo un tercer pétalo que presenta una modificación en forma de labio llamado labelo, con un par de polinias. Las hojas son de forma lanceolada o elíptica, no se encuentran articuladas, son coriáceas o carnosas, siendo sésiles o atenuadas en un pseudopeciolo, pudiendo incluso estar ausentes (Chambers *et al*., 2019). Los órganos florales en algunas especies de vainilla se encuentran estrechamente relacionados a sus polinizadores que, junto a los mecanismos de polinización, influyen en gran medida en la variabilidad genética debido a la especificidad que presentan (Gamboa-Gaitán, 2014).

Aunque el grupo de las vainillas sean considerado monofilético y un grupo basal dentro de las orquídeas, los caracteres florales son complejos. La reproducción sexual de manera natural ocurre raramente pues, la estructura floral conocida como róstelo impide el contacto directo de los estambres con el estigma, dificultando la polinización, exceptuando especies como *V. palmarum* y *V. inodora* (Bory *et al*., 2008). Los frutos son carnosos con semillas de cubierta dura, dividiendo el género en dos clados: la especie tipo, *Vainilla mexicana*, y las especies cultivadas con frutos aromáticos (Soto Arenas & Cribb, 2010).

Según afirma Gamboa-Gaitán (2014), contrario a lo que estipulan otros autores en sus descripciones taxonómicas, los frutos son cápsulas y no vainas. Posiblemente no son identificados así, debido a que se cosechan en un estado de desarrollo temprano (inmaduros) para posteriormente someterlos a proceso de beneficiado. Además, se ha observado que existen aspectos morfológicos que resultan evidentes para identificar a las especies, como diferencias en la forma de la cápsula relacionadas al peso, longitud, grosor, ancho y forma del hilio (Reyes-López *et al*., 2014).

De acuerdo con Soto-Arenas y Cribb (2010), diversas especies del género presentan semejanzas florales y vegetativas con la especie *V. planifolia,* siendo incluso confundidas con dicha especie. *Vanilla planifolia* crece de forma natural en suelos húmedos ricos en materia orgánica, comúnmente bajo árboles de la familia Arecaceae, Sapotaceae, Burseraceae, Anacardiaceae, entre otros, junto a vegetación primaria de selva mediana subcaducifolia, asociados a cuerpos de agua (Villanueva-Viramontes, 2017).

2.2. Importancia de la vainilla

2.2.1. La vainilla como cultivo

Al igual que otras plantas de importancia antropológica, el cultivo de vainilla depende en gran medida de los trabajos fitogenéticos realizados. Basándose en la influencia de los criterios de manejo y siembra de los productores, la diversidad genética de la vainilla puede presentar una mayor presión y dinamismo, demandando una constante adaptación del organismo (Herrera-Cabrera *et al*., 2016). El germoplasma de plantas silvestres y cultivadas presentan un rendimiento bajo, influenciado por el genotipo en interacción con las condiciones geográficas. Asimismo, debido a la relativa inexistencia de un polinizador adecuado para vainilla y lo complicado de su manejo en plantaciones, comenzaron a desarrollarse métodos de polinización manual alrededor de los años de 1837 y 1841, siendo C. Morren y E. Albius precursores, logrando descubrir el potencial comercial que poseía la planta (Rocha-Flores *et al*., 2018; Chambers *et al*., 2019).

Para su cultivo, los agricultores consideran en la planta madre rasgos como sanidad, productividad, aroma y sabor como criterios en la selección del esqueje para su propagación (Espinoza Pérez, 2016). Por lo que existen distintas formas de manejo del cultivo de acuerdo con las características ambientales de los sitios donde se establecen (Ibarra-Cantún *et al*., 2018). Como parte de esto, los totonacos desarrollaron los kaxánatni, sistemas agroforestales desarrollados en acahuales, sitios en los que la vegetación habría sufrido alteraciones y posteriormente se recuperaría.

En entornos silvestres, las plantas de vainilla suelen presentar características rastreras, lo que demanda la necesidad de un tutor o planta madre, el cual funge como soporte, siendo común su interacción con especies arbóreas como *Inga sp*. (chalhuite), *Juglans regia* L. (nogal cimarrón), *Citrus aurantium* L. (naranjo agrio) y *Cyathea arborea* (helecho gigante) (Espinoza Pérez *et al.,* 2016). Dicha funcionalidad ha sido implementada por los productores con el objetivo de tecnificar, siendo los sistemas de tutor de naranjo, que van de los cinco hasta los ocho años, los más utilizados (Castelán-Culebro *et al.,* 2021).

Además, los frutos de la vainilla deben someterse a un proceso de conservación, llamado “beneficiado”, mediante el cual se deshidrata y fermenta el fruto verde para resaltar las propiedades aromáticas y gastronómicas (Kelso-Bucio *et al*., 2013). Dicho proceso se integra por distintas etapas, las cuales deben realizarse de forma adecuada y dependerá en gran medida de la madurez del fruto y cantidad de éstos que presente la planta, así como, de las condiciones ambientales (Xochipa-Morante *et al*. 2016). Básicamente, dicho proceso se compone de 10 etapas: recepción del fruto, despezonado, clasificación con base en caracteres morfológicos, enmaletado, matado, asoleado y sudado, clasificación, depósito y finalmente, el empaque (Reyes-López *et al*., 2008). En frutos curados de alta calidad es posible observar cristales de vainillina formando agujas blancas de tamaño pequeño llamadas “givre” (Tavares de Oliveira *et al*., 2022)

Para su clasificación, en México se considera una serie de parámetros (**cuadro 1**), siendo la calidad aromática de la misma una de ellas de acuerdo con evaluación sensorial, manteniéndose en función del contenido de vainillina y humedad, dividiéndola en 4 categorías de calidad: extra, categoría I, II y III (Secretaría de Economía, 2009).

Cuadro 1. Características de la vainilla de acuerdo con el grado de calidad.

Grado de calidad	Requerimiento	
	Tipo	**Coloración**
Extra	Gourmet	Negro/café oscuro. Sin manchas o rayas
Categoría I	Gourmet	Negro/café oscuro. Sin manchas o rayas
	Ordinaria	Café con rayas
Categoría II	Gourmet	Café claro son filamentos rojos
	Ordinaria	Café con rayas
Categoría III	Ordinaria	Negro/café oscuro. Sin manchas o rayas

Tomado de: Secretaría de economía, 2009.

Pese a ser territorio de origen, la producción de vainilla en México se encuentra amenazada en el mercado principalmente al ser sustituida por vainilla sintética, la cual se comercializa a un costo menor. Por ello, diversos campesinos han enfocado su trabajo hacia el cultivo orgánico de vainilla como estrategia para contrarrestar la disminución de ingresos y de tierra destinada a su cultivo (Guevara-Arroyo y Martel-Lozada, 2018). No obstante, la producción de vainilla ha resultado ser insuficiente, lo que ha llevado a optar por la síntesis de vainillina (**figura 1**), uno de sus compuestos más importantes, de manera artificial a partir de distintos procesos que, dependiendo de las características de dichos procesos se considerará como vainillina natural o artificial (Babío-Núñez, 2019).

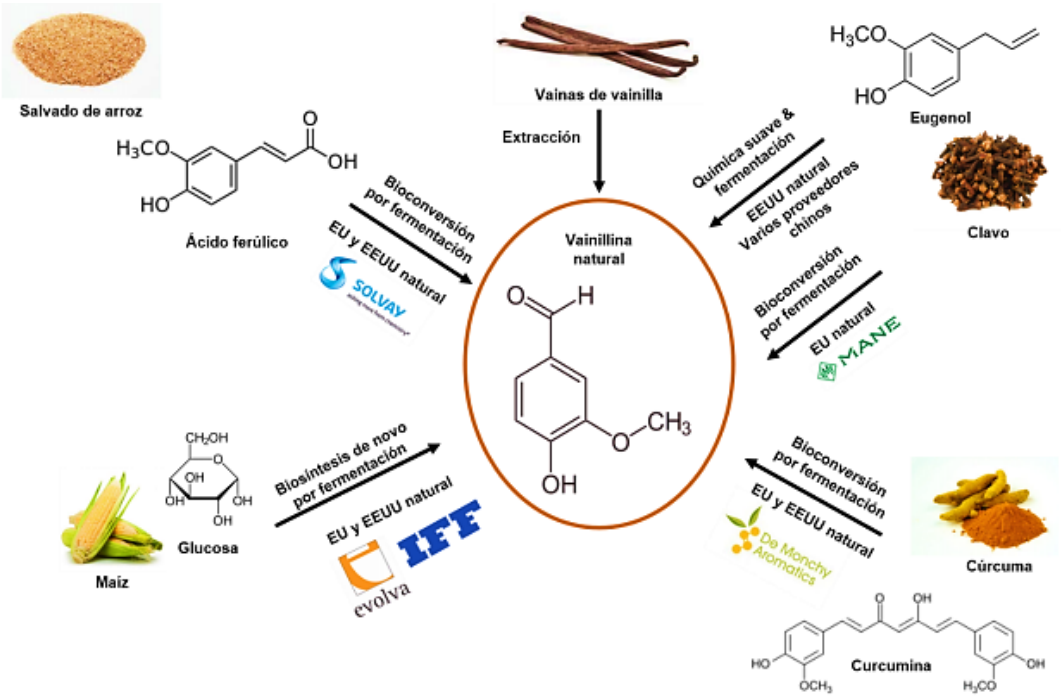


Figura 1. Rutas para la síntesis de vainilla natural. Se hace referencia a las empresas que han desarrollado diferentes técnicas para la síntesis de vainillina a partir de fuentes naturales. Tomado de: Babío-Núñez, 2019.

Del total de especies que integran al género, *Vanilla planifolia* ex. Andrews, originaria del territorio mexicano y América Central, es la especie de mayor importancia económica, valorada por sus compuestos aromáticos principalmente la vainillina, que equivale alrededor del 80% de su composición. Así, *V. tahitensis* Moore con alrededor de 50% de vainillina, es la segunda especie aromática de vainilla cultivada más importante y con mayor superficie destinada a su cultivo, introducida a Tahití desde Filipinas (Bory *et al*., 2008; Pardío *et al*., 2018; Tavares-de Oliveira *et al*., 2022). Sin embargo, la producción de Vainilla a nivel mundial ha disminuido debido a, entre otras causas, la caída prematura del fruto y variación de las condiciones climáticas en los sitios de cultivo, lo que indica la importancia de desarrollar técnicas y métodos que optimicen su producción y otorguen ventajas competitivas (Hernández-Hernández *et al*., 2019; Herrera-Cabrera *et al*., 2016).

2.2.2. Impacto económico, social y cultural de la vainilla

Espinoza-Pérez (2016), considera que existen distintas formas de interacción entre el ser humano y las plantas, reflejándose en las condiciones de cultivo, y a su vez en el nivel de manipulación que presenta el medio en el que se desarrollan las plantas. Desde la época prehispánica, como otras especies pertenecientes a la Familia Orchidaceae, algunas del género *Vanilla* se han apreciado como plantas medicinales y artesanales, catalogadas como una especia (Cervantes-Castillo, 2017). Históricamente, el cultivo de vainilla se encuentra estrechamente ligado a la cultura totonaca, así como, a otras como la maya y la azteca, perdurando hasta la actualidad al instaurarse como planta sagrada, primordial para diversos cultos y oratorios, conservando su arraigo cultural (Azofeifa-Bolaños *et al*., 2014).

Después de la conquista de los Aztecas por los españoles, la vainilla adquirió mayor importancia, impulsando su introducción a nuevos territorios cerca del año de 1721, extendiéndose por el continente europeo y otras partes del mundo, iniciando los esfuerzos de mejoramiento del cultivo (Gamboa-Gaitán, 2014; Fouché y Jouve, 1999; SAGARPA, 2016). Todas estas características, la llevaron a ser la base del desarrollo socioeconómico de muchos pueblos a partir de su aprovechamiento comercial y agrícola de autoconsumo al destinarse para celebraciones y ritos, así como, para la industrialización de sus productos (Kelso-Bucio *et al*., 2013; Guevara-Arroyo y Martel-Lozada, 2018).

El cultivo de vainilla *per se*, comenzó a desarrollarse en México, específicamente por la cultura totonaca en la región conocida como Totonacapan, comprendida entre los estados de Puebla y Veracruz. Productivamente, dicha región fue la más importante, seguida de los estados de Oaxaca, Chiapas, Hidalgo, San Luis Potosí, Quintana Roo y Michoacán (Reyes-López *et al*., 2008; Armenta-Montero, 2022).

Durante dos siglos aproximadamente, México y demás regiones de origen de la vainilla fueron los únicos proveedores debido a las condiciones de cultivo y la distribución de polinizadores naturales adecuados (Damirón-Velázquez, 2004). El estado de Veracruz es actualmente el mayor productor de vainilla, seguido por Puebla, Oaxaca y San Luis Potosí (**cuadro 2**), registrando para el año 2022 un

valor de producción de $58, 452.00 (SIAP, 2023). A nivel mundial, México se encuetra en el quinto lugar como productor de esta especia, mientras que Madagascar es el país líder productor y Estados Unidos el principal importador (Chambers *et al*., 2019).

Cuadro 2. Producción agrícola del año 2022 de los estados mexicanos productores de vainilla.

ENTIDAD	SUPERFICIE (ha)			PRODUCCIÓN	RENDIMIENTO (udm/ha)	PMR ($/udm)	VALOR DE PRODUCCIÓN (miles de pesos)
	SEMBRADA	COSECHADA	SINIESTRADA				
Oaxaca	77.7	77.7	0	44.95	0.58	122,259.02	5,495.54
Puebla	93	74	0	62.53	0.85	70,613.70	4,415.47
San Luis Potosí	19.5	19.5	0	7.8	0.4	29,250.00	228.15
Veracruz	627.5	627.5	0	400.09	0.64	120,754.91	48,312.83
Total	817.7	798.7	0	515.37	2.47	342,877.63	58,451.99

Ha: hectárea; udm: unidad de medida

Debido a sus propiedades organolépticas, la vainilla ha resultado tener relevancia mundial, siendo altamente demandada en industrias como la alimenticia, licorera, refresquera, cosmética, farmacéutica, artesanal y tabaquera (Reyes-López *et al*., 2008). Sin embargo, la principal demanda de vainilla proviene de la industria alimentaria, equivalente a un 80% aproximadamente, lo que la convierte en uno de los saborizantes más populares a nivel mundial junto con el chocolate y la fresa. Empleado como potenciador de sabores y neutralizador de amargor, a su vez, es aprovechado como agente conservador de alimentos (Babío-Núñez, 2019). De las 35 especies aromáticas clasificadas dentro del género, *Vanilla planifolia* podría considerarse como la más importante ya que cerca del 95% del comercio de vainilla, proviene de esta especie (Bory *et al*., 2008).

En términos de rendimiento, la vainilla depende en gran medida de la calidad y cantidad de recursos hídricos, ecológicos, edáficos y luminosos disponibles en el sistema de producción, con relaciones bastante estrechas entre el genotipo y el ambiente (Rocha-Flores *et al*., 2018). Resulta importante considerar que la producción de vainilla puede limitarse y variar a causa de cambios en las

condiciones climáticas, así como, la presencia de plagas y enfermedades, que pueden ocasionar la caída prematura del fruto por estrés y deficiencia nutricional generando inestabilidad del mercado y transformación en su comercio (Zamora-Flores, 2015).

Por ello, los sistemas agroforestales representan un papel muy importante para el cultivo de vainilla debido a que se pueden generar condiciones microclimáticas y edáficas favorables para la planta, así como, la utilización de algunos reguladores de crecimiento que contribuyan a la retención del fruto (Hernández-Hernández *et al*., 2019; Armenta-Montero *et al*., 2022). Además, existen tratamientos que ayudan a potencializar los cultivos, permitiendo su optimización y aprovechamiento, siendo el caso de tratamientos como la lisimetría, con la que se puede conocer los requerimientos de agua en las que el cultivo tiene un mejor desarrollo (Moreno-Poveda *et al.*, 2021)

Comercialmente, el beneficiado es la etapa de mayor importancia pues, le otorga un valor agregado a las “frutos curados” en comparación a la vainilla en verde que, dependiendo del proceso seguido será la calidad de la vainilla (Reyes-López *et al*., 2008). Si bien, como mencionan Luna-Guevara y colaboradores (2016), el proceso de beneficiado no elimina por completo los microorganismos presentes al momento de la cosecha, sí los disminuye notablemente. Además, esta etapa resulta vital ya que determinados metabolitos de la vainilla se intensifican a causa de interacciones enzima-sustrato al inducirse la destrucción de la organización del tejido, reduciendo la humedad contenida en la vaina (Gu *et al*., 2017).

2.2.3. Conservación del género *Vanilla*

Como mencionan Cardoso-Taketa y colaboradores (2020), ante el abandono paulatino de prácticas relacionadas a usos etnobotánicos y la diversidad de plantas, es inherente la necesidad de rescatar este patrimonio. Desde su introducción a nuevos territorios se ha intentado el establecimiento de cultivos de vainilla por el valor que posee debido a determinados compuestos que sintetiza, no obstante, su aprovechamiento pudo haber llevado a especies del género a

estar en riesgo de extinción en algunos sitios (Azofeifa-Bolaños *et al*., 2014). Actualmente, es evidente que factores ambientales, económicos, políticos y sociales han llevado a poner en riesgo el cultivo y permanencia de esta planta en entornos naturales (Espinoza Pérez, 2016; Castelán-Culebro *et al*., 2021). Siendo la erosión genética y prácticas inadecuadas en el manejo del cultivo de la vainilla algunos de los causantes principales que han llevado a poner en riesgo la conservación de dicho recurso fitogenético (Herrera-Cabrera *et al*., 2016). A su vez, la intensidad de selección y manejo del cultivo influye debido a la susceptibilidad en su colecta (*in situ)*, por lo que algunas especies ya no es posible encontrarlas en estado silvestre en determinadas zonas geográficas. En México, solo se pueden encontrar especies del género en estado silvestre en bosques tropicales, especialmente aquellos que ocupan áreas poco perturbadas desde el punto de vista ecológico (Villanueva-Viramontes, 2017).

Vanilla planifolia se encuentra enlistada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 bajo protección especial, principalmente a causa de erosión genética y eliminación de poblaciones silvestres para el establecimiento de nuevos cultivos, desconociéndose aún múltiples aspectos importantes de la especie (Herrera-Cabrera *et al*., 2016). Sin embargo, la inclusión de una especie a la lista como sujeta a protección especial no garantiza la puesta en marcha de medidas efectivas encaminadas a su conservación y recuperación (SEMARNAT, 2010; Villanueva-Viramontes, 2017). Según Damirón-Velázquez (2004), la falta de cumplimiento de las disposiciones legales del Decreto Presidencial del Diario Oficial de la Federación No. 5 en el que se reglamentaban actividades como el corte y beneficiado que se debe realizar en las vainas de vainilla, ha contribuido a llevar su cosecha a la baja. Dicho decreto

A partir de revisiones recientes y colecciones de herbarios, se determinó la presencia de once especies de vainilla (*V. planifolia* G. Jackson, *V. hameri* Soto Arenas, *V. cribbiana* Soto Arenas*, V. inodora* Shiede*, V. odorata* C. Presl*, , V. pompona* Shiede*, V. insignis* Ames, *V. perpleja* Soto Arenas, *V. pompona* Shiede*, V. sprucei* Rolfe*, V. phaeantha* Rchb f) en el país, siendo Chiapas el estado con

mayor número de especies, siendo 6, seguido de Oaxaca, Puebla, Veracruz y Jalisco con 5 especies cada uno (Flores-Jiménez *et al.,* 2017). Como parte de las acciones encaminadas a la conservación de la vainilla se ha buscado la mejora genética del cultivo, conformando una base genética bastante amplia incorporada al Proyecto de la Red Nacional de Vainilla, contando hasta el momento con alrededor de 151 accesiones, correspondiendo al 38% aproximadamente a material silvestre (Iglesias-Andreu *et al.,* 2014).

Actualmente se están llevando a cabo trabajos de investigación dirigidos al mejoramiento genético de la vainilla para incrementar el rendimiento mediante la integración de componentes de sanidad y retención del fruto. Considerando que, pese a contar el cultivo con una importancia económica, las especies silvestres han recibido poca atención en términos de su biología y uso potencial. Es importante mencionar que las investigaciones enfocadas en el estudio del género podrían contribuir a la seguridad alimentaria y a medios de vida sostenibles, además de generar un mejor rendimiento del cultivo y su conservación (Cervantes-Castillo, 2017¸ Rocha-Flores *et al.,* 2018; Tavares- de Oliveira *et al*., 2022). Asimismo, se busca una auto reconstrucción social y ambiental en pro de la conservación de la vainilla, integrando a los sistemas de manejo junto a especies culturalmente importantes, generando la participación de las poblaciones y economías locales (Castelán-Culebro *et al*., 2021)

Aunado a ello, existen estudios en proceso sobre la mutagénesis *in vitro*, al demostrar ser un medio por el cual es posible generar variación genética en vainilla. Con el objetivo de obtener mayor conocimiento de la variación soma-clonal, se ha trabajado en el desarrollo de protocolos de cultivo de tejidos de vainilla, potenciada por el uso de mutágenos químicos como el sulfato de dimetilo y colchicina, así como, pequeñas dosis de radiación ionizante (Serrano-Fuentes, 2021). También se ha encontrado que el germoplasma de plantas silvestres y cultivadas presentan un rendimiento bajo, influenciado por el genotipo en interacción con las condiciones geográficas (Rocha-Flores *et al*., 2018). Es vital ampliar el conocimiento sobre los organismos que interactúan con la planta, los

cuales podrían influir en la variabilidad genética, como los que se encuentran presentes en la rizosfera (*Bacillus megaterium, Acinetobactes sp. Plectosphaerella sp, Pseudomonas koreensis*).

De acuerdo con Armenta-Montero y colaboradores (2022), las proyecciones con respecto a las poblaciones de vainilla sugieren la existencia de una amenaza debido a los cambios climáticos, lo que podría modificar su distribución, provocando una considerable reducción en su densidad y posible extinción. Investigaciones como las mencionadas previamente permiten la posibilidad de desarrollar modelos productivos con base en una agricultura orgánica, mismos que aporten a su conservación (Álvarez *et al*., 2013; Azofeifa-Bolaños *et al.,* 2014). Por lo que resulta importante formular estrategias que permitan una gestión más sostenible de la vainilla como recurso, encaminado a fines de conservación de sus poblaciones tanto en entornos silvestres como en aquellos gestionados bajo un sistema de cultivo, considerando factores socioculturales, económicos y cambio climático (Armenta-Montero *et al*., 2022).

2.3. Metabolitos

2.3.1. Origen y función

El metabolismo integra al conjunto de reacciones químicas que se desarrollan en las células, tejidos u organismos, existiendo un intercambio de energía y materia (Carrari *et al.*, 2004). Las células presentan una composición elemental con categorías moleculares, así como, mecanismos de trasformación de energía dentro de las diversas vías metabólicas que la integran (Mazliack, 1976). Además, se encuentra conformado por diversas vías metabólicas, reguladas por enzimas específicas para cada una, careciendo de un equilibrio por el consumo del producto que funciona como base para la siguiente reacción (Lozano *et al*., 2005; López-Riojas *et al*., 2015).

Cada vía metabólica presenta distintos grados de interdependencia, manteniéndola conectada a otras vías metabólicas por medio de coenzimas que posibilitará la transferencia de grupos químicos de metabolitos intermediarios en

alguna vía hacia un metabolito intermediario de otra (Garrido-Pertierra *et al.,* 2009). Como base de estas reacciones, formado a partir de la reducción de $NADH + H$ y $FADH_2$, el ATP es considerado energéticamente como la molécula moneda del metabolismo (López-Riojas *et al*., 2015).

Las biomoléculas son absorbidas y distribuidas por todo el organismo, transformándose en biomoléculas nuevas mediante una serie de procesos de síntesis denominados anabólicos, pudiendo también ser degradadas para extraer energía y eliminar desechos por una serie de procesos llamados catabólicos. A su vez, suceden reacciones anfibólicas, las cuales actúan como enlace entre una reacción y otra (anabólica y catabólica), ocurriendo interacciones subcelulares en los sistemas vivos (Lozano *et al*., 2011).

Podemos definir como metabolito a todo producto final o intermedio de las reacciones metabólicas y el conjunto de moléculas que se producen, de modo que los mecanismos de acción por los cuales actúan varían dependiendo del tipo de metabolito (Méndez-Rodríguez *et al*., 2019; Terranova-Vélez *et al.,* 2014). A su vez, la diversidad fisicoquímica de los metabolitos lleva a clasificarlos como endógenos y exógenos. Los metabolitos endógenos son sintetizados de forma natural por el organismo, mientras que los metabolitos exógenos se sintetizan a partir de la interacción del organismo con el entorno (Yanes, 2015).

Al metabolismo lo constituyen metabolitos primarios y secundarios, estando involucrados en funciones básicas celulares y compuestos específicos de cada especie, respectivamente (Carrari *et al.,* 2004). Dependiendo de la función que lleven a cabo, se clasifican como metabolitos primarios y secundarios, derivando estos últimos de los primarios. Además, existen los denominados antimetabolitos, son compuestos que poseen una analogía estructural con los metabolitos primarios, los cuales pueden inhibir procesos metabólicos específicos, al igual que su transporte, influyendo en su función (Johnson *et al*., 2016).

Si bien los metabolitos secundarios no tienen un papel claro en procesos fundamentales del organismo, resultan importantes en las adaptaciones al entorno, las cuales contribuyen a su supervivencia (Robles-García *et al.,* 2016).

De este modo, el metabolismo ha ido modificándose a lo largo de la evolución, beneficiando a aquellos organismos que han presentado una mayor eficacia metabólica, teniendo un alto aprovechamiento energético, es decir, que pueden sintetizar biomoléculas cualitativas/cuantitativas vitales a un bajo coste energético y óptima adaptación (Garrido *et al.,* 2009).

2.3.2. Metabolitos primarios y secundarios en plantas

La célula vegetal posee una capacidad de biosíntesis bien desarrollada, capaz de captar energía para ella a partir de las radiaciones solares. La fisiología vegetal se encuentra regulada por diversas reacciones químicas del metabolismo celular, las cuales solo pueden llevarse a cabo en presencia de catalizadores conocidos como enzimas (macromoléculas) (López-Riojas *et al.,* 2015). Estos catalizadores son de naturaleza proteica no dializable y participan acelerando la velocidad de las reacciones metabólicas sin alterar el final de éstas (Mazliack, 1976).

Dentro del reino vegetal se llevan a cabo dos tipos de metabolismo, el primario y el secundario. El metabolismo primario sucede en todas las células del organismo y participan en funciones vitales como crecimiento, desarrollo y reproducción, mientras que el metabolismo secundario les confiere capacidad de producción y acumulación de compuestos químicos naturales (Lustre-Sánchez, 2022). Existe una gran variedad estructural y química de metabolitos, que según sea la vía biosintética los metabolitos secundarios se dividen principalmente en cuatro grupos (**cuadro 3**): compuestos nitrogenados, incluyendo aminoácidos no proteicos y alcaloides; compuestos azufrados como la tionina y los glucosinolatos; terpenos y fenoles (Twaij y Hasan, 2022).

Debido a la producción de metabolitos secundarios, las plantas son un grupo que resalta ya que, éstos surgen principalmente como respuesta a adaptaciones y amenazas. Muchos de estos compuestos son característicos de determinadas especies, estimando la existencia de alrededor de 200,000 metabolitos en el reino vegetal (Carrari *et al*., 2004; Vélez-Terranova, 2014; Sepúlveda-Vázquez *et al*.,

2018).

Cuadro 3. Los cuatro principales tipos de metabolitos secundarios presentes en plantas.

Metabolitos secundarios de plantas			
TERPENOS	FENÓLICOS	COMPUESTOS QUE CONTIENEN **N**	COMPUESTOS QUE CONTIENEN **S**
Monoterpenos	Cumarina	Alcaloides	Glutatión
e.g. geraniol	e.g. hidroxicumarina	e.g. cocaina	Glucosinolatos
Sesquiterpenos	Furanocumarina	Glucósidos cianogénicos	Fitoalexinas
e.g. humuleno	e.g. psoraleno	e.g. durrina	Tioninas
Diterpenos	Lignina	Aminoácidos no proteicos	Defensina
e.g. cafestol	e.g. resveratrol	e.g. canavanín	Alinina
Sesterterpenos	Flavonoides		
e.g. geranilfarnesol	e.g. quercetina		
Triterpenos	Isoflavonoides		
e.g. escualeno	e.g. genisteína		
Sescuarterpenos	Taninos		
e.g. ferrugicadiol	e.g. ácido tánico		
Tetraterpenos			
e.g. licopeno			
Politerpenos			
e.g. gutapercha			

Tomado: Twaij y Hasan, 2022.

Es innegable que desde el inicio de la humanidad se ha buscado el aprovechamiento de las plantas como recurso natural. Resaltando que, durante mucho tiempo las plantas han sido la fuente principal de obtención de fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades a causa de las propiedades dadas por la complejidad de los metabolitos que sintetizan, lo cual señala la importancia antropológica del grupo (Villarreal *et al*., 2014; Twaij y Hasan, 2022). Tal es el caso de aquellas que presentan capacidad de producir metabolitos secundarios metanogénicos, sustancias capaces de degradar metano para reducir sus emisiones en el ambiente (Vélez-Terranova, 2014).

2.3.3. Metabolitos de la vainilla

Actualmente se sabe que existe influencia del sistema de manejo de cultivo sobre las propiedades fisicoquímicas de la planta, como el de acahual, el cual favorece la síntesis de compuestos fenólicos totales, triterpenos totales y taninos totales, condensados e hidrolizables, mientras que, la malla sombra favorece la concentración de saponinas. A excepción de los flavonoides, todos los compuestos fitoquímicos poseen diferencias de concentración de acuerdo con el sistema de manejo que se emplee. Así, en comparación con los tejidos de la planta, el fruto beneficiado presenta una mínima variación de contenido de metabolitos con excepción de los taninos (Ibarra-Cantún *et al*., 2018; Ibarra-Cantún *et al*., 2018a).

Además, el sabor natural de la vainilla es característico debido a los metabolitos que posee, con concentraciones de algunas de estas moléculas más elevadas en algunas especies. Alrededor de 200 componentes son los que le confieren las propiedades sabor y aroma a la vainilla, de los cuales solamente 26 se encuentran presentes a una concentración superior a 1 mg/kg (Babío-Núñez, 2019; Tavares-de Oliveira *et al*., 2022). De la constitución total de la planta, las hojas son los órganos con mayor diversidad de metabolitos, a su vez los terpenoides resultan ser uno de los grupos fitoquímicos presentes en mayor cantidad, sintetizándose en todo el tejido vegetal, principalmente en flores y raíces (Andrade-Andrade *et al*., 2018)

Pese a conocerse los metabolitos volátiles presentes en frutos beneficiados de vainilla, se desconoce el tipo y cantidad en las diferentes fases de desarrollo (Shanmugavalli *et al*. 2009). Entre los compuestos volátiles de interés presentes en plantas de vainilla se encuentran cuatro: vainillina, 4-hidroxibenzaldehído, ácido-3,4-hidroxibenzoico y ácido vainíllico, considerado como un compuesto fluctuante al presentarse variaciones en especies procedentes de distintas zonas geográficas, influyendo el ambiente en su biosíntesis, mientras que el contenido de vainillina tiende a incrementarse de acuerdo al tiempo de almacenamiento (Cervantes-Castillo *et al*., 2018; Xochipa-Morante *et al*., 2016). Asimismo, se ha

encontrado que en poblaciones silvestres existe variación aromática por influencia de compuestos menores en relación con el contenido de vainillina, siendo determinada por el ambiente (Herrera-Cabrera *et al*., 2016).

Como parte de la influencia del sistema de manejo sobre los metabolitos presentes en los tejidos de la planta, el sistema de acahual en el que mayor presencia de compuestos ha reportado (70 %), por encima del sistema de malla-sombra (30 %) (Ibarra-Cantún *et al*., 2018). A su vez, los factores ambientales y geográficos influyen en la cantidad y tipo de metabolitos que se presentan en determinada estructura vegetal, favoreciendo la síntesis de saponinas esteroidales, propias de monocotiledóneas. Es importante resaltar que estos factores son determinantes en la producción de vainillina (4-metoxi-3-hidroxibenzaldehido), principal componente aromático de la vainilla (Pardío *et al*., 2018).

Como parte del potencial de los metabolitos de la vainilla, Shanmuyavalli y colaboradores (2009), evaluaron el potencial antimicrobiano de extractos de vainilla, encontrando resultados óptimos en la inhibición del crecimiento bacteriano, siendo mayor en los extractos provenientes de la hoja (Ibarra-Cantún *et al*., 2018a). Sin embargo, aún se considera necesario la realización de estudios enfocados a la identificación de los compuestos fitoquímicos que se sintetizan en el conjunto de órganos y tejidos de la vainilla ya que, actualmente la cantidad de biomasa que no se aprovecha es considerable (Cervantes-Castillo, 2017). Lo anterior fue demostrado por Oliveira y colaboradores (2023), mediante hidrólisis extrajeron diversos metabolitos contenidos en bagazo de frutos de vainilla ya procesados y se identificaron algunos como vainillina, 4-metoxibenzaldehído, ácido vainíllico, ácido heptanoico, 4-vinifenol y ácido protocatecúico.

2.4. Metabolómica

2.4.1. Fundamentos de la metabolómica

Hacia finales del siglo XX comenzaron a desarrollarse las ciencias ómicas, ciencias orientadas al estudio de los seres vivos en los diferentes niveles de

codificación genética, contribuyendo al desarrollo del análisis de la funcionalidad de la célula y su aplicación biotecnológica. Si bien las ciencias ómicas han logrado gran alcance, las principales son la genómica, proteómica, transcriptómica y la metabolómica, al ser consideradas como la base para el estudio de los genes y sus productos, mismas que han ido ramificándose de acuerdo con los avances que se han obtenido (Misra *et al*., 2018; Cardoso-Taketa *et al.,* 2020).

La metabolómica funciona bajo un enfoque analítico completo no selectivo para la identificación de metabolitos, moléculas de bajo peso molecular, situadas entre los 50 a 1500 Da (Portoles *et al.,* 2021). Siendo la base para la caracterización del conjunto de metabolitos producidos por la célula, los tejidos o el organismo, ante determinadas circunstancias, al permitir la identificación de biomarcadores. En los análisis aplicados se considera un mayor número de variables, lo que hace posible conocer a detalle el funcionamiento fisiológico del organismo, brindar el perfil metabólico o la huella dactilar metabólica. Así, al identificar el conjunto de metabolitos de un determinado sistema biológico, se pueden conocer sus adaptaciones al ser constituyentes del producto final de los genes y la interacción con el ambiente (Heinrich, 2015; Cardoso-Taketa *et al.,* 2020).

Junto al resto de ciencias ómicas, la metabolómica ha resultado fundamental en la creación de biomarcadores asociados a procesos biológicos e incluso es capaz de predecir su comportamiento y la red de procesos biológicos que pueden estar involucrados (Frigolet y Gutiérrez-Aguilar, 2017). Al ser los metabolitos el producto final de una serie de procesos bioquímicos, se puede vincular el genoma, transcriptoma y proteoma al fenotipo, conociéndose la base genética de la variación en el metabolismo mediante la metabolómica. De esta forma, mediante la caracterización de las rutas metabólicas es posible conocer la actividad de la célula a nivel funcional, lo que requiere el desarrollo de nuevas técnicas para su estudio (Milke-García, 2012; Misra *et al*., 2018).

2.4.2. Metabolómica dirigida y no dirigida

El fundamento de la metabolómica es su inexistente invasividad al centrarse en el análisis de muestras biológicas que son relativamente fáciles de obtener (Méndez-Rodríguez *et al*, 2019). Como menciona Yanes (2015), del total de metabolitos conocidos, solo entre el 5 y 10 % se conoce a profundidad su función y estructura, por lo que es necesario la implementación de análisis minuciosos de cada uno de los componentes presentes en los seres vivos. Por esto es importante la determinación del número de metabolitos que se desean medir para así establecer el enfoque bajo el que se pretenden analizar, ya sea del tipo dirigido o no dirigido. De acuerdo con el enfoque del estudio, puede ser diferencial la cantidad y relevancia de la información que se genera entre un estudio y otro tal que, el estudio dirigido se limita a un número selecto de metabolitos a incluir en su análisis, como aquellos relacionados a vías metabólicas específicas. Por su parte, en el estudio no dirigido se busca analizar la mayor cantidad de metabolitos disponibles, a la vez que se comparan huellas o patrones metabólicos, mismos que responden a alteraciones originadas por condiciones endógenas o exógenas del organismo. Por las características que componen a cada enfoque es sumamente importante la elección del análisis bajo el que se realizará el estudio (González-Ibarra, 2018; Portoles *et al.,* 2021).

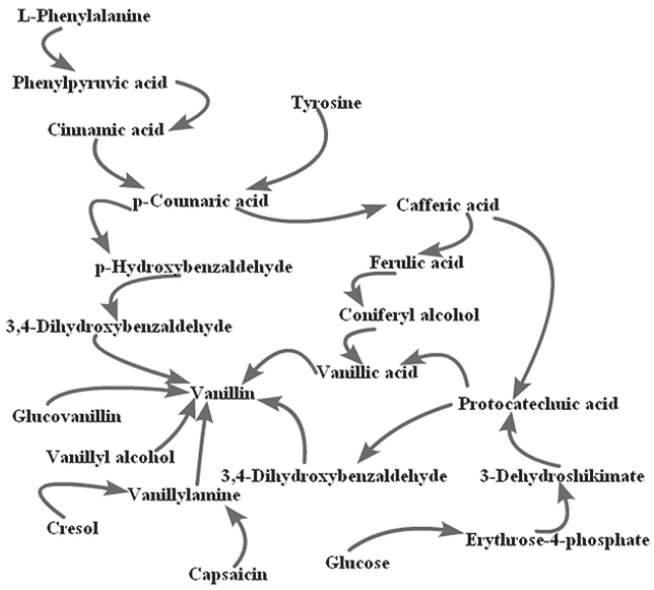
2.4.3. Aplicación de la metabolómica en el estudio de plantas

Entre los usos prácticos que tienen las ciencias ómicas se encuentra el fitomejoramiento, beneficioso ya que, entre otros, permite llevar a cabo el estudio de sus genes, su historia evolutiva y variaciones genéticas entre especies con valor agrícola, lo que contribuye a acelerar procesos de mejoramiento genético (Botero y Arias, 2018). Dado a las mejoras logradas en la sensibilidad y exactitud de aparatos analíticos como el espectrómetro de masas, las técnicas de separación y los métodos de marcado, así como las tecnologías con las que se cuenta actualmente, se han extendido las posibles aplicaciones de la metabolómica como su uso en la medicina y mejoras de cultivos (Barallobre-Barreiro *et al*., 2013).

El papel que representa la metabolómica para el estudio de recursos fitogenéticos se debe a que las plantas poseen un amplio número de metabolitos con potencial de beneficio antropológico, permitiendo la realización de estudios mucho más detallados (Cardoso-Taketa *et al*., 2020). Es preciso conocer el perfil metabólico de cada organismo vegetal pues, incluso entre especies de un mismo género, éste puede presentar variaciones y biomarcadores diferentes, fluctuando a lo largo del año, lo que posibilita la optimización de su uso (Ríos *et al.,* 2020; Sepúlveda-Vázquez *et al*., 2018). Así, los componentes metabólicos de las plantas se encuentran directamente relacionados a cambios en la síntesis proteica y la expresión génica (Arbona *et al*., 2014).

Una de las aplicaciones de la metabolómica al estudio de plantas es el estudio de la presencia de flavonoides, metabolitos que protegen al organismo de agentes oxidantes. Esto sucede en algunas variedades de quinoa, las cuales sintetizan este tipo compuestos antioxidantes. Se sabe que existe correlación entre una mayor cantidad de flavonoides y la intensidad de coloración de la quinoa, para lo que las proantocianidinas son el pigmento clave de la coloración (Liu *et al*., 2022). Aunada a la aplicación de la metabolómica al mejoramiento vegetal, se encuentra su empleo en el tratamiento de algunas enfermedades, como el cáncer. Para ello se ha llevado a cabo el uso de fitoquímicos a nivel experimental con el fin de desarrollar tratamientos contra la enfermedad y su prevención (Heinner, 2015).

En lo concerniente a la vainilla, existen investigaciones encaminadas al análisis metabólico de *Vanilla planifolia,* como el desarrollado por Gu y colaboradores (2017) quienes, de un total de 6822 metabolitos encontrados, identificaron 21 relacionados directamente a la síntesis de vainillina. Además, se encontraron diferencias entre vainas verdes y vainas beneficiadas, descubriendo cuatro rutas de biosíntesis de la vainillina: alcohol de vainillina, oxidación de cresol, capsaicina, ácido shikímico de la glucosa por síntesis de novó (**figura 2**).



.Figura 2. Rutas metabólicas de síntesis de la vainillina.
(Gu *et al*., 2017)

Mediante estudios metabolómicos es posible saber qué metabolitos se sintetizan en las plantas, así como la concentración de éstos, y se puede inferir otros datos como la edad y genética de la planta. El conocer los metabolitos que integran el perfil metabólico permite seguir las rutas metabólicas en las que éstos se encuentran implicados y determinar una posible aplicación. (Villareal *et al*., 2014; Méndez-Rodríguez *et al*., 2019). Los metabolitos secundarios son el principal interés, por la naturaleza de su composición y funciones fundamentalmente en el campo de la medicina, cosmética, productividad agrícola, promoción del crecimiento de otras plantas y animales, entre otros, requiriendo ampliar el campo de investigación (Lustre-Sánchez, 2022).

2.4.4. Técnicas analíticas

La variabilidad en las moléculas que constituyen el metabolismo de los seres vivos requiere la utilización de plataformas y herramientas analíticas que optimicen los análisis de perfiles metabólicos (Yanes, 2015). Debido a los avances tecnológicos en el área de la informática aplicada a la biología de sistemas y la química, así como, la instrumentación analítica en las últimas décadas ha sido posible

desarrollar métodos para análisis metabolómicos. Esto ha aportado a una adquisición de datos de manera más exhaustiva, optimizando su análisis e integración (Johnson *et al*., 2016; Cardoso-Taketa *et al*., 2020). En el análisis de metabolitos es fundamental la separación de moléculas que lo integran con distintos métodos empleados para esto (Carrari *et al.,*2004).

La metabolómica se centra en el uso de la espectrometría de masas con el fin de analizar mecanismos bioquímicos relacionados a procesos naturales, mientras que la localización de los metabolitos en los tejidos se lleva a cabo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPCL) (Milke-García, 2012). Resulta importante resaltar el papel que la resonancia magnética nuclear (RMN) ha tenido para la metabolómica ya que la estableció como herramienta en la realización de análisis bioquímicos (Portela-Ruiz, 2018).

El conjunto de técnicas analíticas empleadas en la metabolómica, permiten llevar a cabo el registro de un rango mucho más amplio de los metabolitos presentes en un organismo, tanto primarios como secundarios, con una relación de tiempo y espacio en el desarrollo biológico (Cardoso-Taketa *et al.,* 2020). Los estudios que se llevan a cabo para el análisis metabolómico emplean herramientas estadísticas particulares en función del objetivo planteado (Arbona *et al*., 2014). En conjunto, las técnicas analíticas y los análisis estadísticos brindan información estructural y cuantitativa del total de metabolitos presentes en una muestra, siendo relativamente sencillas de aplicar (Méndez-Rodríguez *et al*., 2019). Además, estas técnicas analíticas se han aplicado principalmente a distintas áreas de investigación clínica, como la toxicología, farmacología y nutrición (Barallobre-Barreiro *et al*., 2013).

III. JUSTIFICACIÓN

Vanilla planifolia, dentro del género *Vanilla*, es la especie de principal interés agrícola destinada a consumo industrializado para la extracción de metabolitos empleados en la elaboración de bebidas como refrescos y licores, postres, artículos farmacéuticos y cosméticos, además de algunos productos artesanales (SAGARPA, 2016). Sin embargo, en la gran mayoría de especies del género no se ha estudiado su composición metabólica ni las propiedades bioactivas que poseen, por lo que no se les ha otorgado gran relevancia y se desconoce su funcionamiento. Además, existe una demanda de vainillina que no es posible cubrir mediante el cultivo de vainillas comerciales, por lo que se ha optado por buscar diversos métodos de síntesis que, pese a cubrir en mayor medida dicha demanda, ocasionan un impacto ambiental significativo por la cantidad de residuos que se generan (160 kg de residuos por 1 kg de vainillina) (Babío-Núñez, 2019).

Es así como, pese a ser la metabolómica una ciencia relativamente reciente, ha demostrado ser efectiva para el análisis de metabolitos presentes en células, tejidos y biofluídos de organismos. Para el caso de las plantas, se ha descubierto que la composición metabólica puede variar de acuerdo con la morfología de determinados órganos o tejidos y las condiciones ambientales en las que se desarrollan (Urrea-López, 2014; Andrade-Andrade *et al.,* 2018).

Al conocer los metabolitos que se encuentran presentes en la planta, se pueden determinar algunas de sus funciones, tanto a nivel del organismo como de la zona en la que se sintetiza y su posible aplicación en diversos campos de investigación. Esto contribuye al conocimiento sobre respuestas localizadas y específicas de metabolitos sintetizados bajo determinadas circunstancias y sus mecanismos de acción. Además, permitiría anteceder las bases para la conservación de dicho recurso fitogenético, logrando un mejor aprovechamiento de los compuestos de interés, como la vainillina, misma que debido a investigaciones recientes, se ha logrado sintetizar mediante precursores como el ácido ferúlico o la cumarina, lo que ya representa una amenaza a las prácticas ancestrales del cultivo de esta

planta y comunidades ligadas a ella, muchas de las cuales han contribuido a la preservación de poblaciones de vainilla (Asaff-Torres, 2010; Reyes-López *et al*., 2014; Johnson *et al*., 2016).

Por ello, es importante realizar el análisis de la composición metabólica de algunas especies de vainilla considerando diversos factores, lo que podría aportar a su fitomejoramiento para lograr una mayor biodisponibilidad y accesibilidad a los compuestos benéficos. Mismo que podría ser parte de estrategias a desarrollar para la conservación y gestión sostenible de dicho recurso (García-Mier *et al.,* 2012; Armenta-Montero *et al*., 2022). Además de contribuir a determinar el valor comercial de la especie e identificar marcadores relacionados a la presencia de alguna enfermedad o alteración en el crecimiento (Cardoso-Taketa *et al*., 2020).

IV. HIPÓTESIS

Los frutos de *V. odorata* C. Presl, *V. inodora* Schiede, *V. insignis* Ames, *V. odorata* -24 y la cruza *V. planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia* G. Jackson presentan una diferenciación de perfil metabólico con respecto a *V. planifolia* G. Jackson.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Caracterizar el metaboloma del fruto de cuatro especies del género *Vanilla* y de la cruza *V. planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia*

5.2. Objetivos específicos

1. Evaluar mediante enfoque dirigido y no dirigido la diferencia del perfil metabólico del fruto de cuatro especies del género *Vanilla* y una cruza simple.
2. Identificar los metabolitos presentes en los frutos de vainilla: *V. planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia, V. odorata*, *V. odorata* -24 C. Presl, *V. inodora y V. insignis.*
3. Cuantificar los metabolitos considerados en la NMX-FF-074-SCFI-2009: vainillina, ácido hidroxibenzaldehido, ácido hidroxibenzoico y ácido vainillinico, aunado a glucovainillina y etilvainillina,

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Material vegetal

El material biológico empleado para el análisis metabolómico se seleccionó del banco de germoplasma de vainilla perteneciente a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ubicado en el municipio de Tenampulco, Pue. (**Figura 3**), con coordenadas geográficas 20° 11’ 52.77’’ N 97° 22’ 05.78’’ O y una altura de 231 msnm (INEGI, 2021).

Figura 3. Mapa de la ubicación del banco de germoplasma de la BUAP en el municipio de Tenampulco, Puebla.

Las muestras corresponden a frutos de *V. planifolia* G. Jackson, *V. odorata* C. Presl, *V. inodora* Schiede, *V. insignis* Ames, *V. odorata*-24 C. Presl y de la cruza simple entre *V. planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia* G. Jackson (**Cuadro 4.**).

Cuadro 4. Material biológico de vainilla utilizado para el estudio metabolómico.

Especie	N. de accesión	Procedencia	Fecha de polinización
Vanilla planifolia G.Jackson	85	Veracruz	30/04/2022
Cruza simple de *Vanilla planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia* G. Jackson	68 x 1	Quintana Roo	18/04/2022
Vanilla odorata C. Presl	23	Quintana Roo	01/04/2022
Vanilla inodora Schiede	31	Puebla	18/04/2022
Vanilla insignis Ames	4	Quintana Roo	06/05/2022
Vanilla odorata C. Presl -24	24	Quintana Roo	Autopolinización

El muestreo se realizó transcurridos nueve meses aproximadamente a partir de la fecha de polinización de cada planta. Por especie a evaluar se seleccionaron al azar cuatro plantas y se cortó un fruto por individuo de manera manual, registrando el peso, longitud y diámetro, teniendo un total de cuatro réplicas por cada una. El corte del fruto se realizó transcurridos 9 meses aproximadamente, periodo ya establecido de cosecha de la vainilla.

Las muestras fueron almacenadas en bolsas herméticas (ziploc) dentro de un contenedor con gel refrigerante para su traslado al laboratorio y posterior almacenamiento en ultracongelador a una temperatura de -80°C, hasta su análisis. Cada muestra se etiquetó ~~i~~ndicando la fecha de polinización y número de accesión.

6.2. Extracción de metabolitos

El análisis se realizó en el laboratorio de Metabolómica y Espectrometría de masas perteneciente a la Unidad de Genómica Avanzada del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), ubicado en la Ciudad de Irapuato, Guanajuato. Los frutos se liofilizaron a un vacío de 2 mbar con una temperatura en el colector de -50 °C durante 3 días, procediendo a pulverizarlos hasta tener un polvo fino

que se almacenó en tubos Falcón de 50 ml. De cada fruto se pesaron 200 mg que se colocaron en tubos de ensayo de 15 ml y se añadió 1 ml de hexano, agitando en vórtex 30 segundos. Se centrifugó a 1500 g/ 20 minutos y se retiró la fase superior con pipeta Pasteur. La muestra remanente se dejó secar en campana de extracción durante 2 horas aproximadamente hasta evaporar los residuos de hexano. Posteriormente se adicionaron 2 ml de metanol 80% acidificado con ácido fórmico 0.1%, sonicando durante 15 minutos para situar las muestras en un agitador durante una noche. Se centrifugó nuevamente a 1500 g/20 minutos y recuperó el metanol en microtubos Eppendorf y se neutralizó con hidróxido de amonio 28% en proporción al volumen recuperado de cada extracto (20 µl de hidróxido de amonio por 1.5 ml de muestra). Los extractos se secaron en concentrador de muestras miVac® en vacío a 15-30 psi con una temperatura de 34 °C hasta obtener un pellet, el cual se almacenó en congelación a -20°C. Previo al análisis cromatográfico, las muestras se resuspendieron en 1 ml de metanol 50% y colocaron en viales para muestreo automático, pasando previamente la muestra con filtros Agilent de 0.22 µm.

Cuadro 5. Estándares empleados para el análisis metabolómico

Compuesto	Fórmula molecular	m/z (M^+H^+)	m/z (M^-H^-)
4-O-β-D-GlucoVainillina	$C_{14}H_{18}O_8$	315.108	313.0923
Vanillina	$C_8H_8O_3$	153.0552	151.0395
Ácido vainíllico	$C_8H_8O_4$	169.0501	167.0344
3,4-Dihidroxibenzaldehido	$C_7H_6O_3$	139.0395	137.0239
4-hidroxibenzaldehido	$C_7H_6O_2$	123.0446	121.029
Etilvainillina	$C_9H_{10}O_3$	167.0708	165.0552

m/z: masa carga. Relación de la carga eléctrica de una molecula con respecto a su masa.

M^+H^+, M^-H^-: iones aducto formados en espectrofotometría de masas por electroespray, ya sea cargados positiva o negativamente. Siendo un aducto, el producto de la unión de dos moléculas A y B, las cuales no presentan cambios en su topología.

* Es necesaria la utilización de estándares grado HPLC

Adicionalmente, con el fin de tener un mejor control de calidad en el análisis se prepararon 3 blancos con metanol 50 % y 3 QC a partir los extractos obtenidos tomando 65 µl de cada uno para tener un volumen representativo. Además, se consideraron 6 estándares: vainillina, etilvainillina, glucovainillina, ácido hidroxibenzoico, hidroxibenzaldehido y ácido vainíllico. En el **Cuadro 5** se muestra la fórmula molecular de cada compuesto, así como la masa que presentan con respecto a carga, difiriendo entre sí dependiendo del tipo de carga que posea, ya sea positiva o negativa.

6.3. Análisis metabolómico no dirigido

El análisis no dirigido se realizó mediante un sistema de UPLC Acquity® (cromatografía líquida de ultra alto rendimiento) acoplado a un SYNAPT ™ G1 Waters® (ESI-Q-TOF-MS) (espectrometría de masas acoplada a un sistema de cuadrupolo de ionización por electrospray) empleando una columna Acquity® CSH C18 (2.1 x 150 mm; 1.7 µm).

Para el método cromatográfico se consideró un volumen de inyección por muestra de 10 µ con un flujo de 0.3 ml min^{-1}, con una duración de 28 minutos de análisis por cada una. Como fases móviles se emplearon dos fases, una fase A de agua + ácido fórmico 0.1% y una fase B de acetonitrilo + ácido fórmico 0.1% (**cuadro 6**).

Cuadro 6. Método cromatográfico en gradiente.

Tiempo (min)	Fase A (%)	Fase B (%)
0	90	10
1	90	10
20	45	55
22	1	99
25	1	99
25.1	90	10
28	90	10

El cambio paulatino de gradiente y las fases móviles a través del tiempo (**Figura 4**) se realizó con la finalidad de eluir compuestos con base en sus grupos funcional y estructura, estableciendo los parámetros a partir de pruebas previamente realizadas.

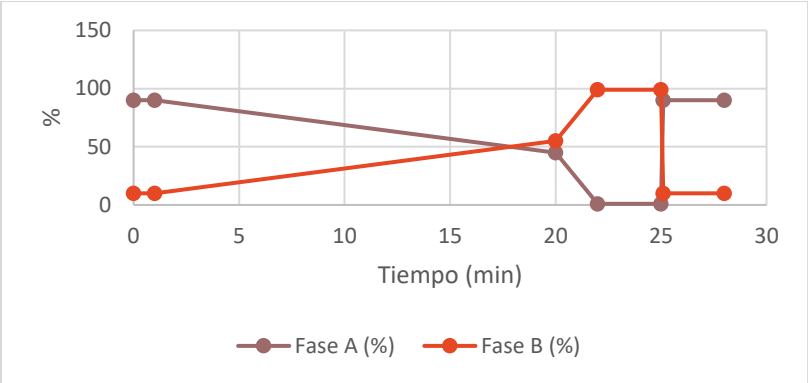


Figura 4. Método cromatográfico en forma de rampa del análisis no dirigido

En el método de espectrometría de masas (MS^E) se consideró un rango de masas de entre 50 y 1500 Da con un voltaje de cono de 40 kV, voltaje del capilar a 2 kV, voltaje de cono de muestreo a 20 kV, voltaje de cono de extracción a 5 kV. Además, se estableció una temperatura de 100 °C para la ionización y de 150 °C para la desolvatación. El flujo de gas del cono fue de 20 L/h, y el de desolvatación de 500 L/h; energía de colisión (trap) 4 V, energía de colisión (transfer) 2 V.

La muestra inyectada se ionizó por electroespray, adquiriéndola en modo V positivo y negativo con una resolución de 9000, empleando leucina encefalina (556.2771 Da modo +; 554.2415 Da modo -) para el ajuste y calibración del espectrómetro de masas.

6.4. Análisis metabolómico dirigido

El análisis dirigido se realizó mediante un sistema de HPLC con detector UV y arreglo de diodos (DAD) Agilent Technologies, empleando una columna ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl (4.6 x 250 mm; 5 µm).

Se consideró un volumen de inyección por muestra de 5 µL con un flujo de 0.3 mL/min, con una duración de 13 minutos de análisis por cada una. Como fases

móviles se empleó una fase A de agua + ácido tricloroacético 0.025% y una fase B de acetonitrilo + ácido fórmico 0.1% (**Cuadro 7**).

Cuadro 7. Método cromatográfico en gradiente.

Tiempo (min)	Fase A (%)	Fase B (%)
0	80	20
1	80	20
7.8	65	35
8	5	95
10.5	5	95
10.6	80	20
13	80	20

La columna se mantuvo a una temperatura de 40°C, con un gradiente en isocrático (f**igura 5**) de la fase A (80 %), posteriormente modificando el flujo de la fase B a un volumen mayor.

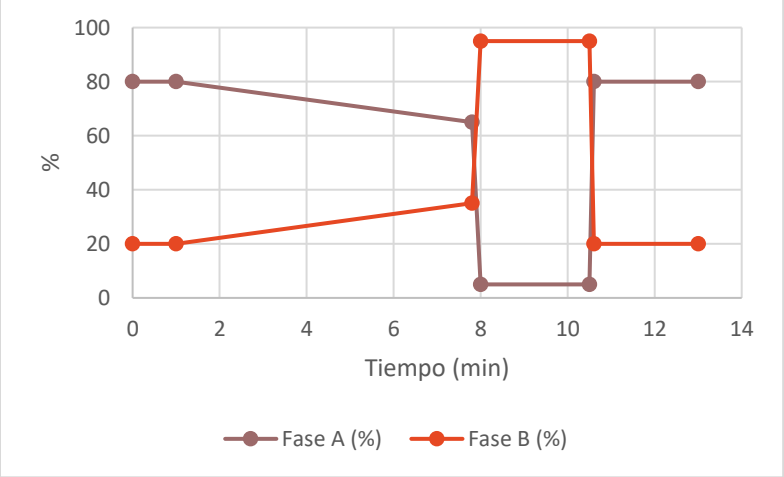


Figura 5. Método cromatográfico en forma de rampa del análisis dirigido.

El rango de absorción de longitud de onda fue de 100 a 600 nm, teniendo como longitud de onda de referencia 310 nm. Además, se emplearon estándares de los metabolitos de interés considerando su respectiva longitud de onda (**cuadro 8**). La

absorbancia se registró simultáneamente en las longitudes de onda 262, 272, 284 y 310 nm.

Cuadro 8. Longitudes de onda analítica referentes a cada estándar empleado. GlucVan: glucovainillina; Van: vainillina; VA: ácido vainíllinico; HBD: 4-hidroxibenzaldehído; HBA: ácido 3,4-hidroxibenzoíco; EtVan: etilvainillina.

Compuesto	λ analítica (nm)
GlucVan	310
Van	310
VA	262
HBD	284
HBA	262
EtVan	310

Previamente se construyó una curva de calibración a partir de ocho diferentes diluciones (**cuadro 9**) de los compuestos estándar con el fin de establecer las señales mínimas detectadas de éstos. Lo anterior con el objetivo de obtener mayor precisión y exactitud en la cuantificación de los metabolitos de interés.

Cuadro 9. Parámetros considerados para la curva de calibración. GlucVan: glucovainillina; Van: vainillina; VA: ácido vainillínico; HBD: 4-hidroxibenzaldehído; HBA: ácido 3,4-hidroxibenzoíco; EtVan: etilvainillina.

ppm	ESTÁNDAR (mL)						Volumen añadido mL	
	GlucVan	Van	VA	HBD	HBA	EtVan	ACN	H_2O
0	0	0	0	0	0	0	500	500
1	1	1	1	1	1	1	494	500
5	5	5	5	5	5	5	470	500
10	10	10	10	10	10	10	440	500
20	20	20	20	20	20	20	380	500
30	30	30	30	30	30	30	320	500
50	50	50	50	50	50	50	200	500
75	75	75	75	75	75	75	50	500

ACN: acetonitrilo; **H_2O**: molécula de agua.

Adicionalmente, partiendo del área de los espectros obtenidos de la curva de calibración se determinó el factor de dilución para cada especie del análisis (**cuadro 10**).

Cuadro 10. Diluciones por especie. VP: V. planifolia**; VOB:** V. planifolia cv. oreja de burro x V. planifolia**; VO:** V. odorata**; VIN:** V. inodora**; VIS:** V. insignis**; VO-24:** V. odorata-24.

Especie	F.D.	Vol. de muestra (µl)	Vol. De ACN (µl)
VP	10	15	285
VOB	3	100	200
VO	2.5	120	180
VIN	1	/	/
VIS	5	60	240
VO-24	3.5	85.7	214.3

ACN: acetonitrilo

6.5. Análisis de datos

6.5.1. Identificación de metabolitos

A partir del análisis no dirigido se obtuvieron matrices de datos correspondientes a cada réplica biológica para ambos modos de ionización, teniendo un archivo “raw” el cual se importó en el sofware Progenesis® QI Nonlinear Dynamics (Waters). A partir de los cromatogramas obtenidos, en las bases de datos (ChEBI, HMDB y PubChem) se realizó la comparación de las características moleculares de los iones detectados en cada muestra analizada. En función de la característica molecular (m/z) se realizó la pre-identificación de los metabolitos detectados, considerando la mayor coincidencia.

Dentro de Progenesis QI se elaboró el diseño experimental, agrupando las muestras por especie y se seleccionaron picos (*Peak picking*), se compararon las intensidades de las réplicas y se normalizaron los datos, tomando un QC como valor de referencia.

Una vez completadas las pre-identificaciones para ambos modos de ionización (V+ y V-) se exportó un archivo “cvs” con los datos generados. De forma manual

se realizó la depuración de los datos, conjuntándolos para analizarse en el sofware estadístico Metaboanalyst 5.0, obteniendo la abundancia normalizada correspondiente a cada metabolito putativo. Los datos se normalizaron por suma asumiendo tener una concentración estable de los metabolitos de cada muestra; se realizó una transformación logarítmica y una escalada de Pareto para homogeneizar la importancia de las variables con distinta abundancia, evitando sesgos por metabolitos altamente concentrados frente a metabolitos en una concentración menor.

Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA unidireccional) para conocer si existía diferencia significativa en la composición metabólica de las especies analizadas teniendo un punto de corte de valor de P (FDR) al 5%. Aunado a ello, se realizó el análisis de componentes principales (PCA), mostrando la representatividad de las muestras en términos de mínimos cuadrados, transformando aquellas posibles variables correlacionadas en variables sin correlación lineal. Considerando que dicho análisis se fundamenta en el análisis de la varianza de cada muestra. Además, se construyó un mapa de calor (heat map) considerando la distancia euclidiana de los datos.

Adicionalmente, se realizó la comparación de muestras agrupándolas en dos grupos mediante prueba de t-student con un valor de FDR de 5%, así como, un gráfico de volcán (volcano plot) con un Fold Change (FC) para conocer las diferencias significativas de mayor valor entre metabolitos.

Para complementar, se llevó a cabo un análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) el cual maximiza la covarianza entre datos y grupos, mostrando los metabolitos que mejor diferencian cada grupo.

6.5.2. Cuantificación de metabolitos principales

Se estableció una correlación a partir del área obtenida del pico cromatográfico de cada metabolito de interés en la curva de calibración (**cuadro 11**) realizada en el análisis dirigido y la concentración de la muestra, considerando la ecuación de la recta:

$$y = mx + b$$

$$x = (y - b)/m$$

Donde

y: área en el pico cromatográfico del estándar
x: concentración de la muestra
m: pendiente de la recta del estándar
b: intersección de la recta del estándar

Cuadro 11. Curva de calibración de los estándares

Estándar	Pendiente (m)	Intersección (b)
GlucVan	4.53	2.33
Van	15.34	17.5
VA	9.08	17.52
HBA	17.82	18.23
HBD	28.8	7.57
EtVan	11.92	0.66

La linealidad se evaluó a partir de la relación entre la concentración de cada estándar y la absorbancia detectada en el UV. Calculando el coeficiente de determinación mediante ajuste de mínimos cuadrados.

Una vez obtenida la concentración de los metabolitos de interés en la muestra, se procedió a los cálculos para conocer la concentración en el fruto considerando el factor de dilución, volumen de re-suspensión, volumen recuperado de la filtración, cantidad de extractante, y cantidad de tejido liofilizado empleado del fruto.

Mediante la siguiente expresión: $Q = \frac{C \cdot D \cdot R}{Vr} = Q^1$

$Q = \frac{Q^1 \cdot L}{M}$ = µg mg⁻¹

$Q\% = \frac{Q}{10}$= mg/100mg

Donde

Q: determinación de compuestos
C: concentración en el extracto (ppm)
D: factor de dilución
R: volumen de resuspensión (mL)
Vr: volumen recuperado (mL)
L: volumen de disolvente (mL)
M: masa utilizada de tejido (mg)

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Análisis metabolómico no dirigido

Mediante el análisis en modo positivo se detectaron 336 iones para el total de muestras, mientras que en el modo negativo fueron detectados 606, de los cuales en las bases de datos consultadas se identificaron 304 y 571 componentes respectivamente. Una vez conjuntados y depurados los datos obtenidos de ambos modos de ionización, se obtuvieron 742 metabolitos preidentificados.

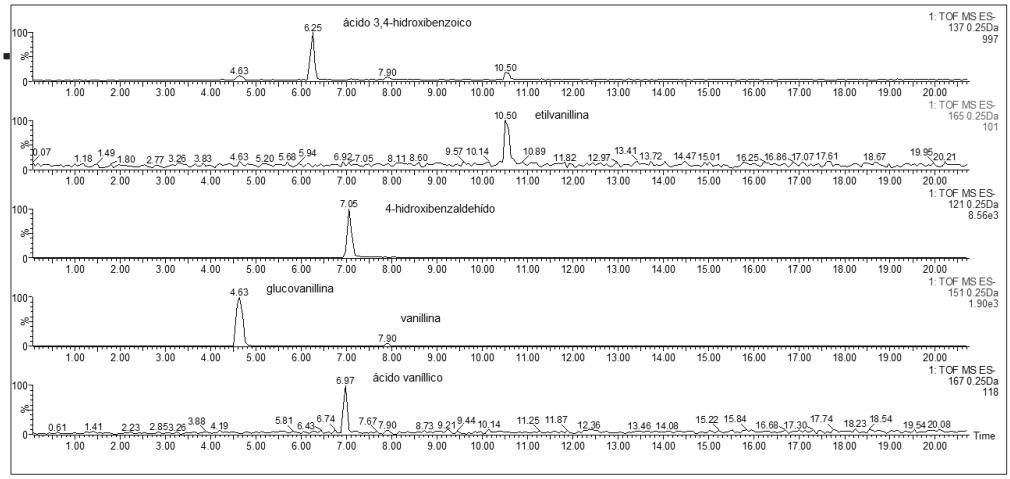


Figura 6. Cromatograma y tiempos de retención en ionización negativa de los estándares empleados.

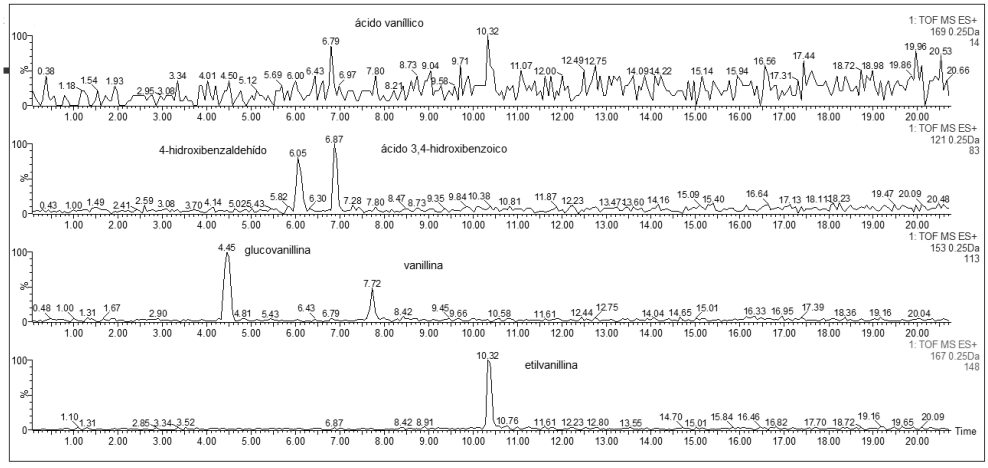


Figura 7. Cromatograma y tiempos de retención en ionización positiva de los estándares empleados

Los estándares empleados (**figura 6**, **figura 7**) presentan una ligera variación en el tiempo de elución de acuerdo con el modo de ionización (+, -), lo que puede deberse al tipo de ionización recibida y la manera en la que reaccionan las moléculas que los integran.

Los resultados obtenidos en la prueba de **ANOVA** indican que la mayor parte de los metabolitos preidentificados son estadísticamente significativos (632 metabolitos) (**figura 8**), lo cual denota una clara relevancia en la composición metabólica de cada especie analizada y la diferenciación entre ellas.

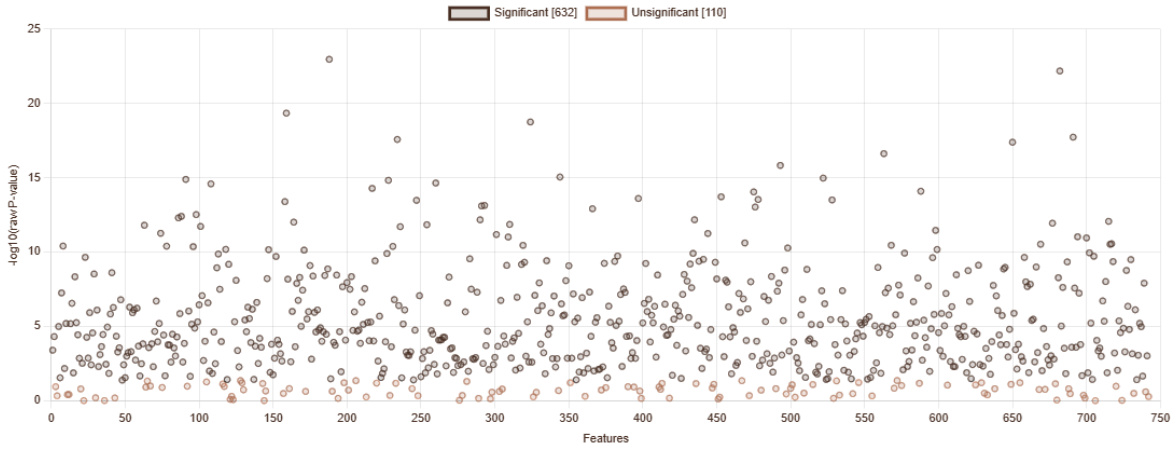


Figura 8. Los metabolitos marcados con mayor intensidad de color son aquellos que presentaron un p-value < 0.05 de acuerdo con la prueba de ANOVA.

Entre los metabolitos preidentificados (**cuadro 16, anexo**) resaltan aquellos clasificados en el grupo de los fenoles, como el ácido vanilloil acético, el D-linalol 3-glucósido, miricetina-3-O-beta-D-glucurónido y, Guangsangon L, el argentino, la 7'-O-Desmetilisocefalina; terpenos como la parilina, la S-furanopetasitina; compuestos con N como la cotinina, L-metionina, Braquistemina F, la Guanaclina; compuestos con S como la Dapoxil (2-aminoetil) sulfonamida, Disulfuro de bis(glutationil)espermina, el metionol.

Cuadro 12. Algunos de los metabolitos estadísticamente significativos

METABOLITO	Tipo de compuesto	Característica	p-value
Epotilona C	Lactona macrocíclica	Metabolito secundario de actividad citotóxica, con potencial antitumoral.	6.74E-13
s-indaceno	Benceno	Antiaromático relacionado estructuralmente a compuestos aromáticos.	9.43E-12
Taxifilina	Glucósido cianogénico	Derivado de aminoácidos, actúa como toxina vegetal para la defensa del organismo.	1.93E-10
Pectachol	Cumarina	Aromático policíclico con potencial antimicrobial y anticancerígeno.	1.38E-09
Rutarina	D-Glucósido	Funciona como antiplasmodial y antimicrobiano	5.36E-09
Lesinina	Isoquinolina	Metabolito antiinflamatorio, anticancerígeno y antioxidante.	4.05E-08
Calotropina	Glucósido cardenólido	Compuesto con propiedades anticancerígenas	6.61E-08
Desaspinina	Cetona aromática	Antihelmíntico. Inhibe la fosforilación de los cloroplastos.	5.79E-06
Salicina	Alcohol	Metabolito aromático antipirético, analgésico no narcótico, antinflamatorio.	9.56E-06

Algunos de los compuestos preidentificados durante el análisis no dirigido (**cuadro 12**), como el pectachol (p-value 1.38E-09), y la rutarina (p-value: 5.36E-09) son considerados como posibles biomarcadores para algunos organismos, teniendo propiedades farmacéuticas (HMDB, 2023). Así, se detectó la presencia de lesinina, metabolito anticancerígeno, con una significancia estadística de 4.05E-08, principalmente en las muestras de *V. inodora* (**figura 9**).

Otros de los metabolitos detectados fueron el eugenol, el guayacol, el 4-dodecilfenol y la toracrisona 8-beta-gentiobiosido, clasificados como fenoles, compuestos que se caracterizan por brindar sabor y aroma en las plantas (Twaij y Hasan, 2022). Así mismo, la toracrisona 8-beta-gentiobiosido y la berberina, aunados a otros metabolitos preidentificados, presenta actividad antimicrobial, antifúngica y antitumoral, entre otros (Mensura *et al.,* 2022).

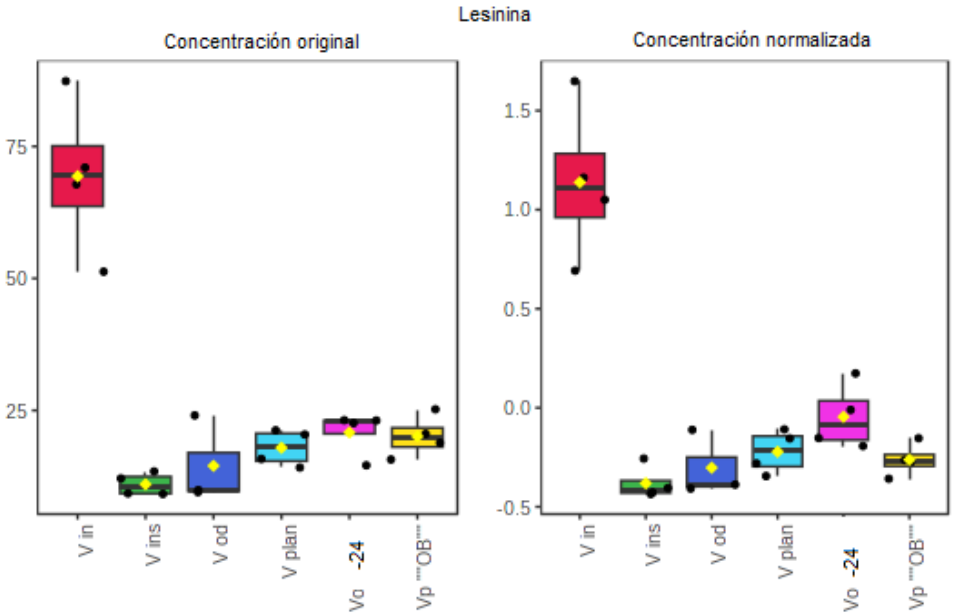


Figura 9. **Boxplot que muestra el valor de p-value del compuesto lesinina**

Metabolitos como el ácido 5-aminolevulínico, precursor de la clorofila en las plantas, es considerado un agente antineoplásico; fucoxanthinol, aunado a la lesinina y la glaucarubolona, siendo además considerada esta última como un antiviral. Otros como el tosilato de itramina son vasodilatadores o como la guanaclina, reducen la presión arterial. El metabolito psoroleno resulta particular ya que presenta actividad fotosensibilizante, empleándose como tratamiento para la enfermedad conocida como psoriasis y contra el vitíligo (PubChem, 2023).

La presencia de metabolitos con diferentes propiedades concuerda con lo expuesto por Gu y colaboradores (2017), quienes establecen que la vainilla posee compuestos, relacionados principalmente al sabor, que han demostrado actividad antimicrobiana y antioxidante, entre otra, lo que lo hace un recurso potencial para distintos fines.

En el análisis de componentes principales (**PCA**), la componente 1 y 2 explican el 63.4 % de la varianza observada en las variables. **(figura 10).** El conjunto de datos analizados presenta una clara diferenciación de acuerdo con la especie de vainilla analizada, especialmente en *V. planifolia*, *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x *V.*

planifolia y *V. inodora*, encontrándose esta última como la especie más distal al resto. Situándose el total de variables dentro del intervalo de confianza de los datos.

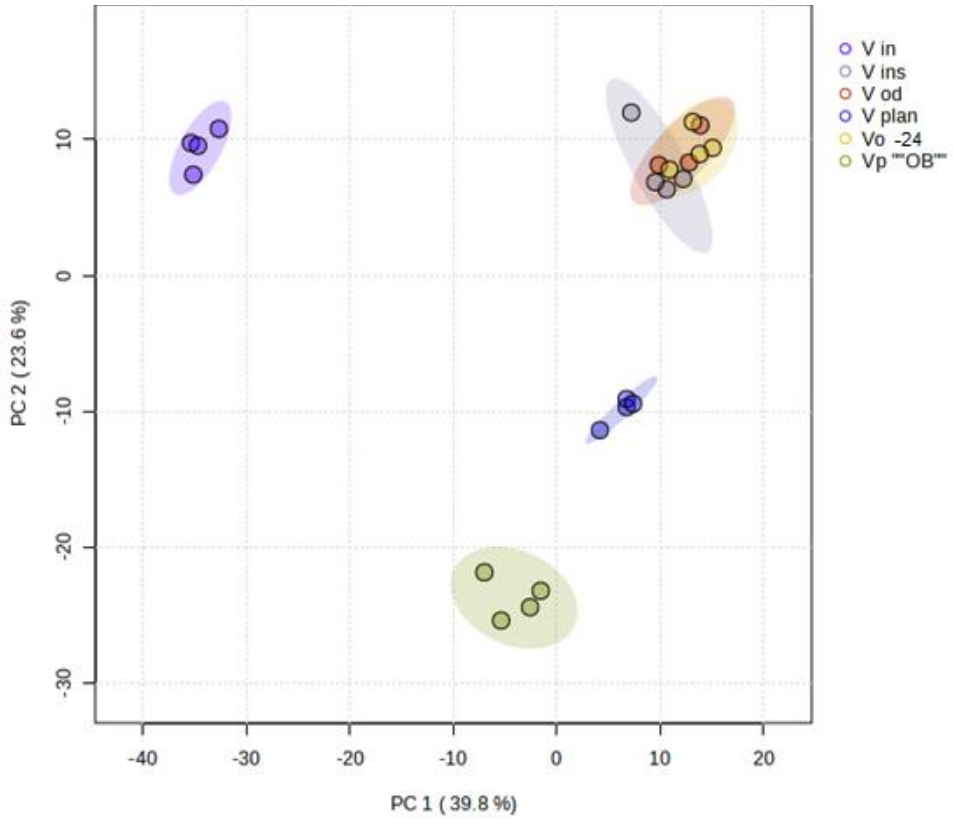


Figura 10. Análisis de componentes principales correspondiente a los frutos de *Vanilla* spp. Componente 1: 39.8 %; componente 2: 23.6 %. El significado de color se encuentra indicado en la leyenda: V in (*V. inodora***), V ins (***V. insignis***), V od (***V. odorata***), V plan (***V. planifolia***), Vo-24 (***V. odorata*** -24, **Vp "OB" (***V. planifolia*** cv. "oreja de burro" x *V. planifolia*).**

El análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (**PLS-DA**) muestra aquellos compuestos que presentan una importancia mayor **(figura 11)**. Siendo metabolitos marcadores entre cada una de las especies analizadas (**figura 12**).

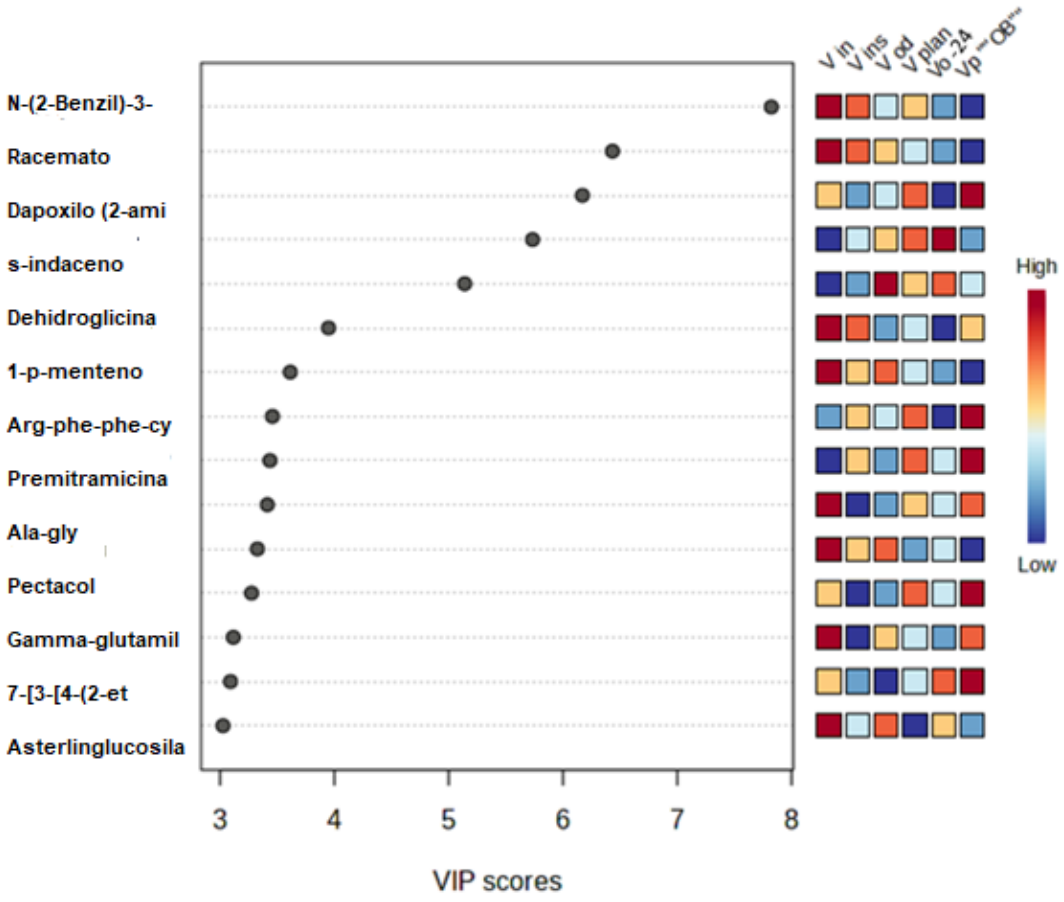


Figura 11. Los metabolitos mostrados en el gráfico de PLS-DA son aquellos que mejor identifican a cada grupo. En el eje *x* se indica la importancia de las variables en la proyección (VIP); el eje *y* corresponde al metabolito. En la parte derecha, de acuerdo con el color, se indica la concentración relativa del metabolito correspondiente en cada grupo de vainilla. V in (*V. inodora***), V ins (***V. insignis***), V od (***V. odorata***), V plan (***V. planifolia***), Vo -24 (***V. odorata*** -24), Vp "OB" (***V. planifolia*** cv. "oreja de burro" x ***V. planifolia***).**

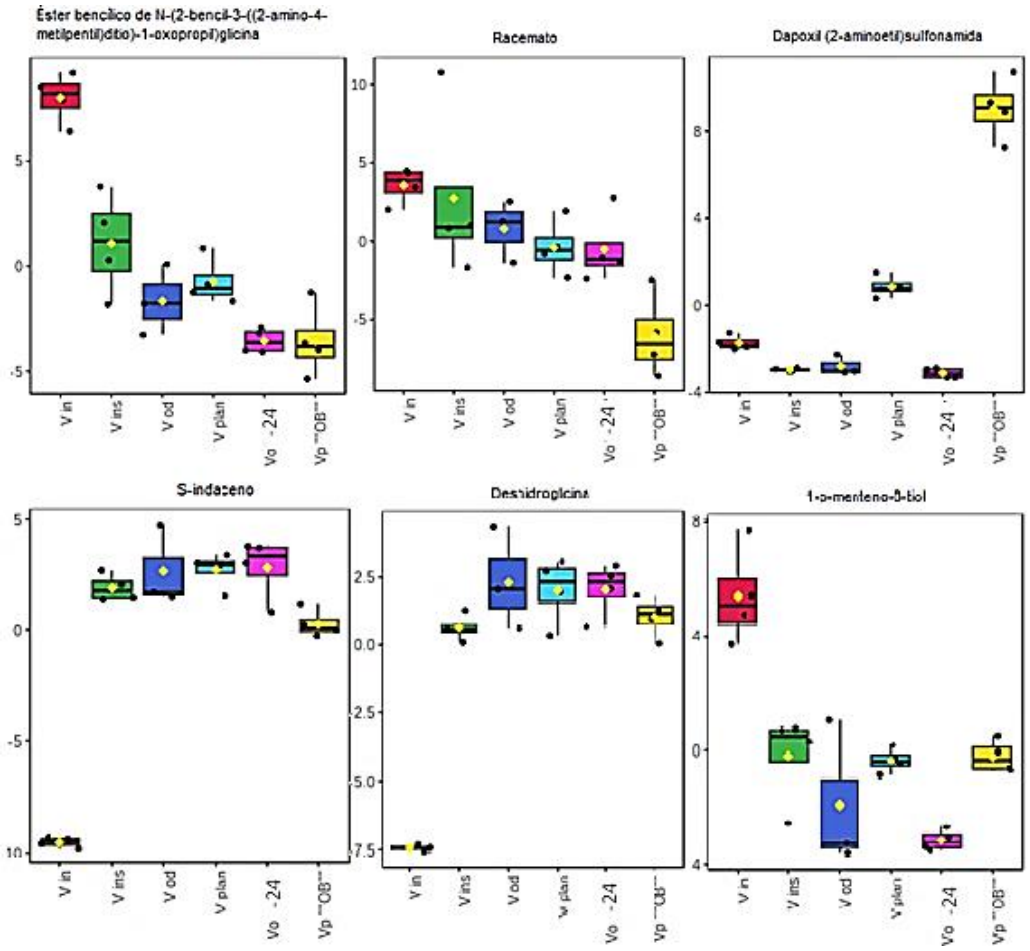


Figura 12. Gráfico de boxplox construidos a partir de las variables normalizadas partiendo de los metabolitos más representativos entre las muestras.

A partir del **heatmap** (**figura 13**) se puede observar una clara diferenciación de las especies analizadas, para lo que se puede considerar a *V. inodora* como la especie que mayor grado de diferenciación metabólica presenta con respecto al resto de las especies analizadas. A su vez, *V. odorata, V. odorata-24* y *V. insignis* quedan englobadas dentro de una misma rama del dendograma. *V. odorata* y *V. odorata-24* pese a pertenecer a la misma especie, muestra algunas diferencias en su composición metabólica, lo que indica que el suministro controlado de agua (lisímetro) en el caso de *V. odorata -24* puede influir en la síntesis de metabolitos de la planta. En el grupo más distal se incluye a *V. planifolia* y *V. planifolia* cv. “oreja de burro”, mostrando una importante diferenciación en algunos de los metabolitos que producen.

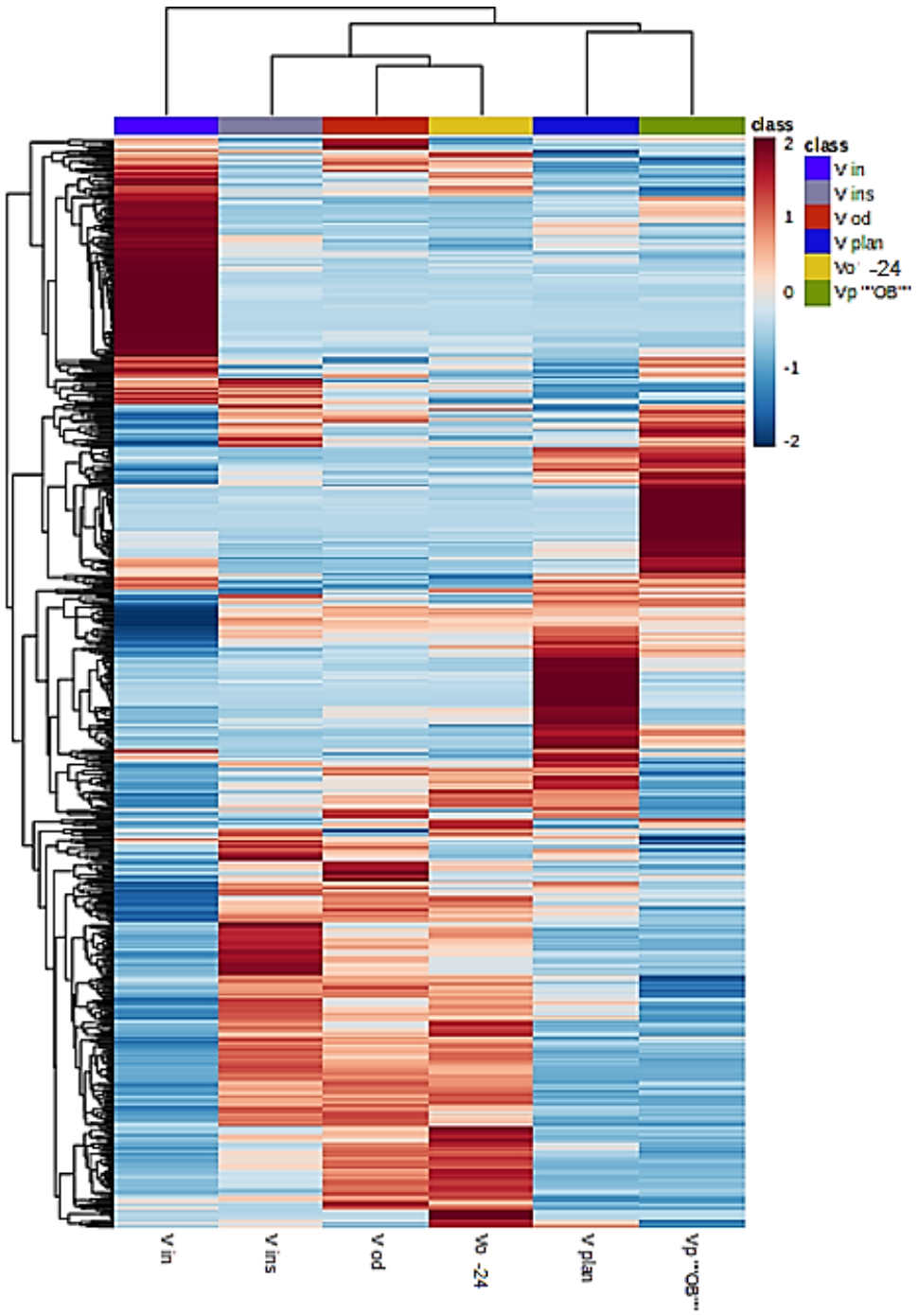


Figura 13. Representación en heatmap de los metabolitos preidentificados en las muestras de *Vanilla* spp. El color de cada celda corresponde a un valor de concentración, teniendo una escala de -2 a 2: V in (*V. inodora*), V ins (*V. insignis*), V od (*V. odorata*), V plan (*V. planifolia*), Vo -24 (*V. odorata* -24), Vp "OB" (*V. planifolia* cv. "oreja de burro" x *V. planifolia*).

Además, algunos grupos de compuestos que parecen ser más específicos de una especie o de especies emparentadas metabólicamente presentan mayor concentración en la misma, englobándola como un grupo. Hay que mencionar que alrededor de 47 compuestos se encontraron en su forma glucosilada, lo que concuerda con lo reportado por otros autores para frutos verdes (Pardío *et al*., 2018). De esta clase de compuestos se encontró vainillol glucosa, glucósido de 2,3-butanodiol, dihidrozeatin-O-glucósido, glucósido iridodia y ácido vainíllico 4-β-D- glucopiranósido.

7.1.1. Ánalisis no dirigido en *Vanilla inodora*

Partiendo de la prueba de T (**figura 14**) analizando la composición de metabolitos de *V. inodora* frente al resto de las especies de vainilla analizadas se encontraron 261 metabolitos que presentan diferencia significativa.

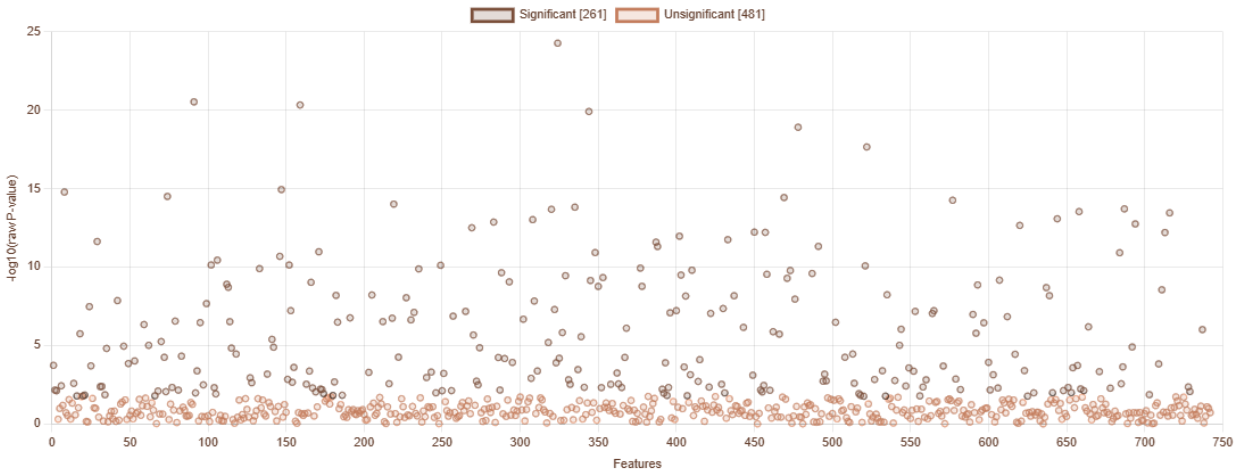


Figura 14. Los metabolitos marcados con mayor intensidad de color son aquellos que presentaron un p-value < 0.05 de acuerdo con la prueba de T.

Aunado lo anterior, a partir del gráfico de **volcano plot** (**figura 15**) se separaron los metabolitos conforme a su importancia significativa entre los dos grupos, *Vanilla* spp y *V. inodora.* Encontrándose a los metabolitos con mayor importancia significativa en el extremo superior derecho del gráfico, mientras que su posición con respecto al eje x indica su impacto biológico.

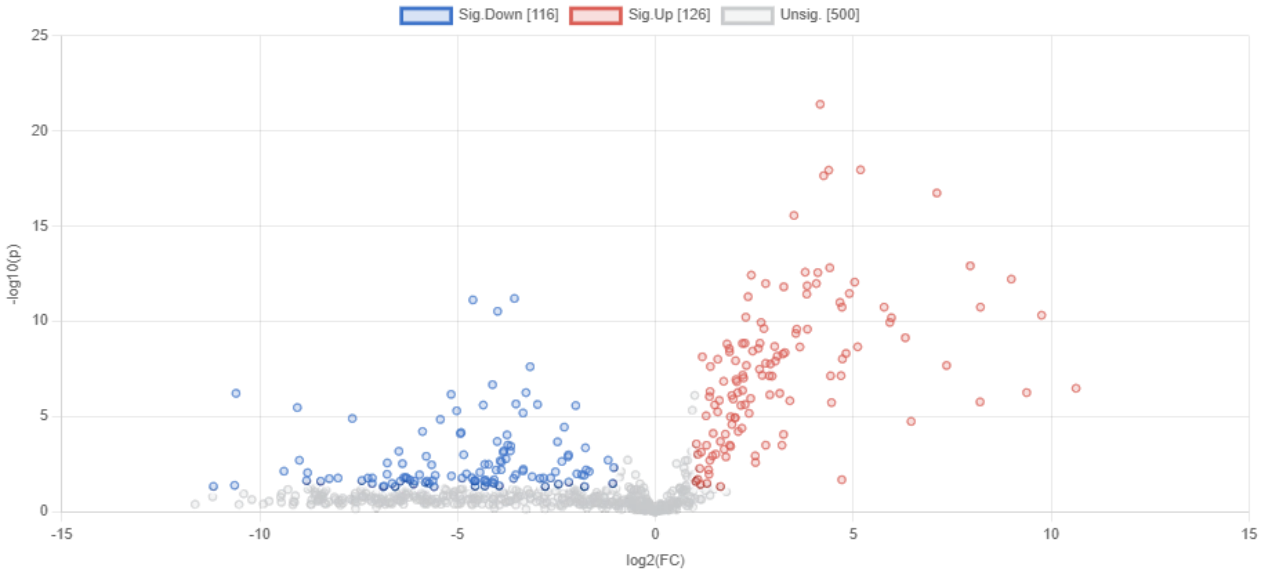


Figura 15. Volcanoplot. Del lado derecho (color rojo) del gráfico se sitúan los metabolitos que presentan un valor de significancia mayor

De acuerdo con la prueba de análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (**PLS-DA**) (**figura 16**), el metabolito con mayor importancia para diferenciar a la especie *V. inodora* del resto de especies muestreadas, fue el s-indaceno, mostrando una concentración relativamente mayor en el grupo de *Vanilla spp*. El s-indaceno es considerado como una molécula olicíclica antiaromático con características estructurales asociadas a propiedades aromáticas (Nendel *et al*., 1999). Otro de estos compuestos fue la isocanatina, la cual posee propiedades farmacológicas, con una amplia aplicación en la investigación (Gang *et al*., 2020).

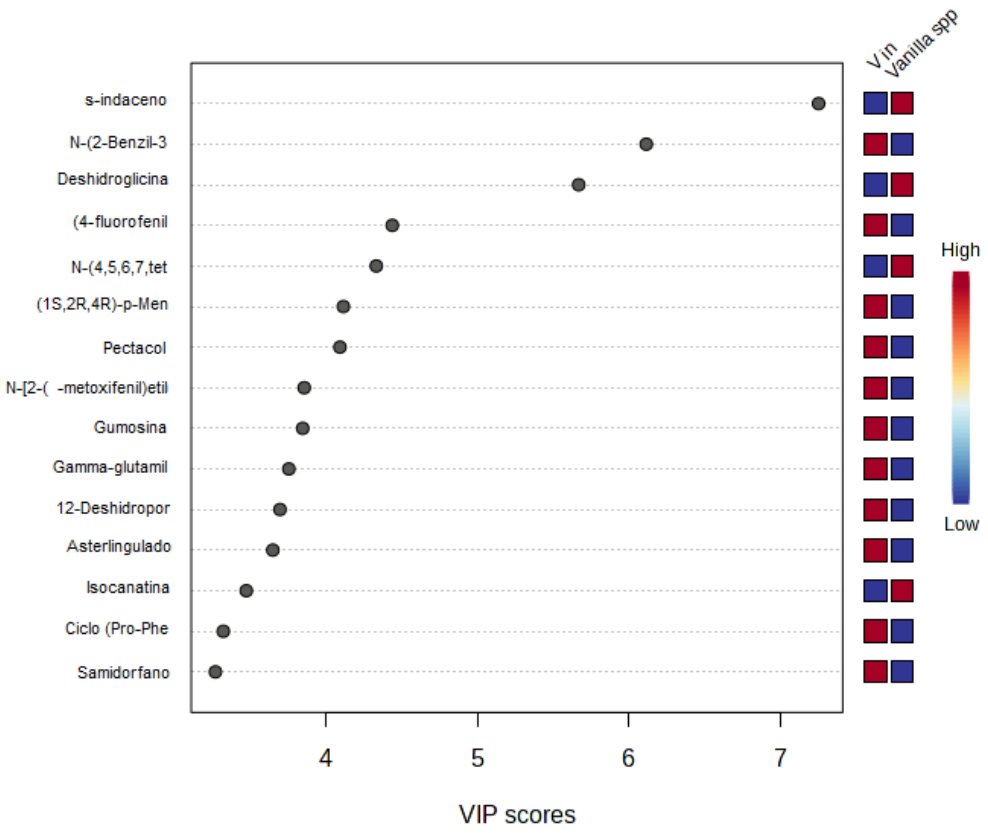


Figura 16. Los metabolitos mostrados en el gráfico de PLS-DA son aquellos que mejor identifican a cada grupo. En el eje x se indica la importancia de las variables en la proyección (VIP); el eje y corresponde al metabolito. En la parte derecha, de acuerdo con el color, se indica la concentración relativa del metabolito correspondiente en cada grupo de vainilla.

V in (*V. inodora***), *Vanilla spp* (**engloba al resto de especies incluidas dentro del análisis).

Se preidentificó samidorfano entre estos metabolitos, el cual se ha empleado eficazmente para tratamientos de epilepsia, ya que es un antagonista opioide que actúa como antipsicótico (PubChem, 2023). Por otra parte, el pectacol, miembro de las cumarinas, destacó como metabolito de importancia para *V. inodora*, presentando bioactividad especialmente antitumoral, mostrando potencial para ser estudiado (Tailulu *et al.,* 2022). El éster bencílico de N-(2-bencil-3-((2-amino-4-metilpentil) ditio)-1-oxopropil) glicina es de lo metabolitos con mayor concentración relativa en *V. inodora*. Sin embargo, no se conoce mucho de su función en los organismos, al igual que algunos otros compuestos.

7.2. Análisis dirigido

Partiendo de la calibración se obtuvo una linealidad de r^2= 0.99. A partir del área resultante del espectro detectado para cada compuesto empleado como estándar, se pudo obtener la mediana de la concentración de éste para las especies analizadas.

La mediana de la concentración de cada metabolito de referencia se concentra en el **cuadro 13**, expresada en µg de metabolito de referencia por mg de tejido liofilizado. Diversos autores como Gu y colaboradores (2017) reportan que, en frutos verdes la vainillina solo se encuentra presente en su forma conjugada (glucovainillina). Sin embargo, aunque en concentraciones bajas, se encontró presencia de vainillina en frutos verdes, siendo *V. planifolia* la especie con mayor concentración de ésta (0.10±0.08 µg/ 100 mg), concordado con lo presentado por Pardío y colaboradores (2018).

Cuadro 13. Concentración en cada especie de metabolitos contemplados en la NMX-FF-074-SCFI-2009, expresado en µg/mg ± la desviación estándar. GlcVan: glucovainillina, **Van:** vainillina, **VA:** ácido vainíllico, **HBD: 4**-hidroxibenzaldehído**, HBA:** ácido 3,4-hidroxibenzóico

ESPECIE	GlcVan(ug/mg)	Van(ug/mg)	VA (ug/mg)	HBD (ug/mg)	HBA (ug/mg)	EtVan (ug/mg)
V. planifolia cv. Oreja de burro x V. planifolia	2.3 ± 0.58	0.11 ± 0.13	0.1 ± 0.00	0.85 ± 0.22	1.6 ± 0.25	0.017 ± 0.00
V. odorata	0.05 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.023 ± 0.01
V. inodora	0.80 ± 0.21	0.02 ± 0.01	0.08 ± 0.03	0.49 ± 0.08	0.17 ± 0.04	0.017 ± 0.00
V. insignis	0.59 ± 0.32	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.18 ± 0.09	0.16 ± 0.02	0.007 ± 0.00
V. odorata (-24)	0.81 ± 0.19	0.03 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.03	0.016 ± 0.01
V. planifolia	9.6 ± 0.79	0.10 ± 0.08	0.15 ± 0.08	0.02 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.002 ± 0.00

µg: microgramos; mg: miligramos

De acuerdo con los resultados obtenidos (**cuadro 13.**) *V. planifolia* y los frutos de la cruza entre *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x *V. planifolia* posee las concentraciones más altas de glucovainillina por mg, compuesto que por la acción de enzimas tiende a degradarse a vainillina, principalmente durante el proceso de

beneficiado, siendo *V. odorata* la que menor concentración presenta (0.05 µg/mg) (Reyes-López *et al*., 2008; Gu *et al*., 2017). Mientras que *V. inodora* y *V. odorata*-24 presentan concentraciones similares, 0.80 µg/mg y 0.81 µg/mg respectivamente. Lo anterior se puede apreciar mejor en la **figura 17** donde se representan mediante el boxplo las concentraciones para cada especie analizada. Estas variaciones pueden estar influenciadas por la fecha de cosecha de fruto un factor que determina la cantidad de metabolito que puede contener, ya que se han detectado niveles variables de glucovainillina en frutos verdes, incrementando en frutos que se cosechan hasta que adquieren una coloración marrón (Van Dyk *et al*., 2014).

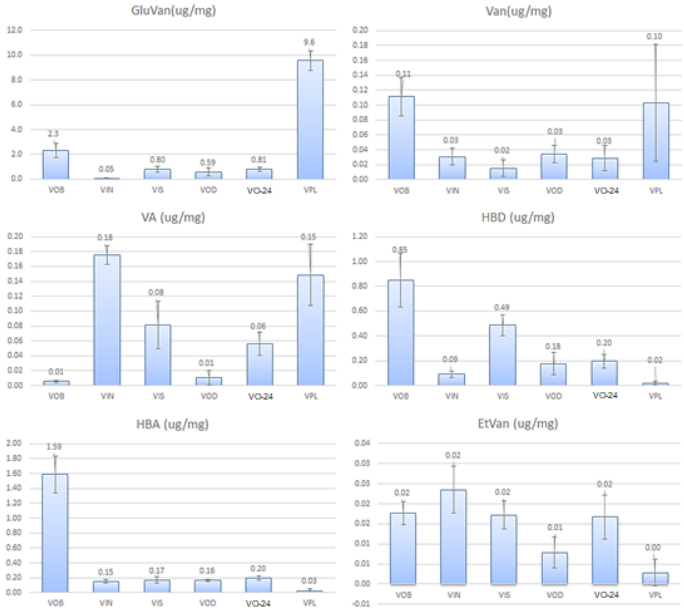


Figura 17. Graficos de boxplot que muesran el promedio de la concentración de cada metabolito cuantificado. VIN (*V. inodora***), VIS (***V. insignis***), VOD (***V. odorata***), VP (***V. planifolia***), VO-24 (***V. odorata* -24**), VOB (***V. planifolia*** cv. "oreja de burro" x *V. planifolia*). GlcVan:** glucovainillina, **Van:** vainillina, **VA:** ácido vainíllico, **HBD:** 4-hidroxibenzaldehído**, HBA:** ácido 3,4-hidroxibenzóico.

Particularmente los frutos de la cruza V. *planifolia* cv. oreja de burro x *V. planifolia* contiene una cantidad de 4-hidroxibenzaldehído y ácido 3,4-hidroxibenzóico mayor al resto. Mientras que los frutos verdes de *V. planifolia* presentan cantidades bajas

de estos metabolitos. Por su parte, *V. inodora* en comparación con las otras especies registró una cantidad mayor de etilvainillina, 0.02 µg/mg (**cuadro 14**) de los principales metabolitos responsables del sabor de la vainilla, siendo además un antioxidante (PubChem, 2023). Presentando concentraciones similares de ácido vainíllico, las especies *V. planifolia* y *V. inodora* mostraron valores más altos de dicho compuesto.

Cuadro 14. Porcentaje de metabolitos expresado en mg por cada 100 mg de tejido ± la desviación estándar. GlcVan: glucovainillina, **Van:** vainillina, **VA:** ácido vainíllico, **HBD:** 4-hidroxibenzaldehído**, HBA:** ácido 3,4-hidroxibenzóico, **EtVan**: etilvainillina**.**

ESPECIE	% GlcVan	% Van	% VA	% HBD	% HBA	%EtVan
V. planifolia	0.955 ± 0.078	0.0103 ± 0.006	0.014 ± 0.007	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.002	0.0002 ± 0.0003
V. planifolia cv. Oreja de burro x *V. planifolia*	0.229 ± 0.057	0.0047 ± 0.002	0.0005 ± 0.0001	0.084 ± 0.021	0.158 ± 0.024	0.001 ± 0.0007
V. odorata	0.058 ± 0.031	0.004 ± 0.001	0.001 ± 0.0009	0.011 ± 0.008	0.016 ± 0.001	0.0007 ± 0.0003
V. inodora	0.005 ± 0.002	0.003 ± 0.001	0.017 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.014 ± 0.002	0.002 ± 0.0005
V. insignis	0.079 ± 0.021	0.001 ± 0.002	0.005 ± 0.005	0.048 ± 0.008	0.01 ± 0.004	0.001 ± 0.0003
V. odorata-24	0.081 ± 0.019	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.019 ± 0.005	0.019 ± 0.002	0.001 ± 0.0005

Por su parte, el 4-hidroxibenzaldehído se encontro a una mayor concentración en en frutos de la cruza entre *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x *V. planifolia,* así como, en *V. insignis.*

Cuadro 15. Concentraciones de los principales compuestos de frutos de vainilla requeridas por la NMX-FF-074-SCFI-2009.

Compuesto	Especificaciones
Vainillina	2,0 mínimo % en materia seca
Ácido 3,4-hidroxibenzoico	58-100 ppm
Ácido vainillínico	411-861 ppm
4-Hidroxibenzaldehído	219-498 ppm
Glucovainillina	-
Etilvainillina	-

Si bien, las concentraciones obtenidas son menores a las establecidas en la NMX-FF-074-SCFI-2009 (**cuadro 15**), es importante considerar que el proceso de beneficiado influye en la cantidad del compuesto presente en el fruto de vainilla por las reacciones enzimáticas que ocurren (Luna-Guevara *et al*., 2016; Gu *et al*., 2017). Además, diferencias de concentraciones como las detectadas entre *V. odorata* y *V. odorata*-24, al pertenecer a una misma especie indican que el tratamiento de monitoreo hídrico puede estar determinando la cantidad en la que los metabolitos se expresan (Moreno-Poveda *et al.*, 2021). Conociento a su vez, que determinados compuestos pueden no estar presentes o en concentraciones mucho más bajas en frutos curados que en frutos verdes debido a hidrolisis incompleta durante dicho proceso (Pardío *et al.,* 2018).

Siendo este tipo de análisis y los resultados que proporciona, un buen indicativo para determinar aquellas especies que tengan potencial para comercializarse junto a *V. planifolia* y otras especies actualmente comercializadas por su aroma y sabor. Ya que, con base en las concentraciones de los compuestos contenidos en cada especie, se pueden considerar algunas de ellas para compensar la demanda de vainilla en el mercado (Tavares de Oliveira *et al*., 2022). Al conjuntar aspectos científicos, socioeconómicos y culturales al estudio de la vainilla, es posible crear estrategias que aporten a la conservación y restauración de sus poblaciones, contribuyendo al mantenimiento de la variabilidad genética y el estudio de su diversidad metabólica (Castelán-Culebro *et al*., 2021).

VIII. CONCLUSIONES

1. Se encontró una notoria diferenciación de los metabolitos en las especies analizadas, especialmente *V. inodora*, la cual en ciertos metabolitos presenta mayor concentración que el resto de las especies analizadas. Con mayor similitud entre los frutos de la cruza entre *V. planifolia* cv. “oreja de burro” x *V. planifolia* y *V. planifolia*, así como, entre *V. insignis*, *V. odorata* y *V. odorata* -24.

2. El análisis muestra efectividad, ya que nos indica que, en *V. odorata* pese a pertenecer a la misma especie, la aplicación de un sistema de monitoreo hídrico (lisímetro) en *V. odorata* -24 influye en el perfil metabólico que presenta el organismo.

3. La cuantificación metabólica refuerza los resultados obtenidos en el análisis no dirigido ya que aún, encontrándose un determinado metabolito en el total de muestras de vainilla, las concentraciones variaron notablemente entre una especie y otra, pudiendo corroborar la presencia de metabolitos, como la etilvainillina, la cual se ha considerado como un metabolito inexistente en la naturaleza.

4. Algunos metabolitos detectados no fueron pre-identificados debido a que no se encontró una coincidencia mucho más precisa con las características brindadas por las bases de datos consultadas. Por lo que sería importante la realización de nuevos estudios enfocados en frutos vainilla en un estado de desarrollo más prematuro, previo al proceso de beneficiado pues, en su mayoría los estudios se han enfocado en analizar frutos curados. Resulta importante considerar que dicho proceso interviene notablemente en la composición metabólica de la vainilla ya que, algunos metabolitos presentes en frutos verdes pueden catabolizarse durante el proceso de beneficiado.

5. Se requiere profundizar de manera más detallada en el perfil metabólico de cada una de las especies analizadas, así como, en el resto del género *Vanilla,* no solo en los frutos, sino en todos los órganos vegetales. Por lo que, sería adecuado mapear cada una de las rutas metabólicas que interviene en la síntesis de los metabolitos de la vainilla, mismas que le otorgan sabor y aroma, entre otras propiedades. Destacando las particularidades de algunos de los metabolitos

detectados, como su función anticancerígena, hipotensoras, antidepresivas y antioxidantes.

Además, se debe entender la diversidad química que poseen las especies del género pues es vital para establecer estrategias que contribuyan a incrementar la producción natural de vainilla. Aunado a su conservación y preservación, principalmente de aquellas especies que se encuentran con mayor riesgo de desaparecer.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, C.L., Osorio, N. y Marín-Montoya, M. (2013). Identificación molecular de microorganismos asociados a la rizosfera de plantas de vainilla en Colombia. Acta Biológica Colombiana, 18(2): 293-306.

Andrade-Andrade, G., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B.E., Arévalo-Galarza, L. y Caso-Barrera, L. (2018). Variación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y taninos en *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews de la Huasteca Hidalguense, México. Agrociencia, 52: 55-66.

Arbona, V., López-Climent, M.F., Pérez-Clemente, R.M. y Gómez-Cadenas, A. (2014). La metabolómica como herramienta para la evaluación fisiológica y nutricional en acitricultura. Universitat Jaume I., España: 104-108.

Armenta-Montero, S., Menchaca-García, R., Pérez-Silva, A. y Velázquez-Rosas, N. (2022). Changes in the potencial distribution of *Vanilla planifolia* Andrews under different climate change projections in México. Sustainabillity, 14(2881). DOI: 10.3390/su14052881

Asaff-Torres, A. (2010). Transformando riesgos en oportunidades: del nejayote a la vainillina. Ciencia, Tecnología e innovación para el desarrollo de México, 3(60).

Azofeifa-Bolaños, J.B., Paniagua-Vásquez, A. y García-García, J.A. (2014). Importance and conservation challenges of *Vanilla spp*. (Orchidaceae) in Costa rica. Agronomy Mesoamerican, 25(1): 189-202. DOI: https://doi.org/10.15517/am.v25i1.14220

Barallobre-Barreiro, J., Chung, Y.L. y Mayr M. (2013). La proteómica y la metabolómica: los mecanismos de la enfermedad cardiovascular y el descubrimiento de biomarcadores. Revista Española de Cardiología, 66(8): 657-661.

Babío-Núñez, B. (2019). Extracción de vainillina y ácido vanílico empleando disolventes eutécticos profundos. E.T.S.I. INDUSTRIALES UPM.

Bernal-Ruíz D.A.L. (2015). La era de las ciencias ómicas. Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza. Academia de Farmacia “Reino de Aragón”, Zaragoza, España,

Bory, S., Grisoni, M., Duval, M.F. y Besse, P. (2008). Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. Genet Resour Crop Evol., 55: 551-571. DOI:10.1007/s10722-007-9260-3.

Botero, K. y Arias, T. (2018). Uso de las ciencias ómicas para el mejoramiento genético de cultivos. Revista de Ciencias Agrícolas. 35(2), pp. 64-78. DOI: 10.22267/rcia.183502.92

Cardoso-Taketa, A., Ortiz-Caltempa, A., Soto-Díaz, A.U., Salgado-Medrano, N., Rodríguez-López, V., Corona-Sánchez, L., Gesto-Borroto, R. y Villarreal, M.L. (2020). El potencial de la metabolómica en México. Mensaje bioquímico, 44: 107-115.

Carrari, F., Scarpeci, T.E., Abriate, L.A., Vila, A.J. y Valle, E.M. (2004). Biotecnología y mejoramiento Vegetal II. Cap. 10: Metabolómica. Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria ArgenBio: 146-156.

Castelán-Culebro, S., Silva-Rivera, E. y Velázquez-Rosas, N. (2021). Caxi xánath: recurso biocultural para recuperar el Totonacapan. Centro de Investigaciones Tropicales. El Jarocho Cuántico, al son de la ciencia, La Jornada Veracruz, 2(16), 3.

Cervantes-Castillo A. (2017). Estudio del contenido de compuestos aromáticos y fitoquímicos de *Vanilla planifolia* J. de la Huasteca Potosina, México. [Tesis de maestría]. Colegio de Postgraduados, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo.

Cervantes-Castillo, A., Lima-Morales, M., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B.E., Arévalo-Galarza, G.A., Soto-Hernández, R.M., García-Osorio, C. y Arévalo-Galarza, Ma. de Lourdes. (2018). Calidad de frutos vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) procedente de la Huasteca Potosina, México Nova scientia, 10(21): 360-378. DOI: ns. v10i21.1586

Chambers, A., Moon, P., De Verlands-Edmond, V. y Bassil, E. (2019). Vanilla cultivation in Southerm Florida. IFAS Extension. University of florida.

Damirón-Velázquez, R. (2004). La vainilla y su cultivo. Dirección General de Agricultura y Fitosanitaria. Gobierno del Estado de Veracruz.

Diario Oficial de la Federación. (2024). Reforma a la Ley de la propiedad industrial. Secetaría de economía. Diario Oficial de la Federación, Segunda sección.

Espinoza Pérez, José. (2016). Estudio de factores socioculturales que influyen en el manejo de la vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), en la región de Totonacapan, México. [Tesis de maestría]. Colegio de Postgraduados, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Campus Puebla.

Flores-Jiménez, Á., Reyes-López, D., Jiménez-García, D., Romero-Arenas, O., Rivera-Tapia, J.A., Huerta-Lara, M. y Pérez-Silva, A. (2017). Diversidad de *Vanilla spp*. (Orchidaceae) y sus perfiles bioclimáticos en México. Revista de Biología Tropical, 65(3). DOI: 10.15517/rbt. v65i3.29438

Frigolet M.E. y Gutiérrez-Aguilar R. (2017). Ciencias “ómicas”, ¿cómo ayudan a las ciencias de la salud? Revista Digital Universitaria UNAM, 18(7).

Fouché, Jean G. & Jouve, Laurent. (1999). *Vanilla planifolia*: history, botany and culture in Reunion Island. Agronomie, EDP Sciences, 19(8), pp. 689-703.

Gamboa-Gaitán, M.A. (2014). Vainillas colombianas y su microbiota. II. Diversidad, cultivo y microorganismos endófitos. Universitas Scientiarum, 19(3): 287-300. DOI: 10.11144/Javeriana.SC19-3.vcmd.

Gang, S.S., Castelletto, M., Yang, E., Ruiz, F., Brown T., Bryant, A., Grant, W. y Hallem, E. (2020).Chemosensory mechanisms of gost seeking and infectivity in skin-penetratin nematodes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 117 (30): 17913-17923. DOI: 10.1073/pnas.1909710117

Garrido-Pertierra, A., Villaverde-Gutiérrez, C., Blanco-Gaitán, D., Teijón-Rivera, J., Mendoza-Otras, C. y Ramírez-Rodrigo, J. (2009). Fundamentos de Bioquímica Metabólica. 3 ed. Editorial Tébar, SL. Madrid.

González-Ibarra A.A. (2018). Empleo de técnicas de espectrometría de masas para el estudio metabolómico de diversos organismos bajo estrés ambiental. [Tesis de doctorado]. Universidad de Guanajuato, Méx.

Guevara-Arroyo, E. y Martel-Lozada, J. (2018). Producción y comercialización de vainilla orgánica. [Tesis de Maestría]. Facultad de administración. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Gu, F., Chen, Y., Hong, Y., Fang, Y. y Tan L. (2017). Comparative metabolomics in vanilla pod and vanilla bean revealing the biosynthesis of vanillin during the curing process of vanilla. AMB Express, 7(116): 1-9. DOI: 10.1186/s13568-017-0413-2

Hernández-Hernández, J., Curti-Díaz, S.A. y Ríos-Utrera, Á. (2019). Retención de frutos en *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews con reguladores de crecimiento. Agronomía Mesoamericana, 30(3). DOI: 10.15517/am. v30i3.33988

Herrera-Cabrera, B.E., Delgado-Alvarado, A., Salazar-Rojas, V.M., Sandoval-Zapotitla, E. y Campos-Contreras, J.E: (2016). La diversidad de vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks, ex Andrews) en México: recurso genético estratégico para el desarrollo rural. AGRO Productividad, 9(11-B): suplemento.

Heinner G. (2015). Hacia la medicina personalizada: implicancias de las ciencias básicas y la “ómicas” en la práctica clínica. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 32(4), pp. 629-632.

Heinrich M. (2015). ¿Estudios metabolómicos- nuevas oportunidades para la fitoquímica? Boletín Latinoamericano y del Caribe de las plantas medicinales y aromáticas, Santiago, Chile, 4(6).

Ibarra-Cantún, D., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B.H. y Salazar-Rojas, V.M. (2018). Variación de fitoquímicos de dos genotipos de *Vanilla planifolia* Jacks ex Andrews bajo condiciones de cultivo en acahual. Agroproductividad, 11(3): 45-50.

Ibarra-Cantún, D., Delgado-Alvarado, A., Herrera-Cabrera, B.E., Soto-Hernández, R.N., Salazar-Rojas, V.M. y Aguilar, M.I. (2018a). Effect of the environmental condition of *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews cultivation on phytochemical concentration. Revista Chapingo, Serie Hortícola, 24(2). DOI: r. rchsh.2017.08.031

INEGI. (2021). Aspectos geográficos: Puebla. Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

Iglesias-Andreu L. G.; Andrade-Torres A.; Flores-Estevez N; Giorgana-Figueroa J. L.; Luna-Rodríguez M., Nahuat-Dhib J.C.; Noa-Carrazana A.; Ortiz-Ceballo C.; Reyes-Sosa L.; Rodríguez-Gil L. y Zaenz-Catrbonell. (2014). Establecimiento de

las bases biotecnológicas y ecológicas en la mejora genética de *Vanilla planifolia* Jacqs. (Orchidaceae). Cuadernos de Biodiversidad, 45, pp.1-6. ISSB: 2254-612X.

Johnson, C.H., Ivanisevic, J. y Siuzdak, G. (2016). Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 17: 451-459. DOI: 10.1038/nrm.2016.25

Kelso-Bucio, H.E., Reyes-López, D., Cruz-Palacios, M.I., Villegas-Rodríguez, I., Rodríguez-Morales, B., Pascual-Ramírez, F., Khalidou, M.B., Magaña-Hernández, F., Huerta-Gómez, I.B. (2013). Semi-mecanizado de vainilla. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 22(diciembre): 38-40.

Li, Y.X., Li, Z.H, Schuiteman, A., Chase, M.W., Li, J.W., Huang, W.C., Hidayat, A., Wu, S.S. y Jin, H. (2019). Phylogenomics of Orchidaceae base on plastid and mitocondrial genomes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 139: 106540. DOI: 10.1016/j.ympev.2019.106540.

Liu, Y., Liu, J., Kong, Z., Huan, X., Li, L., Zhang, P., Wang, Q., Guo, Y., Zhu, W. y Qin, P. (2022). Transcriptomics and metabolomics analyses of the mechanism of flavonoid synthesis in seeds of differently colored quinoa strains. Genomics, 114:138-148.

López-Riojas, B.G., Pérez-Flores, F.A., Montes-Quiroz, A., Vidales-Paz, J.E., Sánchez-Herrera, L.M., Bernal-Pérez, J.A., Baustista-Rosales, P.U.y Zepeda-Carrillo, E.A. (2015). Guía de Bioquímica Metabólica. ECORFAN-México.

Lozano, A., Galindo, D., García-Borrón, C., Martínez-Liarte, H., Peñafiel, R. y Solano, F. (2005). Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud. (3 Ed., pp: 5-60), McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U., España.

Lozano, A., Bacca, C., Pinzón, V. y Rozo, C. (2011). Bioquímica. Metabolismo energético, conceptos y aplicación. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. ISBN: 978-958-725-87-9.

Luna-Guevara, J.J., Ruiz-Espinoza, H., Herrera-Cabrera, E.B., Navarro-Ocaña, A., Delgado-Alvarado, A. y Luna-Guevara, M.L. (2016). Diversidad de microflora presente en vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks, ex Andrews) relacionados con procesos de beneficiado. AGROproductividad, 9(1):3-9.

Lustre-Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. Revista Digital Universitaria (RDU), 3(2). DOI: cuaieed.16076079e.2022.23.2.10

Mazliack, Paul. (1976). Fisiología vegetal. Nutrición y metabolismo. Ediciones OMEGA, S.A. Barcelona, España. ISBN: 84-282-0460-8

Méndez-Rodríguez, K.B., Santoyo-Treviño, M.J. Saldaña-Villanueva, K., Rodríguez-Aguilar, M., Flores-Ramírez, R. y Pérez-Vázquez F.J. (2019). Metabolómica como nueva herramienta para el diagnóstico oportuno de enfermedades no transmisibles. Revista de salud ambiental, 19(2), pp. 109-115.

Mensura, S.F., Ahmed, A.I., Samuel, K., Md, A., Kofi Oti, B.Y., Muhammad, A.F., Faisal, R., Zhang, Y. y Wang, B. (2022). Synthetic berberine derivates as potential new drugs. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 58(e8835)

Milke-García, M.P. (2012). Nutrigenómica, proteómica y metabolómica en la prevención de las enfermedades gastrointestinales. Revista de Gastroenterología de México, 77(S1): 29-31. DOI: 10.1016/j.rgmx.2012.07.012

Misra, B.B., Langefeld, C., Olivier, M. y Cox, L.A. (2018). Integrated omics: tolos, advances and future approaches. Journal of Molecular Endocrinology, 62(1): 21-45. DOI: 10.1530/JME-18-0055

Moreno-Poveda, G., Flores-Roncancio, V. y González-Murillo, C. (2021). El uso de lisímetro de pesada en claver (Dianthus caryophyllus L.) genera ahorro en fertirriego. Revista U.D.C.A. Act. y div. Cient, 24(2).

Nendel, M., Goldfuss, B., Houk K.N. y Hafner K. (1999). S-Indacene, a quasi-delocaliced molecule whith mixed aromatic and anti-aromatic carácter. Journal of Molecular Structure: THEOCHE, 461-462(223-28. DOI: 10.1016/S0166-1280(98)00421-7

Oliveira, J.P.S., Gomes, S., Ladeira, K.C., Cameron, L.C., Macedo, A.D. y Koblitz, M.G.B. (2023). Recovery of flavor compounds from vanilla bagasse by hydrolysis and their identification through [UPLC-MS]. Food Research International, 168.

Pardío, V.T.,López, K.M, Martínez, D.I., Maruez, O. y Krysztif N. (2018). Effect of endogenous and exogenous enzymatic treatment of green beans on extraction

of vanillin and main aromatic compounds. Journal of Foor Science and technology, 55, 2059-2067. DOI: 10.1007/s13197-018-3120-3.

Portella-Ruíz J.R. (2018). Respuesta metabolómica en la vía de los péptidos al consumo de maca *(Lepidium meyenii*) en varones y mujeres adultos de Lima y Puno. [Tesis de maestría]. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

Portolés, T., Lacalle-Bergeron, L., Izquierdo-Sandoval, D., Sancho, J.V., Fernández-Quintela, A. y Portillo, M.P. (2021). Beneficios de la metabolómica no dirigida en el campo de la nutrición. Revista Española de nutrición humana y dietética, 25 (suplemento 3). DOI: 10.14306/renhyd

PUBCHEM. (2023). National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. Sitio web: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/

Reyes-López, D., Rodríguez, B., Kelso, H. A., Huerta, M., e Ibáñez, A. (2008). Beneficiado Tradicional de Vainilla. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Reyes-López, D., Flores-Jiménez, A., Huerta-Lara, M., Kelso-Bucio, H.A., Avendaño-Arrazate, C.G., Lobato-Ortiz, R., Aragón-García, A. y López-Olguín, J.F. (2014). Variación morfométrica de fruto y semilla en cuatro especies del género Vanilla. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, 1(3): 205-218.

Ríos, C., Espichán, F., Ruiz, C. y Rojas, R. (2020). Búsqueda de biomarcadores para la discriminación de las variedades de kañiwa (*Chenopodium pallidicaule* Aelle) “Chilliwa” y “Ramis” por medio de metabolómica non-tergeted. Revista de la Sociedad Química del Perú, 86(1): 13-23.

Robles-García, M.A., Aguilar, A.J., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., Morales-Del Río, J.A., Guerrero-Medina, P.J., Madrigal-Pulido, J.A. y Del Toro-Sánchez, C.L. (2016). Identificación cualitativa en metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri* PITTIER). BIOTECNIA Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 18(3).

Rocha-Flores, R.G., Herrera-Cabrera, B.E., Velasco-Velasco, J, Salazar-Rojas, V.M., Delgado-Alvarado, A. y Mendoza-Castillo, M.C. (2018). Determinación preliminar de componentes de rendimiento para el cultivo de vainilla (*Vanilla*

planifolia Jacks. ex Andrews) en la región Totonacapan, México. AGRO productividad, 11 (3).

Shanmugavalli, N., Umashankar, V. & Raheem. (2009). Anitmicrobial activity of *Vanilla planifolia*. Indian Journal of Science and Technology, 2(3): 37-40. ISSN: 0974-6846.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2016). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Vainilla mexicana. SAGARPA. [Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257086/Potencial-Vainilla.pdf].

Secretaría de Economía. (2009). NMX-FF-074-SCFI-2009. Secretaría de Economía

Selpúlveda-Vázquez, J., Torres-Acosta, J.P., Sandoval-Castro, C.A., Martínez-Puc, J.F. y Chan-Pérez, J.I. (2018). The importance of secondary metabolites in the control of gastrointestinal nematodes in sheep with emphasis on Yucatán, Mexico. Journal of the Selva Andina Animal Science, 5(2): 79-95.

Serrano-Fuentes M.K. (2021). Inducción de variación somaclonal en Vainilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews mediante irradiación gamma. [Tesis de maestría]. Colecio de Postgraduados, Campus Córdoba.

Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2023). Cierre agrícola: Vainilla. SIAP. [Sitio web: https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/]

Soto-Arenas, M.A. y Cribb, P. (2010). A new infragenericclassification and synopsis of the genus *Vanilla* Plum. ex mil. (Orchidaceae: Vanillinae). Lankesteriana: International Journal on Orchidology, 9(3): 355-398. DOI: 10.15517/lank. v0i0.12071

Tailulu, A., Li, Ming., Ye, Binghao Y., Al-qudaimi, R., Cao, F., Liu, W. y Shi, P. (2022). Antimicrobial and anticancer activities of Hainan dry noni fruit alcoholic extracts and their novel compounds identification using UPLC-Q-Exactive Obitrap-MS/MS. JOURNAL OF Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 220 (114989). DOI: 10.1016/j.jpba.2022.114989.

Tavares de Oliveira, R., Da Silva-Oliveira, J.P. y Furtado-Macedo, A. (2022). Vanilla beyond Vanilla planifolia and Vanilla x tahitensis: Taxonomy and

Historical Notes, reproductive biology and metabolites. Plants, 11(23), 3311. DOI: 10.3390/plants11233311.

Terranova-Vélez, M., Campos-Gaona, R y Sánchez-Guerrero, H. (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis rumial. Tropical and subtropical agroecosystems, 17(3): 489-499.

Twaij, B.M. y Hasan, M.N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: types, synthesis, and their therapeutic uses. International Journal of Plant Biology, 13(1): 4-14. DOI: 10.3390/ijpb13010003

Urrea-López, R. (2014). Análisis metabolómico diferencial en fruto de chile habanero (Capsicum chinense Jacq.) durante maduración y en respuesta a condiciones edáficas subóptimas. [Tesis de Doctorado]. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey.

Van Dyk, S., Holford, P., Subedi, P., Walsh, K., Williamns, M., y McGlasson, W.B. (2014). Determining the havest maturity of vanilla beans. Scientia Hortuculturae, 168: 249-257.

Vélez-Terranova, M., Campos-Gaona, R., Sánchez-Guerrero, H. (2014): Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 17(3): 489-499.

Villanueva-Viramontes, S. (2017). Estructura genética de *Vanilla planifolia* Andrews silvestre en la Península de Yucatán, México: implicaciones para la conservación de la especie. [Tesis de Doctorado]. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Villareal, M.L., Cardoso-Taketa, A., Ortíz, A. y Sharma, A. (2014). Biotecnología para producir medicinas de plantas. Revista digital, 15(8). ISSN: 1607-6079

Wishart D.S., Tzur, D., Knox, C. (2007) HMBD: the human Metabolome Database. Nucleic Acids Res. 35 (Database issue): D521-6

Wishart, D.S., Tzur, .,

Xochipa-Morante, R.C., Delgado-Alvarado, A. Herrera-Cabrera, B.E., Escobedo-Garrido, J.S. Arévalo-Galarza, L. (2016). Influencia del proceso de beneficiado tradicional mexicano en los compuestos del aroma de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. AGRO productividad, 9(1): 55-62.

Yanes, Ó. (2015). Metabolómica: la ciencia ómica más multidisciplinaria. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, 186: 7-10.

Zamora-Flores, A.L. (2015). Calidad de Vainilla (*Vanilla planifolia*) empacada bajo diferentes condiciones atmosféricas modificadas. [Tesis de maestría]. Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo.

X. ANEXOS

Cuadro 16. Metabolitos pre-identificados con un p-value significativo estadísticamente.

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Monofosfato de 2-trans,-6-trans-farnesilo	2469	1.08E-23	8.04 E-21	4'-O-Metilkanzonol W	13.757	1.81E-05	4.22E-05
Sacaropina	1995.8	6.59E-23	2.44 E-20	3β(S)-estrictosidinio(1+)	13.689	1.87E-05	4.35E-05
2-[(isopropiltio)metil]furano	923.04	4.54E-20	1.12 E-17	5'-desoxi-5'-(metilsulfinil)adenosina	13.618	1.93E-05	4.48E-05
Asterlingulatósido D	784.95	1.79E-19	3.32 E-17	3β-Pregnadienolona 3-[ramnosil-(1→4)-ramnosil-(1→4)-ramnosil-(1→4)-glucósido]	13.433	2.11E-05	4.88E-05
Hidroxamato de serina	594.46	1.87E-18	2.78 E-16	Nor-6,7-secoangustilobina A, (rel)-	13.418	2.13E-05	4.90E-05
Ácido 4-hidroxi-3-metilbenzoico	570.19	2.66E-18	3.29 E-16	8-fenil-1,3-dipropil-7H-purina-2,6-diona	13.415	2.13E-05	4.90E-05
Perillosida B	541.87	4.09E-18	4.34 E-16	α-D-Glcp-(1→4)-β-D-Glcp-(1→4)-β-D-Galp-(1→4)-β-D-GlcpAO[CH2]5NH2	13.346	2.20E-05	5.05E-05
Miricetina 3-[glucosil-(1→2)-ramnósido] 7-[ramnosil-(1→2)-glucósido]	439.14	2.41E-17	2.24 E-15	1-metoxi-4-metilbenceno	13.266	2.29E-05	5.22E-05
Indol-3-carbonilnitrilo	353.55	1.49E-16	1.23 E-14	Ácido 3,4,5-trihidroxi-6-[2-(3-fenilpropil)fenoxi]oxano-2-carboxílico	13.264	2.29E-05	5.22E-05
Braquistemina F	285.49	8.99E-16	6.67 E-14	Ácido 2-oxodecanoico	13.251	2.31E-05	5.24E-05
L-latirina	279.85	1.06E-15	7.17 E-14	Éster metílico de giberelina A3	13.194	2.38E-05	5.37E-05
1,1'-(Tetrahidro-6a-hidroxi-2,3a,5-trimetilfuro[2,3-d]-1,3-dioxol-2,5-diil)bis-etanona	273.26	1.30E-15	8.03 E-14	2-metilbutan-1-ol	13.185	2.39E-05	5.38E-05
Ácido 5-fluoroantranílico	255.52	2.28E-15	1.21 E-13	1-[4-(3,4-dihidro-2H-1,5-benzodioxepin-7-il)-2-tiazolil]-4-piperidinacarboxamida	13.162	2.41E-05	5.42E-05
1-[1-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-3-il)etil]-3-feniltiourea	251.48	2.60E-15	1.29 E-13	N2-(1-hidroxi-2-oxopropil)-GMP(2-)	12.974	2.65E-05	5.94E-05
3-metiltiopropanol	231.39	5.22E-15	2.42 E-13	Ácido ureidoisobutírico	12.968	2.66E-05	5.94E-05
N-[(3S,9R,10R)-12-[(2S)-1-hidroxipropan-2-il]-3,10-dimetil-9-[[metil(piridin-4-ilmetil)amino]metil]- 13-oxo-2,8-dioxa-12-azabiciclo[12.4.0]octadeca-1(14),15,17-trien-16-il]metanosulfonamida	219.38	8.15E-15	3.56 E-13	Muscaaurino VII	12.94	2.69E-05	6.00E-05
Guangsangon L	216.77	9.01E-15	3.71 E-13	(2R,3R,4S)-2-({[(1R)-2-hidroxi-1-feniletil]amino}metil)pirrolidina-3,4-diol	12.885	2.77E-05	6.15E-05
Furanogermenone	197.76	1.94E-14	7.56 E-13	Metiurón	12.857	2.81E-05	6.22E-05
Dapoxil (2-aminoetil)sulfonamida	191.88	2.49E-14	9.24 E-13	Alvespimicina	12.749	2.97E-05	6.55E-05
Hemsloside Ma 2	188.22	2.92E-14	1.03 E-12	Norizalpinina	12.572	3.24E-05	7.14E-05

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
LSM-10948	186.58	3.14E-14	1.06 E-12	5-desoximiricanona	12.527	3.32E-05	7.29E-05
4'-O-metilrobinetinidol 3'-O-beta-D-glucopiranósido	185.39	3.32E-14	1.07 E-12	[3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-3,4-dihidropirazol-2-il]-fenilmetanona	12.494	3.38E-05	7.39E-05
2-[(4-hidroxifenil)metil]propanodinitrilo	180.93	4.06E-14	1.26 E-12	2-pentanol	12.468	3.42E-05	7.46E-05
Ácido 8-hidroxi-2-metil-2-(4-metilpent-3-en-1-il)-2H-cromen-5-carboxílico	168.46	7.35E-14	2.18 E-12	β-L-arabinofuranosil-(1→2)-α-L-arabinofuranosa	12.401	3.54E-05	7.70E-05
8-Acetoxi-4-acoren-3-ona	167.01	7.90E-14	2.25 E-12	Ácido (2S,4S)-4-hidroxi-2,3,4,5-tetrahidrodipicolínico	12.394	3.55E-05	7.71E-05
Gumosin	163.65	9.35E-14	2.57 E-12	Ácido N(3)-(4-metoxifumaroil)-2,3-diaminopropiónico	12.372	3.59E-05	7.78E-05
Cichoriosido H	158.47	1.22E-13	3.24 E-12	N-hidroxi-L-aspártico 1-amida	12.342	3.65E-05	7.87E-05
1,4,13-trioxa-7,10,16,19-tetraazaciclohexadecano-6,9,17,20-tetrona	142.01	3.03E-13	7.75 E-12	Éster β-D-glucopiranosílico del ácido (+)-abscísico	12.305	3.72E-05	7.99E-05
1-(3-Metil-2-butenoil)-6-apiosilglucosa	137.42	3.97E-13	9.83 E-12	Dihidro-5-propil-2(3H)-furanona	12.302	3.73E-05	7.99E-05
1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[4-(4-hidroxifenil)-1-piperazinil]pirrolidina-2,5-diona	133.56	5.03E-13	1.20 E-11	Parillina	12.264	3.80E-05	8.13E-05
Epotilona C	128.89	6.74E-13	1.52 E-11	β-D-Xylp-(1→4)-β-D-Xylp-(1→4)-α-D-Xylp-(1→4)-D-Xylp-D-Xylp-(1→4)-D-Xylp	12.236	3.86E-05	8.22E-05
Vanillyl mandelic acid	128.82	6.77E-13	1.52 E-11	Dietilaminoetil-Sephacel	12.123	4.09E-05	8.70E-05
Trans-2-pentenol	125.1	8.63E-13	1.88 E-11	N-[(2S,3R)-2-[[[(ciclohexilamino)-oxometil]-metilamino]metil]-5-[(2S)-1-hidroxipropan-2-il]-3-metil-6-oxo- 3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxazocina-10-il]-2-pirazinacarboxamida	12.046	4.26E-05	9.03E-05
2-aminopentanenitrilo	123.26	9.75E-13	2.07 E-11	Ciclohexeno	11.981	4.41E-05	9.32E-05
Rhamnetin 3-(4-rhamnosylrhamnoside)	120.8	1.15E-12	2.37 E-11	Ala-Gly	11.95	4.48E-05	9.44E-05
Aliltiourea	118.06	1.39E-12	2.79 E-11	C de metilo	11.898	4.61E-05	9.69E-05
Ácido 5-[[4-(2-amino-2-oxoetoxi)-3-metoxifenil]metilamino]-2-(4-morfolinil)benzoico	117.43	1.45E-12	2.83 E-11	(4R,5S,7R,11S)-11,12-Dihidroxi-1(10)-espirovetiven-2-ona 11-glucósido	11.889	4.63E-05	9.70E-05
(S)-Multifidol 2-[apiosil-(1→6)-glucósido]	116.28	1.57E-12	3.00 E-11	Clorofila c	11.862	4.70E-05	9.82E-05
1-[(2R,3R)-6-[(2,5-difluorofenil)metil]-2-(hidroximetil)-3-fenil-1,6-diazaspiro[3.3]heptan-1-il]-2-(dimetilamino)etanona	113.73	1.89E-12	3.50 E-11	N-nervonoiltaurina	11.851	4.72E-05	9.84E-05
4-hidroxi-6-pentilpiran-2-ona	113.15	1.97E-12	3.56 E-11	Ciclobutil-[5-[(2-etil-1-piperidinil)sulfonil]-2,3-dihidroindol-1-il]metanona	11.824	4.79E-05	9.96E-05
N-[4-[[(1-oxohexilamino)-sulfanilidenmetil]amino]fenil]-2-furancarboxamida	105.52	3.49E-12	6.17 E-11	Ácido 3-dimetilalil-4-hidroxibenzoico	11.777	4.91E-05	0.00010181
α-D-ramnosa	99.829	5.50E-12	9.49 E-11	N-hidroxi-L-dihomometioninato	11.762	4.95E-05	0.00010239
Eupaformonina	99.484	5.66E-12	9.54 E-11	Galactinol	11.753	4.98E-05	0.0001026

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Acetilerucifolina	97.539	6.65E-12	1.10 E-10	Ácido gamma-L-glutamil-L-pipecólico	11.704	5.11E-05	0.00010505
s-indaceno	93.446	9.43E-12	1.52 E-10	1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[(2S,3R)-5-[(2R)-1-hidroxipropan-2-il]-3-metil-2-(metilaminometil)-6 -oxo-2,3,4,7-tetrahidro-1,5-benzoxazonin-9-il]urea	11.675	5.19E-05	0.00010636
Alcohol alílico	93.055	9.76E-12	1.54 E-10	Ácido (24E)-3alfa-acetoxi-15alfa-hidroxi-23-oxo-7,9(11),24-lanostatrien-26-oico	11.587	5.44E-05	0.00011125
Estaquiósido A	91.446	1.13E-11	1.74 E-10	5'-Hidroxicotinina	11.579	5.47E-05	0.00011141
Gnidiglaucina	83.085	2.45E-11	3.72 E-10	5-hidroxiectoína	11.563	5.51E-05	0.00011209
ribósido transzeatina	81.854	2.77E-11	4.11 E-10	N'-[(5-metoxi-6-oxo-1-ciclohexa-2,4-dieniliden)metil]-6-oxo-1H-piridazina-3-carbohidrazida	11.483	5.76E-05	0.00011675
Premitramicina B	81.071	2.99E-11	4.33 E-10	Éster glucosílico de alfa-crocetina	11.402	6.02E-05	0.00012172
Ácido transsinápico	80.943	3.03E-11	4.33 E-10	2-(2-feniletil)-1,3-benzoxazol-5-amina	11.276	6.45E-05	0.00013008
N-(3-metilbutil)-6-(4-morfolinilsulfonil)-2-piridin-4-il-4-quinolincarboxamida	79.478	3.52E-11	4.89 E-10	Metioninio	11.141	6.95E-05	0.00013982
Arg-Asp-Gln-Ser	79.351	3.56E-11	4.89 E-10	L-cisteinilglicina zwitterión	11.116	7.05E-05	0.00014142
L-isoleucina 2-naftilamida	78.358	3.94E-11	5.32 E-10	5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6-metilflavona	10.879	8.06E-05	0.0001612
α-L-Rhap-(1→3)-D-GlcpNAc-(1→2)-β-L-Rhap-(122)-α-L-Rhap	78.106	4.05E-11	5.36 E-10	5H-ciclopentapirazina	10.817	8.35E-05	0.0001665
4-amino-4-desoxicorismato(1-)	77.808	4.17E-11	5.43 E-10	5H-benzocicloheptено	10.803	8.41E-05	0.00016737
Éster [2-[1-(1-metoxipropan-2-il)-2,5-dimetil-3-pirrolil]-2-oxoetil] del ácido 1,3-benzotiazol-6-carboxílico	77.423	4.35E-11	5.56 E-10	3,7-dimetil-5-octeno-1,7-diol 1-glucósido	10.793	8.46E-05	0.00016789
Isopentenil adenosina	75.508	5.32E-11	6.69 E-10	2,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavanona	10.784	8.50E-05	0.00016825
15α-O-benzoil-5α-hidroxiisolatirol	73.481	6.63E-11	8.20 E-10	tetrahidroharmol	10.724	8.80E-05	0.00017373
N-{1-amino-6-[(5-nitro-2-furoil)amino]-1-oxohexan-2-il}-23-(indol-3-il)-20-oxo-4,7,10 ,13,16-pentaoxa-19-azatricosan-1-amida	73.267	6.79E-11	8.25 E-10	Goniotalenol	10.697	8.94E-05	0.00017595
2,3,4,9-tetrahidro-1H-pirido[3,4-b]indol	73.02	6.97E-11	8.34 E-10	D-apiitol	10.682	9.02E-05	0.00017702
2-Hidroxi-2,6,6-trimetilciclohexanona	72.47	7.41E-11	8.73 E-10	L-Cistationina	10.651	9.18E-05	0.00017965
Estrivomitina	68.728	1.14E-10	1.32 E-09	3-metilbutanal	10.628	9.30E-05	0.00018164
N,N'-dibutiltiourea	68.356	1.19E-10	1.35 E-09	Ácido 3-O-vanilceanótico	10.568	9.63E-05	0.00018755
elaterinida	68.097	1.22E-10	1.37 E-09	Mammea C/BB, (-)-Ácido 3-O-vanilceanótico	10.562	9.66E-05	0.00018768
4',7-Di-O-metilcatequina	67.851	1.26E-10	1.39 E-09	Harmina	10.497	0.00010032	0.00019405
12-deshidroporsona	67.231	1.35E-10	1.48 E-09	1-[(4-fenil-1-piperazinil)metil]-2-naftalenol	10.495	0.00010043	0.00019405
Dímero de curcumina 3	64.644	1.86E-10	2.00 E-09	Ácido 2-O-cafeoil maslínico	10.48	0.00010132	0.00019528

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Taxifilina	64.314	1.93E-10	2.05 E-09	Carboxinonalactona	10.467	0.0001021	0.00019626
2,6-dimetilpiridina	64.086	1.99E-10	2.08 E-09	13-Metil-7-[9-(4,4,5,5,5-pentafluoropentilsulfinil)nonil]-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahidrociclopenta[a]fenantreno -3,17-diol	10.405	0.0001 0587	0.00020 298
(1S,2R,4R)-p-Menth-8-eno-2,10-diol 2-glucósido	63.031	2.27E-10	2.34 E-09	Hidrato de oxipeucedanina	10.401	0.0001 0614	0.00020 298
Fisagulina A	62.929	2.30E-10	2.34 E-09	4,5-dimetil-N-[[4-(2-metilpropoxi)fenil]metilidenamino]-3-tiofencarboxamida	10.367	0.0001 0826	0.00020 651
N-[2-(4-metoxifenil)etil]-2,3-dihidro-1,4-dioxin-5-carboxamida	62.628	2.39E-10	2.40 E-09	α-D-manosil-(1→4)-α-L-ramnosil-(1→α3)-βα-D-galactosil-1-difosfodecaprenol(2-)	10.357	0.0001 0886	0.00020 712
7,8-Dihidrovomifoliol 9-[ramnosil-(1?6)-glucósido]	61.264	2.85E-10	2.82 E-09	Desoxiuridina	10.31	0.0001 1191	0.00021 236
3-oxobutanoato de etilo	60.586	3.12E-10	3.04 E-09	Ketoleucina	10.255	0.0001 1565	0.00021 891
ácido vanilil mandélico	60.299	3.24E-10	3.12 E-09	3-(5-Metil-2-furil)prop-2-enal	10.214	0.0001 1847	0.00022 367
Aldehído de betaína	59.038	3.83E-10	3.64 E-09	1-O-(4-oxoretinoyl)-α→D-glucuronic acid	10.137	0.0001 2401	0.00023 355
3-piridin-4-il-1H-indol	58.889	3.91E-10	3.67 E-09	Crispane	10.123	0.0001 2509	0.00023 498
Esulatina J, (rel)-	58.44	4.15E-10	3.85 E-09	3-dimethylsulfoniopropionaldehyde	9.9579	0.0001 3807	0.00025 871
crocina 3	58.259	4.26E-10	3.90 E-09	Leu-Gln-Pro	9.8733	0.0001 4532	0.00027 093
Trichagmalina E	58	4.41E-10	3.99 E-09	1-(α-D-glucopiranosiloxi)-3-octanona	9.8304	0.0001 4916	0.00027 739
Eschiprolactona A	57.672	4.61E-10	4.13 E-09	(S)-Edulinina	9.8228	0.0001 4986	0.00027 799
Formosanan	57.246	4.89E-10	4.28 E-09	Ala-Leu-Thr-Gln	9.763	0.0001 5543	0.00028 76
Argentino	57.233	4.90E-10	4.28 E-09	Tiocianato de bencilo	9.7388	0.0001 5775	0.00029 117
Cochinchinenin B	56.088	5.76E-10	4.97 E-09	2,3,5-Trimetil-6-(4-(metiltio)butil)pirazina	9.7297	0.0001 5863	0.00029 207
Dehydroglycine	55.966	5.86E-10	5.00 E-09	Fenilacetaldehído	9.7228	0.0001 593	0.00029 257
Ectoina	55.36	6.39E-10	5.39 E-09	2-[(1R,3R,4aR,9aS)-1-(hidroximetil)-6-[(2-metoxi-1-oxoetil)amino]-3,4,4a,9a-tetrahidro-1H-pirano[3, 4-b]benzofuran-3-il]-N-(3-piridinilmetil)acetamida	9.7037	0.0001 6118	0.00029 529
16,17-Dihidro-16α,17-dihidroxigiberelina A7 17-glucósido	55.04	6.69E-10	5.58 E-09	Pelargonidina 3-O-rutinósido	9.654	0.0001 6618	0.00030 372
Aralósido B	54.921	6.80E-10	5.61 E-09	Soyasaponina Aa	9.6442	0.0001 6719	0.00030 48
N-feniltiourea	54.068	7.70E-10	6.28 E-09	Triptófano	9.6321	0.0001 6845	0.00030 634
Ala-Val-Asp-Pro	53.905	7.89E-10	6.36 E-09	Paroxetinio(1+)	9.6005	0.0001 7176	0.00031 161
2-linoleoil-sn-glicero-3-fosfocolina	53.691	8.14E-10	6.49 E-09	ácido α-sulfofenilacético	9.5853	0.0001 7339	0.00031 38
Fitoesfingosina C16	53.492	8.38E-10	6.62 E-09	[(2S,3S)-1-[(4-clorofenil)metil]-2-(hidroximetil)-3-fenil-1,6-diazaespiro[3.3]heptan-6-il]-(3-piridinil)metanona	9.5128	0.0001 8137	0.00032 744
Porfobilinógeno	52.194	1.02E-09	7.95 E-09	3-(Metiltio)hexanal	9.4644	0.0001 8693	0.00033 666

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Pedilstatina	51.803	1.08E-09	8.35 E-09	dihidrozeatin-9-N-glucósido-O-glucósido	9.4511	0.0001 8849	0.00033 864
Mucusisoflavona C	51.731	1.09E-09	8.35 E-09	8-Metilnonenoato	9.383	0.0001 9672	0.00035 257
ácido 11,13,15-octadecatrienoico	51.4	1.15E-09	8.70 E-09	(S)-5-[2-(metiltio)etil]hidantoína	9.2592	0.0002 1271	0.00038 031
2-tienilacetonitrilo	50.259	1.37E-09	1.03 E-08	2-(1-feniletil)-1,3-dioxolano	9.2314	0.0002 1649	0.00038 614
Pectacol	50.204	1.38E-09	1.03 E-08	Acetiljujubósido B	9.203	0.0002 2043	0.00039 223
Laserpitina	49.806	1.47E-09	1.08 E-08	Piridoxamina	9.1517	0.0002 2777	0.00040 432
Isocamanetina	49.114	1.64E-09	1.20 E-08	(2S,4R,5S,6R)-6-(hidroximetil)oxano-2,4,5-triol	9.1399	0.0002 2948	0.00040 639
Ácido vainílico 4-beta-D-glucósido	48.8	1.73E-09	1.25 E-08	2-amonio-2-desoxi-D-glucopiranosa	9.1039	0.0002 3484	0.00041 488
N-nitrosoprolina	48.601	1.79E-09	1.27 E-08	4-[4-[(1S,5R)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]heptan-7-il]fenil]-N,N-dimetilbenzamida	9.0891	0.0002 3708	0.00041 785
(3x,5x,10x)-9,10-Didehidroisohumbertiol O-[rhamnopiranosil-(1?4)-ramnopiranosil-(1→2)-[(E)-feruloil-(1→4)-ramnosil-(1→6)]-glucósido]	46.651	2.46E-09	1.74 E-08	N-[(5R,6S,9R)-5-metoxi-3,6,9-trimetil-2-oxo-8-[oxo(piridin-4-il)metil]-11-oxa-3,8-diazabiciclo [10.4.0]hexadeca-1(12),13,15-trien-14-il]propanamida	8.9895	0.0002 5279	0.00044 449
(2R,3S)-8-(1-cyclohexenyl)-2-[[(3-fluorophenyl)methyl-methylamino]methyl]-5-[(2S)-1-hydroxypropan-2-yl]-3-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrido[2,3-b][1,5]oxazocin-6-one	45.525	2.98E-09	2.09 E-08	2-(2-tienilmetilen)-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-eno	8.9788	0.0002 5456	0.00044 494
D-pinitol 2-O-β-D-galactopiranosilo	45.067	3.23E-09	2.24 E-08	Secologanina	8.978	0.0002 5469	0.00044 494
Nevskin	44.796	3.38E-09	2.32 E-08	Sinapina	8.977	0.0002 5485	0.00044 494
(2S)-3-hidroxi-2-(octanoiloxi)propil (9R,10R,12Z)-9,10-dihidroxioctadec-12-enoato	44.609	3.49E-09	2.38 E-08	α-aminoorceína	8.8878	0.0002 7006	0.00047 039
3-(metiltio)propionato	44.554	3.53E-09	2.38 E-08	(6?βα,7β,12ββα,13βα)-7-hidroxi-11,16-dioxo-8,14-apianadien-22,6-olida	8.8451	0.0002 7768	0.00048 253
2'-oxokanamicina	44.174	3.77E-09	2.52 E-08	5Z-7-Oxozeaenol	8.8301	0.0002 8042	0.00048 615
2-metil-1,3-tiazolidina-2-carboxamida	43.662	4.13E-09	2.74 E-08	[4-(2-Ciclopropil-6-difenoxifosforilimino-1-metil-2,5-dihidropiridin-4-il)fenil]metanol	8.8115	0.0002 8386	0.00049 097
Hidroximetilnitramina	43.319	4.39E-09	2.88 E-08	Tetranorbiotina	8.7834	0.0002 8914	0.00049 894
3-acetil-11-metoxi-1-tigloilazadiractinina	43.16	4.52E-09	2.94 E-08	Crocina	8.7749	0.0002 9075	0.00050 056
Ácido (-)-11-hidroxi-9,10-dihidrojasmónico	43.051	4.61E-09	2.97 E-08	Sandoricina	8.7474	0.0002 9608	0.00050 854
5-O-α-D-micaminosil-20-oxotilonolida (1+)	42.773	4.85E-09	3.10 E-08	Etanol	8.7408	0.0002 9736	0.00050 956
Rutarín	42.224	5.36E-09	3.37 E-08	Olitoriusina	8.7013	0.0003 0521	0.00052 181
Vanililamida	42.007	5.58E-09	3.48 E-08	Ácido 5-piridóxico	8.5875	0.0003 2917	0.00056 148

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
2,2'-dihidroxi-3,3'-dimetoxi-5,5'-dipropildifenilmetano	41.479	6.15E-09	3.80 E-08	Eugenol	8.5428	0.0003 3912	0.00057 713
Fosinoprilato	41.224	6.45E-09	3.96 E-08	Giberelina A8 2-glucósido	8.409	0.0003 7105	0.00063 001
2-[3-[2-furanil(oxo)metil]-1-indolil]-N-(2-metoxifenil)acetamida	41.037	6.68E-09	4.07 E-08	N-[(2R,3S)-5-[(2R)-1-hidroxipropan-2-il]-3-metil-2-(metilaminometil)-6-oxo-3,4-dihidro-2H-1,5 - benzoxazocin-8-il]-1-metil-4-imidazolsulfonamida	8.3183	0.0003 9459	0.00066 846
γ-glutamil-arginina	40.203	7.84E-09	4.73 E-08	(2S)-6-(γ,γ-dimetilalil)-5-hidroxi-3',4'-dimetoxi-6'',6''-dimetilpiran[2'',3'':7,8]flavanona	8.2928	0.0004 0151	0.00067 863
19-hidroxicinceilanol 19-glucósido	40.064	8.05E-09	4.82 E-08	5β-1,3,7(11)-Eudesmatrien-8-ona	8.2622	0.0004 0999	0.00069 14
Ácido butírico	39.816	8.44E-09	5.01 E-08	N-2-[4-(3,3-Dimetilaliloxi)fenil]etilcinnamida	8.2296	0.0004 1924	0.00070 54
D-treitol	39.438	9.09E-09	5.35 E-08	Benzofurano	8.206	0.0004 2608	0.00071 527
Torvonina A	39.112	9.69E-09	5.66 E-08	Tetrametilescutellareína	8.1245	0.0004 5068	0.00075 414
Guanaclina	38.923	1.01E-08	5.83 E-08	N,N-Didesmetillevomepromazina	8.122	0.0004 5146	0.00075 414
Fitocasana B	38.88	1.01E-08	5.84 E-08	D-ribosa 2,5-bifosfato	8.1194	0.0004 5228	0.00075 414
γ-glutamil-glutamato	38.646	1.06E-08	6.07 E-08	Tosilato de itramina	8.0969	0.0004 5937	0.00076 424
3αβ-hidroxi-4α-metil-5α-colesta-8,24-dieno-4β-carboxilato	38.327	1.13E-08	6.42 E-08	Ácido dl-metioninahidroxámico	8.0172	0.0004 8552	0.00080 594
Benzoil-L-arginina	38.056	1.20E-08	6.73 E-08	Glucósido de 7-epi-12-hidroxijasmonato de etilo	7.9696	0.0005 0192	0.00083 131
Indol-3-acetil-glutamina	37.861	1.24E-08	6.90 E-08	[Metiltio]acetato	7.9642	0.0005 0384	0.00083 242
Xilopimarano	37.855	1.25E-08	6.90 E-08	5,7,3'-trihidroxi-4',5'-(2'''',2''''-dimetilpiran)-8,2'-di(3-metil-2-butenil)-(2S) -flavanona	7.9614	0.0005 0483	0.00083 242
2-ciclopropil-N-[[(2S,3R)-5-[(2S)-1-hidroxipropan-2-il]-3-metil-8-(4-metilpent-1-inil)-6-oxo- 3,4-dihidro-2H-pirido[2,3-b][1,5]oxazocin-2-il]metil]-N-metilacetamida	37.697	1.29E-08	7.07 E-08	Propionato de anisilo	7.9235	0.0005 184	0.00085 288
Piplartina	37.011	1.48E-08	8.09 E-08	Vandaterósido II, (-)-	7.9178	0.0005 2051	0.00085 447
Ácido N-(4-aminobutil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)oxirano-2-carboximídico	36.39	1.69E-08	9.14 E-08	Ácido (4S)-2-{2-[amino(4-hidroxifenil)metil]-5-oxo-1,3-oxazol-4-iliden}-5,5-dimetil-1,3-tiazolidin-4-carboxílico	7.8778	0.0005 3535	0.00087 689
Paeonilactona A	36.172	1.77E-08	9.50 E-08	4-Hidroxinornantenina	7.8696	0.0005 3847	0.00088 006
N-[[(3S,9R,10S)-12-[(2R)-1-hidroxipropan-2-il]-3,10-dimetil-13-oxo-16-[(4,4,4-trifluoro- 1-oxobutil)amino]-2,8-dioxa-12-azabiciclo[12.4.0]octadeca-1(14),15,17-trien-9-il]metil]-N-metil-4-piridinacarboxamida	35.751	1.93E-08	1.03 E-07	Cisteinilglicina	7.7641	0.0005 8021	0.00094 619
Difosfato de fitilo	35.372	2.10E-08	1.11 E-07	Portulal	7.7575	0.0005 8296	0.00094 858

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Ácido 3,4,5-trihidroxi-6-{[5-hidroxi-4-oxo-2-(3,4,5-trihidroxifenil)-4H-cromen-7-il]oxi}oxano-2-carboxílico	35.223	2.17E-08	1.14 E-07	(E)-2-Hidroxi-N-desmetildoxepina	7.745	0.0005 8815	0.00095 494
Samidorfano	34.749	2.40E-08	1.25 E-07	Berberina	7.719	0.0005 9915	0.00097 068
Efinaconazol	34.552	2.51E-08	1.30 E-07	Tricosetina(1-)	7.6638	0.0006 2332	0.00100 76
N-(2-Hidroxietil)nicotinamida	34.282	2.66E-08	1.36 E-07	Centellasaponina C	7.6313	0.0006 3804	0.00102 92
S-furanopetasitina	34.278	2.66E-08	1.36 E-07	2-[(2R,3R,6S)-2-(hidroximetil)-3-[[(2-metoxianilino)-oxometil]amino]-3,6-dihidro-2H-piran-6-il]-N-[(1R)-1-feniletil]acetamida	7.5188	0.0006 9204	0.00111 39
3-isobutil-1-metil-7H-xantina	33.949	2.87E-08	1.46 E-07	Hidroquinona	7.514	0.0006 9443	0.00111 53
Ciclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe)	33.676	3.05E-08	1.54 E-07	7,2'-Dihidroxi-4'-metoxiisoflavanona	7.5034	0.0006 998	0.00112 15
7-[3-[4-(2-etoxifenil)-1-piperazinil]-2-hidroxipropoxi]-4-metil-1-benzopiran-2-ona	33.527	3.15E-08	1.58 E-07	(2S,3R,4S)-3a-[(β-D-glucopiranosil)oxi]lioniresinol	7.329	0.0007 9504	0.00127 14
34a-desoxirifamicina W	33.494	3.18E-08	1.58 E-07	Yodotiouracilo	7.2419	0.0008 4797	0.00135 31
Ácido 12-hidroxijasmónico 12-O-beta-D-glucósido	33.459	3.20E-08	1.58 E-07	Lusitanicosido	7.2181	0.0008 6311	0.00137 43
2-fluoro-N-[(5S,6R,9R)-5-metoxi-3,6,9-trimetil-2-oxo-11-oxa-3,8-diazabiciclo[10.4.0]hexadeca-1(12),13,15-trien-14-il]bencenosulfonamida	32.872	3.66E-08	1.80 E-07	4a-Hidroximetil-5a-colesta-8,24-dien-3b-ol	7.2072	0.0008 7011	0.00138 25
Mahanimbinina	32.501	3.99E-08	1.95 E-07	Meledonol	7.1922	0.0008 799	0.00139 5
Liensinina	32.435	4.05E-08	1.97 E-07	Viteagnusina I	7.1893	0.0008 8184	0.00139 51
Imidazol-4-acetaldehído	32.152	4.33E-08	2.09 E-07	4-metoxi-3-indolilmetilamina	7.1494	0.0009 0853	0.00143 43
Ácido clorogénico	31.591	4.95E-08	2.37 E-07	rel-(-)-(1S,4S,7S,10R)-1,4,7-trihidroxicembra-2E,8-(19),11Z-trien-20,10-olida	7.0896	0.0009 5021	0.00149 69
7-hidroxi-8-[[4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil]metil]-3-(2-metoxifenil)-2-metil-1-benzopiran-4-ona	31.502	5.05E-08	2.40 E-07	Zizibeósido II	7.0745	0.0009 6103	0.00151 08
Ciclobutil-[(2S,3R)-2-(hidroximetil)-3-fenil-1-(3-piridinilmetil)-1,6-diazaspiro[3.3]heptan-6-il]metanona	31.354	5.23E-08	2.47 E-07	1-(1,3-benzodioxol-5-il)-3-[(2R,3S)-2-[[ciclohexilmetil(metil)amino]metil]-5-[(2S)-1-hidroxipropan-2-ilo]-3-metil-6-oxo-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxazocin-10-il]urea	7.0463	0.0009 8174	0.00154 01
Éster bencílico de N-(2-bencil-3-((2-amino-4-metilpentil)ditio)-1-oxopropil)glicina	31.182	5.46E-08	2.56 E-07	Ácido L-argininosuccínico	7.0045	0.0010 133	0.00158 61
L-2-aminohexano-6-lactama	31.026	5.67E-08	2.64 E-07	(Ciclohexilmetil)pirazina	7.0013	0.0010 157	0.00158 66
S-metilmetionina	30.877	5.88E-08	2.72 E-07	Thevetin B	6.9841	0.0010 29	0.00160 41
N-acetilmuramoil-L-alanina	30.702	6.13E-08	2.83 E-07	Ditiocarbamato de N-4-carboxibencilglucamina	6.9679	0.0010 418	0.00161 75

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Glaucarubolona	30.673	6.18E-08	2.83 E-07	Guangomida A	6.9676	0.001042	0.0016175
Calotropina	30.397	6.61E-08	3.01 E-07	Ácido γ-aminobutírico	6.9093	0.001089	0.0016874
D-linalol 3-glucósido	30.137	7.05E-08	3.19 E-07	Florina	6.8955	0.001100	0.0017018
ciclo(glicilleucilvalilleucilprolilserilo)	30.009	7.28E-08	3.27 E-07	Capsianósido I	6.8928	0.001103	0.0017018
N-(4-metilfenil)-2-piridin-4-il-4-quinazolinamina	29.729	7.81E-08	3.49 E-07	Catión penotonio	6.8425	0.001146	0.0017649
Avermectina A2a aglicona	29.541	8.19E-08	3.64 E-07	Dezinamida	6.8221	0.001164	0.0017892
1-[(2R,3S)-5-[(2S)-1-hidroxipropan-2-il]-3-metil-2-[[metil-(fenilmetil)amino]metil]-6-oxo-3,4 -dihidro-2H-1,5-benzoxazocin-8-il]-3-fenilurea	29.333	8.63E-08	3.81 E-07	Acetazolamida	6.7563	0.001225	0.0018784
5,6-Didehidrosparteína-2-ona	29.312	8.68E-08	3.81 E-07	7-Hidroxi-5-metil-2-(2-oxopropil)-8-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]cromen-4-ona	6.7224	0.001257	0.0019245
Panogenin-3-o-?-L-ramnopiranósido ?-L-ramnopiranósido	29.19	8.95E-08	3.91 E-07	Euristerol B(1-)	6.7162	0.001264	0.0019299
Histamina	29.098	9.17E-08	3.98 E-07	k-estrofantósido	6.7111	0.001269	0.0019335
Alvaradoína k	28.364	1.11E-07	4.76 E-07	6-(2-naftalenilmetiliden)-8,9-dihidro-7H-benzo[7]anuleno-5-ona	6.6899	0.001290	0.0019617
Ácido carbámico	28.153	1.17E-07	5.00 E-07	Aloesina	6.6477	0.001333	0.0020231
Glicil-L-fenilalanina 2-naftilamida	27.439	1.42E-07	6.02 E-07	(2-Metilfenil) Fosfato de dihidrógeno	6.6278	0.001354	0.0020467
ácido desoxilogánico	27.2	1.51E-07	6.38 E-07	Icariín	6.6277	0.001354	0.0020467
L-Agaritina	27.08	1.56E-07	6.56 E-07	2,3-Dihidro-2,3-dihidroxi-4-(4-hidroxifenil)-1H-fenalen-1-ona	6.6	0.001384	0.0020853
4-cloro-2-metilfenol	27.003	1.60E-07	6.66 E-07	Calamina	6.5987	0.001385	0.0020853
Ácido (6R)-5,10-meteniltetrahidrofólico	26.944	1.62E-07	6.73 E-07	Ademetionina	6.5956	0.001388	0.0020861
Hidroxiclomipramina	26.643	1.77E-07	7.28 E-07	(+)-Prosopinina	6.5833	0.001402	0.002102
2'-desamino-2'-hidroxiparomamina(2+)	26.608	1.78E-07	7.31 E-07	Citosina	6.5735	0.001413	0.0021141
Adenina	26.558	1.81E-07	7.37 E-07	6,7-dimetoxi-N-[(5-metil-2-furanil)metil]-2-(2-metilpropil)-1-oxo-4-isoquinolincarboxamida	6.5567	0.001432	0.0021379
Carboxilato de tiaminio betaína	26.316	1.93E-07	7.84 E-07	Ciclovirobuxina C	6.5516	0.001437	0.0021422
?-D-glucosa-1,2-(13C2)	26.229	1.98E-07	7.99 E-07	Osmantusido B	6.5462	0.001443	0.002147
N-nitrosopirrolidina	26.004	2.11E-07	8.47 E-07	5,7,3',4'-Tetrahidroxi-2'-(3,3-dimetilalil)isoflavona	6.5239	0.001469	0.0021806
N-[(2R,3S,6S)-6-(2-aminoetil)-2-(hidroximetil)-3-oxanil]-3-metoxibencenosulfonamida	25.886	2.18E-07	8.71 E-07	Ácido 20-[(2R,3R,5R,6S)-3,5-dihidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi-3-oxoicosanoico	6.5204	0.001473	0.0021824
3-Epimacronina	25.571	2.39E-07	9.48 E-07	7-amino-N-ciclohexil-1-metil-2-tiazolo[3,2-a]bencimidazolcarboxamida	6.4988	0.001499	0.0022112

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
2-(2-etoxi-1-metoxietil)furano	25.48	2.45E-07	9.68 E-07	Nb-óxido de razidigenina	6.4329	0.0015795	0.0023254
1-[[(3R,9R,10R)-16-(dimetilamino)-12-[(2R)-1-hidroxipropan-2-il]-3,10-dimetil-13-oxo-2,8-dioxa-12-azabiciclo[12.4.0]octadeca-1(14),15,17-trien-9-il]metil]-3-(4-fluorofenil)-1-metilurea	25.27	2.61E-07	1.02 E-06	2-metoxi-4-vinilfenol	6.4155	0.0016015	0.0023531
Ácido 5-hidroxivalproico	25.265	2.61E-07	1.02 E-06	7-amino-N-ciclohexil-N,1-dimetil-2-tiazolo[3,2-a]bencimidazolcarboxamida	6.3824	0.0016445	0.0024114
(-)-(4S,5S,10R,20R)-12,18-dihidroxi-7-oxo-abieta-8,11,13-trien-20-aldehído 18,20-etilacetal	25.007	2.81E-07	1.09 E-06	Nicotina	6.3584	0.0016763	0.0024533
Deshidrocoritenquina	24.938	2.87E-07	1.11 E-06	Pirocatecol	6.2794	0.0017863	0.0026091
L-metioninamida	24.77	3.02E-07	1.16 E-06	Hexil glucósido	6.2393	0.0018452	0.0026899
Braquistemina H	24.714	3.07E-07	1.17 E-06	(S)-(E)-2'-(3,6-Dimetil-2-heptenil)-3',4',7-trihidroxiflavanonatrihydroxyflavanone	6.2327	0.0018551	0.002699
L-malato de dietilo	24.538	3.23E-07	1.23 E-06	N-[(4R,7S,8R)-5-(ciclohexilmetil)-8-metoxi-4,7,10-trimetil-11-oxo-2-oxa-5,10-diazabiciclo[10.4.0]hexadeca-1 (12),13,15-trien-14-il]-2,2,2-trifluoroetanosulfonamidatrimethyl-11-oxo-2-oxa-5,10-diazabicyclo[10.4.0]hexadeca-1(12),13,15-trien-14-yl]-2-methoxyacetamide	6.2157	0.0018809	0.0027311
1-[(1R,2aR,8bR)-2-[(2-fluorofenil)-oxometil]-1-(hidroximetil)-1,2a,3,8b-tetrahidroazeto[2,3-c]quinolin-4-ilo]-2-metoxietanona	24.202	3.57E-07	1.35 E-06	1-[(3aR,4S,9bS)-8-(4-fluorofenil)-4-(hidroximetil)-5-metil-3,3a,4,9b-tetrahidro-2H-pirrolo[3,2-c]quinolina -1-il]-2-metoxietanona	6.1511	0.0019824	0.002873
Ácido dihidroximalónico	24.014	3.78E-07	1.42 E-06	Ácido 3-ureidoisobutírico	6.0442	0.0021643	0.0031304
4-Hidroxi-6-metil-3-(1-oxobutil)-2H-piran-2-ona	23.83	4.00E-07	1.50 E-06	2-[(2R,5S,8S,11S)-11-[3-(diaminometilidenamino)propil]-3,6,9,12,15-pentaoxo-5-(fenilmetil)-8-propan-2-il-Ácido 1,4,7,10,13-pentazaciclopentadec-2-il]acético	6.0415	0.0021692	0.0031315
Bencil-6-hidroxi-2-ciclohexeno-on-oilo	23.71	4.15E-07	1.55 E-06	Forona A	6.0391	0.0021735	0.0031315
Cotinina	23.531	4.38E-07	1.63 E-06	N-[(1R,3S,4aS,9aR)-3-[2-(ciclopropilmetilamino)-2-oxoetil]-1-(hidroximetil)-3,4,4a,9a-tetrahidro-1H-pirano[3,4 -b]benzofuran-6-il]-1,3-benzodioxol-5-carboxamida	5.9638	0.0023133	0.0033265
Vanilloil glucosa	23.468	4.47E-07	1.65 E-06	N-caffeoylputrescine glycoside	5.9519	0.0023363	0.0033531
Gamma-Glutamil-S-metilcisteína	23.18	4.89E-07	1.78 E-06	6-Feruloilglucosa 2,3,4-trihidroxi-3-metilbutilglucósido	5.8801	0.0024805	0.0035395

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Desmetilanhidrotetraciclina	23.46	4.48E-07	1.65 E-06	28-hidroxiwithanolida E	5.9102	0.002419	0.003465
N-carbamoil-L-metioninato	23.284	4.73E-07	1.73 E-06	p-mentan-trans-2,5-diol	5.8891	0.002462	0.0035199
(E,E,E)-1,3,5,11-tridecatetraeno-7,9-diino	23.046	5.10E-07	1.85 E-06	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(5-methoxy-2,2-dimethyl-2H-chromen-6-yl)propan-1-one	5.8601	0.0025226	0.0035866
1-metil nicotinamida-d3	23.022	5.14E-07	1.85 E-06	Aspartil-prolina	5.8598	0.0025232	0.0035866
(4-fluorofenil)-[(8R,9S,10S)-10-(hidroximetil)-9-[4-(3-metoxifenil)fenil]-1,6-diazabiciclo[6.2.0]decan-6-il] metanona	22.861	5.40E-07	1.94 E-06	[(4S,5S)-5-(2-azidofenil)-4-[2-(bencenosulfonil)etil]-2-[4-(3-hidroxipropoxi)fenil]-5H-oxazol-4-il]-(1 -piperidinil)metanona	5.849	0.0025462	0.0036112
(S)-1-feniletanol	22.535	6.00E-07	2.14 E-06	Aurintricarboxilato	5.8471	0.0025502	0.0036112
Ácido górico	22.2	6.68E-07	2.37 E-06	Catabolito de giberelina A8	5.7815	0.0026952	0.0038092
1-Fenil-5-hepteno-1,3-diino	22.026	7.07E-07	2.50 E-06	Feruloiltiramina	5.7204	0.0028383	0.0040039
Viscosalactona B	21.753	7.73E-07	2.72 E-06	4-(4-Dimetilaminofenilazo) beta-lactósido	5.6614	0.0029849	0.0042026
(R)-1-O-[b-D-Glucopiranosil-(1?6)-b-D-glucopiranósido]-1,3-octanodiol	21.73	7.79E-07	2.73 E-06	(1R)-N1'-(1,3-benzodioxol-5-il)-N2-(4-fluorofenil)-1-(hidroximetil)-7-metoxiespiro[3,9-dihidro-1H-pirido[3,4] -b]indol-4,4'-piperidina]-1',2-dicarboxamida	5.6341	0.0030553	0.0042936
2-metilbutan-2-ol	21.69	7.89E-07	2.75 E-06	Hidroxigaleon	5.6251	0.0030789	0.0043186
4-hidroximetil-2-metoxifenil-1-O-beta-D-apiofuranosil-(1→6)-O-beta-D-glucopiranósido	21.676	7.93E-07	2.75 E-06	8-glucósido epiiridotrial	5.5998	0.0031467	0.0044054
Ácido (2S)-2,5-diamino-4-fluoro-5-oxopentanoico	21.623	8.07E-07	2.78 E-06	Maleato de 2-(2-metilsulfanil)propil	5.5947	0.0031603	0.0044161
Paradisina C	21.42	8.63E-07	2.97 E-06	1-[4-(4-aminofenil)-2-tiazolil]-4-piperidinacarboxamida	5.5563	0.0032668	0.0045564
Éster [4-[bis(3-metil-5-oxo-1,2-dihidropirazol-4-il)metil]-2-metoxifenil] del ácido bencenosulfónico	21.384	8.74E-07	2.99 E-06	(S)-diprofilina	5.5497	0.0032853	0.0045736
Dihidrozeatin-O-glucósido	21.226	9.21E-07	3.14 E-06	Ácido (3R)-3,15-dihidroxipentadecanoico	5.4603	0.0035505	0.0049335
1,2-Dihidroximinta lactona	21.171	9.38E-07	3.18 E-06	5-diazouracilo	5.435	0.0036295	0.0050338
Ácido 2-amino-3-[(trifenilmetil)tio]propanoico	21.011	9.91E-07	3.34 E-06	O-(N-acetil-α-D-galactosaminil)-L-treonina	5.4045	0.0037277	0.0051604
Delta(8,14)-2-hidroxi-6-desoxiswietenina	20.971	1.00E-06	3.37 E-06	N-oleoil-L-fenilalanato	5.4004	0.003741	0.0051691
Éster dietílico del ácido 2-hidroxiglutárico	20.886	1.03E-06	3.45 E-06	6'-Apo-β-carotenal	5.3971	0.0037521	0.0051748
6-hidroxi-7-(4-hidroxifenil)-5-metoxi-2,2-dimetil-10-(3-metilbut-2-enil)-8-pirano[3,2-g][1]benzopiranona	20.832	1.05E-06	3.50 E-06	Acetaldehído oxima	5.3805	0.0038071	0.0052409

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR		COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
3-amino-7-hidroxi-3,4-dihidro-1H-quinolin-2-ona	20.793	1.07E-06	3.53 E-06		(6S,7S,8S)-7-[4-(2-ciclohexiletinil)fenil]-4-etilsulfonil-8-(hidroximetil)-1,4-diazabiciclo[4.2.0]octan-2-ona	5.3594	0.0038784	0.0053292
2-metil-4-propil-1,3-oxatiano	20.56	1.16E-06	3.81 E-06		(2R,3R,4S)-1-[1,3-benzodioxol-5-il(oxo)metil]-4-(hidroximetil)-3-fenil-2-azetidinacarbonitrilo	5.3564	0.0038884	0.0053331
Glicerol	20.547	1.16E-06	3.81 E-06		[(2r,3r,5s)-3-azido-5-(5-metil-2,4-dioxo-pirimidin-1-il)tetrahidrofuran-2-il]metil 4-[[(1s,2s)-1 -bencil-3-[(4r)-4-(terc-butilcarbamoil)tiazolidin-3-il]-2-hidroxi-3-oxo-propil]amino]-2,3-dimetil-4-oxo-butanoato	5.3161	0.0040291	0.0055158
(2R,3R,3aS,9bS)-7-(3-fluorofenil)-3-(hidroximetil)-1-metil-6-oxo-N-(2-piridinilmetil)-3,3a,4,9b-tetrahidro- 2H-pirrolo[2,3-a]indolizina-2-carboxamida	20.463	1.20E-06	3.91 E-06		Giberelina A43	5.2508	0.0042693	0.0058339
(R)-1-O-[b-D-Apiofuranosil-(1->2)-b-D-glucopiranósido]-1,3-octanodiol	20.423	1.21E-06	3.95 E-06		6-alil-8b-carboxi-ergolina	5.2219	0.0043806	0.005975
Betavulgarósido II	20.361	1.24E-06	4.01 E-06		Éter monododecílico de heptaetilenglicol	5.1953	0.0044855	0.0061069
Persenona B	20.156	1.33E-06	4.29 E-06		Glucurónido de 5-hidroxitriptofol	5.1762	0.0045631	0.0062012
N2-malonil-D-triptófano	20.088	1.36E-06	4.38 E-06		Éter monododecílico de octaetilenglicol	5.1264	0.0047715	0.0064725
1-(1Z,12Z-nonadecadienil)-sn-glicero-3-fosfocolina	20.026	1.39E-06	4.46 E-06		Regalizsaponina A3	5.0886	0.0049371	0.0066849
(3S,4aR,5R,6S)-6-hidroxi-4a,5-dimetil-3-((E)-1-((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi- 6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)prop-1-en-2-il)-4,4a,5,6,7,8-hexahidronaftalen-2(3H)-ona	19.87	1.47E-06	4.69 E-06		Ciclo(L-tirosil-L-fenilalanilo)	5.0798	0.0049764	0.0067259
N-[2-[2,3-dihidroindol-1-il(oxo)metil]fenil]acetamida	19.676	1.58E-06	5.00 E-06		N-docosahexaenoil metionina	5.0693	0.0050239	0.0067778
N-(4,5,6,7-tetrahidro-1,3-benzotiazol-2-il)-4-tiofen-2-ilbutanamida	19.55	1.65E-06	5.21 E-06		N,N-dihidroxi-L-valinato	5.0632	0.0050516	0.0068027
lactosediamina	19.51	1.68E-06	5.27 E-06		(2S,3R)-5-[(2S)-1-hidroxipropan-2-il]-8-(4-metoxifenil)-3-metil-2-(metilaminometil)-3,4-dihidro-2H-pirido[2,3-b][1,5]oxazocina-6-ona	5.0557	0.005086	0.0068367
Nb-p-cumaroiltriptamina	19.497	1.68E-06	5.27 E-06		Neril ramnosil-glucósido	5.0521	0.0051029	0.006847
Bruceósido A	19.459	1.71E-06	5.32 E-06		Crocina III	5.0308	0.0052021	0.0069675

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
desacetileupaserrina	19.302	1.81E-06	5.61 E-06	4-benzofuranol	5.0006	0.005347	0.0071477
Paucín	19.206	1.87E-06	5.78 E-06	Citrosín III	4.9988	0.005356	0.0071477
Brasinina	19.094	1.95E-06	6.00 E-06	Bismurrayaquinona A	4.9888	0.0054052	0.0072004
Fosfato de diisopropilo(1-)	18.945	2.06E-06	6.31 E-06	Ribosilaminoimidazol	4.8549	0.006112	0.0081275
4-(2-pirazinileteni)fenol	18.934	2.07E-06	6.31 E-06	Annomuricatina A	4.8098	0.0063727	0.0084589
Metiltiouracilo	18.77	2.20E-06	6.68 E-06	Sulfóxido de etionamida	4.7408	0.0067959	0.0090046
D-treoninato	18.407	2.52E-06	7.63 E-06	L-tirosinal	4.7363	0.0068243	0.0090261
Cis-1,2-dihidro-3-etilcatecol	18.3	2.62E-06	7.91 E-06	Cloro e6	4.731	0.0068585	0.0090552
Canin	18.15	2.78E-06	8.34 E-06	4,5-Dihidroniveusina A	4.687	0.0071475	0.00942
1-metil-4-prop-2-enoxi-2-pirimidinona	17.964	2.98E-06	8.93 E-06	fenil 5-fosfo-?-D-ribofuranósido	4.6491	0.0074073	0.0097451
Alcohol 2-hidroxibencílico	17.791	3.19E-06	9.51 E-06	Cis-N-metil-?-berbina	4.6413	0.0074614	0.0097989
Dihidrotimina	17.718	3.28E-06	9.74 E-06	Ácido cis-2-carboxiciclohexil-acético	4.5687	0.0079932	0.010479
p-Menth-1-eno-8-tiol	17.709	3.29E-06	9.74 E-06	Ácido 9,10,13-trihidroxi-11-octadecenoico	4.5621	0.0080437	0.010526
Metilamina	17.657	3.36E-06	9.90 E-06	Metilolurea	4.5327	0.0082723	0.010806
L-Prolinamida, 5-oxo-L-prolil-1-metil-L-histidil	17.551	3.51E-06	1.03 E-05	Alpinumisoflavona	4.478	0.0087168	0.011367
Ácido {2-hidroxi-3-[(6Z,9Z,12Z)-octadeca-6,9,12-trienoiloxi]propoxi}fosfónico	17.541	3.52E-06	1.03 E-05	Trifosfáto(4-)	4.4481	0.0089706	0.011677
1-metoxi-3-(aminometil)indol	17.393	3.73E-06	1.09 E-05	Ácido maleilacetoacético	4.4443	0.0090035	0.0117
N-[(4S,7R,8R)-8-metoxi-4,7,10-trimetil-11-oxo-5-(2-tiazolilmetil)-2-oxa-5,10-diazabiciclo[10.4.0]hexadeca -1(12),13,15-trien-14-il]butanamida	17.325	3.83E-06	1.11 E-05	Mirificina	4.4181	0.0092345	0.011979
Pizotifeno(1+)	17.206	4.02E-06	1.16 E-05	Prim-O-glucosilcimifugina	4.3806	0.0095751	0.012397
Glucósido iridodial	17.156	4.10E-06	1.18 E-05	Lacinileno C	4.379	0.00959	0.012397
Cicasina	16.926	4.50E-06	1.28 E-05	Ciguatoxina CTX3C	4.3422	0.0099393	0.012826
Toracrisona 8-beta-gentiobiosido	16.915	4.52E-06	1.28 E-05	1-[[(3R,9S, S,10S)-12-[(2S)-1-hidroxipropan-2-ilo]-3,10-dimetil-13-oxo-16-[[oxo-[4-(trifluorometil)anilino]metil]amino]-2,8-dioxa-12-azabiciclo[12.4.0]octadeca-1(14),15,17-trien-9-il]metil]-3-(4-metoxifenil)-1-metilurea	4.3326	0.010032	0.012924
Hidrazinonicotinamida	16.788	4.76E-06	1.35 E-05	7,8-Dehidro-beta-micropteroxantina	4.2881	0.010478	0.013475
Canavanina	16.685	4.96E-06	1.39 E-05	Longifolonina	4.2217	0.011184	0.014333

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
19,20-E-vallesamina	16.695	4.94E-06	1.39 E-05	N-[[(4S,5R)-8-(1-ciclopentenyl)-2-[(2S)-1-hidroxipropan-2-yl]-4-metil-1,1-dioxo-4,5-dihidro-3H-6,1$l^{6}, etc,2-benzoxatiazocina-5-il]metil]-2-ciclopropil-N-metilacetamida	4.2705	0.01066	0.013685
Canavanina	16.685	4.96E-06	1.39 E-05	Longifolonina	4.2217	0.011184	0.014333
Arg-Phe-Phe-Cys	16.671	4.99E-06	1.40 E-05	Ácido 3,4,5-trihidroxi-6-[[4-hidroxi-7-metoxi-2,2-dimetil-6-(3-fenilpropanoil)-3,4-dihidrocromen-5-il]oxi]oxano-2-carboxílico	4.2103	0.01131	0.014469
1,8-naftiridina, 2-fluoro	16.654	5.03E-06	1.40 E-05	Cannogenina	4.1693	0.011779	0.015043
3-metilciclopenteno	16.609	5.12E-06	1.42 E-05	Ácido hidroxipropionico	4.1575	0.011917	0.015193
Cincassiol B	16.53	5.29E-06	1.46 E-05	Manassantina A	4.1361	0.012173	0.015493
N-[(2S,3R,4R,5R,6R)-2-[[(2S,3S,4S,5R,6S)-3-acetamido-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-2-oxanilo]oxi]-6-[(2R)-2-[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-1-pirimidinil)-3,4-dihidroxi-2-oxolanil]-2 -hidroxietil]-4,5-dihidroxi-3-oxanil]-12-metil-2-tridecenamida	16.526	5.30E-06	1.46 E-05	L-histidina	4.127	0.012283	0.015606
Cotilenina F	16.487	5.38E-06	1.48 E-05	2,3,4-tri-O-metil-α-L-fucosil-(1→3)-α-L-ramnosil-(1→3)-2-O-metil-α-L-ramnosa	4.1072	0.012528	0.01589
Salicilato de metilo O-[ramnosil-(1->6)-glucósido]	16.438	5.49E-06	1.50 E-05	6-(2,4-dihidroxifenil)-2-{4-[(E)-2-(2,4-dihidroxifenil)etenil]-2,6-dihidroxifenil}-4-metilciclohex-3-eno-1-carboxílico ácido	4.0973	0.012652	0.01602
3-metiladenina	16.438	5.49E-06	1.50 E-05	Acetato de pinobanksina	4.0667	0.013045	0.01649
Metil (4S,5Z,6S)-5-etiliden-4-[2-[2-(4-hidroxifenil)etoxi]-2-oxoetil]-6-[3,4,5-trihidroxi-6-[[3 ,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oximetil]oxan-2-il]oxi-4H-piran-3-carboxilato	16.398	5.59E-06	1.52 E-05	Dimetilnitrosamina	4.0589	0.013147	0.016591
(-)-nyasol	16.381	5.63E-06	1.52 E-05	Torvoside E	4.0504	0.01326	0.016704
Desaspidina	16.314	5.79E-06	1.56 E-05	Estreptomicina 6-fosfato(1+)	4.0443	0.013341	0.016778
Decurósido III	16.273	5.89E-06	1.58 E-05	5,7-Megastigmadien-9-ol glucósido	4.0398	0.013402	0.016826
Suspensolida F	16.196	6.08E-06	1.63 E-05	(-)-(5E,12E,2S,3S,4S,9S,11S,15R)-15-benzoiloxilatira-5,12-dien-3-ol-14-ona	4.0368	0.013442	0.016848

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR	COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
N-[(2R,3R,6R)-6-[2-[4-(1-hidroxiciclopentil)-1-triazolil]etil]-2-(hidroximetil)-3-oxanil]-4-oxanocarboxamida	16.132	6.24E-06	1.67 E-05	Cardin A	4.0334	0.013488	0.016877
Conangulatina A	16.116	6.29E-06	1.67 E-05	Micinamicina III(1+)	3.9767	0.014282	0.01784
N,N-dihidroxihexahomometionionato	16.075	6.40E-06	1.69 E-05	(3S,3'S,5R,5'R,6R)-3,6-Epoxi-5,6-dihidro-3',5,8'-trihidroxi-?,kappa-caroten-6'-ona	3.9582	0.014551	0.018146
?-D-QuipN4Fm-(1→4)-?-D-GalpNAcAN	16.074	6.40E-06	1.69 E-05	Azofenilarsonato	3.9536	0.014619	0.0182
(-)-jasmonoil-L-isoleucina	15.997	6.61E-06	1.74 E-05	1-[2-(dietilamino)etil]-1-[(7-oxo-3,6-dihidro-2H-[1,4]dioxino[2,3-g]quinolin-8-il)metil]-3 -(2-oxolanilmetil)tiourea	3.9484	0.014696	0.018266
Propionato de maltol	15.907	6.87E-06	1.80 E-05	Sativosido R1	3.9198	0.015129	0.018772
Alcohol 4-hidroxibencílico	15.868	6.99E-06	1.83 E-05	Antranilato de β-D-glucopiranosilo	3.9024	0.015399	0.019076
1,2-propanodiol, 3-(octiloxi)-	15.803	7.18E-06	1.87 E-05	Gancaonina X	3.8953	0.015511	0.019182
3-etil-2-metoxipirazina	15.736	7.39E-06	1.92 E-05	5-fluoroindol	3.8746	0.015843	0.01956
Leonósido B	15.709	7.48E-06	1.93 E-05	Hipoglicina a	3.869	0.015932	0.019638
Licoricidina	15.618	7.77E-06	2.00 E-05	Oxibutinina AL	3.8173	0.0168	0.020672
15-cianopentadecanoato de metilo	15.598	7.84E-06	2.01 E-05	Glucósido de acetoína	3.748	0.018044	0.022166
Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona	15.383	8.61E-06	2.20 E-05	Dihidroestreptomicina	3.6703	0.019562	0.023992
Cromakalim	15.336	8.79E-06	2.24 E-05	Óxido nítrico de espermina	3.6143	0.020742	0.025396
N-(3-O-fosfo-D-ribulosil)-cadaverina	15.251	9.12E-06	2.32 E-05	α-L-Fuc-(13)-[β-D-Xil-(1→2)-β-D-Man-(1→4)-β-D-GlcNAc-(1→ 4)]-D-GlcNAc	3.5922	0.021229	0.02595
N-Acetilcisteinamida	15.234	9.19E-06	2.32 E-05	Ácido L-dihidroorótico	3.5681	0.021773	0.026572
Salicina	15.145	9.56E-06	2.40 E-05	Ácido 7-hidroxihexadecanodioico	3.5441	0.022332	0.027209
2-etilfenol	15.058	9.94E-06	2.49 E-05	1,2-disehidronorcoclaurina	3.5149	0.023034	0.028018
Nigakilactona F	15.051	9.97E-06	2.49 E-05	5,6-Dihidro-5-azacitidina	3.4477	0.02474	0.030045
6-(hexiltio)-4-(4-hidroxifenil)-2-oxo-3,4-dihidro-1H-piridin-5-carbonitrilo	14.99	1.02E-05	2.55 E-05	Pretirosina	3.356	0.027298	0.033097
Miricanol 5-beta-soforosido	14.97	1.03E-05	2.56 E-05	4-(dimetilamino)-N-[[(3R,9R,10S)-16-(dimetilamino)-12-[(2S)-1-hidroxipropan-2-il]-3,10-dimetil-13-oxo- 2,8-dioxa-12-azabiciclo[12.4.0]octadeca-1(14),15,17-trien-9-il]metil]-N-metilbutanamida	3.3451	0.027621	0.03343
Wrightiamina A	14.936	1.05E-05	2.59 E-05	Microcina C	3.3437	0.027663	0.03343

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Dide-O-metil-4-O-alfa-D-glucopiranosilsimmondsina	14.825	1.10E-05	2.72 E-05
(3S)-3-hidroxi-L-ornitina	14.778	1.13E-05	2.77 E-05
Giberelina A20	14.607	1.22E-05	2.98 E-05
2-metil-5-(propan-2-il)ciclohex-5-eno-1,2,4-triol	14.571	1.24E-05	3.02 E-05
N-(2-etilfenil)-2-[[2-(4-metoxifenil)-4-oxo-1-benzopiran-6-il]oxi]acetamida	14.449	1.31E-05	3.18 E-05
1,3-dihidroxi-N-metilacridona	14.437	1.32E-05	3.19 E-05
Valideno 4,5-dihidroftalida	14.403	1.34E-05	3.23 E-05
N-formimidoilglicina	14.364	1.36E-05	3.28 E-05
Picnarrina	14.291	1.41E-05	3.38 E-05
Betanidina quinona	14.286	1.41E-05	3.38 E-05
N-[2-(1-metil-2-pirrolidinil)etil]-2-adamantanamina	14.241	1.44E-05	3.44 E-05
Pentan-1-ol	14.05	1.57E-05	3.75 E-05
Vanilloilglicina	13.987	1.62E-05	3.84 E-05
Ácido dihidrofaseico	13.952	1.65E-05	3.90 E-05
Farnesiferol B	13.946	1.65E-05	3.90 E-05
2-Metiltio-3-isopropilpirazina	13.852	1.73E-05	4.06 E-05
3-deshidrohexadecasfinganina(1+)	13.789	1.78E-05	4.17 E-05
(6S,7R,8R)-7-[4-(2-fluorofenil)fenil]-8-(hidroximetil)-4-[oxo(3-piridinil)metil]-1,4-diazabiciclo[4.2.0]octano -2-uno	2.9715	0.041658	0.048909

COMPUESTO	f. value	p. value	FDR
Alcohol linolenílico	3.3149	0.028538	0.034409
Corosina	3.314	0.028566	0.034409
Ala-Phe-Trp-Asn	3.304	0.028875	0.034725
Deshidrofitoesfingosina	3.2934	0.029211	0.035072
Divanillina	3.2157	0.031789	0.038106
L-Nicotianina	3.1784	0.033114	0.03963
Octilhomovanilamida	3.1764	0.033187	0.039654
3-(1-etil-2-pirrolidinil)piridina	3.1577	0.033877	0.040413
Metabolito B	3.1494	0.034187	0.040718
Metilazoximetanol	3.1034	0.03597	0.042772
1-estearoil-2-araquidonoil-sn-glicero-3-fosfo-1D-mio-inositol 4,5-bifosfato(5-)	3.0717	0.037254	0.044182
Ácido siríngico	3.0712	0.037275	0.044182
Ácido indoleacetil glutámico	3.0627	0.037628	0.04453
15-metilhexadecafitosfingosina	3.053	0.038037	0.044941
Vitamina A	3.0376	0.038693	0.045644
Canavaninosuccinato	3.0173	0.03958	0.046616
4-O-Desacetilvinflunina	3.0095	0.039925	0.046948

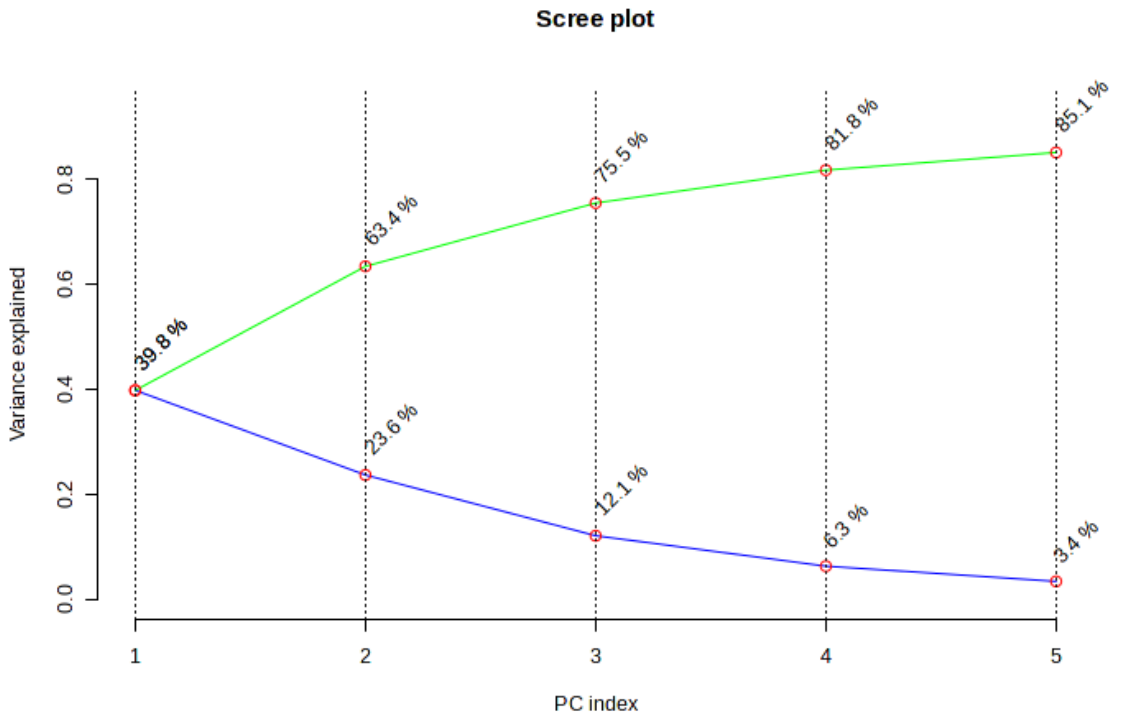


Figura 18. A partir del PCA de obtiene el gráfico de sedimentación en el cual la línea superior indica el valor de la varianza acumulada explicada, mientras que la inferior corresponde a la varianza de cada componente.

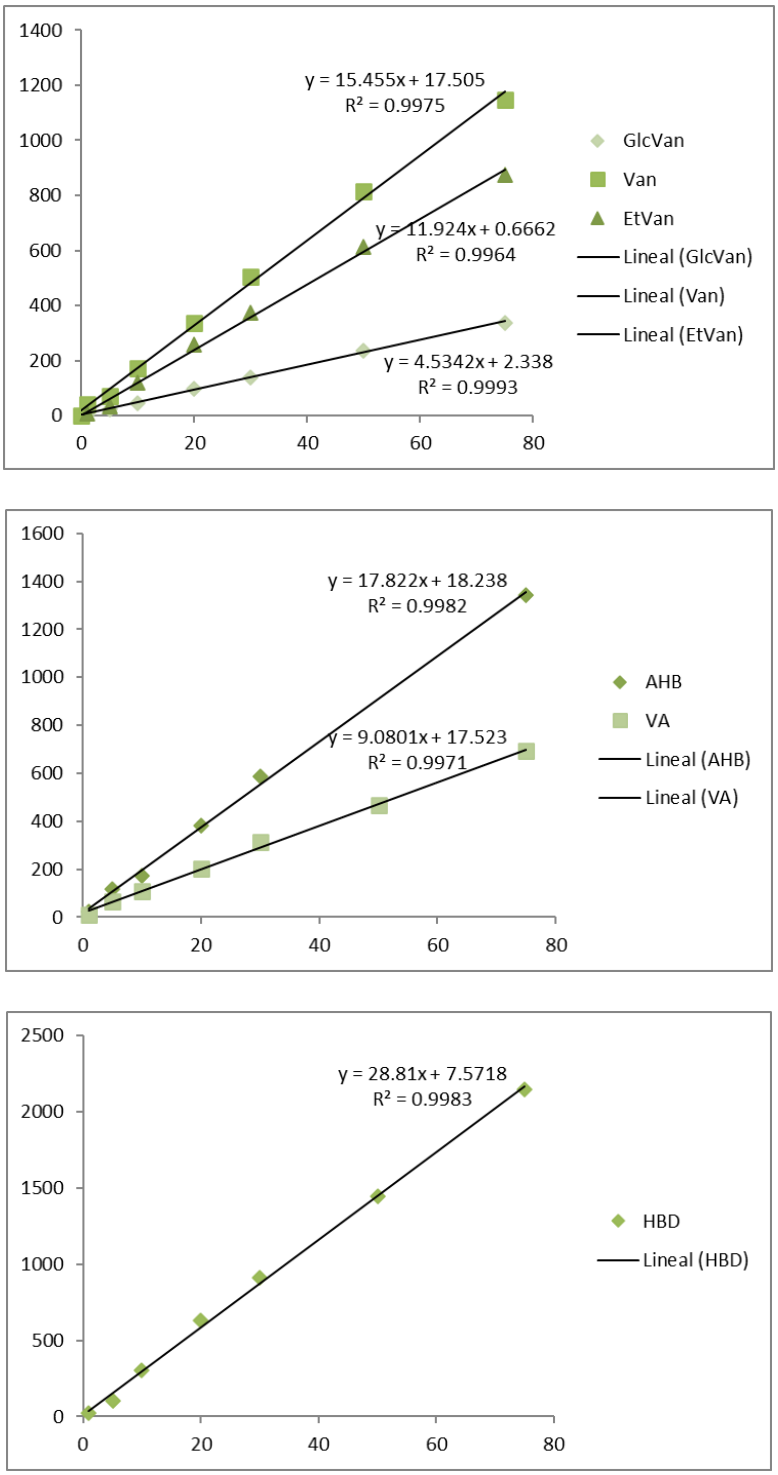


Figura 19. Curvas de calibración de los metabolitos cuantificados en *Vanilla spp*. GlcVan: glucovainillina, Van: vainillina, EtVan: etilvainillina, AHB: ácido 3,4-hidrozibenzóico, VA: ácido vainíllico, HBD: 4-hidroxibenzaldehido.