

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**PROCESAMIENTO TECNOLÓGICO DE ÁCIDO ACÉTICO
A PARTIR DE FRUTAS Y VEGETALES**

TRABAJO DE DIPLOMA PRESENTADO POR:

Br. Francisco José Moreira Castrillo

Br. Luis Alfonso Castillo Vilchez

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO

TUTOR:

MSc. Leonardo Chavarría

ASESOR:

Ing. Hank Espinoza

Managua, Nicaragua 2021

AGRADECIMIENTO

Agradecemos de manera especial a Dios ya que sin su voluntad no hubiera hecho todo esto posible.

A nuestros padres, familiares y amigos que nos apoyaron y motivaron para salir adelante y poder culminar esta hermosa etapa de nuestras vidas.

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional de Ingeniería por acogernos y por concedernos la dicha de formarnos dentro de sus laboratorios y aulas de clase.

A las personas que nos supieron guiar para la elaboración de esta investigación, a nuestro tutor MSc. Ing. Leonardo Chavarría y asesor Ing. Hank Espinoza, quienes nos brindaron sus valiosas enseñanzas, tiempo y dedicación.

A todos nuestros profesores que nos compartieron todos sus conocimientos para poder formarnos correctamente.

Por último y no menos importante, a las personas que fueron partícipes y contribuyeron al desarrollo de esta tesis. Onell Morales, encargado del Laboratorio de Operaciones Unitarias y Mauricio Gutiérrez responsable del Laboratorio de Química en el Recinto Universitario Simón Bolívar.

Br. Francisco José Moreira Castrillo

Br. Luis Alfonso Castillo Vilchez

DEDICATORIA

Primeramente, dedico este trabajo a Dios, por haberme dado la sabiduría, perseverancia y fuerzas necesarias para poder culminar esta investigación.

A mis padres, Paula Francisca Vílchez Salmerón y Carlos Manuel Castillo Morales, quienes han sabido orientarme en mi camino, quienes han estado apoyándome incondicionalmente a lo largo de mi carrera, y han sido mi fuente de inspiración y de lucha para poder culminar esta grandiosa etapa de mi vida.

A mi hermana, Regina Castillo Vílchez, por brindarme su afecto, cariño y apoyo, por sus buenos consejos de ánimos y motivación para no desistir, quien ha sido partícipe de mis esfuerzos.

A todos mis familiares que me apoyaron y estuvieron ahí siempre.

Br. Luis Alfonso Castillo Vílchez

A Dios fuente de toda sabiduría que me ha concedido la paciencia y la fuerza de voluntad para culminar esta grandiosa y emocionante etapa, le doy gracias por darme la bendición de poder ingresar y comenzar mi vida profesional en la universidad.

A mis padres, Freddy Alonso Moreira y Virginia Lucia Castrillo quienes me han enseñado los buenos valores para poder ser una persona humilde, responsable y disciplinada, también porque me han dado el amor, la comprensión, la inspiración y el apoyo para poder superarme.

A mis hermanos Maynor José López Castrillo, Oslin Ignacio López Castrillo y Freddy Alonso Moreira Castrillo (q.d.e.p) quienes han sido fuente de motivación para convertirme en un gran profesional.

A mis familiares que me apoyaron y que me dieron las palabras de aliento para poder culminar con éxito este trabajo.

Br. Francisco José Moreira Castrillo

OPINION DEL TUTOR

Nicaragua por su propia fortaleza de ser un país rico en su diversidad en el campo de la agricultura ha venido estableciendo procesos de investigación para dos elementos sustantivos, el primero, darle valor agregado a las materias primas nacionales evidenciando el desarrollo de la agroindustria nacional y el otro es el fomento de la reducción de las pérdidas y desperdicios de la producción primaria.

Basado en los elementos anteriores los Brs. Francisco José Moreira Castrillo y Luis Alfonso Castillo Vílchez desplegaron el tema monográfico titulado **Procesamiento tecnológico de ácido acético a partir de frutas y vegetales**, donde se realizó una base experimental para fijar propiedades de trabajo así como de las propiedades de aceptabilidad del producto final obtenido resultados bien determinantes.

Estimados miembros del jurado tienen en sus manos el esfuerzo muy coordinado de la investigación realizada por Moreira Castrillo y Castillo Vílchez y cuentan con mi revisión y visto bueno para ser entregado los documentos finales y a su vez puedan efectuar la presentación de dicho trabajo.

Saludos.

MSc. Leonardo Chavarría Carrión

Tutor

RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo dar a conocer el proceso y la utilidad que tienen las frutas y los vegetales de descarte, tales como la piña y la remolacha para la obtención de vinagre (AcOH).

El proceso de elaboración del vinagre consiste en dos etapas consecutivas, en la primera ocurre la fermentación del azúcar a alcohol etílico por acción de las levaduras, mientras que en la segunda etapa las bacterias acéticas oxidan el alcohol a ácido acético.

En el estudio del trabajo, se utilizó un diseño factorial 3^2 en el cual se tomaron en cuenta dos variables con tres niveles, con el fin de evaluar el efecto de la variación en la concentración de ácido acético de los vinagres, como son los °Bx (12°, 14° y 16°) y pH (4, 5 y 6), por esa razón, se prepararon diversas muestras a partir de 1 ml de vinagre, 30 ml de agua destilada y 3 gotas de fenolftaleína las cuales fueron tituladas con una solución de NaOH 0.1 N. Esta acción fue realizada a los 9 tratamientos de cada materia prima con 4 réplicas, para un total de 36 datos a evaluar.

Para el análisis de los datos se utilizó el software “STATGRAPHICS Centurion” donde se realizó una tabla ANOVA, regresión lineal múltiple y un modelo matemático para cada uno de los vinagres, además, se determinó la aceptación de estos por medio de pruebas hedónicas.

Como resultado del análisis de los datos, las tres mejores combinaciones para el vinagre de piña fueron los tratamientos 1,4 y 8 los cuales presentaron un alta concentración de ácido acético, siendo el tratamiento 4 (pH 4 – 14 °Bx) el de mayor porcentaje de acidez (6.2%), asimismo, para el vinagre de remolacha los mejores resultados se obtuvieron de los tratamientos 5, 6 y 9, siendo el tratamiento 9 (pH 6 – 16 °Bx) donde se presentó la mayor concentración de ácido acético (3.33%). Los vinagres obtenidos de piña y remolacha presentaron un aroma intenso y de sabor ácido, apto para el consumo.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	i
DEDICATORIA.....	ii
OPINION DEL TUTOR.....	iii
RESUMEN	iiiv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
2.1 General	2
2.2 Específicos	2
III. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Generalidades.....	3
3.1.1 Características físicas y químicas de la materia prima.....	3
3.1.2 Composición Química y Valor Nutricional de la Piña	3
3.2 Remolacha (<i>beta vulgaris</i>)	5
3.2.1 Datos Botánicos	5
3.2.2 Composición química y valor nutricional.....	5
3.3 Proceso tecnológico para la elaboración de ácido acético.....	7
a) Recepción	7
b) Lavado y Selección	7
c) Preparación de la fruta.....	7
d) Escaldado.....	7
e) Extracción de la pulpa.....	7
f) Clarificado	7
g) Estandarizado	7
h) Preparación del cultivo.....	7
i) Mezclado y fermentación alcohólica	7
j) Transvasado e inoculación	8
k) Filtrado	8
l) Pasteurización.....	8
m) Envasado	8
3.4 Descripción del Producto	8
3.4.1 Vinagre de Frutas.....	8
3.5 Definiciones básicas del proceso tecnológico para la elaboración de ácido acético.	8
3.5.1 Fermentación	8
3.5.2 Fermentación Alcohólica.....	9
3.5.3 Fermentación Acética	9
3.6 Condiciones Óptimas de Fermentación Alcohólica	10

3.6.1	Temperatura y pH	10
3.6.2	Alcohol.....	10
3.6.3	°Brix	10
3.6.4	Oxígeno.....	11
3.7	Condiciones Óptimas de Fermentación Acética	11
3.7.1	Temperatura.....	11
3.7.2	Oxígeno.....	11
3.7.3	pH.....	12
3.7.4	Concentración de Etanol.....	12
3.8	Métodos para la elaboración del Vinagre	12
3.8.1	Métodos Artesanales	12
3.8.2	Método Orleáns.....	12
3.8.3	Método Schutzenbach	13
3.8.4	Fermentación en cultivo sumergido	13
3.8.5	Fermentación Alimentada (Feed-Batch)	13
3.8.6	Fermentación Continua	13
3.9	Proceso experimental en la obtención de ácido acético	14
3.9.1	Diseño factorial 3^2	14
3.9.2	Análisis del diseño factorial 3^2	15
3.10	Regresión lineal múltiple	17
3.10.1	Pruebas de hipótesis en regresión lineal múltiple.	19
3.10.2	Análisis de varianza	19
3.10.3	Coefficiente de determinación	21
3.11	Comparación y caracterización de los productos finales	22
3.11.1	Requerimientos técnicos del vinagre de frutas y vegetales.....	22
3.11.2	Requerimientos para el control de calidad del vinagre de frutas	22
En la materia prima	22	
En el proceso	22	
En el producto	22	
3.12	Evaluación sensorial en los alimentos	22
3.12.1	Escala hedónica	23
3.12.2	Escala hedónica facial	23
3.12.3	Ejemplo de ficha escala hedónica facial	24
IV.	MATERIALES Y METODOS.....	25
4.1	Ubicación de la investigación.....	25
4.2	Metodología	25
4.3	Materiales.....	25

4.4 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de vinagre.....	33
4.5 Proceso de la elaboración del vinagre de piña y remolacha	34
4.6 Metodología experimental.....	36
4.6.1 Variable respuesta	36
4.7 Métodos analíticos en la elaboración de los vinagres de Piña y Remolacha	37
4.7.1 Determinación de pH	37
4.7.2 Determinación de sólidos solubles totales o azúcares	37
4.7.3 Determinación de acidez total.....	37
4.7.4 Acidez titulable	37
4.7.5 Preparación de NaOH 0.1 N	37
4.7.6 Caracterización del producto final.....	38
4.7.7 Evaluación organoléptica del producto final	38
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	39
5.1 Balance de materia del proceso de vinagre de piña.....	39
5.2 Balance de materia del proceso de vinagre de Remolacha	40
5.3 Grados Brix y pH en la Fermentación alcohólica.....	41
5.4 Fermentación acética.....	44
5.4.1 Producción de ácido acético	44
5.5 Análisis de datos experimentales	46
5.5.1 Pruebas de Múltiple Rangos para % Acidez por pH; % Acidez por °Brix.....	48
5.5.2 Gráficos de medias e interacciones.....	48
5.5.3 Análisis de regresión múltiple para la variable de respuesta.....	52
5.6 Análisis sensorial del producto final.....	52
VI. CONCLUSIONES	55
VII. RECOMENDACIONES	56
VIII. NOMENCLATURA	57
IX. BIBLIOGRAFÍA	59
X. ANEXOS	63

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la Piña	4
Tabla 2. Composición nutricional de la Piña.....	4
Tabla 3. Composición química y valor nutricional de la remolacha	6
Tabla 4. Combinación de factores del diseño 3^2	15
Tabla 5. ANOVA para el diseño 3^2	17
Tabla 6. Estructura de los datos para la regresión lineal múltiple	18
Tabla 7. ANOVA para la significancia del modelo de regresión lineal múltiple.....	21
Tabla 8. Materias Primas	25
Tabla 9. Insumos	26
Tabla 10. Materiales	27
Tabla 11. Equipos.....	28
Tabla 12. Materiales de Laboratorio	29
Tabla 13. Reactivos	31
Tabla 14. Combinación de las variables independientes para los distintos tratamientos	36
Tabla 15. Comportamiento del pH en la fermentación acética para vinagre de piña.	45
Tabla 16. Comportamiento del pH en la fermentación acética para vinagre de remolacha.	46
Tabla 17. Análisis de varianza para % de acidez en vinagre de piña	47
Tabla 18. Análisis de varianza para % de acidez en vinagre de remolacha	47

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción durante la fermentación alcohólica	9
Figura 2. Reacción durante la fermentación acética.....	9
Figura 3. Ejemplo de ficha escala hedónica facial	24
Figura 4. Diagrama de flujo para la elaboración de vinagre de frutas	33
Figura 5. Diagrama de flujo para el vinagre de Piña.....	39
Figura 6. Diagrama de flujo para el vinagre de Remolacha	40
Figura 7a. Grados brix vs tiempo en el vino de piña	41
Figura 7b. Grados brix vs tiempo en el vino de remolacha	42
Figura 8a. pH vs tiempo en el vino de piña	43
Figura 8b. pH vs tiempo en el vino de remolacha	43
Figura 9a. Concentración de acidez vs tiempo en el vinagre de piña.....	44
Figura 9b. Concentración de acidez vs tiempo en el vinagre de remolacha	44
Figura 10. Gráficos de medias para ph y grados brix en el vinagre de piña	49
Figura 11. Gráficos de medias para ph y grados brix en el vinagre de remolacha	50
Figura 12. Gráfico de interacciones entre pH y grados brix sobre el porcentaje de acidez en el vinagre de piña.....	50
Figura 13. Gráfico de interacciones entre pH y grados brix sobre el porcentaje de acidez en el vinagre de remolacha.	51
Figura 14. Evaluación sensorial del vinagre de piña.....	53
Figura 15. Evaluación sensorial del vinagre de remolacha	54

I. INTRODUCCIÓN

El vinagre, cuyo significado se deriva del latín *vinum acre* (vino agrio) es un líquido proveniente de la fermentación acética del vino que proviene de frutas como la uva, manzana, naranja, banano entre otras. Según la Norma Técnica Obligatoria nicaragüense 03 089-10, se especifica en la sección 4.1.2, con ingredientes adecuados al tipo y variedad de los productos encurtidos para asegurar un equilibrio de pH no inferior a 3,5 y no mayor a 6,0.

De igual manera la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), en su estándar de identidad para vinagres lo define como la sustancia proveniente de la fermentación alcohólica y acética de jugos de fruta que contiene normalmente en exceso 4g AcOH/100 ml (Rodríguez Barahona & Sarabia Trujillo, 2012). Asimismo, el vinagre contiene entre 3-5% de ácido acético (AcOH) disuelto en agua, además de pequeñas cantidades de ácido tartárico y ácido cítrico.

Las bacterias provenientes del vinagre, también llamadas bacterias acéticas miembros del género *Acetobacter* se caracterizan por su habilidad de convertir el alcohol etílico (C₂H₅OH) en ácido acético (C₂H₄O₂) a través de una oxidación. El ácido acético se forma a partir de una reacción de cuatro pasos que envuelve la conversión de almidón a azúcares a través de amilasas, la conversión anaeróbica de azúcares a etanol por medio de fermentación con levaduras, la transformación de etanol a acetaldehído hidratado y la deshidrogenación por medio de aldehído deshidrogenasa para obtener como producto AcOH. (Milagros, 2014)

El vinagre juega un rol fundamental en la elaboración de productos como salsas, aderezos, salsas picantes entre otros. Esto ha promovido la demanda de sistemas que sean capaces de producir grandes cantidades de vinagre. Actualmente, la tecnología más común para la producción masiva de vinagre se basa en el método de cultivo sumergido junto con la percolación continua o también llamada proceso generador. (Milagros, 2014)

Los pequeños productores que trabajan en las zonas agrícolas de los países en desarrollo suelen disponer de una amplia gama de frutas. Sin embargo, a menudo su producción es estacional, por lo que no siempre se pueden conseguir los mejores precios, y el porcentaje de pérdidas post-cosecha resulta demasiado alto, con el consiguiente perjuicio para el agricultor. (Colquichagua, 1998)

Una posibilidad para industrializar las frutas es la producción de vinagre de buena calidad a un costo competitivo, como ha quedado demostrado al desarrollar algunas tecnologías simples como la preparación de los mostos, los procesos fermentativos, alcohólicos y acéticos y la selección de los depósitos plásticos.

Para elegir la fruta apropiada se deben de considerar diversos factores tales como es su precio y disponibilidad. (Colquichagua, 1998). En este trabajo investigativo presentaremos el proceso de elaboración de vinagre a partir de piña y remolacha. Cabe destacar que las características físicas y químicas de cada materia prima son diferentes por lo que el acondicionamiento de cada ácido será distinto.

II. OBJETIVOS

2.1 General

- Desarrollar el proceso tecnológico para la elaboración de ácido acético a partir de frutas y vegetales (piña y remolacha).

2.2 Específicos

- Describir las características físicas y químicas de la materia prima.
- Diseñar y describir el proceso experimental para la obtención de ácido acético a partir de frutas y vegetales.
- Comparar y calificar las características de los productos finales (vinagres de piña y remolacha).

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Generalidades

3.1.1 Características físicas y químicas de la materia prima Piña (*Ananas Comosus*), datos botánicos

Es un fruto de las plantas de la familia de las Bromeliáceas de forma ovalada y/o cilíndrica, con rangos de color desde verde a anaranjado de acuerdo a su madurez de consumo, de olor agradable, pulpa jugosa y sabor dulce ligeramente ácida (Rosero Muñoz & Regalado Imbaquingo, 2016).

La variedad de piña (*Ananas Comosus*) más sembrada en Nicaragua es Monte Lirio, donde se consume fresca; en conservas, jaleas, vinos, licores, vinagres, alcohol, jugos y helados (Rose, 2006).

El agua constituye aproximadamente el 85% del peso de la piña, debido a esta característica convierte a la piña en un alimento con un valor energético muy bajo. Los hidratos de carbono son el principal componente, que suponen aproximadamente el 11% de su peso, mientras que las proteínas y las grasas apenas constan en esta fruta. Las vitaminas B y C se encuentran en pequeñas porciones, en proporción con los minerales: potasio, magnesio, cobre y manganeso (Rosero Muñoz & Regalado Imbaquingo, 2016).

3.1.2 Composición Química y Valor Nutricional de la Piña

Dado que la maduración de la piña no es simultánea sino progresiva, desde la base hasta el extremo superior, su composición química tampoco es uniforme y depende de múltiples factores, como la variedad, estado de madurez, factores climáticos, entre otros (Rosero Muñoz & Regalado Imbaquingo, 2016).

Tabla 1. Composición química de la piña

Parámetro físico - químico	Valor
Grados Brix	10-17
Acidez titulable (% ác. cítrico)	0,6-1,6
% de cenizas	0,3-0,4
% de agua	81-86
% de fibra	0,3-0,6
% de nitrógeno	0,045-0,115
Ésteres (ppm)	1-250
Pigmentos (ppm de carotenos)	0,2-2,5
% en peso de glucosa	1-3
% en peso de fructosa	0,6-2,3
% en peso de sacarosa	5,9-12
% de almidón	< 0,002
% de celulosa	0,43-0,54
% de hexosas	0,10-0,15
% de pentosas	0,33-0,43

Fuente: (Magallanes & Salcedo, 2013)

Tabla 2. Composición nutricional de la piña

Contenido	Unidad	Valor
Energía	kcal	45
Proteína	g	0,50
Carbohidratos	g	11,50
Fibra	g	1,20
Calcio	mg	12
Hierro	mg	0,50
Magnesio	mg	14
Sodio	mg	3
Potasio	mg	250
Fósforo	mg	11
Vitamina E	mg	0,10
Niacina	mg	0,30
Ácido fólico	µg	11
Vitamina C	mg	20
Vitamina A	µg	13

Fuente: (Magallanes & Salcedo, 2013)

3.2 Remolacha (*Beta vulgaris*)

3.2.1 Datos Botánicos

La remolacha (*Beta vulgaris*) es una planta que pertenece a la familia de las quenopodiáceas. En otros países también es conocida como celga, acelga o betabel.

Es una hortaliza de raíz profunda, grande y carnosa que crece en la planta del mismo nombre. Son propias de las zonas costeras o de terrenos salinos templados, se trata de una raíz esférica de forma globosa, tiene un diámetro de entre 5 y 10 cm y puede pesar entre 80 a 200g. Su color es variable, desde rosado a violeta y anaranjado rojizo hasta el marrón, esto se debe a dos pigmentos presentes como la betacianina y la betaxantina (Caiza Azas, 2017).

La pulpa suele ser de color rojo oscuro y puede presentar en ocasiones círculos concéntricos de color blanco. El sabor, debido a que se trata de una raíz en la que se acumulan gran cantidad de azúcares, es dulce (Moreira, 2013).

Es una planta bianual, es decir, que el primer año se forma la parte comestible y en el segundo ocurre la emisión de tallos florales y la consiguiente formación de frutos y semillas. El tallo es corto durante el primer año y forma la corona de la planta; de ésta nacen numerosas hojas anchas, que tienden a tener una coloración violácea cuando la planta está próxima a madurar. (Serrano & Ximena, 2019)

Es originaria del sur de Europa y norte de África. Existen muchas variedades de remolacha, entre las cuales destacan la remolacha roja y la remolacha blanca o alargada, ambas son muy ricas en azúcar, almidón, poseen raíces comestibles y sus hojas pueden utilizarse como verduras. La remolacha roja es la que destina para el consumo como hortaliza fresca, mientras que la blanca es destinada principalmente para la producción de azúcar o alimentación animal (Téllez & Narváez, 2007).

3.2.2 Composición química y valor nutricional

La remolacha es un alimento de moderado contenido calórico, contiene yodo, sodio y potasio, importantes cantidades de vitamina C en las raíces. Las hojas son fuente excelente de vitamina A, además contiene fósforo, proteína y ácido fólico, además abunda el betacaroteno y el hierro. Es buena fuente de fibra ya que, tras el agua, los hidratos de carbono son el componente más abundante, lo que hace que ésta sea una de las hortalizas más ricas en azúcares, dentro de la cual encontramos la sacarosa. También son muy ricas en almidón.

De sus vitaminas destacan los contenidos en folatos. En relación con los minerales, es una hortaliza fuente de potasio, este mineral contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso y de los músculos (Moreira, 2013).

Tabla 3. Composición química y valor nutricional de la remolacha (Beta vulgaris) por cada 100 g

COMPOSICIÓN	CANTIDAD
Agua	87,5 g
Energía	43 Kcal
Grasa	0,17 g
Proteínas	1,61 g
Hidratos de carbono	9,56 g
Fibra	2,56 g
Potasio	325 mg
Sodio	78 mg
Fosforo	40 mg
Calcio	16 mg
Magnesio	23 mg
Hierro	0,91 mg
Zinc	0,35 mg
Vitamina C	4,9 mg
Vitamina E	0,300 mg
Vitamina A	36 IU
Vitamina B2	0,040 mg
Vitamina B6	0,067 mg
Niacina	0,334 mg
Folacina	109 mcg

Fuente: (Moreira, 2013)

3.3 Proceso tecnológico para la elaboración de ácido acético

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en su ficha técnica de procesado de frutas se siguen todas las operaciones realizadas en la fabricación del vinagre:

- a) **Recepción:** consiste en cuantificar la materia prima que entra al proceso, es necesario usar balanzas limpias y calibradas.
- b) **Lavado y Selección:** el lavado se efectúa con agua clorada, y su selección con base a que no haya materia prima defectuosa, el tamaño no es muy importante.
- c) **Preparación de la fruta:** la eliminación de la cáscara facilita el escaldado y reduce la tendencia a un sabor desagradable en el producto final. En algunas frutas grandes, para facilitar el escaldado, se cortan en pequeños trozos. Este proceso se puede hacer en forma manual o mecánica.
- d) **Escaldado:** se hace sumergiendo la fruta en agua hirviendo, el tiempo que dura la fruta dentro del agua depende del tipo de fruta. El escaldado desactiva la acción enzimática que provoca el pardeamiento y hace más sensibles los tejidos de las frutas, facilitando su proceso.
- e) **Extracción de la pulpa:** se hace pasando la fruta por un despulpador o bien licuándola para facilitar la extracción. En la extracción de la pulpa se pueden agregar pequeñas cantidades de agua para facilitar su molido.
- f) **Clarificado:** la pulpa se deja en reposo, para que los sólidos se sedimenten. El líquido claro, que está en la parte superior se retira y se traslada a un barril, de preferencia de madera. La pulpa (sólidos que se depositan en el fondo) se presan para extraerle el líquido restante, se filtra y se agrega al primero. El tiempo de reposo depende del tipo de la fruta.
- g) **Estandarizado:** el mosto (jugo) debe tener aproximadamente 12 °Brix, si fuera necesario puede adicionarse azúcar.
- h) **Preparación del cultivo:** el cultivo se hace separando el 2.5% del mosto clarificado y se esteriliza mediante ebullición, se deja enfriar y se inocula con levadura del tipo *Saccharomyces ellipsoideus* (levadura para panificar). El mosto inoculado se deja en reposo durante 24 horas y luego se vierte al resto del mosto.
- i) **Mezclado y fermentación alcohólica:** el cultivo preparado en el paso anterior se agrega al mosto en el barril y se deja fermentar por unos 10 días, a temperatura ambiente. El barril debe taparse con una tela que permita la salida del gas producido, un tapón de algodón es recomendable.

- j) **Transvasado e inoculación:** el líquido claro obtenido de la fase anterior se transvasa con la ayuda de un sifón al barril generador de vinagre, donde es inoculado con un cultivo de bacterias acéticas (*Acetobacter aceti*), o bien se mezcla con el 20% de un vinagre no pasteurizado. El barril se cubre con una tela delgada y al cabo de 2 semanas a una temperatura de 25°C, el vinagre está listo.
- k) **Filtrado:** el filtrado se hace con la ayuda de filtros o coladores finos, para eliminar residuos de pulpa o levadura.
- l) **Pasteurización:** el vinagre filtrado se pasteuriza en un recipiente muy limpio a una temperatura de 65 °C por 15 minutos.
- m) **Envasado:** se hace en botellas de vidrio, previamente esterilizadas.

3.4 Descripción del Producto

3.4.1 Vinagre de Frutas

Según la FAO considera que el vinagre de frutas es un producto ácido que se obtiene a partir del vino. En el vino los jugos con azúcar se fermentan, pasando los azúcares a alcohol, y seguidamente los microorganismos oxidan el alcohol a vinagre (ácido acético). Puede elaborarse a partir de diversas materias primas, por ejemplo, de frutas como el banano, piña, mango, guayaba y marañón.

De igual manera el proceso de elaboración del vinagre consiste en dos etapas consecutivas, en la primera ocurre la fermentación del azúcar a alcohol etílico por acción de las levaduras, mientras que en la segunda etapa las bacterias acéticas oxidan el alcohol a ácido acético.

Por lo tanto, el vinagre es utilizado como saborizante en productos como salsas, mayonesa, mostaza y como preservante en la elaboración de encurtidos y otras conservas ácidas.

3.5 Definiciones básicas del proceso tecnológico para la elaboración de ácido acético.

3.5.1 Fermentación

Es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Estos productos finales son los que caracterizan los diversos tipos de fermentaciones (Milagros, 2014).

3.5.2 Fermentación Alcohólica

En esta fermentación, a partir de la glucosa y con la participación de diferentes enzimas (piruvato descarboxilasa y alcohol deshidrogenasa), se origina el ácido pirúvico, el cual es descarboxilado hasta CO_2 y acetaldehído y este último es reducido hasta alcohol etílico (EcuRed, 2007).

La levadura más utilizada es la *Saccharomyces cerevisiae*. Otras variedades con las cuales se obtienen menores rendimientos de alcohol son *Tolossis*, *Kloecheda*, *Cándida* y ciertas especies de *Mucor* (Parajón & Terán, 2005).

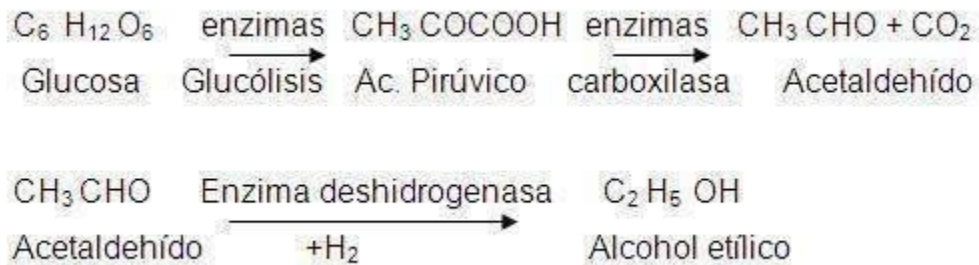


Figura 1. Reacción durante la fermentación alcohólica

3.5.3 Fermentación Acética

Es un proceso secundario de la fermentación alcohólica que consiste en transformar etanol en ácido acético por la presencia de una cepa bacteriana (*acetobacter aceti*). La formación del AcOH resulta de la oxidación del alcohol por la bacteria del vinagre en presencia del oxígeno, estas bacterias a diferencia de las levaduras productoras de alcohol requieren un suministro generoso de oxígeno para su crecimiento y actividad. (Milagros, 2014)

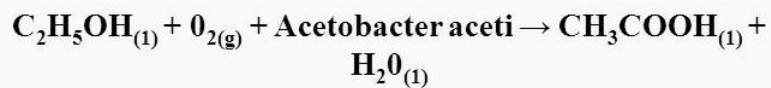


Figura 2. Reacción durante la fermentación acética

3.6 Condiciones Óptimas de Fermentación Alcohólica

3.6.1 Temperatura y pH

La temperatura óptima de fermentación acética está comprendida dentro del rango de 30 a 31°C; siendo el proceso de fermentación viable entre los 28 y 33°C.

Sin embargo, cuando la temperatura es superior a 33°C o está por sobre la temperatura óptima, ocurre un proceso de desactivación bacteriana, en el que las levaduras ya no se reproducen y acaban muriendo, lentificando y deteniendo la fermentación. Lo que aumenta las pérdidas de alcohol y productos volátiles. (Llaguno & Polo, 1991)

El pH tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y en el rendimiento. El pH óptimo para algunos organismos en especial para las levaduras se encuentra en un rango de 4 a 6. Un cambio en el valor de pH puede afectar su composición o su naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases. (Fajardo & Sarmiento, 2007)

Sin embargo, se puede trabajar hasta con pH no bajo de 2,6 por debajo de la cual la fermentación alcohólica es imposible. (Romo Leroux, 2011)

3.6.2 Alcohol

La concentración de etanol y de ácido acético afecta a la viabilidad celular; se puede considerar que unos valores aproximados de 10 grados son los más adecuados para llevar a cabo la reacción. Sin embargo, las concentraciones de estos compuestos son variables a lo largo del ciclo y dependientes de las condiciones de operación. (Baena Ruano, 2013)

A partir de los 13 grados alcohólicos, se tiene una acción tóxica sobre las levaduras. Debido a que niveles altos afectan negativamente la misma levadura generando estrés osmótico, inhibición competitiva, oxidación, entre otros. De igual forma se destaca el hecho de que el porcentaje de tolerancia al alcohol depende de la cepa de levadura utilizada (Parajón & Terán, 2005).

3.6.3 °Brix

Las principales sustancias carbonadas son los azúcares, que tienen influencia directa sobre el volumen de alcohol que se tendrá en el producto final. Los valores de °Brix en el mosto alcohólico obtenido para una posterior fermentación acética van en el rango de 8 a 20 °Brix. (Romo Leroux, 2011)

Los grados brix a concentraciones elevadas (mayor a 30%) también tiene un efecto nocivo sobre las levaduras, produciendo plasmólisis, para una buena

fermentación alcohólica los grados brix deben estar entre 12 °brix a 18 °brix. (Flanzy, 2000)

3.6.4 Oxígeno

Esta fermentación es totalmente anaerobia, donde la levadura sólo se reproduce en cantidades limitadas y para que pueda transformar la mayor parte del azúcar en alcohol y dióxido de carbono, siendo este proceso de degradación del azúcar su fuente de energía, mientras que en presencia de aire la consigue a través de la respiración (Parajón & Terán, 2005).

Sin embargo, cuando el líquido a fermentar está aireado, las levaduras se reproducen en grandes cantidades, consumiendo gran parte del azúcar para elaborar sus propias sustancias constitutivas y de esta manera se limita la cantidad de azúcar disponible para la formación alcohólica (Parajón & Terán, 2005).

3.7 Condiciones Óptimas de Fermentación Acética

3.7.1 Temperatura

Por lo general la temperatura de fermentación debe estar comprendida entre 30-31 °C, dado que en este rango las bacterias muestran su máxima actividad. La temperatura es una variable importante por las implicaciones que puede tener en la calidad y rendimiento del producto obtenido. No se debe olvidar la importancia de retener compuestos volátiles ya que es un factor clave en la evaluación final del proceso. (Baena Ruano, 2013)

3.7.2 Oxígeno

El factor aireación, se considera fundamental, dado que las bacterias acéticas requieren de un suministro constante de oxígeno, además de una agitación constante para homogenizar el contenido y garantizar la aireación (Milagros, 2014). Por otra parte, un exceso de aire provocaría pérdidas de compuestos volátiles. Ahora bien, el aire no ha de ser estéril pero sí debe ser limpio para minimizar el riesgo de contaminación. (Baena Ruano, 2013)

3.7.3 pH

El pH óptimo para el desarrollo de las bacterias acéticas se encuentra dentro del rango 5 - 6.5, aunque tienen capacidad de sobrevivir y crecer a pH más ácidos. Trabajar con valores de pH no incluidos en el rango óptimo aumenta la sensibilidad de los microorganismos. Esta variable se deja evolucionar libremente a lo largo del ciclo. (Baena Ruano, 2013)

3.7.4 Concentración de Etanol

La concentración de etanol y de ácido acético afecta a la viabilidad celular considerando de esa manera que los valores aproximados de 10 g*L son los más adecuados para llevar a cabo la reacción. Sin embargo, las concentraciones de estos compuestos son variables a lo largo del ciclo y dependientes de las condiciones de operación. (Baena Ruano, 2013).

3.8 Métodos para la elaboración del Vinagre

3.8.1 Métodos Artesanales

En la antigüedad el vinagre se producía por el lento contacto de un sustrato alcohólico con el aire; vino, malta fermentada, miel de dátiles, melazas de azucarería, alcohol de patatas, de cereales, suero de leche fermentada, etc. No había ninguna intervención humana excepto la de añadir al sustrato alcohólico vinagre turbio o lo que se ha llamado “madre del vinagre”, una masa más o menos gelatinosa en la que están presentes bacterias acéticas de distinto poder acetificante. Renovando el sustrato y extrayendo el vinagre de 4-5% con la misma cantidad de etanol sin transformar. El lento proceso y la presencia de alcohol residual deben favorecer la formación de ésteres y otros compuestos volátiles que confieren aroma y sabor peculiares a estos vinagres artesanales. (Llaguno & Polo, 1991)

3.8.2 Método Orleáns

También conocido como método superficial o estacionario, las bacterias acéticas se encuentran en la superficie del mosto alcohólico a acetificar, formando una película de celulosa llamada “madre del vinagre”.

La presencia de las bacterias acéticas en la interfase líquido/aire se debe a que éstas son aerobias estrictas, y por lo tanto es la única manera que tienen de obtener oxígeno para crecer y oxidar el etanol a ácido acético. (Gerard, 2015)

3.8.3 Método Schutzenbach

Se logra aumentar la velocidad de acetificación incrementando la superficie de contacto de las bacterias acéticas con el oxígeno. El mosto alcohólico a acetificar se hace pasar a través de un lecho empacado con virutas de madera, donde están adheridas las células bacterianas. El aire se introduce a contracorriente por orificios en el fondo del equipo fluyendo por convección natural. (Gerard, 2015)

3.8.4 Fermentación en cultivo sumergido

En este sistema las bacterias de ácido acético se encuentran sumergidas en la solución a acetificar y se pueden obtener vinagres con un elevado grado acético en períodos muy cortos de tiempo (24 horas). Se hace circular aire en forma de burbujas a través de la biomasa bacteriana, inyectando aire solo o mezclado con oxígeno, lo que favorece la acetificación. Este proceso se logra acondicionando el reactor con un sistema de aireación, que consta de turbinas que aspira aire desde el exterior en forma final de burbujas. (Gerard, 2015)

La mayor cantidad de biomasa, como la disponibilidad constante de oxígeno, permite obtener rendimientos de transformación de etanol en ácido acético muy elevados y uniformidad en el producto.

Sin embargo, se requiere un control estricto de la temperatura y de la presión parcial de oxígeno. Una disminución en este último disminuye la actividad de la población celular. Además, la fuerte aireación y agitación influye negativamente en la composición volátil del vinagre y, por lo tanto, en su calidad final. (Gerard, 2015)

3.8.5 Fermentación Alimentada (Feed-Batch)

En los procesos alimentados, los sustratos se añaden escalonadamente a medida que progresa la fermentación, en el método alimentado los elementos críticos de la solución de nutrientes se añaden en pequeñas concentraciones al principio de la fermentación y continúan añadiéndose a pequeñas dosis durante la fase de producción. (Rosero Muñoz & Regalado Imbaquingo, 2016)

3.8.6 Fermentación Continua

En la fermentación continua es considerada un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al biorreactor; así mismo la solución utilizada es extraída una cantidad equivalente en el proceso. Este tipo de fermentaciones no son usadas en la industria, debido al mayor nivel que se obtiene en el crecimiento de células en fermentación discontinua, sin embargo; el costo de producción de biomasa mediante cultivo continuo es inferior al discontinuo. (Rosero Muñoz & Regalado Imbaquingo, 2016)

3.9 Proceso experimental en la obtención de ácido acético

3.9.1 Diseño factorial 3^2

El *diseño factorial* 3^k considera k factores con tres niveles cada uno y tiene 3^k tratamientos. Si se tienen pocos factores, tres como máximo, o en el peor de los casos cuatro, el diseño 3^k es una buena alternativa.

De manera específica, hay dos razones que hacen viable el diseño 3^k :

- I. Se tienen factores de tipo continuo e interesa estudiar efectos cuadráticos como $A^2, B^2, \dots, A^2B, B^2A, A^2B^2, \dots$ (efectos de curvatura). Esto se hace cuando se cree que la variable de respuesta no es lineal, ni aproximadamente lineal en el rango de variación de los factores estudiados.
- II. Los factores son categóricos o discretos y de manera natural tienen tres niveles cada uno. Esto ocurre en factores como tipo de material, diferentes medios de cultivos, factor máquina, etc., los cuales pueden tener naturalmente tres niveles. Por ejemplo, si uno de los factores es un *reactivo* del cual existen tres marcas, resulta natural que el experimentador quiera probar las tres marcas con la idea de comparar su desempeño en las diferentes combinaciones de los factores restantes.

Este diseño consiste en $3^2 = 9$ tratamientos diferentes, que corresponden a todas las posibles maneras en que se pueden combinar dos factores en tres niveles cada uno. Sean A y B los factores, cada uno con tres niveles, a los cuales se les suele llamar bajo, medio y alto. Los nueve tratamientos se pueden escribir de varias maneras, algunas de las cuales se muestran en la siguiente tabla: (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008)

Tabla 4. Combinación de factores del diseño 3²

Tratamiento	A	B	A	B	A	B
1	bajo	bajo	-1	-1	0	0
2	medio	bajo	0	-1	1	0
3	alto	bajo	1	-1	2	0
4	bajo	medio	-1	0	0	1
5	medio	medio	0	0	1	1
6	alto	medio	1	0	2	1
7	bajo	alto	-1	1	0	2
8	medio	alto	0	1	1	2
9	alto	alto	1	1	2	2

Fuente: (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008)

3.9.2 Análisis del diseño factorial 3²

El modelo estadístico para el diseño 3² se puede escribir considerando el efecto individual de cada factor y de la interacción entre ambos, quedando de la siguiente manera:

Ecuación 3.

$$Y_{ijk} = \mu + \gamma_i + \delta_j + (\gamma\delta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$\text{con } i = 1,2,3; j = 1,2,3; k = 1, \dots, n$$

Donde γ_i el efecto del factor A en su nivel i, δ_j representa el efecto del factor B en su nivel j, $(\gamma\delta)_{ij}$ es el efecto de interacción de ambos en los niveles ij y n es el número de repeticiones de cada tratamiento.

En consecuencia, las hipótesis que se desean probar son:

$H_0 : \gamma_i = 0$ (no hay efecto significativo del factor A sobre la variable de respuesta),

$H_0 : \delta_j = 0$ (no hay efecto del factor B sobre la variable de respuesta)

$H_0 : (\gamma\delta)_{ij} = 0$ (no hay efecto de interacción de los factores A y B sobre la variable de respuesta).

Estas hipótesis se probarán con el ANOVA; para ello, las sumas de cuadrados para los tres efectos incluidos en la ecuación están dadas por:

Ecuación 4.

$$SC_A = \sum_{i=1}^3 \frac{Y_{i..}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2}$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^3 \frac{Y_{.j.}^2}{3n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2}$$

$$SC_{AB} = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \frac{Y_{ij.}^2}{n} - \frac{Y_{...}^2}{n3^2} - SC_A - SC_B$$

La suma de cuadrados total se obtiene con:

Ecuación 5.

$$SC_T = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 - \frac{Y_{...}^2}{n3^2}$$

y el error aleatorio se calcula con la diferencia,

Ecuación 6.

$$SC_E = SC_T - SC_{AB} - SC_A - SC_B$$

Los grados de libertad asociados con cada suma de cuadrados de esta última relación son, respectivamente:

$$3^2(n-1) = (n3^2 - 1) - (3-1)(3-1) - (3-1) - (3-1)$$

Tabla 5. ANOVA para el diseño 3^2

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GL</i>	<i>CM</i>	F_0	Valor- <i>p</i>
A	SC_A	2	CM_A	CM_A / CM_E	$P(F > F_0)$
B	SC_B	2	CM_B	CM_B / CM_E	$P(F > F_0)$
AB	SC_{AB}	4	CM_{AB}	CM_{AB} / CM_E	$P(F > F_0)$
Error	SC_E	$3^2(n - 1)$	CM_E		
Total	SC_T	$n3^k - 1$			

Fuente: (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008)

3.10 Regresión lineal múltiple

En muchas situaciones prácticas existen varias variables independientes que se cree que influyen o están relacionadas con una variable de respuesta Y , y por lo tanto será necesario tomar en cuenta si se quiere predecir o entender mejor el comportamiento de Y .

Sea X_1, X_2, \dots, X_k variables independientes o regresoras, y sea Y una variable de respuesta, entonces el *modelo de regresión lineal múltiple* con k variables independientes es el polinomio de primer orden:

Ecuación 7.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon$$

Donde los β_j son los parámetros del modelo que se conocen como *coeficientes de regresión* y ε es el error aleatorio, con media cero, $E(\varepsilon) = 0$ y $V(\varepsilon) = s^2$. Si en la ecuación 5 $k = 1$, estamos en el caso de regresión lineal simple y el modelo es una línea recta; si $k = 2$, tal ecuación representa un plano. En general, la ecuación 5 representa un hiperplano en el espacio de k dimensiones generadas por las variables $\{X_j\}$.

El término lineal del modelo de regresión se emplea debido a que la ecuación 5 es función lineal de los parámetros desconocidos $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_k$. La interpretación de éstos es muy similar a lo ya explicado para el caso de regresión lineal simple: β_0 es la ordenada al origen, y β_j mide el cambio esperado en Y por cambio unitario en X_j cuando el resto de las variables regresoras se mantienen fijas o constantes.

Es frecuente que en la práctica se requieran modelos de mayor orden para explicar el comportamiento de Y en función de las variables regresoras. Por ejemplo, supongamos que se tienen dos variables independientes y que se sospecha que la relación entre Y y algunas de las variables independientes es

cuadrática, por ello quizá se requiera un polinomio de segundo orden como modelo de regresión:

Ecuación 8.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \varepsilon$$

Éste también es un modelo de regresión lineal múltiple, ya que la ecuación 6 es una función lineal de los parámetros desconocidos $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_{22}$. Pero además si definimos $X_3 = X_1 X_2, \beta_3 = \beta_{12}, X_4 = X_1^2, \beta_4 = \beta_{11}, X_5 = X_2^2$ y $\beta_5 = \beta_{22}$;

Entonces, la ecuación 6 puede escribirse así:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_5 X_5 + \varepsilon$$

la cual tiene la misma forma que el modelo general de regresión lineal múltiple de la ecuación 5. Con lo visto antes, estamos en posibilidades de abordar el problema de estimación de los parámetros del modelo de regresión múltiple, que será aplicable a una amplia gama de modelos que pueden reducirse a la forma general de la ecuación 5.

Para estimar los parámetros de la regresión lineal múltiple se necesita contar con n datos ($n > k$), que tienen la estructura descrita en la tabla 6. En ésta se aprecia que para cada combinación de valores de las variables regresoras, (x_{1i}, \dots, x_{ki}) se observa un valor de la variable dependiente, y_i .

Tabla 6. Estructura de los datos para la regresión lineal múltiple

Y	X_1	X_2	...	X_k
y_1	x_{11}	x_{21}	...	x_{k1}
y_2	x_{12}	x_{22}	...	x_{k2}
	\vdots	\vdots		\vdots
y_n	y_{1n}	x_{2n}	...	x_{kn}

Fuente: (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008)

En términos de los datos, el modelo de regresión lineal múltiple puede escribirse de la siguiente manera:

Ecuación 9.

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{1i} + \beta_2 X_{2i} + \dots + \beta_k X_{ki} + \varepsilon_i$$

$$= \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_{ji} + \varepsilon_i, \quad i = 1, 2, \dots, n$$

3.10.1 Pruebas de hipótesis en regresión lineal múltiple

Las hipótesis sobre los parámetros del modelo son equivalentes a las realizadas para regresión lineal simple, pero ahora son más necesarias porque en regresión múltiple tenemos más parámetros en el modelo; sin embargo, por lo general es necesario evaluar su verdadera contribución a la explicación de la respuesta.

También requerimos de la suposición de que los errores se distribuyen en forma normal, independientes, con media cero y varianza σ^2 ($\varepsilon_i \sim NID(0, \sigma^2)$)

Una consecuencia de esta suposición es que las observaciones y_i son: $NID(\beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_{ji}, \sigma^2)$.

3.10.2 Análisis de varianza

La hipótesis global más importante sobre un modelo de regresión múltiple consiste en ver si la regresión es significativa. Esto se logra probando la siguiente hipótesis:

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_k = 0$$

$$H_A: \beta_j \neq 0 \quad \text{para al menos un } j = 1, 2, \dots, k$$

Aceptar H_0 significa que ningún término o variable en el modelo tiene una contribución significativa al explicar la variable de respuesta, Y . Mientras que rechazar H_0 implica que por lo menos un término en el modelo contribuye de manera significativa a explicar Y .

El procedimiento para probar esta hipótesis es una generalización del procedimiento utilizado para probar la hipótesis equivalente, dada en la expresión (11.32) pág. #349 (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008), en regresión lineal simple. Al igual que la expresión (11.30) de la pág. #348, aquí también se descompone la suma total de cuadrados en la suma de cuadrados de regresión y en la suma de cuadrados del error:

Ecuación 10.

$$S_{yy} = SC_R + SC_E$$

Si $H_0: \beta_j = 0$ es verdadera, entonces $SC_R | \sigma^2$ tiene una distribución X_k^2 , donde el número de grados de libertad, k , es igual al número de términos en el modelo de regresión.

Además $SC_R|\sigma^2 \sim X_{n-k-1}^2$, y SC_E y SC_R son independientes. Luego, es natural que el estadístico de prueba para la significancia del modelo de regresión lineal múltiple esté dado por:

Ecuación 11.

$$F_0 = \frac{SC_R|k}{SC_E|(n-k-1)} = \frac{CM_R}{CM_E}$$

Que bajo H_0 tiene una distribución $F_{(k,n-k-1)}$. Así, se rechaza H_0 si $F_0 > F_{(\alpha,k,n-k-1)}$ o también si valor $-p = P(F > F_0) < \alpha$.

Para completar el procedimiento anterior necesitamos una forma explícita para calcular SC_R . La fórmula para calcular la suma de cuadrado del error es:

Ecuación 12.

$$SC_E = y'y - \hat{\beta}'X'y$$

Además, como la suma total de cuadrados, S_{yy} , está dada por:

$$S_{yy} = \sum_{i=1}^n y_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n} y'y - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n}$$

La SC_E puede expresarse como:

$$\begin{aligned} SC_E &= \left[y'y - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n} \right] - \left[\hat{\beta}'X'y - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n} \right] \\ &= S_{yy} - SC_R \end{aligned}$$

Así, hemos obtenido una forma explícita para la suma de cuadrados de la regresión:

Ecuación 13.

$$SC_R = \hat{\beta}'X'y - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n}$$

El procedimiento de análisis de varianza para el modelo de regresión lineal múltiple se sintetiza en la tabla 7.

3.10.3 Coeficiente de determinación

El que un modelo sea significativo no necesariamente implica que sea bueno en términos de que explique la variación de los datos. Por ello es importante tener mediciones adicionales de la calidad del ajuste del modelo, como las gráficas de residuales y el coeficiente de determinación. Con la información del análisis de varianza de la tabla 7 es muy sencillo calcular el coeficiente de determinación, R^2 , y el coeficiente de determinación ajustado, R^2_{aj} :

Tabla 7. ANOVA para la significancia del modelo de regresión lineal múltiple

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F_0	Valor-p
Regresión	$SC_R = \hat{\beta}'X'y - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n}$	k	CM_R	CM_R/CM_E	$\Pr(F > F_0)$
Error o residuo	$SC_E = y'y - \hat{\beta}'X'y$	$n - k - 1$	CM_E		
Total	$S_{yy} = y'y - \frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n}$	$n - 1$			

Fuente: (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008)

$$R^2 = \frac{SC_R}{S_{yy}} = 1 - \frac{SC_E}{S_{yy}}$$

$$\begin{aligned} R^2_{aj} &= \frac{S_{yy}|(n-1) - CM_E}{S_{yy}|(n-1)} = \frac{CM_{total} - CM_E}{CM_{total}} \\ &= 1 - \frac{CM_E}{CM_{total}} \end{aligned}$$

Ambos coeficientes se interpretan de forma similar al caso de regresión lineal simple, es decir, como el porcentaje de variabilidad de los datos que son explicados por el modelo.

Por lo tanto se cumple que $0 < R^2_{aj} \leq R^2 < 1$; en general, para hablar de un modelo que tiene un ajuste satisfactorio es necesario que ambos coeficientes tengan valores superiores a 0.7.

Cuando en el modelo hay términos que no contribuyen de manera significativa a éste, el R^2_{aj} tiende a ser menor que el R^2 . Por lo tanto, es deseable depurar el modelo y para ello las siguientes pruebas de hipótesis son de mucha utilidad. (Gutiérrez Pulido & Salazar, Análisis y Diseño de Experimentos, 2008)

3.11 Comparación y caracterización de los productos finales

3.11.1 Requerimientos técnicos del vinagre de frutas y vegetales

El vinagre de frutas elaborado en buenas condiciones no es un producto perecedero, para este fin se debe tener como mínimo 5% de acidez acética, pH 2,50, Alcohol en volumen < 1,00%, densidad 1,006 – 1,023, aspecto limpio y brillante, olor característico, sabor característico, color de acuerdo al tipo de fruta empleada y se considera que el vinagre por su naturaleza ácida se preserva por sí solo no necesitando inclusive refrigeración. (Milagros, 2014).

3.11.2 Requerimientos para el control de calidad del vinagre de frutas

- **En la materia prima**

La fruta debe estar en el grado de madurez óptima para aprovechar su contenido de azúcar, evitar la fruta podrida o con golpes. (FAO, 2014)

- **En el proceso**

Utilizar las cantidades recomendadas en la elaboración del mosto. Lograr la estandarización previamente definida. Esto se logra controlando los °Bx, el porcentaje de alcohol, así como el burbujeo, que es una señal de la activación de la levadura y finalmente la formación de una capa de bacterias. (FAO, 2014)

- **En el producto**

Verificar el contenido de ácido acético, revisar el sellado y el volumen del contenido. (FAO, 2014)

3.12 Evaluación sensorial en los alimentos

La "Evaluación Sensorial" es una disciplina científica mediante la cual se evalúan las propiedades organolépticas a través del uso de uno o más de los sentidos humanos. (Manfugás, 2007)

Mediante esta evaluación pueden clasificarse las materias primas y productos terminados, conocer que opina el consumidor sobre un determinado alimento, su aceptación o rechazo, así como su nivel de agrado; criterios que se tienen en cuenta en la formulación y desarrollo de los mismos. (Manfugás, 2007)

3.12.1 Escala hedónica

Las escalas hedónicas verbales recogen una lista de términos relacionados con el agrado o no del producto por parte del consumidor, pueden ser de cinco a once puntos variando desde el máximo nivel de gusto al máximo nivel de disgusto y cuenta con un valor medio neutro, a fin de facilitar al juez la localización de un punto de indiferencia. (Manfugás, 2007)

Para realizar la prueba pueden presentarse una o varias muestras para que sean evaluadas por separadas según la naturaleza del estímulo, no obstante, se ha comprobado que el juez tiende a hacer comparaciones entre las muestras y sus respuestas están condicionado a ello, de ahí que si desea tener un criterio de aceptación totalmente independiente para cada muestra analizada, deba presentarse cada una en sesiones de evaluación diferentes. (Manfugás, 2007)

Para analizar los datos obtenidos mediante esta prueba, se realiza una conversión de la escala verbal en numérica, es decir que se le asignan valores consecutivos a cada descripción, dichos valores pueden procesarse posteriormente a través del análisis estadístico, o simplemente llegar a una conclusión de la aceptación de los productos mediante el valor obtenido al calcular la media aritmética de la respuesta de los jueces para cada muestra y hacerlo coincidir con el término que corresponde con la descripción verbal. (Manfugás, 2007)

3.12.2 Escala hedónica facial

La escala hedónica facial es de aplicación práctica cuando se emplean consumidores de bajo nivel cultural, en poblaciones rurales analfabetas o en las pruebas realizadas con poblaciones infantiles a los cuales se les dificulta la comprensión de escalas verbales. (Manfugás, 2007)

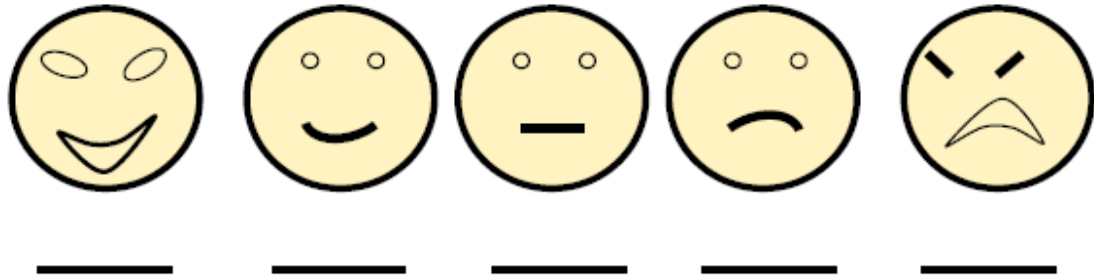
En este método sólo se presentan a los jueces caras con diferentes expresiones faciales, las cuales indican el nivel de agrado o afecto que se tiene por el producto evaluado. (Manfugás, 2007)

El número de caras que contempla la escala puede variar, pero generalmente estas oscilan entre 5 y 7, atendiendo al inconveniente ya explicado que presentan las escalas de un número de opciones mayor. Pueden evaluarse una o varias muestras al igual que en la escala hedónica verbal y el procedimiento de cálculo es similar. (Manfugás, 2007)

3.12.3 Ejemplo de ficha escala hedónica facial

Marque con una X debajo de la cara que Ud. pondría al consumir el producto.

Figura 3. Ejemplo escala hedónica facial



Fuente: (Manfugás, 2007)

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1 Ubicación de la investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Operaciones Unitarias perteneciente a la Facultad de Ingeniería Química en la Universidad Nacional de Ingeniería (RUSB). En el periodo de Abril-Julio del año 2020.

4.2 Metodología

Durante el desarrollo del proceso de experimentación este estudio empleó la metodología descriptiva-cuantitativa en la investigación, en base a la recolección de datos durante la elaboración de vinagre, para ser utilizados en el análisis estadístico que mostró resultados de concentración de ácido acético contenido en el vinagre, conociendo su nivel de aceptación con un análisis sensorial.

4.3 Materiales

Para la elaboración de los vinagres se utilizaron materias primas, insumos, reactivos, equipos y materiales de laboratorio, los cuales se utilizaron durante el proceso de la elaboración de los vinagres, a continuación, se detallan en las siguientes tablas:

Tabla 8. Materias Primas



Materia prima	Imagen	Características
Piña (<i>Ananas comosus</i>)		Fruta de forma ovalada de tamaño pequeño, hojas color verde, piel de color verde/amarilla. Pulpa amarilla clara. Sabor ácido un poco dulce. Utilizada para la elaboración de vinagre.
Remolacha (<i>Beta vulgaris</i>)		Raíz gruesa, con forma esférica, roja y carnosa. Pulpa roja oscura con círculos concéntricos de color blanco. Sabor dulce. Utilizada para la elaboración de vinagre.

Tabla 9. Insumos



Insumos	Imagen	Características
Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)		Levadura fresca y seca instantánea utilizada para dar inicio a la fermentación alcohólica en los mostos.
Azúcar		Se usó para ajustar los niveles de °Bx en los mostos de piña y remolacha.
Vinagre de plátano iniciador		De color marrón, sabor ácido y dulce intenso. Se utilizó como iniciador en el etapa de la fermentación acética en los mostos alcohólicos, ya que contiene bacterias del ácido acético al no estar pasteurizado.
Bicarbonato de sodio		Se utilizó para aumentar los niveles de pH en los mostos de piña y remolacha.
Ácido cítrico		Se utilizó para disminuir los niveles de pH en los mostos de piña y remolacha.

Tabla 10. Materiales

Materiales	Imagen	Características
Recipientes		<p>Recipientes de polietileno con capacidad de 2.5 galones. Se utilizó como reactor para almacenar los mostos de piña y remolacha que serían fermentados para la elaboración de vinos y vinagres.</p>
Mangueras		<p>Mangueras PVC sin refuerzo ¼". Se utilizaron en la fermentación alcohólica para dar salida al dióxido de carbono producido en esta etapa. Se colocaron en la parte superior de los recipientes.</p>
Algodón		<p>Se usó para filtrar sedimentos de levadura y materia prima presentes en los mostos alcohólicos.</p>
Cinta adhesiva		<p>Se empleó para sellar de manera hermética los recipientes en la fermentación alcohólica para evitar el ingreso de oxígeno.</p>
Bandeja rectangular de acero inoxidable		<p>Se destinó como apoyo para pelar y trozar las materias primas y así evitar la contaminación de estas.</p>





Cuchara grande de acero inoxidable		Se utilizó para agitar los mostos al momento de agregar los insumos y de esta manera obtener una mezcla homogénea.
Cuchillo de acero inoxidable		Se utilizó para pelar y trozar las materias primas.
Espátula		Se usó para agregar el bicarbonato de sodio y el ácido cítrico a los mostos de piña y remolacha.

Tabla 11. Equipos

Equipos	Imagen	Características
Licuadora, marca Black + Decker		Se usó para triturar la materia prima y obtener los mostos de piña y remolacha.
pH-metro, marca Ohaus ST20		Se utilizó para medir el pH de los vinos y vinagres desde el comienzo hasta el final del proceso.







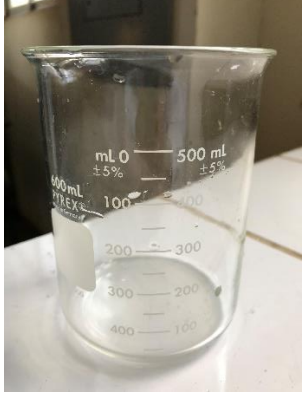
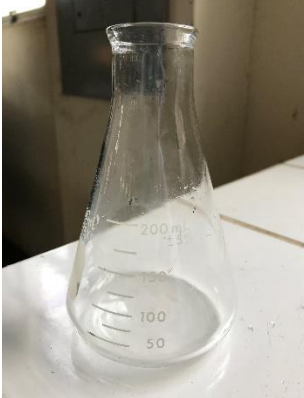
<p>Refractómetro, marca Atago</p>		<p>Se destinó para medir los °Bx en los mostos y al momento de añadir el azúcar.</p>
<p>Balanza de mesa, marca Kern DS</p>		<p>Se utilizó para pesar la materia prima, y la cáscara que se retiró en la etapa del pelado.</p>
<p>Balanza analítica marca Ohaus</p>		<p>Se usó para medir la cantidad necesaria de levadura que sería utilizada en la fermentación alcohólica.</p>

Tabla 12. Materiales de Laboratorio

<p>Materiales de laboratorio</p>	<p>Imagen</p>	<p>Características</p>
<p>Bureta</p>		<p>Se manejó en la titulación para contener el hidróxido de sodio que sería trasegado a los matraces con las diferentes muestras de vinagre.</p>

<p>Probeta</p>		<p>Se usó como referencia para saber las cantidades de líquido (en litros) utilizados en el proceso.</p>
<p>Piseta</p>		<p>Recipiente cilíndrico sellado con tapa rosca, con un pequeño tubo con abertura que permite echar el líquido que contenga en su interior. Se utilizó para almacenar el agua destilada.</p>
<p>Beacker</p>		<p>Recipiente cilíndrico de vidrio de 500 ml. Se utilizó para medir cantidades pequeñas de líquido, así como también almacenar muestras.</p>
<p>Matraz Erlenmeyer</p>		<p>Frasco de vidrio de 250 ml, útil para realizar mezclas por agitación de líquidos. Se utilizó en la titulación para almacenar las muestras de vinagre, fenolftaleína y agua destilada.</p>




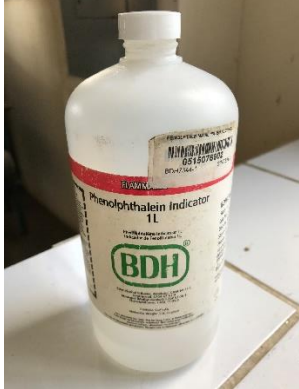

Gotero		<p>Instrumento de plástico. Útil para verter pequeñas cantidades de líquidos gota a gota. Se utilizó en la titulación para añadir las gotas de fenolftaleína necesarias en las muestras.</p>
Soporte universal		<p>Se utiliza para realizar montajes con las herramientas de laboratorio permitiendo obtener sistemas de medición. Se utilizó en la titulación para sostener la bureta que contenía el hidróxido de sodio.</p>

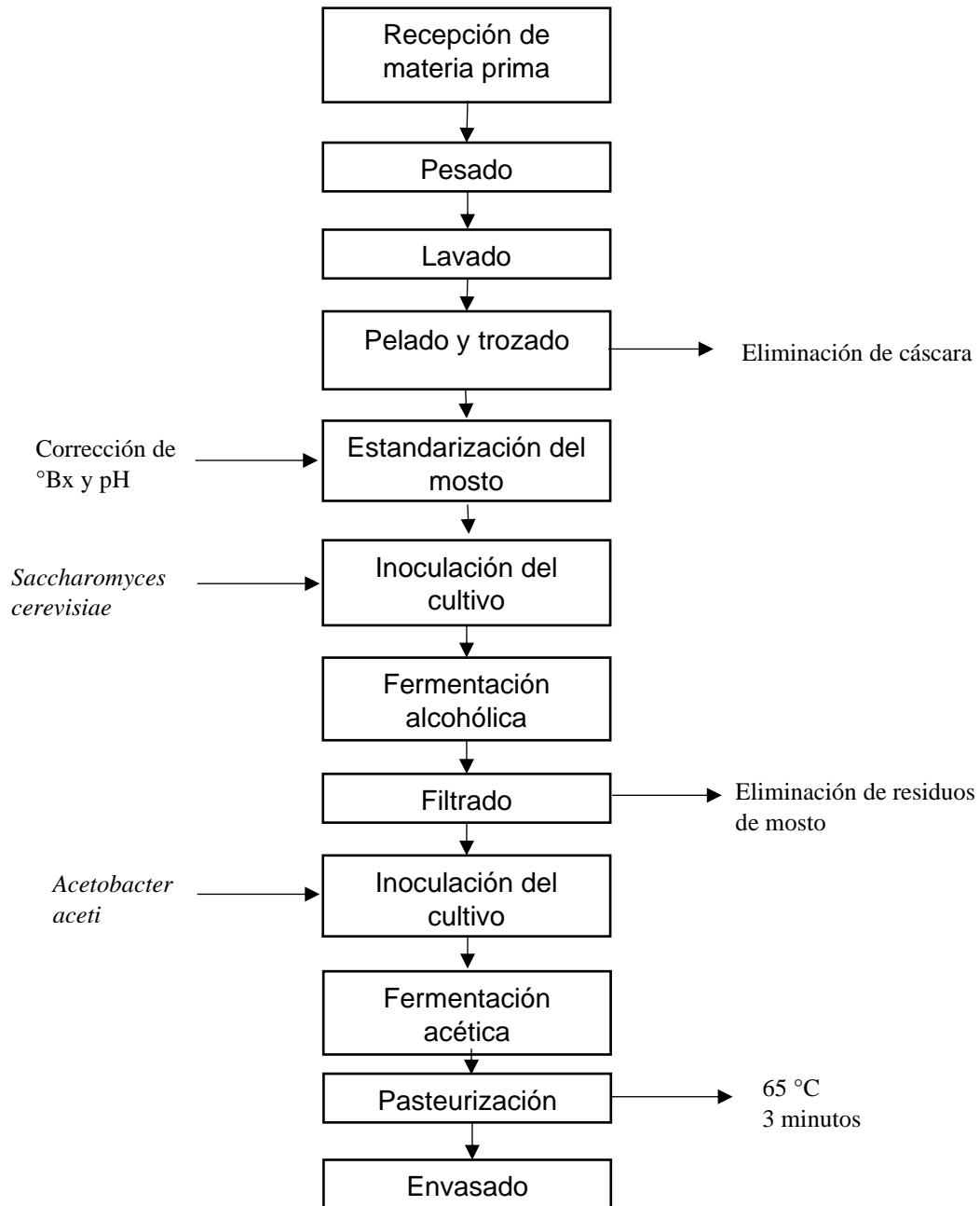
Tabla 13. Reactivos

Reactivos	Imagen	Características
Agua destilada		<p>Agua tratada que fue sometida a procedimientos de destilación. Se utilizó en la titulación para la preparación de las muestras y limpiar los materiales de laboratorio utilizados.</p>

<p>Fenolftaleína</p>		<p>Se usa como indicador de pH para determinar la acidez o basicidad de las disoluciones.</p>
<p>Hidróxido de Sodio 0,1 N</p>		<p>Hidróxido cáustico usado en la industria, principalmente como una base química.</p> <p>Es una base fuerte que se utiliza comúnmente para la valoración de muestras ácidas. Se utilizó en la titulación para someter al equilibrio a las muestras de vinagre y de esta manera saber la concentración de estas.</p>

4.4 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de vinagre

Figura 4. Diagrama de flujo para la elaboración de vinagre de frutas



Fuente: Creación de los autores de la tesis.

4.5 Proceso de la elaboración del vinagre de piña y remolacha

Para la elaboración de los vinagres se inició con la obtención de vino y se procedió de la siguiente manera:

a. Recepción de materia prima: Se recibieron remolachas y piñas pequeñas de la variedad Monte Lirio, ambas procedentes del mercado Mayoreo ubicado en la ciudad de Managua.

b. Pesado: Se pesó 49.51 kg de piña y 16.33 kg de remolacha en una balanza comercial KERN DS.

c. Lavado: Se realizó con abundante agua y detergente para eliminar los residuos de suciedad que pudieran estar presente en la piña y remolacha.

d. Pelado y trozado: Se retiró la cáscara manualmente, utilizando un cuchillo, luego se cortó la pulpa en trozos pequeños, para ser triturada en una licuadora marca BLACK+DECKER. Se agregó un poco de agua para facilitar su licuado. Se procedió a realizar el análisis fisicoquímico de la materia prima. Se verificaron los jugos de pulpa de piña y remolacha determinando los niveles iniciales de pH y °Bx.

e. Estandarización del mosto: La pulpa obtenida se colocó en recipientes de plástico para la corrección de °Bx y pH. Con la ayuda de un pHmetro marca OHAUS ST20 se verificó el valor inicial dando como resultado un pH de 4 para la piña y un pH de 6.5 para la remolacha, así mismo, con un refractómetro marca ATAGO se verificó el valor inicial de 6.5 °Bx para la piña y 3 °Bx para la remolacha.

Se procedió a corregir el mosto de piña con azúcar y bicarbonato de sodio con el fin de aumentar el pH, en cambio, el mosto de remolacha se corrigió con azúcar y ácido cítrico para disminuir el pH, adicionando poco a poco con la punta de una espátula cada uno de ellos y mezclando constantemente hasta alcanzar los niveles deseados de pH y °Bx para cada combinación.

f. Inoculación del cultivo: Una vez corregidos los mostos, se almacenaron en recipientes de plástico de 9 litros (2.5 gal) de capacidad, llenándolos con 8 litros, con la finalidad de evitar un desbordamiento del contenido durante la fermentación alcohólica. Para la activación del cultivo se pesaron 100 gramos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en una balanza analítica marca OHAUS, la cual se agregó a 2 litros de agua con 200 gramos de azúcar previamente calentada a 30°C. Posteriormente se agregó 100 ml de este cultivo a cada combinación, para dar inicio a la fermentación alcohólica.

g. Fermentación alcohólica: Para la fermentación alcohólica se acondicionaron los recipientes con una trampa de agua para evitar el ingreso de oxígeno al sistema; se perforaron los tapones de los recipientes y se colocaron pequeños trozos de manguera PVC sin refuerzo en los orificios de entrada, asegurándola con cinta adhesiva, el otro extremo de la manguera se sumergió en una botella de plástico llena con agua para facilitar la salida de dióxido de carbono producido durante la reacción de la levadura en la producción de alcohol.

Esta etapa se sostuvo durante 20 días. Durante esta fase se tomaron muestras cada cuatro días para determinar pH y °Bx, verificando así el comportamiento de la fermentación alcohólica.

h. Filtrado: Finalizada la fase de fermentación alcohólica, se procedió a eliminar los sedimentos presentes en los mostos con ayuda de un colador y algodón. Una vez filtrado se regresaron los vinos a los recipientes que fueron previa y debidamente lavados y esterilizados.

Fermentación acética, elaboración del vinagre

i. Inoculación del cultivo: Se utilizó vinagre de plátano como vinagre iniciador, este contiene bacterias del ácido acético, las cuales dan inicio a la fermentación acética. Para ello se agregaron 100 ml de vinagre de plátano a cada muestra de vino obtenido.

j. Fermentación acética: Para la fermentación acética, a los recipientes se les retiró la tapa y se reemplazó por una capa fina de algodón, con la finalidad de que ingresara aire, el cual es necesario para el desarrollo de las bacterias del ácido acético, y además evita la entrada de insectos, microorganismos y agentes extraños durante la fermentación.

Esta etapa se sostuvo durante 20 días. Durante esta fase se realizaron mediciones cada tres días de pH, °Bx y acidez total expresada como ácido acético, el cual se producía en esta parte del proceso.

k. Pasteurización: Obtenido el vinagre se realizó finalmente un tratamiento térmico en un recipiente de acero inoxidable, controlando la temperatura a 65°C con ayuda de un termómetro durante 3 minutos, con el fin de detener la fermentación e inactivar el crecimiento bacteriano en el producto final.

l. Envasado: Una vez pasteurizado y enfriado, el vinagre se envasó en botellas de 750 ml.

Nota: El proceso de elaboración de ambos vinagres se realizó de manera separada, pero fue exactamente el mismo, salvo que, durante la estandarización del mosto para la corrección de pH se utilizó bicarbonato de sodio para la piña y ácido cítrico para la remolacha, esto con el fin de aumentar y disminuir el pH respectivamente. **Ver anexo 10.1, pág. 63.**

4.6 Metodología experimental

Se estudiaron dos variables las cuales tienen influencia en el proceso de fermentación acética, estos son los °Bx a tres niveles (12°, 14° y 16° brix) y el pH, a tres niveles (4, 5 y 6). De esta manera el diseño experimental es un diseño factorial 3² que resulta en 9 tratamientos para cada elemento, con 4 mediciones. Para un total de 36 datos a evaluar. En la Tabla 14 se observan los tratamientos definidos.

Tabla 14. Combinación de las variables independientes para los distintos tratamientos

Tratamiento	pH	°brix
1	4	12°
2	5	12°
3	6	12°
4	4	14°
5	5	14°
6	6	14°
7	4	16°
8	5	16°
9	6	16°

Fuente: Creación de los autores de la tesis

Se hizo análisis de varianza con un nivel de confianza del 95%. Una predicción por intervalo de confianza para la media. Se compararon los distintos niveles para cada factor de interés, usando el método LSD (Diferencia mínima significativa). Además, se realizó un modelo de regresión múltiple para predecir el comportamiento de la variable de respuesta. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Statgraphics Centurion XVI.

4.6.1 Variable respuesta

Concentración de ácido acético: Esta variable es de efecto no lineal, es decir, que tiene un efecto de curvatura en función de las diferentes combinaciones de los factores a estudiar que intervienen en el proceso de fermentación acética.

4.7 Métodos analíticos en la elaboración de los vinagres de piña y remolacha

4.7.1. Determinación de pH: Se establece el método potenciométrico, utilizando pH-metro para determinar el pH.

4.7.2. Determinación de sólidos solubles totales o azúcares: Se establece el método refractométrico, expresando los resultados en °Bx, utilizando refractómetro para determinar los niveles de azúcar en los mostos.

4.7.3. Determinación de acidez total: Según MÉTODO AOAC 930.35 se midió la acidez total en vinagre expresada en acidez acética, para observar la producción de ácido acético por parte de las bacterias.

El método se basa en determinar el volumen de hidróxido de sodio (NaOH 0.1N) necesario para neutralizar el ácido contenido en la alícuota que se titula determinando el punto final por medio del cambio de color que se produce en presencia del indicador ácido-base empleado (Rodríguez & Sarabia, 2012)

4.7.4. Acidez titulable: Para la valoración del porcentaje de acidez en el vinagre, se realizó una titulación utilizando una solución de hidróxido de sodio (NaOH 0.1 N) y fenolftaleína como indicador de pH, que da un color rosa a la muestra cuando esta se ha neutralizado.

4.7.5. Preparación de NaOH 0.1 N

Para la preparación de una disolución de hidróxido de sodio con una concentración de 0.1 N se parte del reactivo comercial, se disolvieron 4 gramos en agua destilada y se diluyeron a 1000 ml agitando en un matraz aforado. **Ver anexo 10.2, pág. 70.**

Ecuación 14.

$$\text{gramos de soluto} = N * P_{eq} * V$$

Donde:

N= Normalidad

P_{eq} = Peso equivalente

V = Volumen

Procedimiento

En un matraz Erlenmeyer se agregó una muestra de 1 ml de vinagre, 30 ml de agua destilada y 3 gotas de fenolftaleína. Con la ayuda de un soporte se sostuvo una bureta que se llenó hasta 25 ml con la solución de NaOH 0.1 N.

Una vez montado el sistema se adicionó gota a gota el NaOH 0.1 N a la muestra hasta que el pH se neutralizó tornándose de un color rosa. **Ver anexo 10.2, pág. 70.**

Finalizada la titulación se anotó el dato de NaOH 0.1 N gastados para el cálculo del porcentaje de acidez presentes en el vinagre.

Ecuación 15.

$$\% \text{ acidez} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}} \cdot P_m}{V_{\text{Vinagre}}} \times 100\%$$

Donde:

Acidez = Concentración de ácido acético, g de ácido acético en 100 ml de vinagre

$V_{\text{NaOH } 0.1 \text{ N}}$ = Volumen de NaOH gastado en la valoración, en litros

N_{NaOH} = Normalidad del NaOH, 0.1 N

P_m = Peso molecular ácido acético, 60 g/mol

V_{Vinagre} = Volumen de muestra, 1 ml

4.7.6 Caracterización del producto final

La calidad fisicoquímica del vinagre se evaluó por medio del análisis de datos de pH, grados brix, acidez total o grado acético del vinagre.

4.7.7 Evaluación organoléptica del producto final

La calidad organoléptica se evaluó para determinar la aceptabilidad en las distintas muestras de vinagre. Se utilizó la metodología de escala hedónica facial para conocer el nivel de agrado o rechazo de los productos finales.

Con esta metodología se puede identificar con mucha facilidad la percepción de los panelistas, respecto al producto ofrecido, ya que es una tendencia implícita reaccionar con gestos de agrado, indiferencia y desagrado, en el momento de probar un alimento. (Marcía Fuentes, 2014)

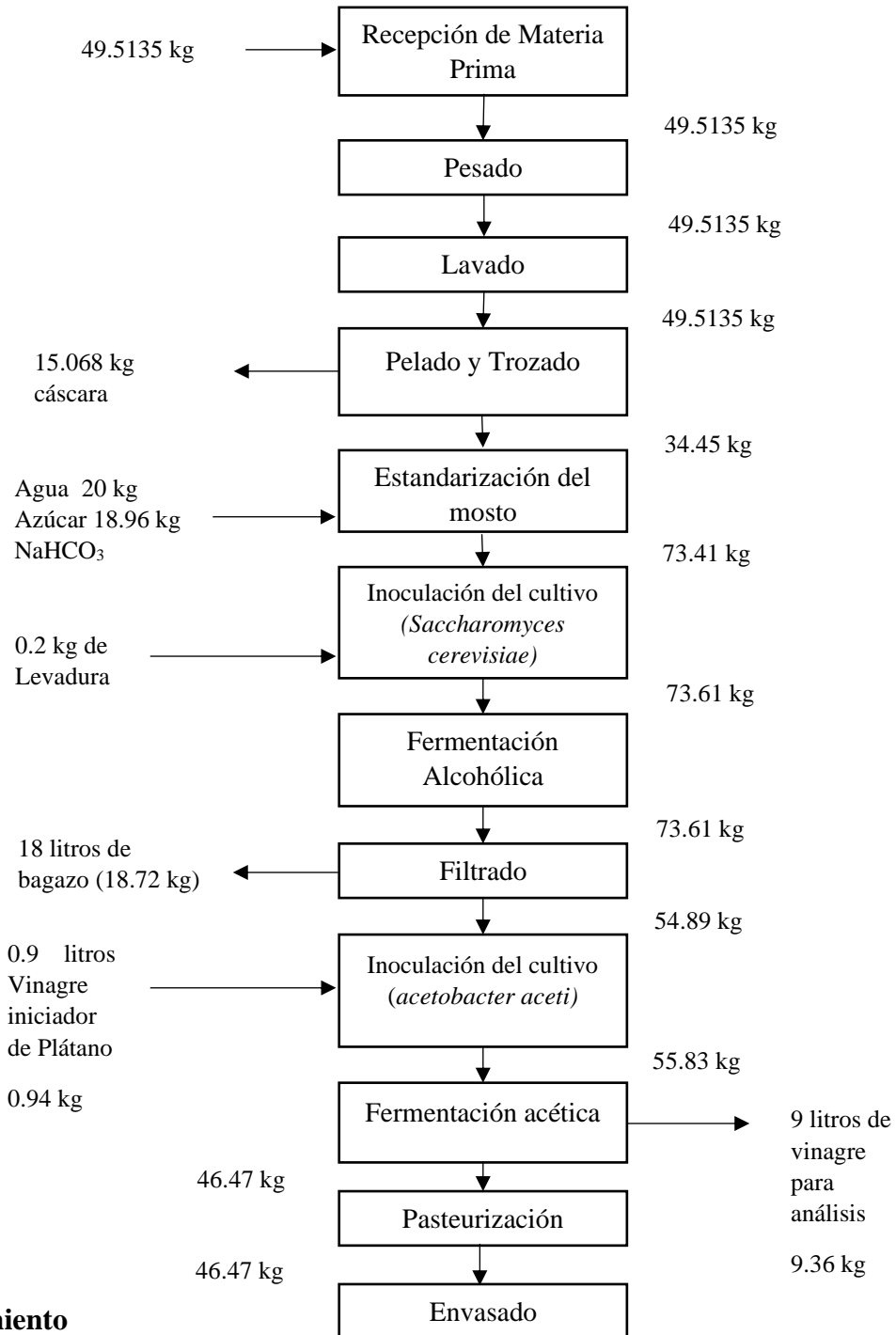
Un panel de 7 jueces fue constituido para la evaluación sensorial en las características de las distintas muestras de vinagre de piña y remolacha, utilizando una escala hedónica de cinco puntos con las siguientes calificaciones: me desagrada mucho, me desagrada poco, me agrada más o menos, me gusta poco, me gusta mucho. **Ver anexo 10.4, pág. 73.**

Para realizar la evaluación organoléptica las muestras fueron presentadas en condiciones reales de consumo, utilizando ensalada de repollo (*Brassica oleracea*) con tomate (*Solanum lycopersicum*). **Ver anexo 10.3, pág. 72.**

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Balance de materia del proceso de vinagre de piña

Figura 5. Diagrama de flujo para el vinagre de Piña



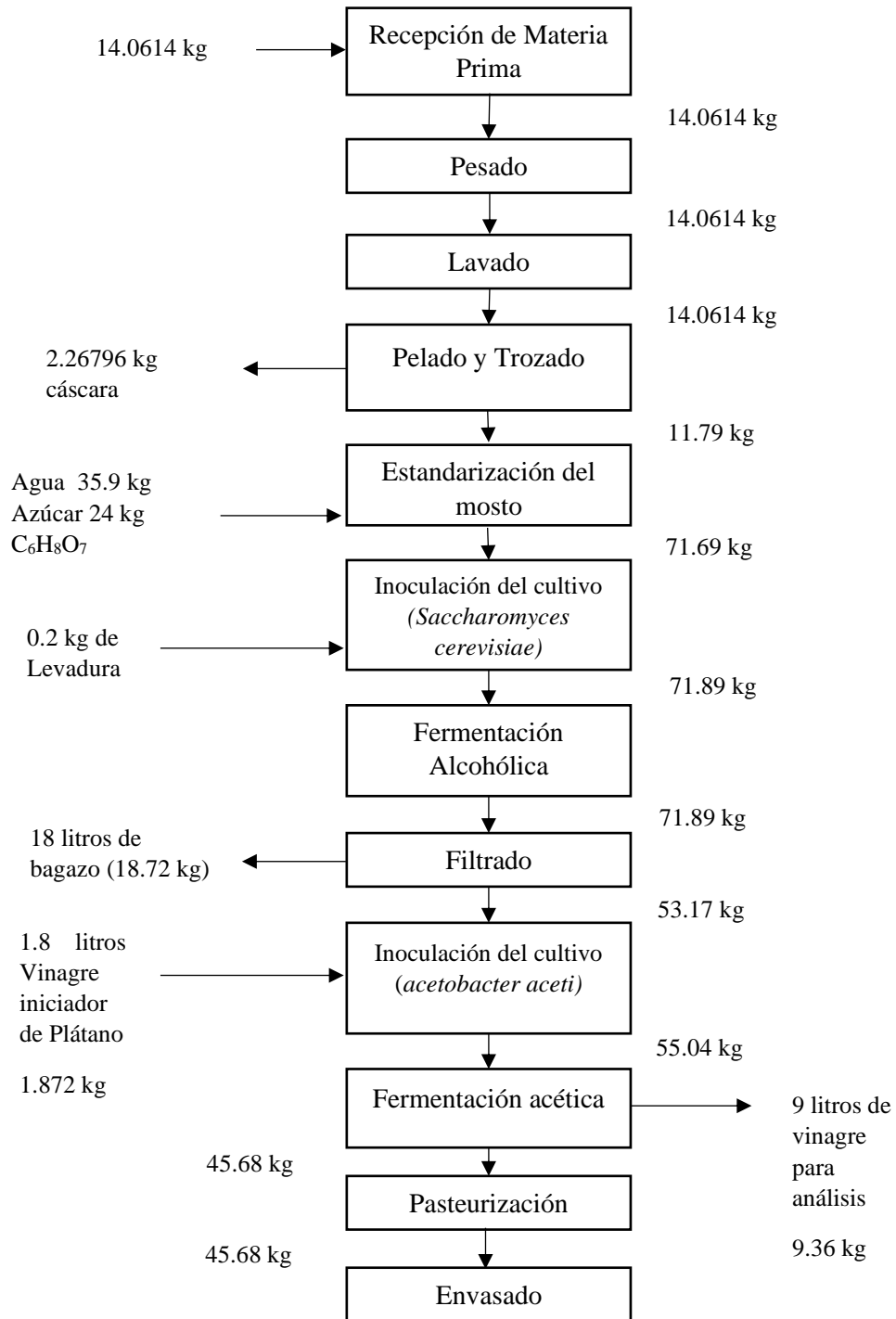
Rendimiento

$$R = (46.47 \text{ kg} / 73.61 \text{ kg}) \times 100\%$$

$$R = 63.13\%$$

5.2 Balance de materia del proceso de vinagre de Remolacha

Figura 6. Diagrama de flujo para el vinagre de Remolacha



Rendimiento

$$R = (45.68 \text{ kg} / 71.89 \text{ kg}) \times 100\%$$

$$R = 63.54\%$$

Determinación de Rendimiento

El rendimiento se midió como la relación entre los kg de mezcla final y los kg de mezcla inicial (ecuación x). Esta medida se tomó con los pesos del día inicial y final del tiempo de fermentación. El propósito de esta medida fue obtener la cantidad de alcohol que las bacterias pudieron convertir a ácido acético. Los resultados se expresaron en porcentaje de rendimiento.

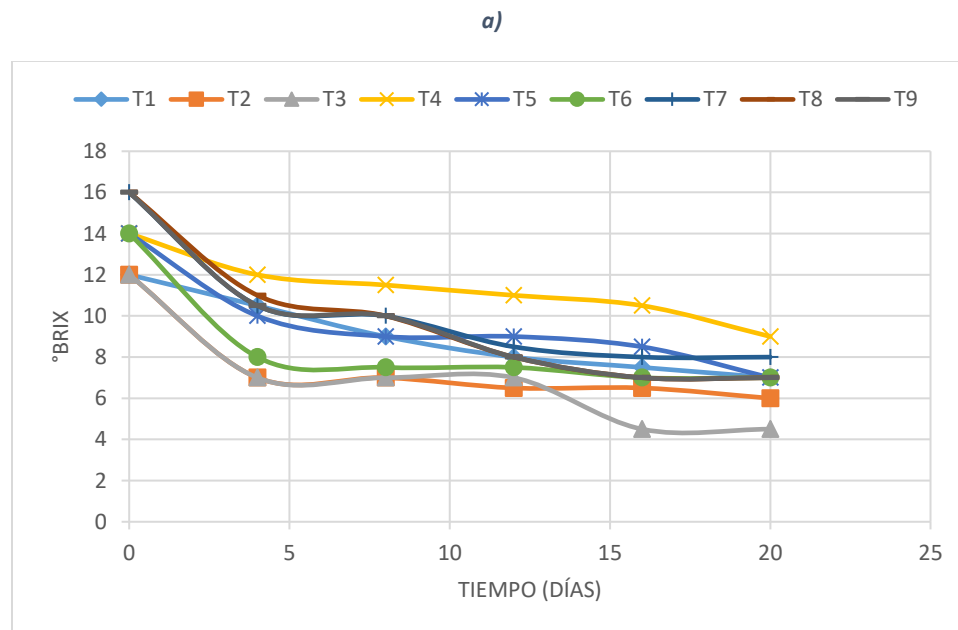
$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{kg de mezcla final}}{\text{kg de mezcla inicial}} * 100$$

En los balances de materia se pueden observar dos procesos con diferente materia prima por lo tanto entran 49.5135 kg de piña y 14.0614 kg de remolacha. En ciertas etapas se va perdiendo materia, como la cáscara en el pelado, bagazo durante la filtración y producto terminado para análisis de pH, grados brix y concentración de acidez; en la estandarización del mosto y en la inoculación de los cultivos ingresa agua, azúcar, bicarbonato de sodio para el vinagre de piña, ácido cítrico para el vinagre de remolacha, levadura y vinagre iniciador de plátano. Finalmente se obtuvieron 46.47 kg de vinagre de piña con un rendimiento del 63.13% y 45.68 kg de vinagre de remolacha con un rendimiento del 63.54%.

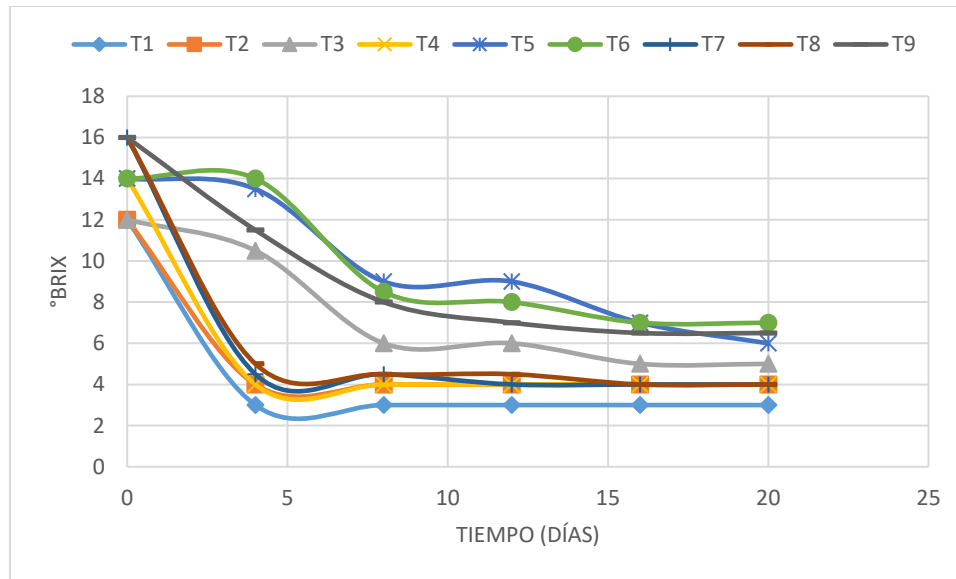
5.3 Grados Brix y pH en la Fermentación alcohólica

La evolución del proceso de fermentación alcohólica fue monitorizada cada 4 días, a lo largo de 20 días. Durante esta etapa, se midió los °Bx y pH de todos los tratamientos. Los resultados se muestran en la Figura 7 a y b y Figura 8 a y b.

Figura 7. Comportamiento de grados brix en la fermentación alcohólica: a) Grados brix vs tiempo en el vino de piña, b) Grados brix vs tiempo en el vino de remolacha



b)



En los resultados de la Figura 7 a y b, se demuestra la variación de los °Bx, se puede observar que la concentración de sólidos solubles totales o azúcares muestra la tendencia del consumo de sustrato en fermentación alcohólica.

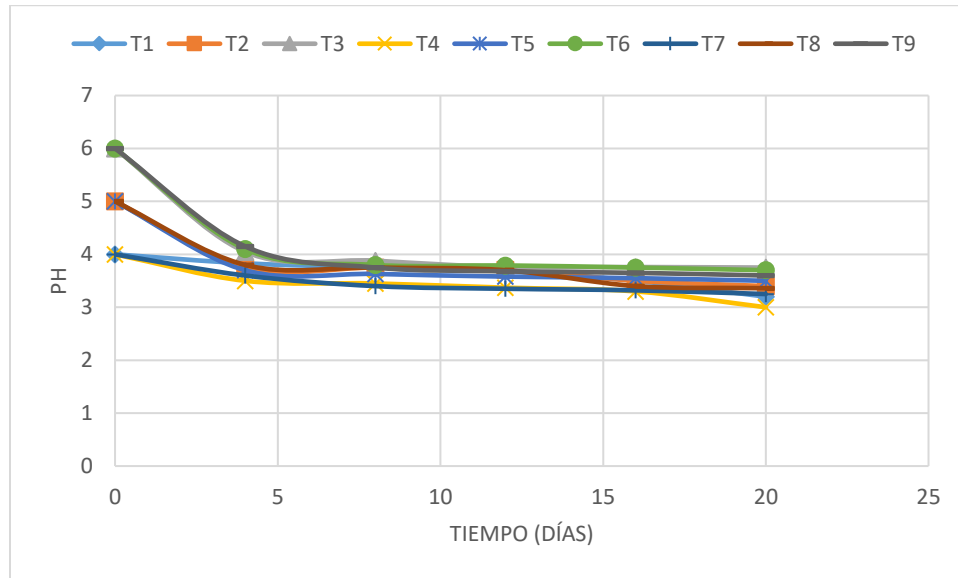
Este comportamiento de la curva permite evidenciar la reducción de los °Bx en el proceso de fermentación, siendo de vital importancia los microorganismos fermentadores que descomponen los azúcares a alcohol, y posteriormente a ácido acético, esto durante los 20 días de fermentación. **Ver anexo 10.2, pág. 70.**

Debido a su notable descenso de °Bx en la mayoría de los tratamientos, se puede percibir que existe un mayor consumo de sustrato en los mostos de remolacha a diferencia que en los de piña, esto ocurre en la primera semana del proceso de fermentación alcohólica. (Figura 7 b)

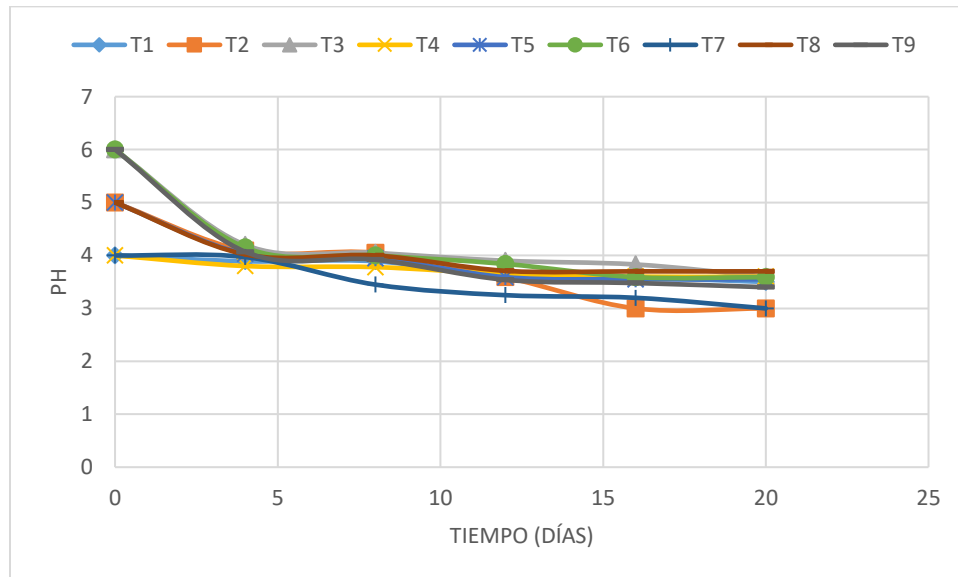
En esta primera etapa, por acción de las levaduras, se toman los hidratos de carbono como fuente de energía y se producen ácidos, disminuyendo así el pH del medio, luego el mosto se convierte en alcohol, esto se refleja en la Figura 8 a y b, en el que la variación del pH, se muestra que tanto en piña como en remolacha su comportamiento fue muy parecido. Se observa que en la primera semana hay una disminución marcada del pH hasta alcanzar valores aproximados de 4.0 para todos los tratamientos.

Figura 8. Comportamiento del pH en la fermentación alcohólica: a) pH vs tiempo en el vino de piña, b) pH vs tiempo en el vino de remolacha

a)



b)

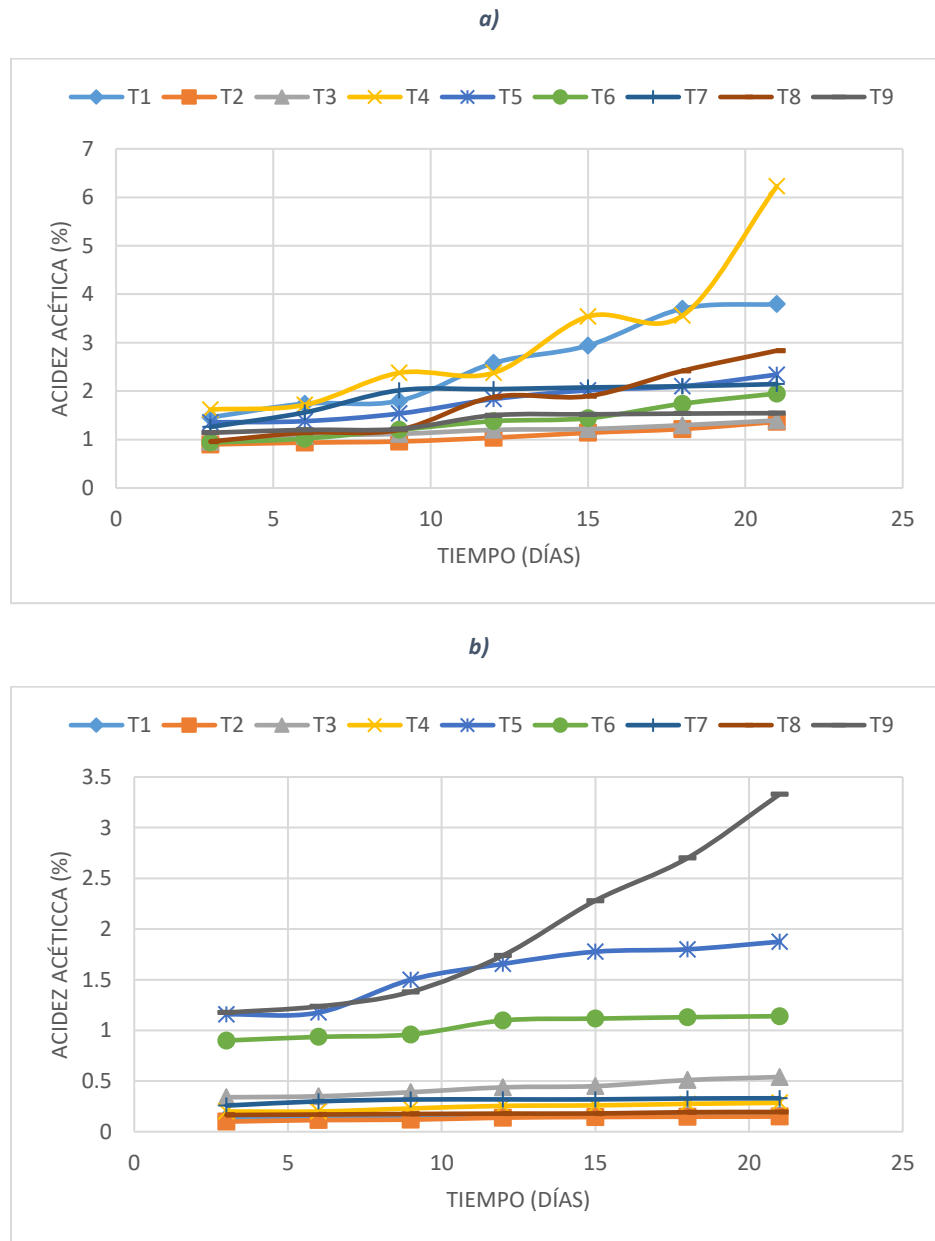


5.4 Fermentación acética

5.4.1 Producción de ácido acético

La evolución del proceso de acetificación fue monitorizada mediante la evaluación de la concentración de ácido acético cada 3 días, a lo largo de 20 días. La producción de ácido acético durante esta fase para todos los tratamientos está representada en la Figura 9 a y b.

Figura 9. Producción de ácido acético en la fermentación acética: a) Concentración de acidez vs tiempo en el vinagre de piña, b) Concentración de acidez vs tiempo en el vinagre de remolacha



La Figura 9 a y b, representa las curvas en las que se observa el comportamiento de ácido acético versus tiempo, muestra la tendencia fermentativa por parte de los microorganismos, en el que las bacterias acéticas ya adaptadas a las condiciones del nuevo medio de cultivo se reprodujeron transformando el etanol en ácido acético.

En la Figura 9 a, se observan valores del vinagre de piña, en el que los tratamientos T1, T4 y T8 mostraron concentraciones de acidez acética más alta (3.80%, 6.23% y 2.84% respectivamente), sin embargo, el resto de los tratamientos obtuvieron concentraciones un poco más bajas (1.36% - 2.34%) siendo el T2 el de menor concentración de ácido. **Ver anexo 10.5.1, pág. 75.**

A diferencia del vinagre de piña, la producción de ácido acético para el vinagre de remolacha en la gran mayoría de los tratamientos fue notablemente baja. La concentración máxima de acidez acética se logró con el T9, alcanzando un 3.33%, seguido del T5 y T6 con 1.88% y 1.14% respectivamente. El resto de los tratamientos obtuvieron concentraciones considerablemente bajas, entre 0.15% a 0.54% de ácido acético. (Figura 9 b). **Ver anexo 10.5.2, pág. 76.**

En esta etapa, el mosto alcohólico fue tomado por las bacterias acéticas que se inocularon en el mismo y que se han desarrollado gracias a las condiciones del medio que luego produce ácidos, principalmente ácido acético, por ello, el pH continúa su descenso hasta volverse estable. Por lo tanto, debido a la producción de ácido acético, se observa un descenso en el pH, esto se refleja en las Tablas 15 y 16 que muestran el comportamiento del pH en el proceso de acetificación durante 20 días para todos los tratamientos.

De acuerdo a la Tabla 15 se puede observar que hubo una leve variación de pH en el vinagre de piña. Se alcanzaron valores mínimos de 3.2 y 3.19 para T1 y T4 respectivamente, siendo estos dos tratamientos los de mayor acidez acética.

Tabla 15. Comportamiento del pH en la fermentación acética para vinagre de piña.

Tratamientos Tiempo	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	3.33	3.94	4.02	3.36	3.68	3.8	3.54	3.72	3.67
2	3.32	3.94	4.01	3.34	3.65	3.78	3.5	3.54	3.65
3	3.3	3.86	3.95	3.32	3.58	3.77	3.5	3.51	3.58
4	3.28	3.82	3.92	3.32	3.52	3.75	3.47	3.5	3.53
5	3.24	3.75	3.78	3.3	3.5	3.7	3.43	3.49	3.51
6	3.2	3.75	3.76	3.3	3.5	3.7	3.35	3.49	3.51
7	3.2	3.75	3.76	3.19	3.5	3.67	3.35	3.43	3.49

De la misma manera que se muestra en la Tabla 15, los tratamientos que alcanzaron valores mínimos de pH fueron los que obtuvieron mayor acidez acética, estos fueron los tratamientos T5, T6 y T9 con valores de pH de 3.5, 3.48 y 3.0 respectivamente. (Tabla 16).

Tabla 16. Comportamiento del pH en la fermentación acética para vinagre de remolacha.

Tratamientos Tiempo	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	5.07	4.7	3.94	4.04	3.87	4.06	4.45	4.3	3.8
2	5.02	4.7	3.93	3.92	3.7	3.72	4.2	4.12	3.63
3	4.98	4.32	3.83	3.9	3.68	3.63	4.17	4.01	3.63
4	4.86	4.27	3.8	3.85	3.66	3.6	4.15	4	3.6
5	4.37	4.18	3.7	3.78	3.58	3.55	4.14	3.96	3.5
6	4.1	4.08	3.68	3.77	3.5	3.5	4.13	3.94	3.48
7	3.97	4.06	3.66	3.6	3.5	3.48	4.1	3.7	3.0

5.5 Análisis de datos experimentales

El objetivo principal del análisis de datos en el diseño de experimentos fue evaluar los efectos que tienen cada uno de los factores, así como también la interacción entre ellos en la variable de respuesta.

En la tabla ANOVA elaborada en el programa Statgraphics Centurion XVI, se reflejan los factores que tienen un efecto significativo, al ser el valor p menor a 0.05. Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza entre los factores para el porcentaje de acidez acética.

También evalúa la significancia de las interacciones entre los factores, si se cuenta con una base de datos. Las pruebas-F en la tabla ANOVA le permitirán identificar los factores significativos. Para cada factor significativo, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuales medias son significativamente diferentes de otras.

Las siguientes tablas ANOVA descomponen la variabilidad del porcentaje de acidez en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrado, la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores.

Tabla 17. Análisis de varianza para % de acidez en vinagre de piña

<i>Fuente</i>	<i>Suma Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: pH	38.795	2	19.3975	171.91	0.0000
B: °Brix	14.0456	2	7.0228	62.24	0.0000
INTERACCIONES					
AB	24.7876	4	6.1969	54.92	0.0000
ERROR	3.0465	27	0.112833		
TOTAL (CORREGIDO)	80.6747	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Se puede apreciar en la Tabla 17 y Tabla 18 que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que, en cada tabla, 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de acidez con un 95.0% de nivel de confianza, lo que nos indica que la concentración de ácido acético es influenciada por los °Bx y pH.

Tabla 18. Análisis de varianza para % de acidez en vinagre de remolacha

<i>Fuente</i>	<i>Suma Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: pH	12.3336	2	6.1668	340.08	0.0000
B: °Brix	6.7938	2	3.3969	187.33	0.0000
INTERACCIONES					
AB	18.2514	4	4.56285	251.63	0.0000
ERROR	0.4896	27	0.0181333		
TOTAL (CORREGIDO)	37.8684	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

5.5.1 Pruebas de Múltiple Rangos para % Acidez por pH; % Acidez por °Brix.

Estas tablas aplican un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias.

El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, que a continuación se muestra su fórmula:

Ecuación 16.

$$LSD = t_{\frac{\alpha}{2}, N - k} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0. **Ver anexo 10.6, pág. 77.**

5.5.2 Gráficos de medias e interacciones

Los gráficos de medias (Figura 10 y 11) y los gráficos de interacciones (Figura 12 y 13) muestran qué factores tiene el mayor efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de acidez acética. Las tablas de medias para % de acidez y las pruebas de múltiples rangos que aportan datos a dichos gráficos se presentan en el Anexo 10.5.

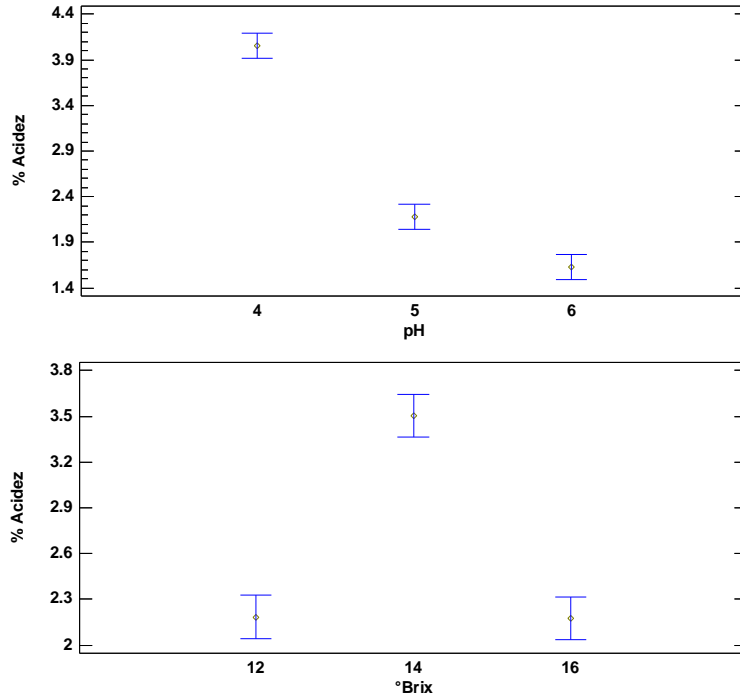
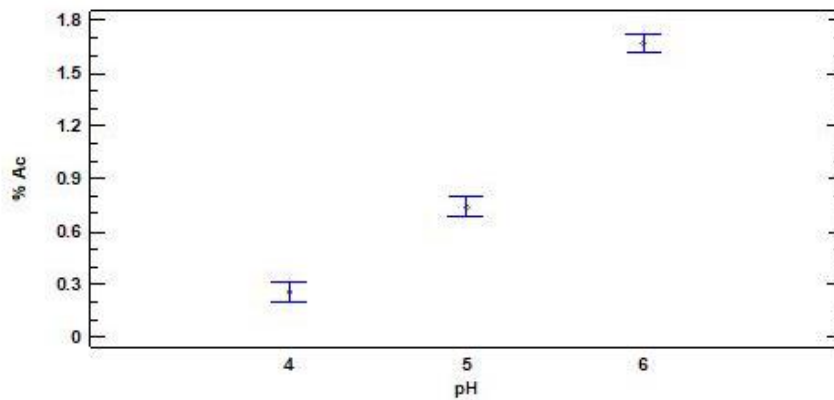


Figura 10. Gráficos de medias para pH y °Brix en el vinagre de piña

La Figura 10 muestra valores promedio de concentración de acidez acética en el vinagre de piña para cada uno de los niveles de los factores. Para valores de pH, los resultados indican que se muestran diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, para valores de 12 y 16 °Bx, no hay diferencia significativa. Además, se demuestra que utilizando pH 4 y 14 °Bx se alcanzaron porcentajes más altos de acidez acética.



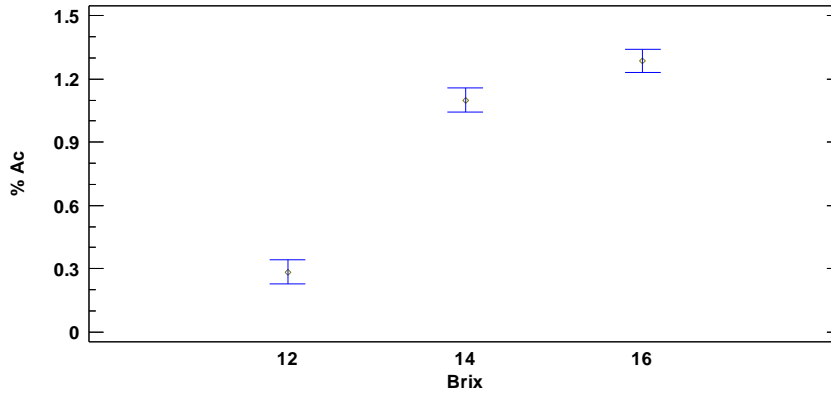


Figura 11. Gráficos de medias para pH y °Brix en el vinagre de remolacha

La Figura 11 muestra valores promedio de concentración de acidez acética en el vinagre de remolacha para cada uno de los niveles de los factores. Tanto para valores de pH como de °Bx, los resultados indican que sí existen diferencias estadísticamente significativas. Además, utilizando pH 6 y 16 °Bx se lograron valores más altos de acidez acética.

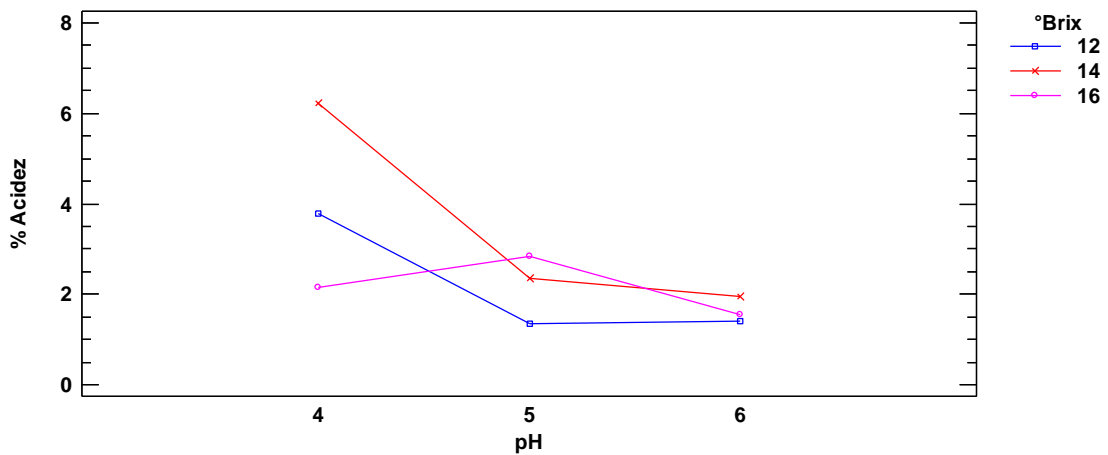


Figura 12. Gráfico de interacciones entre los factores pH y grados brix sobre el % de acidez acética en el vinagre de piña

El gráfico de la Figura 12 muestra la interacción de factores pH – °Bx y su influencia en el porcentaje de acidez. Se puede observar que la combinación de factores pH 4 - 14 °Bx alcanzó un mayor porcentaje de ácido acético, seguido de las combinaciones pH 4 - 12 °Bx y pH 5 - 16 °Bx; siendo estas 3 las mejores combinaciones para el vinagre de piña.

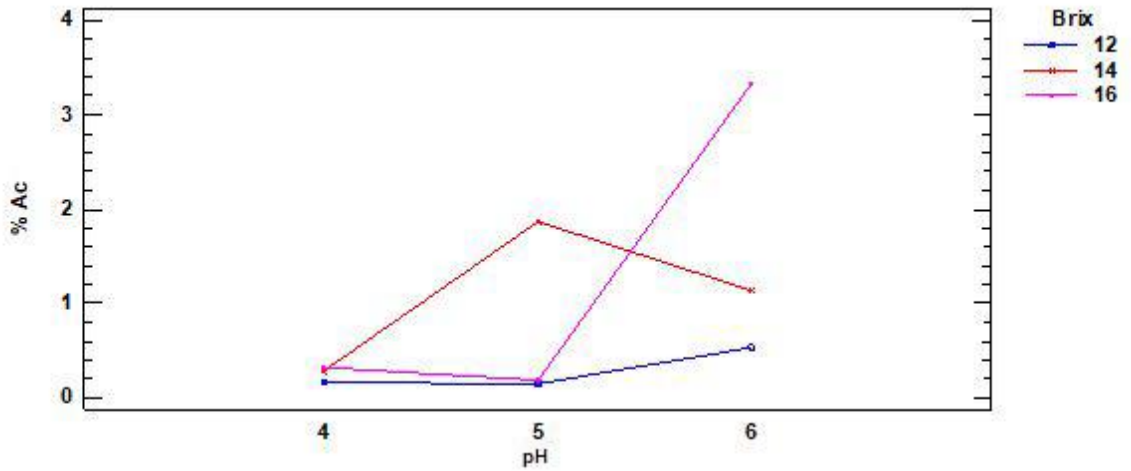


Figura 13. Gráfico de interacciones entre los factores pH y grados brix sobre el % de acidez acética en el vinagre de remolacha

En el vinagre de remolacha el porcentaje de acidez acética más alto se alcanzó con factores pH 6 - 16 °Bx, esta combinación demuestra diferencia al resto, que alcanzaron porcentajes de acidez acética muy bajas. La segunda mejor combinación fueron los factores pH 5 - 14 °Bx (Figura 13).

5.5.3 Análisis de regresión múltiple para la variable de respuesta

A continuación, se muestran los resultados del ajuste de un modelo de regresión lineal múltiple para predecir el comportamiento de concentración final de ácido acético.

La ecuación de modelo de regresión para el vinagre de piña es la siguiente:

Ecuación 17.

$$Z = -2083.82 + 765.0 x + 320.423 y - 117.863 xy + 10.8375 x^2y + 4.41563 xy^2 - 70.23 x^2 - 11.9663 y^2 - 0.406875 x^2y^2$$

R-cuadrada = 96.2237%

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 95.1048%

El estadístico R-cuadrada indica que el modelo así ajustado explica 96.2237% de la variabilidad en el porcentaje de ácido acético en el vinagre de piña. Mientras que el estadístico R-cuadrada ajustada, que es más apropiada para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 95.1048%.

Por otro lado, el modelo de regresión para el vinagre de remolacha es el siguiente:

Ecuación 18.

$$Z = 2232.27 - 941.82 x - 330.409 y + 139.521 xy - 14.2106 x^2y - 5.09906 xy^2 + 95.805 x^2 + 12.0619 y^2 + 0.520313 x^2y^2$$

R-cuadrada = 98.7071%

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 98.324%

El estadístico R-cuadrada indica que el modelo así ajustado explica 98.7071% de la variabilidad en el porcentaje de ácido acético para el vinagre de remolacha. En cambio, el estadístico R-cuadrada ajustada, que es más apropiada para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 98.324%.

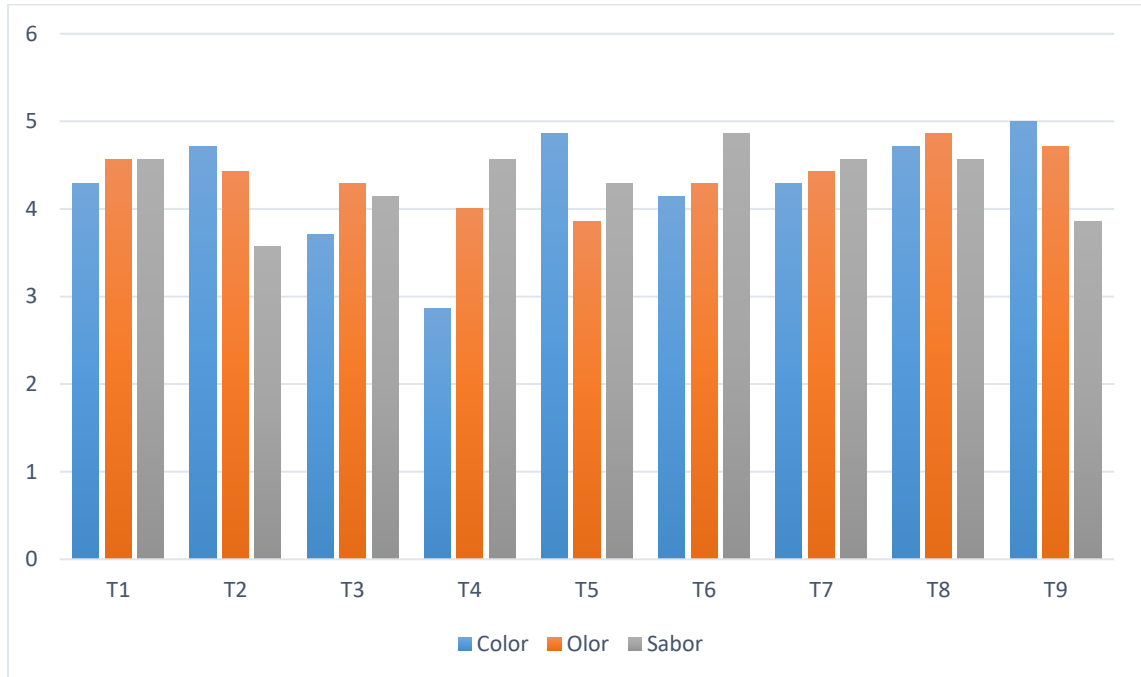
Puesto que los valores-P en las tablas ANOVA, tanto para vinagre de piña y remolacha son menores que 0.05, existe una relación estadísticamente significativa entre todas las variables con un nivel de confianza del 95.0%. Consecuentemente, no es recomendable eliminar ninguna variable del modelo, ya que todas son significativas. **Ver Anexo 10.7, pág. 78 y 79.**

5.6 Análisis sensorial del producto final

El análisis sensorial del producto terminado se realizó con la finalidad de evaluar las características organolépticas del vinagre, tomando como referencia atributos de aceptabilidad como color, olor y sabor. De esta manera se determinaron los mejores tratamientos según la degustación del panel que estuvo conformado por 7 personas.

En las Figuras 14 y 15 se observan los valores promedio de las calificaciones que entregaron los jueces que componen el panel sensorial para cada atributo en todos los tratamientos de vinagre de piña y remolacha.

Figura 14. Evaluación sensorial del vinagre de Piña



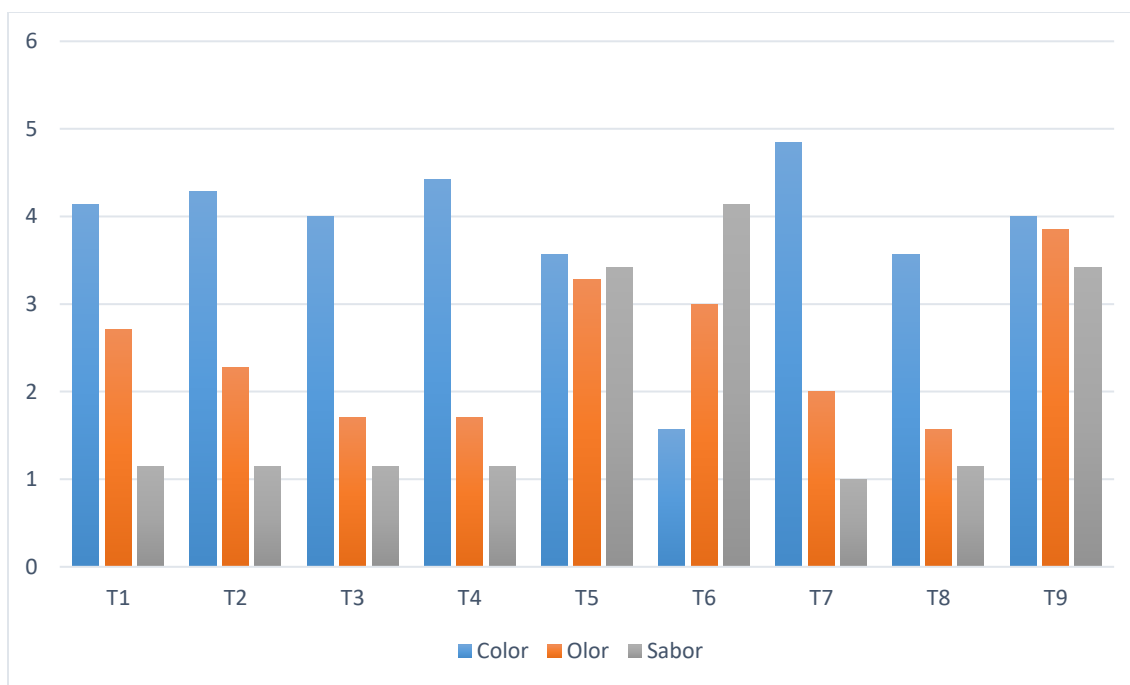
De acuerdo con las calificaciones obtenidas en la Figura 14, el vinagre de piña obtuvo una mejor aceptación global en todos sus atributos, que se observan en la figura. El atributo del color obtuvo buena aceptación en la mayoría de sus tratamientos. El tratamiento mejor evaluado fue el T9, de aspecto claro, con un 100% de aceptación de los jueces, a diferencia del T4 que tuvo menor aceptación, el cual su apariencia fue muy distinta al resto de tratamientos, presentando este mayor turbidez.

En cuanto al nivel de agrado de olor, el tratamiento mejor evaluado fue el T8, mientras que el tratamiento con mayor desagrado correspondió al T5.

Los resultados en el atributo de sabor nos indican que el tratamiento mejor calificado fue el T6, seguido de T1, T4 y T8, los cuales son los que presentaron mayor acidez acética. Los panelistas resaltaron su aroma frutal y sabor ácido intenso.

Cabe destacar que los tratamientos mejor evaluados en los atributos de color, olor y sabor fueron los que produjeron mayor concentración de acidez acética, lo que demuestra que la acidez acética influye en su aceptabilidad.

Figura 15. Evaluación sensorial del vinagre de Remolacha



La Figura 15 muestra las calificaciones promedio obtenidas para el vinagre de remolacha, en la que se puede apreciar que el atributo de color tuvo muy buena aceptación en la mayoría de los tratamientos, los cuales presentaban un color claro y de buena apariencia, siendo el T6 el de menor aceptación.

Por otro lado, los atributos de olor y sabor presentaron desagrado en todos los tratamientos, a excepción de los tratamientos T5, T6 y T9, los cuales tuvieron mayor aceptación por parte de los panelistas, que destacaron su aroma a remolacha y de sabor ácido. El T9 fue el mejor evaluado en todos sus atributos.

De igual manera que en el vinagre de piña, los tratamientos mejor evaluados en el vinagre de remolacha fueron los que lograron una mayor concentración de ácido acético, esto refleja que la acidez acética influye en su aceptación.

VI. CONCLUSIONES

En este trabajo investigativo se desarrolló el proceso tecnológico para la elaboración de ácido acético a partir de frutas y vegetales (piña y remolacha) con características fisicoquímicas y sensoriales aceptables aptas para el consumo, se consiguió un producto alternativo y natural de buena calidad que puede sustituir a los productos sintéticos, dándole así valor agregado a la materia prima de descarte disminuyendo de esta manera las pérdidas postcosecha.

Las propiedades de la materia prima sirvieron como base para la formulación de ácido acético y para determinar la cantidad de materiales e insumos requeridos en cada una de las etapas de los procesos, además, estas presentaron características organolépticas adecuadas para la elaboración de los vinagres.

Se describió en el proceso experimental que los factores pH y °Bx tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de acidez en los vinagres de piña y remolacha ($p < 0.05$), así, con el nivel bajo de la variable pH y el nivel medio de la variable °Bx en el vinagre de piña (pH 4,14°Bx) se consiguió mejores características en sus atributos, la mayor concentración de ácido acético (6.2%), así como también aceptabilidad de sabor, olor y color, en cambio, para el vinagre de remolacha esto se alcanzó con los niveles más altos de pH y °Bx (6,16) dando como resultado una concentración de 3% de ácido acético. Los panelistas resaltaron sus aromas frutales y sabor ácido intenso, por esa razón, con la evaluación sensorial se demostró que los tratamientos mejor evaluados fueron aquellos que produjeron mayor concentración de ácido acético.

Los vinagres obtenidos consiguieron alcanzar concentraciones desde 0.1% hasta 6.2% de ácido acético, estas concentraciones son adecuadas según la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense (NTON 03 089-10) donde se indica que los vinagres con concentraciones menores o iguales a 6% son adecuados para el consumo.

VII. RECOMENDACIONES

Asegurarse que los proveedores de las frutas y vegetales garanticen la correcta variedad y estado de maduración de la materia prima que será utilizada, ya que estos factores influyen en la calidad de los productos elaborados la cual a su vez se verá reflejada en las pruebas hedónicas.

Se recomienda como alternativa que la remolacha pase por un proceso de cocción con el propósito de incrementar la cantidad de azúcares que beneficie el rendimiento de etanol en la fermentación.

Es importante hacer uso de un densímetro para medir la graduación alcohólica que se obtiene durante la fermentación, de esta manera se lleva un control exacto de dicha variable y se da a conocer la influencia de esta en el crecimiento de las bacterias del ácido acético.

Durante el proceso de fermentación acética se recomienda agitar de manera periódica los envases que contienen el medio, para permitir la aireación y homogenización de las bacterias acéticas con el sustrato.

Se recomienda hacer un muestreo microbiológico para evaluar la reproducción de los microorganismos inoculados en los mostos azucarados con respecto al tiempo, en la elaboración de los vinagres, y de esta manera saber el período necesario para alcanzar mayores niveles de acidez.

VIII. NOMENCLATURA

Símbolo	Definición	Unidades
AcOH	Ácido acético	g/L
°Bx	Grados brix	-
C₂₀H₁₄O₄	Fenolftaleína	-
C₄H₆O₆	Ácido tartárico	-
C₆H₈O₇	Ácido cítrico	-
C₂H₅OH	Alcohol etílico	g/L
CH₃COOH C₂H₄O₂	Ácido acético	g/L
CM_A	Cuadrado medio del factor A	-
CM_B	Cuadrado medio del factor B	-
CM_{AB}	Cuadrado medio de la interacción de los factores A y B	-
NaOH	Hidróxido de sodio	N
pH	pH	-
SC_A	Suma de cuadrados del factor A	-
SC_B	Suma de cuadrados del factor B	-

SC_{AB}	Suma de cuadrados de la interacción de factores A y B	-
SC_E	Suma de cuadrados del error	-
SC_R	Suma de Cuadrado de regresión	-
SC_T	Suma de cuadrados total	-

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Alzamora, S. M., Guerrero, S. N., Nieto, A. B., & Vidales, S. L. (2004). *Conservación de Frutas y Hortalizas mediante tecnologías combinadas*. Obtenido de fao.org: <http://www.fao.org/3/y5771s/y5771s02.htm>
- Amado, A., & Aguilera, A. (1998). *Optimización de un generador acético tipo schutzenbach en la producción de vinagre natural a partir de un mosto alcohólico*. Managua: Universidad Nacional de Ingeniería.
- Baena Ruano, S. (Abril de 2013). *Algunos Aspectos Metodológicos en la Investigación sobre el Proceso de Elaboración de Vinagre de Vino*. Obtenido de <https://helvia.uco.es>: <https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/9764/2013000000737.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Balconi Taracena, G. M. (Noviembre de 2011). *Mejoramiento de los procesos de fermentación alcohólica y acética para la elaboración de vinagre a partir de azúcar, en industria alimenticia guatemalteca*. Obtenido de biblioteca.usac.edu.gt: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1213_Q.pdf
- Baldizón Meza, G. L. (Diciembre de 1992). *Industrialización de la Piña, en la Obtención de Vinagre Natural al 7% de Acidez*. Obtenido de riul.unanleon.edu.ni: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/4382>
- Box, G. E., Hunter, J. S., & Hunter, W. G. (2008). *Estadística para Investigadores. Diseño, innovación y descubrimiento*. Barcelona: Editorial Reverté S.A.
- Caiza Azas, I. (Agosto de 2017). *Repositorio Digital UEB*. Obtenido de Repositorio Digital UEB: <http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/1857/1/TESIS%20FINAL%20INES%20CAIZA.pdf>
- Colquichagua, D. (1998). *Vinagre de frutas*. Obtenido de Soluciones Prácticas-ITDG: <https://solucionespracticas.org.pe/vinagre-de-frutas>
- EcuRed. (2007). *Fermentación alcohólica*. Obtenido de www.ecured.cu: https://www.ecured.cu/Fermentación_alcohólica
- El vinagre de vino*. (1991). Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Fajardo, E., & Sarmiento, S. (2007). *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de saccharomyces cerevisiae*. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana.
- FAO. (2014). *Procesados de Frutas. Fichas Técnicas*. Obtenido de fao.org: <http://www.fao.org/in-action/inpho/publicaciones/detail/es/c/2473/>
- FAO. (Febrero de 2016). *Pérdidas y Desperdicios de Alimentos en América Latina y el Caribe*. Obtenido de www.fao.org: <http://www.fao.org/3/a-i5504s.pdf>

- Ferreira, M. M., Schwab, M. d., Davies, C. V., Gerard, L. M., & Solda. (25 de Noviembre de 2014). *Obtención de vinagre de naranja en proceso semicontinuo a escala laboratorio*. Obtenido de Ciencia, Docencia y Tecnología: <http://www.pcient.uner.edu.ar/cdyt/article/download/32/10/>
- Ferreira, M., Schwab, M., Davies, C., Gerard, L., & Hours, R. (04 de Diciembre de 2012). *Influencia del caudal de aire, temperatura y velocidad de agitación en el proceso discontinuo de acetificación para la obtención de vinagre de naranja (Citrus sinensis var. W. Navel)*. Obtenido de Scientia Agropecuaria: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/64/79>
- Flanzy, C. (2000). *Elaboración de vinos y piscos. Manual técnico*. Lima: AMV Ediciones.
- Gerard, L. M. (Diciembre de 2015). *Caracterización de Bacterias del Ácido Acético destinadas a la producción de vinagres de frutas*. Obtenido de riunet.upv.es: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/59401/GERARD%20-%20Caracterizaci%C3%B3n%20de%20bacterias%20del%20%C3%A1cido%20ac%C3%A9tico%20destinadas%20a%20la%20producci%C3%B3n%20de%20vinagres%20de....pdf?sequence=1>
- Gutiérrez Pulido, H., & de la Vara Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. México: McGraw-Hill Educación.
- Gutiérrez Pulido, H., & Salazar, R. d. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos*. México, D.F: McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A.
- La Prensa. (08 de Agosto de 2001). Economía. *“Nicaragua con grandes pérdidas hortícolas”*, págs. 1-2. Obtenido de <http://www.fao.org/3/y5771s/y5771s02.htm>
- Llaguno, C., & Polo, M. (1991). *El vinagre de vino*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Magallanes, J., & Salcedo, N. (2013). *Extracción, Caracterización y Secado por Aspersión de Bromelina Cruda Obtenida a Partir de Residuos de Piña “Perolera” (Anana Comosus)*. Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Manfugás, D. C. (2007). *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Ciudad de la Habana, Cuba: Editorial Universitaria (EDUNIV).
- Marcía Fuentes, J. (2014). *Formulación y determinación de los componentes nutricionales del casabe en la planta HIBISE*. Honduras.
- Milagros, T. E. (2014). *Efecto de la Levadura (Saccharomyces cerevisiae) y los grados brix en las características del vinagre de Ananas comosus L. Descarte en Río Negro - Satipo*. Obtenido de repositorio.uncp.edu.pe: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1891>
- Moreira, O. (2013). *Composition of nutritious beets or beetroot*. Madrid.

- Panameño, M. L., & Madrid, D. J. (2007). *Obtención de indicadores ácido base a partir de Beta vulgaris Remolacha, Hibiscus sabdariffa Flor de Jamaica) y Rubus fruticosus Mora*. Recuperado el 21 de 10 de 2019, de <http://ri.ues.edu.sv/4792>
- Parajón, J., & Terán, M. (25 de Junio de 2005). *Elaboración de una Propuesta Técnica de Modificación a un Reactor Tipo Shutzenbach para la Obtención de Acido Acético a Partit de un Mosto Alcohólico de Frutas Tropicales*. Obtenido de unanleon.edu.ni: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/2646>
- Periódico Hoy. (2018 de Noviembre de 2018). *Frutas en abundancia, baratas, pero con poca salida*, págs. 1-2.
- Pizarro Casner, O. A. (2005). *Obtención de Condiciones de Elaboración de Vinagre de Arándanos (Vaccinium corymbosum) Utilizando Torta de Prensa*. Obtenido de cybertesis.uach.cl: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap695o/doc/fap695o.pdf>
- Prada Gaitán, D. C. (2015). *Obtención de vinagre tipo gourmet a partir de la fermentación de uchuva (Physalis peruviana L.)*. Obtenido de bdigital.unal.edu.co: <http://bdigital.unal.edu.co/50786/1/1032440911.2015.pdf>
- Reyes, K. A. (2015). *Cuantificación de vinagre obtenido de cáscara de piña por medio de fermentación alcohólica y acética, y su incidencia en la productividad, en una empresa guatemalteca*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Riesco, J. G. (s.f.). *Diseño de Experimentos Factoriales con aplicaciones a Procesos Industriales*. Obtenido de Slide Share: http://www.jorgegalbiati.cl/enero_07/VariaCompleto.pdf
- Rodríguez Barahona, C. M., & Sarabia Trujillo, C. I. (Noviembre de 2012). *Efecto del método de fermentación acética en las características físico-químicas y sensoriales en vinagre de naranja agria (Citrus x aurantium) y piña (Ananas comosus)*. Obtenido de bdigital: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1252/1/AGI-2012-T040.pdf>
- Rodriguez, C., & Sarabia, C. (2012). *Efecto del método de fermentación acética en las características físico-químicas y sensoriales en vinagre de naranja agria (Citrus x aurantium) y piña (Ananas comosus)*. Honduras: Zamorano.
- Romo Leroux, S. (2011). *Obtención de Vinagre a partir de la biofermentación de residuos de banano y otras frutas para su industrialización*. Quito: UDLA. Obtenido de dspace.udla.edu.ec: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/2153/1/UDLA-EC-TIAG-2011-19.pdf>
- Rose, S. E. (2006). *El cultivo de piña en el municipio de Ticuantepe: Situación actual y perspectivas*. Obtenido de repositoriouca: <http://repositorio.uca.edu.ni/418/1/encuentro74articulo6.pdf>
- Rosero Muñoz, A. B., & Regalado Imbaquingo, L. A. (2016). *Establecimiento de parámetros para la obtención de vinagre de piña (Ananas comosus) en un biorreactor tipo Batch*. Obtenido de repositorio.utn.edu.ec:

[http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/5638/1/03%20EIA%20396%20TRA
BAJO%20GRADO.pdf](http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/5638/1/03%20EIA%20396%20TRA%20BAJO%20GRADO.pdf)

Serrano Bustinza, J. A. (2010). *Obtención de vinagre a partir de frutas en descarte*. Perú:
Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

Serrano, T., & Ximena, C. (23 de Agosto de 2019). *Centro de Información y Documentación
Palmero*. Obtenido de Manual agropecuario: tecnologías orgánicas de la granja integral
autosuficiente: <http://repositorio.fedepalma.org/handle/123456789/81238>

Téllez, N., & Narváez, E. (29 de Junio de 2007). *Repositorio Institucional de la Universidad
Nacional de Ingeniería*. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Nacional
de Ingeniería: <http://ribuni.uni.edu.ni/292/1/22582.pdf>

X. ANEXOS

Anexo 10.1 Procedimiento para la elaboración de los vinagres de piña y Remolacha.



Figura 15. Materia prima proveniente del Mercado Mayoreo



Figura 16. Recepción de la materia prima



Figura 17. Pesado y lavado de la materia prima



Figura 18. Pelado y trozado de la materia prima



Figura 19. Estandarización de los mostos



Figura 20. Preparación e inoculación de *Saccharomyces cerevisiae*



Figura 21. Fermentación alcohólica



Figura 22. Filtrado

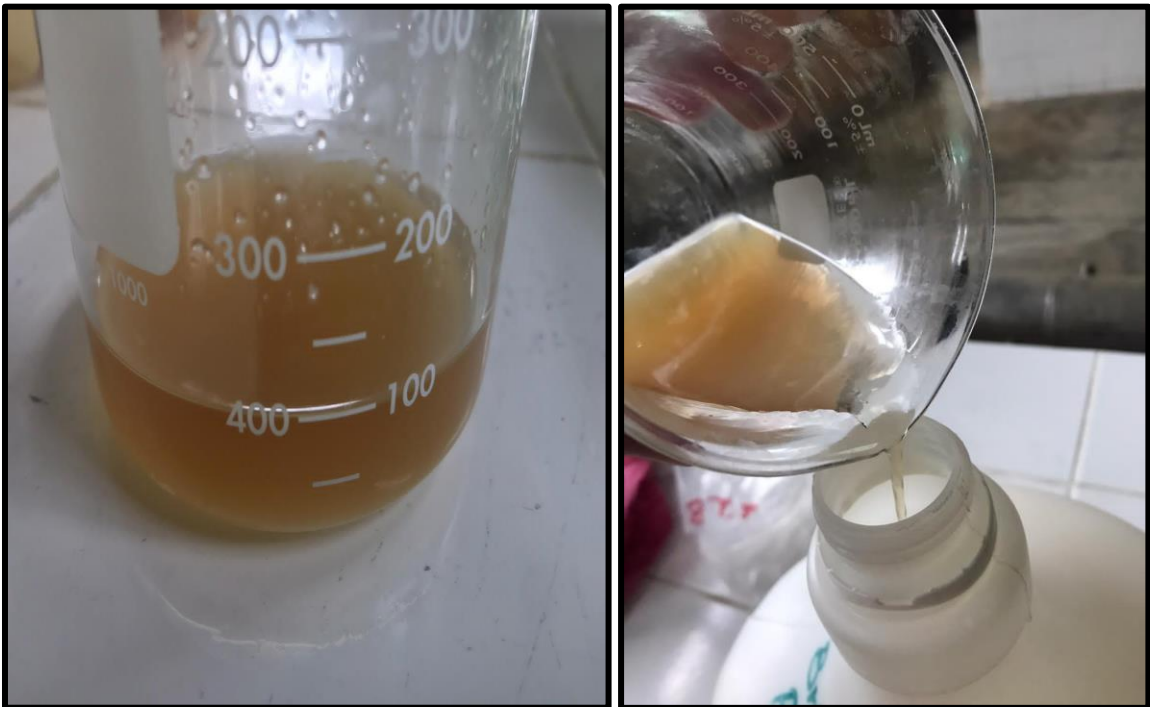


Figura 23. Inoculación de *acetobacter aceti*



Figura 24. Crecimiento bacteriano (*acetobacter aceti*)



Figura 25. Fermentación acética



Figura 26. Pasteurización



Figura 27. Envasado

Anexo 10.2 Análisis y titulación de muestras

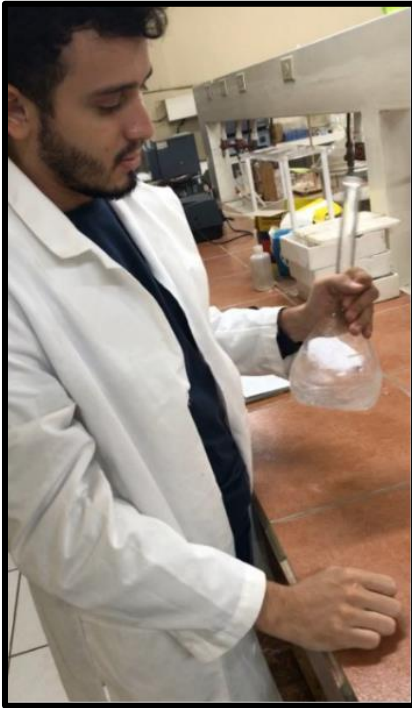


Figura 28. Preparación de NaOH 0.1 N

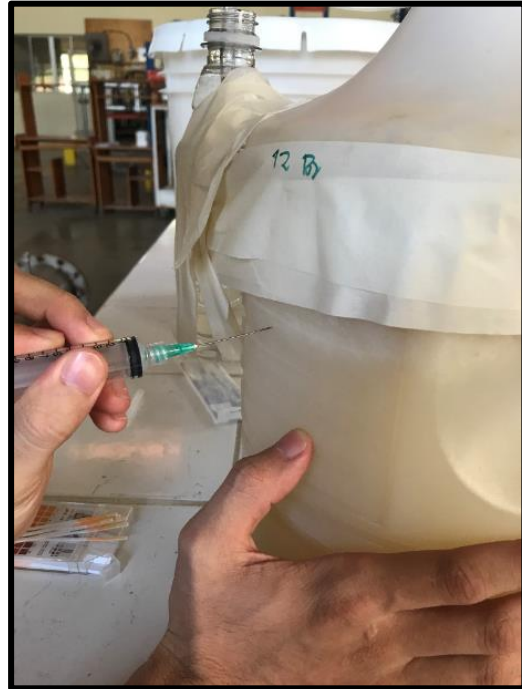


Figura 29. Toma de muestras en la fermentación alcohólica



Figura 30. Titulación



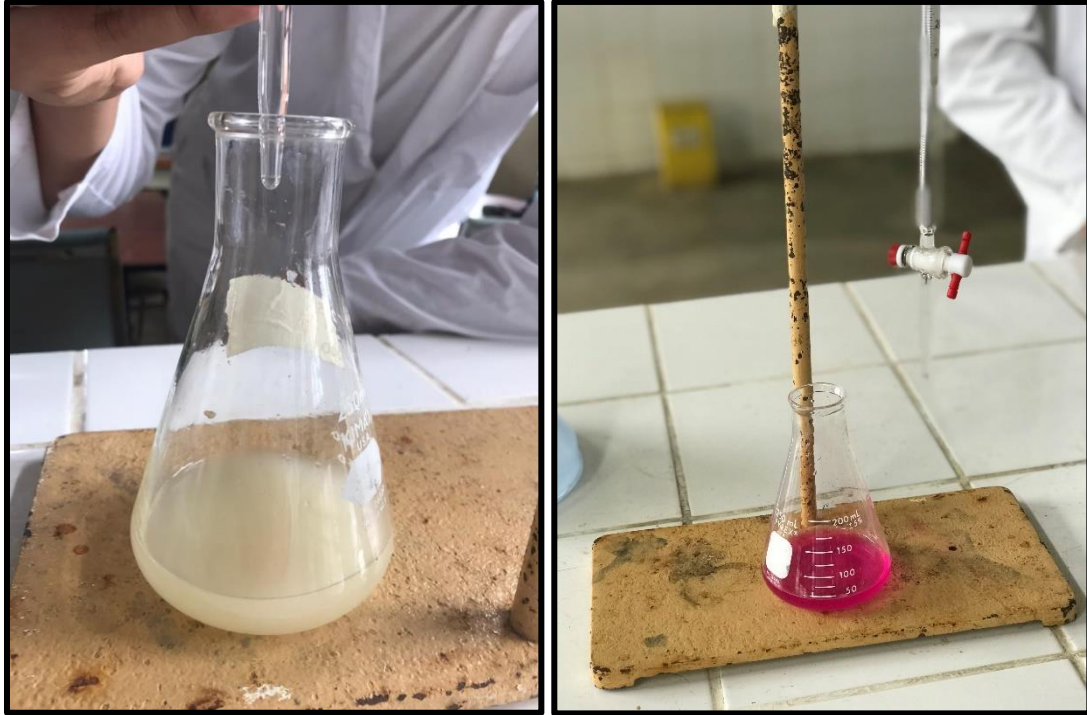




Figura 31. Muestra de vinagre de piña antes y después de titular

Anexo 10.3 Evaluación sensorial de vinagres de Piña y Remolacha



Figura 32. Evaluación de panelistas

Anexo 10.4 Instrumento para la recolección de información del análisis sensorial

HOJA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE VINAGRE											
Muestra:						Fecha:					
Marque con una X según sea su criterio de análisis sensorial para el vinagre											
	Puntaje	Característica	Análisis organoléptico								
			T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Color	5	Me gusta mucho 									
	4	Me gusta poco 									
	3	Me agrada más o menos 									
	2	Me desagrada poco 									
	1	Me desagrada mucho 									

Olor	5	Me gusta mucho 									
	4	Me gusta poco 									
	3	Me agrada más o menos 									
	2	Me desagrada poco 									
	1	Me desagrada mucho 									

Sabor	5	Me gusta mucho 										
	4	Me gusta poco 										
	3	Me agrada más o menos 										
	2	Me desagrada poco 										
	1	Me desagrada mucho 										

Anexo 10.5 Tabla de medias para porcentaje de acidez con intervalos de confianza del 95.0%

10.5.1 Tabla para Vinagre de Piña

			<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	36	2.62167			
pH					
4	12	4.055	0.0969679	3.85604	4.25396
5	12	2.18	0.0969679	1.98104	2.37896
6	12	1.63	0.0969679	1.43104	1.82896
°Brix					
12	12	2.185	0.0969679	1.98604	2.38396
14	12	3.505	0.0969679	3.30604	3.70396
16	12	2.175	0.0969679	1.97604	2.37396
pH por °Brix					
4,12	4	3.795	0.167953	3.45039	4.13961
4,14	4	6.225	0.167953	5.88039	6.56961
4,16	4	2.145	0.167953	1.80039	2.48961
5,12	4	1.365	0.167953	1.02039	1.70961
5,14	4	2.34	0.167953	1.99539	2.68461
5,16	4	2.835	0.167953	2.49039	3.17961
6,12	4	1.395	0.167953	1.05039	1.73961
6,14	4	1.95	0.167953	1.60539	2.29461
6,16	4	1.545	0.167953	1.20039	1.88961

10.5.2 Tabla para Vinagre de Remolacha

			<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	36	0.89			
PH					
4	12	0.26	0.038873	0.180239	0.339761
5	12	0.74	0.038873	0.660239	0.819761
6	12	1.67	0.038873	1.59024	1.74976
Brix					
12	12	0.285	0.038873	0.205239	0.364761
14	12	1.1	0.038873	1.02024	1.17976
16	12	1.285	0.038873	1.20524	1.36476
PH por Brix					
4,12	4	0.165	0.06733	0.0268499	0.30315
4,14	4	0.285	0.06733	0.14685	0.42315
4,16	4	0.33	0.06733	0.19185	0.46815
5,12	4	0.15	0.06733	0.0118499	0.28815
5,14	4	1.875	0.06733	1.73685	2.01315
5,16	4	0.195	0.06733	0.0568499	0.33315
6,12	4	0.54	0.06733	0.40185	0.67815
6,14	4	1.14	0.06733	1.00185	1.27815
6,16	4	3.33	0.06733	3.19185	3.46815

Anexo 10.6 Tablas de pruebas de Múltiple Rangos para porcentaje de acidez por pH; porcentaje de acidez por grados brix.

10.6.1 Tablas para Vinagre de Piña

LSD pH

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
4 - 5	*	1.875	0.281375
4 - 6	*	2.425	0.281375
5 - 6	*	0.55	0.281375

LSD °Brix

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
12 - 14	*	-1.32	0.281375
12 - 16		0.01	0.281375
14 - 16	*	1.33	0.281375

* indica una diferencia significativa.

10.6.2 Tablas para Vinagre de Remolacha

LSD °Brix

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
12 - 14	*	-0.815	0.112799
12 - 16	*	-1.0	0.112799
14 - 16	*	-0.185	0.112799

LSD pH

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
4 - 5	*	-0.48	0.112799
4 - 6	*	-1.41	0.112799
5 - 6	*	-0.93	0.112799

* indica una diferencia significativa.

Anexo 10.7 Tablas de Regresión Múltiple y análisis de varianza de los vinagres

Variable dependiente: % $ac = z$

Variables independientes: $pH = x$; $^{\circ}Bx = y$

$$x, y, x * y, x^2, y^2, x^2y, xy^2, x^2 * y^2$$

10.7.1 Regresión Vinagre de Piña

		<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Estimación</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
CONSTANTE	-2083.82	299.486	-6.95796	0.0000
$x^2 * y^2$	-0.406875	0.0629825	-6.46013	0.0000
x	765.0	122.4	6.24998	0.0000
x^2y	10.8375	1.76501	6.14019	0.0000
xy^2	4.41563	0.630874	6.99922	0.0000
x^2	-70.23	12.2197	-5.74728	0.0000
y^2	-11.9663	1.54361	-7.75214	0.0000
$x * y$	-117.863	17.6795	-6.66663	0.0000
y	320.423	43.2577	7.40729	0.0000

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	77.6282	8	9.70353	86.00	0.0000
Error	3.0465	27	0.112833		
Total (Corr.)	80.6747	35			

10.7.2 Regresión Vinagre de Remolacha

		<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Estimación</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
CONSTANTE	2232.27	120.06	18.593	0.0000
$x * y$	139.521	7.08744	19.6856	0.0000
x^2	95.805	4.89869	19.5573	0.0000
y^2	12.0619	0.618809	19.4921	0.0000
x	-941.82	49.0685	-19.194	0.0000
y	-330.409	17.3414	-19.0532	0.0000
x^2y	-14.2106	0.707566	-20.0838	0.0000
xy^2	-5.09906	0.252908	-20.1617	0.0000
$x^2 * y^2$	0.520313	0.0252488	20.6075	0.0000

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	37.3788	8	4.67235	257.67	0.0000
Error	0.4896	27	0.0181333		
Total (Corr.)	37.8684	35			