



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS

AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“ESTABLECIMIENTO DE PARÁMETROS PARA LA OBTENCIÓN DE
VINAGRE DE PIÑA *Ananas comosus* EN UN BIORREACTOR TIPO BATCH”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO/A
AGROINDUSTRIAL**

Autores:

Ana Belén Rosero Muñoz

Leandro Alberto Regalado Imbaquingo

Director:

Dra. Lucía Yépez

Ibarra- Ecuador

2016

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS

AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

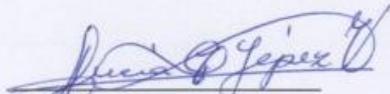
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“ESTABLECIMIENTO DE PARÁMETROS PARA LA OBTENCIÓN DE
VINAGRE DE PIÑA *Ananas comosus* EN UN BIORREACTOR TIPO BATCH”

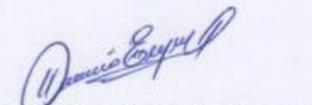
Tesis revisada por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza su presentación como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA:


Dra. Lucía Yépez

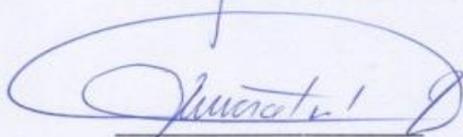
DIRECTORA


Ing. Rosario Espín Msc.

ASESOR


Ing. Jimmy Cuarán Mgl.

ASESOR

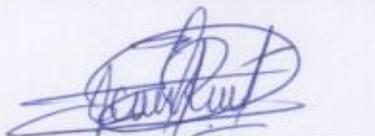

Ing. Holguer Pineda MBA.

ASESOR

DECLARACION

Manifestamos que la presente obra es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto es original y que somos los titulares de los derechos patrimoniales; por lo que asumimos la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldremos en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 3 días del mes de Junio de 2016



Ana Belén Rosero Muñoz



Leandro Alberto Regalado Imbaquingo



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO		
	INVESTIGADOR 1	INVESTIGADOR 2
CÉDULA DE IDENTIDAD	0401298039	100345926-8
NOMBRES Y APELLIDOS	ANA BELÉN ROSERO MUÑOZ	LEANDRO ALBERTO REGALADO IMBAQUINGO
DIRECCIÓN	LA FLORIDA	YACUCALLE
EMAIL	anni_ro55@hotmail.com	leandro.1990@hotmail.es
TELÉFONO FIJO	062 535019	
TELÉFONO MÓVIL	0988975110	0968513978
DATOS DE LA OBRA		
TÍTULO	ESTABLECIMIENTO DE PARÁMETROS PARA LA OBTENCIÓN DE VINAGRE DE PIÑA <i>Ananas comosus</i> EN UN BIORREACTOR TIPO BATCH	
AUTORES	ANA BELÉN ROSERO MUÑOZ	LEANDRO ALBERTO REGALADO IMBAQUINGO
FECHA	2016/Junio/03	
TÍTULO POR EL QUE OPTA	INGENIERO AGROINDUSTRIAL	
DIRECTORA	Dra. Lucía Yépez	

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Nosotros, Rosero Muñoz Ana Belén, con cédula de identidad No. 040129803-9 y Regalado Imbaquingo Leandro Alberto, con cédula de identidad No. 100345926-8, en calidad de autores y titulares de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hacemos la entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

3. CONSTANCIAS

Los autores manifiestan que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es la titular de los derechos patrimoniales, por lo que asumen la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrán en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 3 días del mes de Junio de 2016

AUTORES:



Ana Belén Rosero Muñoz

CC: 040129803-9

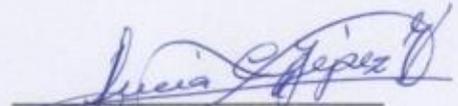


Leandro Alberto Regalado Imbaquingo

CC: 100345926-8

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Ana Belén Rosero Muñoz y Leandro Alberto Regalado Imbaquingo, bajo mi supervisión.



Dra. Lucía Yépez

DIRECTORA DE TESIS



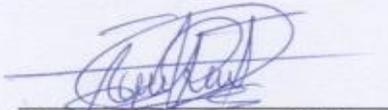
UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO

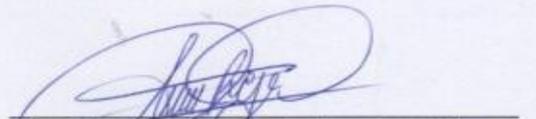
A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Yo, Rosero Muñoz Ana Belén, con cédula de identidad Nro. 040129803-9, y Regalado Imbaquingo Leandro Alberto, con cédula de identidad Nro. 100345926-8, manifestamos nuestra voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autores de la obra o trabajo de grado denominado: **“ESTABLECIMIENTO DE PARÁMETROS PARA LA OBTENCIÓN DE VINAGRE DE PIÑA *Ananas comosus* EN UN BIORREACTOR TIPO BATCH”**, que ha sido desarrollado para optar por el título de: **INGENIEROS AGROINDUSTRIALES** en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 3 días del mes de Junio de 2016



Rosero Muñoz Ana Belén



Regalado Imbaquingo Leandro Alberto

AGRADECIMIENTO

Al culminar esta etapa de vida, llena de altos y bajos, alegrías y tristezas, en donde conocimos personas quienes fueron nuestros guías, amigos y compañeros. Agradecemos con profundo cariño y satisfacción las enseñanzas y experiencias brindadas por ellos.

Agradecemos a la **Universidad Técnica del Norte**, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, por habernos permitido obtener nuestra formación profesional.

A la **Dra. Lucía Yépez**, Directora de Tesis, gracias por sus consejos y su apoyo durante todo este proceso.

A nuestros profesores **Ingenieros Jimmy Curarán, Rosario Espín, Holguer Pineda, Clara Ortega y de manera especial al Ingeniero Carlos Paredes**, quienes nos orientaron de manera desinteresada y acertada, en el desarrollo de este trabajo de grado.

Amigos y familiares, que contribuyeron de manera directa e indirecta para la realización de este proyecto, gracias por brindarnos su apoyo durante nuestra etapa estudiantil, por empujarnos hacia adelante y no permitir que retrocediéramos en el camino.

A todos ellos muchas gracias por todo su apoyo.

Los Autores

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo con todo cariño a:

Dios por darme la sabiduría y la inteligencia para culminar mi carrera, por ser guía en mi camino y fortaleza en mis decisiones.

A mis padres Leandro Regalado y Leonila Imbaquingo porque siempre me han apoyado y han estado conmigo en todo momento, por su sacrificio y esfuerzo, y más que nada por todo su amor.

Gracias queridos papitos, este logro es para ustedes, los amo mucho.

A mi esposa Anita Belén Noguera por su paciencia y apoyo durante este arduo trabajo, gracias cariño mío esto es para ti también.

Al amor de mi vida, mi hijo Danielito, quien con sus locuras y ocurrencias, me inspira a salir adelante día con día, a trabajar fuerte y tratar de triunfar en la vida, te amo muchísimo hijo mío, este triunfo lo comparto contigo.

A mi hija Anahí, que aunque no lleve mi sangre es también parte de mi vida.

A mi hermana Gabriela y a mi familia que de una u otra forma me apoyaron en esta etapa de mi vida, gracias de todo corazón.

Leandro

DEDICATORIA

A Dios por haberme llenado de salud, vida y fortaleza para cumplir un objetivo más en esta etapa de mi vida.

A mis padres Juan Rosero y Blanca Muñoz quienes son mi inspiración ya que con su esfuerzo y paciencia me apoyan para seguir adelante, forjando en mí el deseo de superación constante.

A mi hermana Andrea por estar pendiente de mí y darme aliento en todo momento.

Ana

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XI
ÍNDICE DE ANEXOS	XII
RESUMEN.....	XII
SUMMARY	2
CAPÍTULO I.....	3
INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 PROBLEMA	3
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3 OBJETIVOS.....	6
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	6
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
1.4 HIPÓTESIS	6
CAPÍTULO II.....	7
MARCO TEÓRICO	7
2.1 PIÑA.....	7
2.1.1 DATOS BOTÁNICOS	7
2.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL DE LA PIÑA	8
2.1.3 VARIEDADES.....	9
2.1.4 FORMAS DE CONSUMO DE LA PIÑA	10
2.1.5 PROPIEDADES Y BENEFICIOS	10
2.1.6 PRODUCCIÓN NACIONAL	10

2.2 EL VINO	11
2.2.1 VINOS DE FRUTAS	11
2.3 EL VINAGRE	11
2.3.1 DEFINICIÓN DE VINAGRE.....	11
2.3.2 COMO SE PRODUCE VINAGRE.....	12
2.3.3 SÍNTESIS QUÍMICAS DE VINAGRE.....	12
2.3.4 USOS DEL VINAGRE	12
2.3.5 CLASES DE VINAGRE.....	13
2.3.5.1 Vinagre blanco destilado	13
2.3.5.2 Vinagre de frutas	13
2.3.5.3 Vinagre de malta.....	14
2.3.5.4 Otros vinagres.....	14
2.4 PROCESO FERMENTATIVO	14
2.4.1 FERMENTACIÓN	14
2.4.2 ESTRUCTURA DE UN PROCESO FERMENTATIVO.....	14
2.4.3 BIOQUÍMICA DE LAS FERMENTACIONES.....	15
2.5 MÉTODOS DE FERMENTACIÓN	15
2.5.1 FERMENTACIÓN DISCONTINUA.....	15
2.5.2 FERMENTACIÓN ALIMENTADA (FEED-BATCH).....	15
2.5.3 FERMENTACIÓN CONTINUA	15
2.6 FERMENTACIONES	16
2.6.1 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.....	16
2.6.2 LAS LEVADURAS PARA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	17
2.6.2.1 Metabolismo aeróbico	17
2.6.2.2 Metabolismo anaeróbico	17
2.6.3 PARÁMETROS DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	18

2.6.3.1	Temperatura.....	18
2.6.3.2	pH.....	18
2.6.3.3	Necesidades nutritivas.....	18
2.6.3.4	Azúcares.....	19
2.6.3.5	Influencia de la acidez.....	19
2.6.3.6	Concentración de alcohol.....	19
2.6.4	FERMENTACIÓN ACÉTICA.....	19
2.6.5	BACTERIAS ACÉTICAS.....	20
2.6.5.1	Metabolismo aeróbico.....	20
2.6.5.2	Características de las bacterias acéticas.....	21
2.6.5.3	Curva de crecimiento de las bacterias.....	21
2.6.6	PARÁMETROS DE LA FERMENTACIÓN ACÉTICA.....	23
2.6.6.1	Temperatura.....	23
2.6.6.2	pH.....	23
2.6.6.3	Influencia de la aireación.....	23
2.6.6.4	Concentración de etanol.....	23
2.6.6.5	Concentración de ácido acético.....	23
2.7	AGITACIÓN.....	24
2.8	CULTIVO DE MICROORGANISMOS.....	24
2.8.1	CULTIVO DISCONTINUO (BATCH).....	24
2.8.1.1	Preparación del inóculo.....	25
2.9	FERMENTADORES.....	25
2.9.1	CARACTERÍSTICAS.....	25
2.9.2	FERMENTADORES PARA FERMENTACIONES AEROBIAS.....	26
2.9.3	FERMENTADORES PARA FERMENTACIONES ANAEROBIAS.....	26
2.9.4	ESQUEMA FERMENTADOR.....	27

CAPÍTULO III	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	28
3.1.1 UBICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO.....	28
3.2 MATERIALES.....	29
3.2.1 MATERIA PRIMA E INSUMOS.....	29
3.2.2 MATERIALES Y EQUIPOS	29
3.3 MÉTODOS.....	30
3.3.1 FACTORES EN ESTUDIO	35
3.3.2 TRATAMIENTOS	35
3.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	36
3.3.3.1 Tipo de diseño	36
3.3.4 CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO.....	36
3.3.4.1 Características de la unidad experimental	36
3.3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
3.3.6 VARIABLES A EVALUARSE	37
3.3.6.1 Mediciones a realizarse en la fermentación alcohólica	37
3.3.6.2 Mediciones a realizarse en la fermentación acética.....	37
3.3.6.3 Análisis al producto final.....	38
3.3.6.4 Análisis microbiológico.....	38
3.3.6.5 Descripción de las técnicas utilizadas en la investigación	38
3.3.6.6 Características cualitativas	42
3.4 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO	42
3.4.1 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE MOSTO ALCOHÓLICO DE PULPA	42

3.4.2 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE MOSTO ALCOHÓLICO DE CÁSCARAS Y CORAZONES	44
3.4.3 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE VINAGRE.....	45
3.4.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	46
3.4.5 TIPO DE MOSTO ALCOHÓLICO	46
3.4.6 TIPO DE LEVADURA Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	46
3.4.7 EQUIPO DE FERMENTACIÓN.....	46
3.4.8 OBTENCIÓN DE MOSTO ALCOHÓLICO.....	46
3.4.8.1 Fermentación acética, elaboración de vinagre.....	48
CAPÍTULO IV	49
RESULTADOS Y DISCUSIONES	49
4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL CULTIVO INDUSTRIAL	49
4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA DE LA MATERIA PRIMA PARA LOS TRATAMIENTOS	51
4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICA DEL MOSTO ALCOHÓLICO.....	52
4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS VARIABLES DE VINAGRE	53
4.4.1 DETERMINACIÓN DE PH FINAL DEL VINAGRE.....	53
4.4.1.1 Interacción AxC.....	56
4.4.1.2 Curva de pH vs. Tiempo.....	57
4.4.2 DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO FINAL DEL VINAGRE	59
4.4.2.1 Interacción AxC.....	62
4.4.2.2 Interacción BxC.....	63
4.4.2.3 Curva de Grado alcohólico vs. Tiempo.....	64
4.4.3 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ FINAL DEL VINAGRE.....	66
4.4.3.1 Interacción AxC.....	69

4.4.3.2 Interacción BxC	70
4.4.3.3 Curva de % Acidez vs. Tiempo	71
4.5 ANÁLISIS DE PARÁMETROS EVALUADOS EN EL VINAGRE	73
4.6 ANÁLISIS SENSORIAL DEL PRODUCTO TERMINADO.....	77
4.7 BALANCE DE MASA	79
4.7.1 BALANCE DE MASA DEL MOSTO ALCOHÓLICO DE PULPA DE PIÑA	79
4.7.2 BALANCE DE MASA DEL MOSTO ALCOHÓLICO DE CÁSCARAS Y CORAZONES	80
4.7.3 BALANCE DE MASA DEL VINAGRE.....	81
4.7.4 COSTOS DE PRODUCCIÓN	82
4.8 BALANCE ESTEQUIOMÉTRICO	83
4.9 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS	85
CAPÍTULO V	86
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	86
5.1 CONCLUSIONES.....	86
5.2 RECOMENDACIONES	87
CAPÍTULO VI.....	89
BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS.....	89
6.1 BIBLIOGRAFÍA.....	89
6.2 ANEXOS.....	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química.....	8
Tabla 2. Composición nutricional	9
Tabla 3. Producción nacional de piña en ecuador	10
Tabla 4. Datos climatológicos de la ciudad de Ibarra.....	28
Tabla 5. Parámetros para la fermentación alcohólica.....	31
Tabla 6. Parámetros para la obtención del cultivo industrial	32
Tabla 7. Tratamientos a evaluarse	36
Tabla 8. Esquema de análisis de varianza adeva	37
Tabla 9. Características del jugo de piña para el cultivo industrial.....	49
Tabla 10. Características iniciales mosto corregido para cultivo industrial	49
Tabla 11. Características mosto alcohólico obtenido para el cultivo industrial	49
Tabla 12. Crecimiento bacteriano.....	50
Tabla 13. Características cultivo industrial para fermentación acética	51
Tabla 14. Características físico químicas de cáscara y corazones.....	51
Tabla 15. Características físico-químicas de pulpa de piña.....	51
Tabla 16. Características físico químicas	52
Tabla 17. Características físico químicas	52
Tabla 18. Promedio de pH final del vinagre.....	53
Tabla 19. Análisis de la varianza de pH final del vinagre.....	54
Tabla 20. Prueba DMS para el factor A (mosto alcohólico)	54
Tabla 21. Prueba DMS para el factor C (temperatura).....	55
Tabla 22. Prueba de tukey para tratamientos.....	55
Tabla 23. Promedio del grado alcohólico final del vinagre.....	59
Tabla 24. Análisis de la varianza del grado alcohólico final del vinagre	59

Tabla 25. Prueba DMS para el factor A (mosto alcohólico)	60
Tabla 26. Prueba DMS para el factor B (agitación)	60
Tabla 27. Prueba DMS para el factor C (temperatura).....	61
Tabla 28. Prueba de tukey para tratamientos.....	62
Tabla 29. Promedio de la acidez final del vinagre	66
Tabla 30. Análisis de la varianza de la acidez final del vinagre.....	66
Tabla 31. Prueba DMS para el factor A (mosto alcohólico)	67
Tabla 32. Prueba DMS para el factor B (agitación)	67
Tabla 33. Prueba DMS para el factor C (temperatura).....	68
Tabla 34. Prueba de tukey para tratamientos.....	69
Tabla 35. Velocidad de acetificación.....	73
Tabla 36. Rendimiento (%)	74
Tabla 38. Rendimiento	76
Tabla 39. Análisis de friedman vinagre de piña	78
Tabla 40. Costos de producción de vinagre de piña.....	82
Tabla 41. Características de los mejores tratamientos.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Piña.....	7
Figura 2. Cinética de crecimiento de bacterias en las cuatro etapas de crecimiento.....	22
Figura 3. Diagrama de un fermentador agitado y aireado mecánicamente.	27
Figura 4. Recuento en la cámara de Neubauer.	50

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Cepas de <i>acetobacter aceti</i>	31
Fotografía 2. Activación bacterias acéticas <i>acetobacter aceti</i>	32
Fotografía 3. Conservación de las bacterias acéticas	33
Fotografía 4. Reactivación de microorganismos	33
Fotografía 5. Inoculación de bacterias acéticas al medio	34
Fotografía 6. Fermentación acética para el cultivo industrial	34
Fotografía 7. Vista de microorganismos al microscopio.....	34
Fotografía 8. Refractómetro o brixómetro.....	39
Fotografía 9. pHmetro	39
Fotografía 10. Refractómetro de alcohol para vinos	39
Fotografía 11. Acidez titulable	40
Fotografía 12. Acidez titulable	40
Fotografía 13. Refractómetro de alcohol para vinos	41
Fotografía 14. Densímetro.....	42

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de crecimiento de las bacterias acéticas (<i>Acetobacter aceti</i>).....	51
Gráfico 2. Interacción de los factores A (mosto alcohólico) y C (temperatura) en la variable pH final.....	56
Gráfico 3. pH en la elaboración de vinagre.....	57
Gráfico 4. pH en la elaboración de vinagre.....	58
Gráfico 6. Interacción de los factores B (agitación) y C (temperatura) en la variable Grado alcohólico final.....	63
Gráfico 7. Grado alcohólico en la elaboración de vinagre.....	64
Gráfico 8. Grado alcohólico en la elaboración de vinagre.....	65
Gráfico 9. Interacción de los factores A (mosto alcohólico) y C (temperatura) en la variable acidez final.....	69
Gráfico 10. Interacción de los factores B (agitación) y C (temperatura) en la variable acidez final.....	70
Gráfico 11. % de acidez en la elaboración de vinagre.....	71
Gráfico 12. % de acidez en la elaboración de vinagre.....	72
Gráfico 13. Velocidad de acetificación para tratamientos.....	73
Gráfico 14. Rendimiento en volumen para tratamientos.....	74
Gráfico 15. Alcohol consumido para tratamientos.....	75
Gráfico 16. Rendimiento en ácido acético para tratamientos.....	76

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	92
Ficha técnica de bacterias <i>Acetobacter aceti</i>	92
Anexo 2	94
Ficha técnica de la levadura.....	94
Anexo 3	95
Ficha técnica de refractómetro de alcohol.....	95
Anexo 4	96
Norma NTE INEN 2296:2003.....	96
Anexo 5	102
Análisis de laboratorio a los mejores tratamientos	102
Anexo 6	114
Curva de crecimiento bacteriano	114
Anexo 7	126
Determinación acidez vinagre	126
Anexo 8	128
Norma del codex-stan-162-1987	128
Anexo 9	129
Norma INEN 1836: 2009	129
Anexo 10	140
Fotografías.....	140
Anexo 11	149
Ficha de análisis sensorial	149

RESUMEN

La presente investigación se realizó en la ciudad de Ibarra (Ecuador), sector La Florida, planteándose como objetivo general: establecer los parámetros para la obtención de vinagre de piña mediante el uso de un biorreactor, en donde se evaluó la influencia de la temperatura y agitación en la fermentación acética del mosto alcohólico, para obtener un producto final (vinagre de piña) que cumpla con los requisitos establecidos en la norma INEN 2296 (2003), misma que menciona que un vinagre debe tener las siguientes características: 2,8 de pH, de 4 a 6% de acidez como ácido acético y máximo 1% de alcohol. La materia prima utilizada fue el jugo de cáscaras y corazones y el jugo de pulpa de piña para la fermentación alcohólica. Mientras que, en la fermentación acética los parámetros analizados fueron la temperatura y la agitación. Se trabajó con tres niveles de temperatura (20 °C, 25 °C y 30 °C); con agitación y sin agitación durante este proceso. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial $A \times B \times C$, para determinar la cinética de fermentación por cada tratamiento. Al evaluar la influencia de la temperatura y agitación se determinó que el desarrollo bacteriano fue mejor a 30 °C y sin agitación. Además, al realizarse los análisis físico químicos y microbiológicos para aquellos tratamientos que alcanzaron el pH y acidez propuesto en la norma INEN ya mencionada, se determinó que el mejor tratamiento fue el T12, mismo que obtuvo valores de pH: 2,8; acidez: 4,1 (como ácido acético) y °GL: 0,9. Finalmente se aplicó un análisis sensorial (color, olor, sabor, apariencia y aceptabilidad) al vinagre obtenido, con una prueba de aceptación organoléptica para los tratamientos que cumplieron con la norma INEN 2296 (2003), y el mayor puntaje obtuvo el T12 (mosto alcohólico de pulpa de piña a 30 °C y sin agitación), el mismo que fue del completo agrado de los catadores y que cumplió con todos los parámetros establecidos en la norma INEN citada anteriormente, esto según los análisis realizados al producto final. Se concluyó, que a mayor temperatura y sin agitación existe mayor crecimiento bacteriano en la fermentación acética y el tiempo de fermentación fue menor. Por último, el pH y acidez que se evaluaron al final de la fermentación alcohólica para los mostos fueron diferentes, por lo que se determinó que estas características influyen en el proceso de obtención de vinagre; por lo tanto es recomendable evaluar estas variables partiendo de rangos establecidos.

SUMMARY

This research was developed in Ibarra city (Ecuador), La Florida neighborhood, considering as general objective to establish parameters for obtaining pineapple vinegar using a bioreactor, where the influence of temperature and agitation was evaluated in the acetic fermentation of alcoholic “mosto”, to get a final product (pineapple vinegar) according to the requirements of INEN 2296 standard, it mentioned that vinegar must have the following characteristics: 2,8 pH; 4 to 6% acidity as acetic acid and 1% or alcohol. The raw material used was the shells and hearts juice and pineapple pulp juice for alcoholic fermentation. While in the acetic fermentation the studied parameters were temperature and agitation. We worked with three levels of temperature (20 ° C, 25 ° C and 30 ° C); with and without stirring during this process, a completely randomized experimental design was used with factorial arrangement AxBxC to determine the fermentation kinetics for each treatment. Assessing the influence of temperature and agitation it was determined that bacterial growth was better at 30 ° C without agitation. In addition, to the chemical and microbiological physical analysis for those treatments that reached the pH and acidity proposed in the INEN standard already mentioned performed, it was determined that the best treatment was the T12, it obtained pH values: 2,8; acidity: 4,1 (as acetic acid) and ° GL: 0,9. Finally a sensory analysis (color, smell, taste, appearance and acceptability) was made to the vinegar obtained with a test of sensory acceptance for treatments that met the INEN 2296 standard, and the highest score was obtained by the treatment twelve (alcoholic wort pineapple pulp at 30 ° C without stirring), it had complete satisfaction for tasters and met all the parameters established on the above INEN standard, this according to the analyzes performed on the final product. It was concluded that a higher temperature without agitation bacterial growth in the acetic fermentation had been increased and the fermentation time was shorter. Finally, the pH and acidity were evaluated at the end of alcoholic fermentation “mostos” which, were different, so it was determined that these characteristics influence the process to obtain vinegar; therefore it is advisable to assess these variables based on established ranges.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

La Agroindustria en el Ecuador se ha desarrollado utilizando materias primas provenientes de los sectores: agrícola y pecuario, para la elaboración de productos que se derivan de las mismas; es común ver en las grandes industrias productoras de derivados de frutas y hortalizas la generación de importantes cantidades de desperdicios, en la industria de procesamiento de la piña se tiene las cáscaras y corazones, estos residuos podrían ser utilizados para la elaboración de productos como: pulpa, mermelada, conservas, vinagres, entre otros, que se elaboran a partir de esta fruta.

Según informes de la Cámara de Comercio, el Ecuador es un país importador de vinagre y sus sucedáneos, la adquisición se realiza principalmente de los Estados Unidos, (291,9 toneladas en el año 2015), siendo éste un producto obtenido mediante procesos químicos más no por fermentación natural.

La producción de vinagre, se encuentra afectada por el uso indiscriminado del ácido acético sintético, debido a que por su bajo precio abarata el costo en el proceso de elaboración de vinagre; además, el ácido acético sintético puede ocasionar efectos sobre la salud cuando la exposición es prolongada, como por ejemplo: irritación de nariz, garganta, pulmones, tos y falta de aire.

El desconocimiento de la población sobre los efectos negativos del consumo de vinagre artificial conlleva a la adquisición del mismo y no del obtenido por procesos biotecnológicos como la fermentación siendo de mejor calidad y más saludable.

1.2 JUSTIFICACIÓN

El Ecuador es un país agro productivo con un potencial frutícola importante, rico en flora y fauna, una de las frutas conocidas a nivel mundial es la piña, que es considerada como uno de los productos que más se exporta en estado fresco con un 4,26% según datos del Centro de Comercio Internacional (Trademap) publicados en el año 2012.

La agro industrialización es un factor importante en las actividades que se realizan en el sector agropecuario, brindándole mayor fortaleza económica a través de procesos tecnológicos, investigativos y de innovación, que mejorarían si se impulsan procesos de transformación de productos, generando valor agregado, muy importante para obtener mayor beneficio.

Por la calidad de la fruta se puede observar que la piña tropical ha logrado posicionarse gradualmente en el mercado local, generando un negocio rentable de exportaciones que promueve el ingreso de nuevas inversiones y la generación de fuentes de trabajo. Sin embargo, es necesario buscar nuevos productos provenientes de la piña para la exportación, mediante el procesamiento de la misma y así darle un valor agregado que beneficie la productividad en el territorio nacional.

Según datos oficiales de la Asociación de Productores de Piña del Ecuador (Asopiña) menciona que, la producción de esta fruta en territorio nacional ha evolucionado favorablemente en la última década gracias a las excelentes condiciones para el cultivo. En el período de 2005 a 2012 se registró un incremento del 6,40% en la superficie cosechada, equivalente a 2113Ha., mientras que la producción de la fruta fresca medida en toneladas métricas, ha tenido un crecimiento del 4,09% equivalente a 22943Tm.

A través de esta investigación se pretende fortalecer el sector agroindustrial, brindándole un valor extra a la piña y sus derivados, mediante el uso de todo su contexto, es decir, pulpa y cáscaras y corazones en el proceso de elaboración de vinagre; además, se busca aprovechar los residuos generados por la industria para no permitir el desperdicio de los mismos y elaborar nuevos productos a partir de ello.

Gracias a la creación de nuevos productos se procura fortificar el sector agroindustrial, ya que representa el punto de equilibrio entre productores y consumidores, siendo un sector importante en la economía de un país que genera empleo, fomenta nuevas líneas de producción aportando de esta manera al desarrollo económico, laboral y productivo en la

Agroindustria, contribuyendo a su progreso, la cual se ha visto comprimida por múltiples factores como son: la tecnología de proceso y equipamiento de la misma, por lo cual; el apoyo institucional de la Universidad Técnica del Norte, es determinante para entregar técnicas viables sin costo para la comunidad, mediante investigaciones de tesis de grado.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer los parámetros para la obtención de vinagre de piña *Ananas comosus* en un biorreactor tipo batch.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la materia prima (° Brix y pH).
- Determinar las características físico-químicas del mosto alcohólico. (Brix finales, cantidad de alcohol obtenido, acidez titulable y pH).
- Evaluar la influencia de la agitación y temperatura en la obtención de vinagre.
- Evaluar el producto final mediante el análisis físico-químico, microbiológico y organoléptico.

1.4 HIPÓTESIS

1.4.1 HIPÓTESIS ALTERNATIVA: La temperatura y agitación, influyen significativamente en la elaboración de vinagre de piña.

1.4.2 HIPÓTESIS NULA: La temperatura y agitación, no influyen significativamente en la elaboración de vinagre de piña.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 PIÑA

2.1.1 DATOS BOTÁNICOS



Figura 1. Piña
(Chavarría, 2010)

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 (NTE INEN 1836, 2009).

Procede de las zonas tropicales y subtropicales de Brasil y Paraguay, y ha sido repartido a todas las regiones del mundo climáticamente aptas para su cultivo. Se desarrolla a una temperatura media anual de 25°C a 32°C, en un régimen de precipitaciones regular entre 1000 mm a 1500 mm y una elevada humedad ambiental (Chavarría, 2010).

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, son más abundantes (Chavarría, 2010).

2.1.2 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 ápice, su composición química tampoco es uniforme y depende de múltiples factores, como la variedad, estado de madurez, factores climáticos, etc (Montaña, 2006).

Tabla 1. Composición química

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

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: (PRO ECUADOR, 2013)

2.1.3 VARIEDADES

En el Ecuador todas las piñas que se cultivan con fines comerciales e industriales pertenecen a la variedad *Ananas comosus* con unos seis tipos distintos en virtud de la amplia gama de características que existen dentro de la misma variedad. Los tipos más importantes que se cultivan en nuestro país son:

- Tipo hawaiana o cayena: posiblemente originaria de Guyana se presenta en dos clases denominadas cayena lisa y cayena lisa champaca, es muy conveniente para la industrialización, pues tiene forma cilíndrica, ojos superficiales, pulpa amarilla, corazón delgado.
- Tipo Cambray o nacional (originaria de Brasil): en su clase perolera. Es la que más se consume en el mercado como fruta fresca. Debido a sus características de forma cónica, ojos profundos, pulpa blanca, y corazón grueso no es conveniente para industrializarla.
- En los últimos años se ha iniciado el cultivo comercial de un nuevo cultivar desarrollado por Del Monte con la denominación MD2 de la misma variedad *comosus* (Pólit, 2001).

2.1.4 FORMAS DE CONSUMO DE LA PIÑA

La piña por su sabor dulce y nutritivo tiene varias formas de consumo, ya sea como fruta fresca o bien destinada a la agroindustria para la preparación de los siguientes productos: jugos, conservas en almíbar, mermelada, pulpa o puré.

2.1.5 PROPIEDADES Y BENEFICIOS

El principal componente activo del corazón de la piña es la bromelina. Esta enzima se encuentra en la corteza y la pulpa, es capaz de digerir aproximadamente 1000 veces su peso en proteínas, por lo que su utilización ha revolucionado la dietética a nivel mundial, sobre todo en relación a los regímenes de adelgazamiento y tratamientos anticelulíticos (OIRSA, 2005).

“Se utiliza en el tratamiento de procesos inflamatorios, edemas y como suplemento, en situaciones en que haya una retención de líquidos” (OIRSA, 2005).

“Previene la agregación plaquetaria, actuando como preventivo en los infartos de miocardio y las anginas de pecho. También se usa como prevención de trombosis y tromboflebitis” (OIRSA, 2005).

2.1.6 PRODUCCIÓN NACIONAL

“La producción de piña en el Ecuador ha evolucionado favorablemente en la última década gracias a las excelentes condiciones para el cultivo de esta fruta, en el período de 2005 a 2012 se registró un incremento del 6,40% en la superficie cosechada, mientras que la producción de la fruta fresca medida en toneladas métricas ha tenido un crecimiento del 4,09%” (PRO ECUADOR, 2013).

Tabla 3. Producción nacional de piña en Ecuador

Año	Superficie cosechada	Producción en fruta fresca
	(Ha.)	(Tm.)
2005	5809	103511
2006	7016	118663
2007	6648	115931
2008	7132	119442
2009	7675	124423
2012	7922	126454

Fuente: (PRO ECUADOR, 2013)

2.2 EL VINO

Según la Enciclopedia Salvat (1984) define al vino como producto de la fermentación del zumo de uva; este término se aplica a todos los jugos vegetales fermentados. Los zumos contienen de un 15 a un 20% de glucosa y fructosa y que por acción de las levaduras silvestres en las que predominan *Saccharomyces ellipsoideus*, son transformadas en alcohol etílico y CO₂ con un grado alcohólico que alcanza concentraciones en volumen del 7 al 15% e incluso superiores.

En forma general, para la elaboración de vino de frutas se debe considerar que la fruta contenga características de sabor, aroma, color, que sean agradables al consumidor. Así como la acidez y el contenido de azúcar entran también en juego en el aspecto organoléptico pero ahora como elementos delineantes del sabor (Grainger y Tattersall, 2005).

Se ha investigado la capacidad antioxidante de vinos de frutas tropicales, particularmente con la guayaba, piña, naranja, papaya y guanábana. En general, los vinos de frutas tropicales exhiben una actividad antioxidante similar a los vinos blancos de uva (Coronel, 2007).

La rentabilidad de una fruta para elaborar vino será el producto de una combinación de diversos factores como por ejemplo, el rendimiento en jugo o pulpa, como la piña, mora y naranja; sus características de acidez y dulzor, la riqueza de elementos aromáticos, los costos de la fruta y su procesamiento, su disponibilidad geográfica, etc. (Hoyos y Vélez, 2000).

2.2.1 VINOS DE FRUTAS

El vino se puede elaborar con diversas clases de frutas como las siguientes: cerezas, ciruelas, duraznos, peras, manzanas, etc. Lo importante es que la fruta esté en su punto máximo de madurez para obtener una fermentación deseada (Vásquez, 2005).

2.3 EL VINAGRE

El vinagre ha formado parte de la alimentación humana desde la antigüedad más remota como condimento y conservador de alimentos, así como base de remedios sencillos para hombres y animales.

2.3.1 DEFINICIÓN DE VINAGRE

El vino fue el primer líquido espontáneamente agriado, y de ahí proviene el término vinagre: *Vin aigre*, vino agrio en francés (Bamfort, 2005).

Según la FAO/OMS, “el vinagre es un líquido ácido apto para el consumo humano, que es producido exclusivamente a partir de materias primas de origen agrícola que contengan almidones y/o azúcares, por un doble proceso de fermentación, alcohólica y acética” (Durán, 2008).

Pueden contener cantidades determinadas de ácido acético, y otros ingredientes opcionales (hierbas, especias, sal), al objeto de obtener un aroma peculiar característico de cada tipo de vinagre.

Actualmente el vinagre es principalmente utilizado para dar el sabor deseado a los alimentos y para conservarlos. Suele tener un 5-6 % de ácido acético (pH 2,5 -3,5) y presenta un aroma suave frutal, característico de la materia prima de partida. Se utiliza en la cocina doméstica como aliño, en la fabricación de salsas (kétchup, mayonesa, dressings) y encurtidos (Llaguno y Polo, 1991).

Generalmente se produce naturalmente por oxidación de una materia prima alcohólica.

El alcohol puede ser en forma de vino, sidra, cerveza u otro alcohol derivado de la fermentación de grano, fruta, miel, patatas, melaza o suero de leche (Bamfort, 2005).

2.3.2 COMO SE PRODUCE VINAGRE

Según Chiang Tang (2003), citado por Rodríguez y Sarabia (2012). El organismo clave es *Acetobacter*, con las cepas *Acetobacter aceti*. 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 ácido acético.

2.3.3 SÍNTESIS QUÍMICAS DE VINAGRE

“El ácido puede ser producido por la oxidación catalítica de acetaldehído, que a su vez se produce por hidratación catalítica de acetileno o por deshidrogenación catalítica de etanol. En algunos casos se adiciona azúcar, sal y color” (Bamfort, 2005).

2.3.4 USOS DEL VINAGRE

Son muchas las aplicaciones del vinagre que se pueden nombrar, a veces se piensa que el vinagre sólo es utilizado en la cocina como acompañante de las ensaladas mezclándolo con aceite y/o sal. Sin embargo, el vinagre es un ingrediente versátil de las comidas y se lo considera como: resaltador del sabor o condimento, un ablandador de las carnes, un

preservante natural de alimentos, un agente medicinal y un elemento de gran utilidad en la limpieza del hogar.

El vinagre se utiliza en donde se requiera de un acidulante natural (Chamorro y Herrera, 2012).

Otros usos que este acidulante ofrece son:

- Remueve el óxido en herramientas oxidadas.
- Se puede limpiar la heladera y microondas para remover olores y restos de comida.
- Destapa cañerías con ayuda de bicarbonato de sodio.
- El vinagre blanco mezclado con agua tibia al ser aplicado en el cabello durante algunos minutos, hace que se vea más sedoso.
- Mueve las marcas de agua de la madera.
- Limpia y remueve las manchas del baño.
- Sirve como repelente para las hormigas.
- Se usa como herbicida, para combatir las malezas para plantas ornamentales.
- Limpia artículos de cuero.
- Quita los rayones en cds y dvds.
- Sirve para mantener las flores frescas por más tiempo.
- Con ayuda de detergente ayuda en la limpieza de alfombras y pisos para quitar las manchas.
- Alivia las quemaduras solares en la piel.

2.3.5 CLASES DE VINAGRE

2.3.5.1 Vinagre blanco destilado

Se lo utiliza comúnmente en el hogar, en la industria alimenticia y farmacéutica. Es producido a través de la fermentación acética del alcohol destilado, originándose de la caña de azúcar, los granos de maíz y melaza (Chamorro y Herrera, 2012).

2.3.5.2 Vinagre de frutas

Los vinagres pueden ser elaborados a partir de una gran variedad de frutas fermentadas, tomando algunas de las características de las mismas. Por ejemplo: a partir de la sidra fuerte, se obtiene vinagre de manzana (Bamfort, 2005).

2.3.5.3 Vinagre de malta

Es el resultado de la fermentación aeróbica de la malta de cebada, la solución alcohólica obtenida se separa de la levadura y se inocula *Acetobacter* (Bamfort, 2005).

2.3.5.4 Otros vinagres

Existen variedad de vinagres, algunos de ellos son: vinagre de arroz, vinagre de aguardiente, como base en la producción de vinagres, se ha utilizado también melaza, como un mecanismo para tratar los subproductos de la industria azucarera (Bamfort, 2005).

2.4 PROCESO FERMENTATIVO

2.4.1 FERMENTACIÓN

Conjunto de reacciones químicas catalizadas por enzimas, cuyo soporte es el material celular. Los reactantes son materiales biológicos a los que se les añade sustancias minerales, compuestos orgánicos sintéticos y naturales. Las fermentaciones se desarrollan por lo general en presiones y temperaturas cercanas a las del ambiente y condiciones físicas-químicas controladas (Paz, 1988).

2.4.2 ESTRUCTURA DE UN PROCESO FERMENTATIVO

Trevan, et al. (1990) expone lo siguiente:

La parte central de un proceso fermentativo es el crecimiento del microorganismo industrial en unas condiciones ambientales que estimula la síntesis del producto comercial que se pretende obtener. Se realiza en un fermentador que consta esencialmente de un gran recipiente en el que se mantiene el microorganismo a la temperatura, pH, aireación y concentración de sustrato deseados. Sin embargo, el cultivo del microorganismo en el fermentador es sólo una de las numerosas fases del proceso. El medio en el que crece el microorganismo ha de formularse de acuerdo con las materias primas y, posteriormente, esterilizarse.

El contenido del fermentador se esteriliza y se inocula con un cultivo viable, metabólicamente activo. Se debe supervisar la evolución del programa impuesto para el desarrollo del proceso. Por tanto, el éxito de los procesos fermentativos depende de la destreza de quien controle estos procesos.

2.4.3 BIOQUÍMICA DE LAS FERMENTACIONES

Los procesos fermentativos se vienen empleando desde hace mucho tiempo en la elaboración de pan y el vino; sin embargo, no es sino Pasteur cuando habla de estos procesos como un proceso bioquímico que se refiere a aquéllos por los cuáles un organismo obtiene su energía a través de reacciones químicas en las que, sustancias de tipo orgánico, actúan como donadoras y receptoras de electrones (Monroy y Viniegra, 1981).

La fermentación comparte con la biocatálisis la característica de ser la forma mas vieja de la biotecnología. Tradicionalmente, la fermentación significaba la producción de alcohol bebida a partir de los carbohidratos. Sin embargo, la fermentación puede producir una asombrosa variedad de sustancias útiles por ejemplo: sustancias químicas como ácido cítrico, antibióticos, biopolímeros y proteínas unicelulares (Trevan, et al.1990).

El potencial es tan inmenso y variado lo cual se necesita es conocer los microorganismos, controlar su metabolismo y crecimiento y manejarlos a gran escala.

2.5 MÉTODOS DE FERMENTACIÓN

2.5.1 FERMENTACIÓN DISCONTINUA

Se puede considerar a una fermentación discontinua como un "sistema cerrado". La operación comienza con la adición de microorganismos en la solución esterilizada, permitiendo que se lleve a cabo la fermentación en óptimas condiciones.

La composición del medio de cultivo, la concentración de la biomasa y de metabolitos generalmente cambia como resultado del metabolismo de las células dando lugar a las cuatro fases de crecimiento de las levaduras (Ochoa y Ríos, 2003).

2.5.2 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 (Ochoa y Ríos, 2003).

2.5.3 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 (Ochoa y Ríos, 2003).

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 (Ochoa y Ríos, 2003).

2.6 FERMENTACIONES

2.6.1 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Según Prescott et al. (2004), menciona que: los azúcares, que son en este caso el sustrato sobre el que actúan las levaduras para obtener energía, en condiciones anaeróbicas, son degradados y oxidados por acción de la actividad catalítica de la levadura, y finalmente son convertidos en etanol y dióxido de carbono.

Las levaduras fermentan preferentemente hexosas como la glucosa y la fructosa, pero también pueden fermentar galactosa, por esta razón son conocidas como azúcares fermentables o como la fuente de carbono. La sacarosa y maltosa, son también rápidamente fermentadas cuando las levaduras producen enzimas invertasas que las convierten en hexosas (Badui, 1993).

La sacarosa, glucosa y fructosa son los azúcares de mayor presencia en las frutas. Tanto la glucosa como la fructosa son azúcares reductores mientras que la sacarosa es un azúcar no reductor. La ruptura de la sacarosa en sus dos componentes, glucosa y fructosa, se produce en los jugos de frutas que poseen pH ácido y sufren algún tratamiento térmico. Esta unión es una de las más sensibles entre los disacáridos. La energía de activación para la hidrólisis es baja por lo que se pueden usar ácidos diluidos o enzimas (Badui, 1993).

Para la célula, el metabolismo de los azúcares tiene dos funciones:

- a) Obtener los precursores de otros compuestos necesarios para el microorganismo en los procesos biosintéticos, es decir, convertirse en la fuente carbonada y de nutrientes fundamentales para el desarrollo de los organismos; y,
- b) Sintetizar los compuestos que, a través de una serie de transformaciones enzimáticas de tipo oxidativo, darían lugar a la formación de compuestos ricos en energía, que en la célula será almacenada en forma de trifosfato de adenosina (ATP) (Monroy, O. y Viniegra, G, 1981).

La reacción final de la fermentación alcohólica es expresada por la siguiente ecuación:

generados en mayores proporciones durante este proceso son el etanol y el CO₂) (Gallego, 2007).

2.6.3 PARÁMETROS DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

En la fermentación alcohólica de cualquier fruta, es importante mencionar los requisitos o parámetros establecidos, como: °Brix, temperatura, acidez, presencia de nutrientes, etc, que intervienen en el proceso de fermentación.

2.6.3.1 Temperatura

La temperatura es un factor determinante para la vida de las levaduras, desarrollándose a temperaturas relativamente cortas, hasta 30° C como máximo y por debajo de 13° ó 14°C.

Las temperaturas altas y bajas dependerán de la especie de levadura que se use, resistencia, y el rango de temperaturas en que se desarrollen los microorganismos, se puede controlar la temperatura dependiendo del mosto que se quiera obtener (Ochoa y Ríos, 2003).

La temperatura crítica de la fermentación es cuando las levaduras ya no se reproducen y acaban muriendo, lentificando y deteniendo la fermentación.

A pesar que es difícil deducir el límite correcto es posible deducir una zona peligrosa dependiente de la aireación, la riqueza del mosto, los factores nutritivos de las levaduras y la naturaleza del mosto. La temperatura crítica en climas templados se da por encima de los 32° C; en climas más cálidas puede ser un poco más alta (Ochoa y Ríos, 2003).

2.6.3.2 pH

Las levaduras en la fermentación alcohólica se desarrolla en pH de 4 a 6; sin embargo, se puede trabajar hasta con pH no bajo de 2,6 (Romo, 2011).

2.6.3.3 Necesidades Nutritivas

Para el desarrollo de las levaduras es necesario encontrar ciertos alimentos en el mosto, como fuentes de azúcar, minerales y vitaminas son fácilmente satisfechas, sin embargo deben proveerse sustancias nitrogenadas para desarrollarse y multiplicarse el nitrógeno amoniacal (catión amonio) que es el primer alimento nitrogenado consumido por las levaduras (Ochoa y Ríos, 2003).

Las levaduras se benefician con la adición de nitrógeno amoniacal que es indispensable y no esta contraindicado, añadiendo así una proporción de 10 a 20 gramos de fosfato amónico por hectolitro, casi siempre aumentan las colonias de las levaduras y se acelera la fermentación,

la adición debe realizarse preferiblemente al iniciarse la fermentación, de este modo es íntegramente consumido por las levaduras (Ochoa y Ríos, 2003).

Por lo tanto, la concentración de nutrientes puede afectar tanto a la velocidad y al rendimiento del crecimiento del organismo.

El efecto de la concentración de nutrientes sobre la producción de células consiste en la transformación de material celular, cuanto más nutriente haya, mayor será la producción de células (Brock y Madigan, 1982).

2.6.3.4 Azúcares

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, 2011).

2.6.3.5 Influencia de la Acidez

Las levaduras actúan en un medio neutro o poco ácido. La influencia de la acidez debe ser tal que favorezca el desarrollo de las levaduras, pero que perjudique a las bacterias peligrosas en caso de que cese la fermentación (Ochoa y Ríos, 2003).

Según la norma INEN 374 (1987) la acidez de un vino (mosto alcohólico) tiene un porcentaje máximo de 2% como ácido acético.

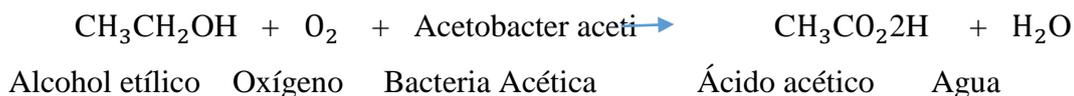
2.6.3.6 Concentración de alcohol

Es la cantidad de alcohol etílico producto de la fermentación alcohólica, pudiendo alcanzar valores del 12 al 14 % dependiendo de las condiciones del medio y interrelación de otros parámetros (Romo, 2011).

Dentro del proceso fermentativo la concentración de alcohol es una variable a controlar, debido a que niveles muy altos (teóricamente superiores al 18%) 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 (Gallego, 2007).

2.6.4 FERMENTACIÓN ACÉTICA

Se define fermentación acética a la conversión de etanol producido en fermentación anaeróbica, llevándose a cabo en presencia de oxígeno, la reacción que ocurre (Romo, 2011):



Generalmente la fermentación se detiene cuando existe la presencia de un mínimo aunque finito residuo de etanol para evitar la sobre oxidación a CO₂ y agua. La conversión de etanol a ácido acético está acompañada por fermentación secundaria, para la generación de compuestos aroma-activos tales como acetaldehído, acetato de etilo y otros ésteres (Bamfort, 2005).

2.6.5 BACTERIAS ACÉTICAS

Las bacterias acéticas pertenecen a un grupo de bacilos móviles, aerobios, gram-negativos que llevan a cabo una oxidación incompleta de los alcoholes, dando origen a la acumulación de ácidos orgánicos como productos finales. Su nombre proviene debido a que estas bacterias producen ácido acético a partir del etanol (sustrato) (Ochoa y Ríos, 2003).

2.6.5.1 Metabolismo aeróbico

Los metabolitos secundarios influyen directamente en las propiedades organolépticas del producto final, dado que presentan umbrales de percepción diferentes dependiendo de su concentración. Por ejemplo, un compuesto de percepción baja puede influir significativamente en el desarrollo final del aroma, incluso en concentraciones pequeñas (Acosta, 2012).

Las bacterias *Acetobacter acetii* son aerobias estrictas, es decir, de metabolismo respiratorio fermentativo, forman ácidos a partir de n-propanol, n-butanol y d-glucosa. No hidrolizan la lactosa ni el almidón (Llaguno y Polo, 1991).

El acetaldehído es un compuesto presente en el vino, sobre todo en aquellos con crianza biológica. Además, este compuesto se forma durante la fermentación acética bien sea por la oxidación química del etanol o como metabolito intermedio en la conversión oxidativa del etanol a ácido acético (Durán, 2008).

La acetoína es un compuesto característico que se acumula durante el proceso de acetificación, por ello está íntimamente relacionada con la calidad. Se puede encontrar en los vinagres en un amplio rango que puede ir desde 100 mg/l hasta alrededor de 1000 mg/l en vinagres envejecidos.

Los alcoholes isoamílicos representan una fracción abundante dentro de los compuestos volátiles del vinagre de vino, de hecho constituyen el 6-7% del total de éstos, siendo su concentración superior en productos considerados de alta calidad (Durán, 2008).

Además el ácido acético forma con el etanol de los licores éster acético volátil, que se percibe por el olor y por el gusto en concentraciones muy inferiores a las del propio ácido acético. Mientras que trazas de estos ésteres contribuyen a aromatizar los licores (Llaguno y Polo, 1991).

Como producto de la reacción se obtiene también etanol, por lo que el rendimiento en ácido acético es la mitad del que se obtiene en presencia de oxígeno. En la fermentación acética se realiza la formación de agua y algunas bacterias también forman peróxido de hidrógeno (Llaguno y Polo, 1991).

2.6.5.2 Características de las bacterias acéticas

- Actúan en pH bajos.- La mayor parte de las cepas pueden desarrollarse a valores de pH inferiores a 5.
- Son microorganismos poliformes.
- Aerobios estrictos (Romo, 2011).

La tolerancia a los ácidos es indispensable para un organismo que produce grandes cantidades de ácido y son poco exigentes a cuanto a nutrientes. Las bacterias pueden aislarse de los jugos de fruta alcohólicos, estos organismos realizan una oxidación incompleta de compuestos orgánicos como alcoholes y azúcares superiores. Estas bacterias aerobias tienen la capacidad de formar una película en la cual los organismos aseguran su permanencia en la superficie del líquido, donde se encuentra disponible con facilidad el oxígeno (Ochoa y Ríos, 2003).

2.6.5.3 Curva de crecimiento de las bacterias

Hay métodos indirectos basados en la determinación de la actividad celular (contaje de células, producción de anhídrido carbónico o ácido) que a veces resultan útiles, pero que pueden inducir a un error si se emplean sin discriminación.

El logaritmo del peso seco de un organismo unicelular que crece en un cultivo sumergido representado frente al tiempo de cultivo proporciona una curva, que tiene una forma característica cuyos detalles particulares dependen del tipo de organismo y de las

condiciones ambientales. Se trata de la curva de crecimiento y típicamente consta de cuatro partes:

- ✓ La fase latente, está constituida por el tiempo que transcurre desde que se inocula el medio hasta que se pueden percibir las primeras señales de crecimiento. Su duración depende de la naturaleza del microorganismo, tamaño y estado del inóculo, cantidad de concentraciones de metabolitos en el nuevo medio y temperatura.
- ✓ La fase exponencial, la velocidad de crecimiento alcanza su valor máximo, constante para un organismo en particular y para la colección de condiciones ambientales que determinan donde se encuentren los equilibrios de las múltiples reacciones.
- ✓ La fase de retraso, se puede determinar gráficamente por extrapolación de la porción exponencial de la curva de crecimiento hasta que corte el eje de los tiempos.
- ✓ La fase estacionaria, el crecimiento exponencial de la masa celular llega finalmente a estar limitado por el agotamiento de los nutrientes del medio o la acumulación en el mismo de los productos de desecho (Rhodes y Fletcher, 2005).

Resumiendo, se puede concluir que la curva de crecimiento para un microorganismo dado representada en una escala logarítmica conveniente se puede describir por medio del período latente, la velocidad de crecimiento y el crecimiento total alcanzado (Rhodes y Fletcher, 2005).



Figura 2. Cinética de crecimiento de bacterias en las cuatro etapas de crecimiento (Roger Stainer, 1992)

2.6.6 PARÁMETROS DE LA FERMENTACIÓN ACÉTICA

2.6.6.1 Temperatura

El rango de temperatura para el crecimiento óptimo de las bacterias acéticas es de 15 a 31 grados centígrados (Romo, 2011).

2.6.6.2 pH

Las bacterias pueden mantener su concentración interna de iones hidrógeno a pesar de condiciones externas adversas. La mayor parte de las cepas se pueden desarrollar a valores de pH inferiores a 5 (Romo, 2011).

2.6.6.3 Influencia de la aireación

En los procesos aireados, se produce fundamentalmente biomasa, bióxido de carbono y agua. Por ejemplo, un microorganismo facultativo como *Saccharomyces cerevisiae* cultivado en dos matraces a las mismas condiciones de acidez, temperatura y composición de medio de cultivo pero a dos concentraciones diferentes de oxígeno disuelto, nos dará diferentes proporciones de alcohol y proteína. Será la condición con menos oxígeno la que produzca mayor cantidad de alcohol (Monroy y Viniegra, 1981).

El mecanismo del proceso de aireación se explica de la siguiente manera; las moléculas de oxígeno en una burbuja de aire deben atravesar varias capas delgadas del fluido, para llegar hasta el microorganismo que crece en el caldo (Rhodes y Fletcher, 2005).

2.6.6.4 Concentración de etanol

Es aconsejable, para obtener buenas fermentaciones, una concentración de alcohol de 10 a 13 %. Para concentraciones superiores a 13% se forma con dificultad la capa gelatinosa de bacterias y la oxidación del etanol a ácido acético es incompleta.

Con el empleo de concentraciones muy bajas como inferiores a 1 o 2 % se oxidan los ésteres y el ácido acético con pérdida de aroma y sabor. (Llaguno y Polo, 1991).

2.6.6.5 Concentración de ácido acético

La cantidad de ácido acético en una solución depende del tipo de medio e interrelación con otros parámetros como pueden ser el tipo de fermentación entre otros (Romo, 2011).

Según la norma NTE INEN 2296 (2003) la concentración de ácido acético en el vinagre se encuentra en un rango de 4 a 6 %, con un margen de error de $\pm 0,5$.

2.7 AGITACIÓN

La función del fermentador consiste en proporcionar un ambiente óptimo para la producción del metabolito deseado, con un rendimiento máximo. Los procesos metabólicos que tienen lugar en el fermentador son muy complicados y están condicionados al sistema de aireación y agitación que se emplee (Rhodes y Fletcher, 2005).

En las fermentaciones que se necesita mucha aireación se debe girar con energía suficiente para desintegrar las burbujas de aire y mantener un intercambio adecuado de nutrientes entre el caldo y el organismo e impedir la formación de bolsas que pueden situarse en las paredes del fermentador. Una fermentación con agitación debe realizarse a 220 rpm (Rhodes y Fletcher, 2005).

La agitación determina en gran medida el rendimiento del producto en una fermentación aeróbica.

El mecanismo del proceso de agitación tiene 3 funciones:

- ✓ Disminuir el tamaño de las burbujas de aire y con ello aumentar el área de la interfase disponible para la transferencia de oxígeno.
- ✓ Mantener el líquido en movimiento, con lo cual el microorganismo tiene acceso al oxígeno y los nutrientes disueltos en el medio.
- ✓ Mantener uniforme la temperatura del medio (Rhodes y Fletcher, 2005).

2.8 CULTIVO DE MICROORGANISMOS

2.8.1 Cultivo discontinuo (batch)

Un microorganismo crecerá en un medio de cultivo si contiene todos los nutrientes necesarios en una forma disponible y factores ambientales adecuados.

El método más simple de cultivo es el discontinuo en el que el microorganismo crece a partir de una limitada cantidad de medio hasta que se agotan los nutrientes esenciales o puedan acumularse productos tóxicos que inhiben el crecimiento (Trevan, et al.1990).

El crecimiento no comienza inmediatamente después de la inoculación al medio; el período previo al crecimiento se denomina fase de latencia que se considera como una etapa de adaptación. El tiempo de la fase de latencia puede reducirse usando un inóculo relativamente

grande (3- 10%) de un cultivo en fase exponencial que haya sido preparado en el mismo medio o similar que el usado para la fermentación (Trevan, et al.1990).

2.8.1.1 Preparación del inóculo

La cantidad de cultivo debe ser suficiente, siendo metabólicamente activo, libre de contaminantes y ser capaz de producir el producto que se pretende obtener. El volumen tiene que prepararse a partir de un cultivo inicial de unos pocos cm³, lo que conlleva un número considerable de fermentaciones sucesivas a una escala cada vez mayor (Trevan, et al.1990).

Para la formulación del medio debe tenerse en cuenta algunos factores para el crecimiento de microorganismos como: agua, fuentes de carbono y nitrógeno, elementos minerales y nutrientes como vitaminas y aminoácidos. El carbono y el nitrógeno se suministran habitualmente en forma de mezclas complejas de productos naturales. (Trevan, et al.1990).

2.9 FERMENTADORES

Los Biorreactores son los equipos donde se realiza el proceso de cultivo (también comúnmente denominado “fermentador”), sea en estado sólido o líquido. Su diseño debe asegurar la homogeneidad entre los componentes del sistema, condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y la obtención del producto deseado. Es importante tomar en cuenta los problemas de transferencia de calor y oxígeno sobre la cama de sustrato, los cuales dependen de las características de la matriz que se esté utilizando para la fermentación, siendo éste, uno los principales factores que afectan el diseño y las estrategias de control (Ruiz, Rodríguez, Contreras y Aguilar, 2007).

El biorreactor tiene el fin de mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen del cultivo a fin de prevenir la sedimentación o la flotación, mantener constante la temperatura, suministrar oxígeno a una velocidad precisa con el microorganismo y mantener un cultivo en estado puro es decir que una vez que sea esterilizado el equipo y sembrado el microorganismo, no permita contaminación, para que se desarrolle el microorganismo en condiciones físicas y químicas óptimas (Trevan, et al.1990).

Para cumplir estos objetivos, el biorreactor deberá ser hermético, con un sistema de agitación, y en algunos casos un sistema de inyección de aire (Merchuck, 1993).

2.9.1 CARACTERÍSTICAS

Este tipo de fermentador consiste en un vaso cerrado que se puede airear, agitar pudiéndose regular la temperatura con un alto grado de exactitud. Su forma es cilíndrica con fondo

redondeado y una superficie interior lisa para facilitar la limpieza. En toda la longitud y perpendiculares a las paredes se distribuyen placas deflectoras para controlar el flujo del líquido. El árbol se ubica en el centro del fermentador llevando una o más palas, según la altura e intensidad de agitación (Rhodes y Fletcher, 2005).

El aire pasa por una válvula que no permite el retroceso y se mezcla en el caldo de cultivo mediante un inyector de aire situado en el fondo del fermentador. Los agujeros en el diseño del inyector deben ser pequeños para permitir el paso del aire y no muy grandes evitando de esta manera el taponamiento por partículas del medio (Rhodes y Fletcher, 2005).

2.9.2 FERMENTADORES PARA FERMENTACIONES AEROBIAS

Según Stanbury y Whitaker (1984) mencionado por Trevan, et al (1990), las principales características que se consideran importantes en un fermentador son:

- El tanque debe diseñarse para que funcione sépticamente durante numerosos días.
- Se debe proporcionar un sistema adecuado de aireación y agitación para cubrir las necesidades metabólicas de los microorganismos.
- Tener un sistema de control de pH.
- Tener un sistema para la toma de muestras.
- Debe existir un sistema de control de temperatura.
- Las superficies internas deben ser lisas para su fácil limpieza.
- Suministrar oxígeno a una velocidad tal que satisfaga el consumo.
- La geometría del fermentador debe ser similar a tanques pequeños
- El diseño debe ser tal que permita mantener el cultivo puro; una vez que todo el sistema ha sido esterilizado y posteriormente inoculado con el microorganismo deseado (Trevan, et al.1990).

2.9.3 FERMENTADORES PARA FERMENTACIONES ANAEROBIAS

El diseño del equipo para este tipo de fermentación es básicamente análogo al fermentador por aireación; con la característica, que sólo precisa aireación suficiente para producir un buen crecimiento celular y la intensidad de la agitación se ajusta a mantener la temperatura y el contenido del tanque (Rhodes y Fletcher, 2005).

2.9.4 ESQUEMA FERMENTADOR

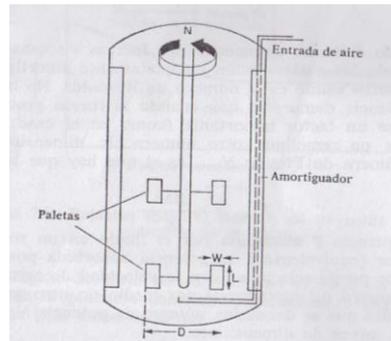


Figura 3. Diagrama de un fermentador agitado y aireado mecánicamente.

(Rhodes y Fletcher, 2005)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

3.1.1 UBICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO

Tabla 4. Datos climatológicos de la ciudad de Ibarra

PARÁMETRO	UNIDAD
Temperatura	18° C
Altitud	2256 m
Latitud	00° 19' 47" S
Longitud	78° 07' 56" W
Humedad media anual	72%
Precipitación media anual	52,5mm

FUENTE: Estación Meteorológica de Yuyucocha, Ibarra-Ecuador (2015/05/06)

Las pruebas preliminares, el proceso de obtención de vinagre de piña y análisis físico-químicos (pH, acidez titulable, °Brix y densidad) se llevaron a cabo en la ciudad de Ibarra sector la Florida. Los análisis microbiológicos y restantes análisis físico-químicos se realizaron en los laboratorios de la Universidad Técnica del Norte y Laboratorio ECUACHEMLAB. De la ciudad de Quito.

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en:

Región: Zona 1

Provincia: Imbabura

Cantón: Ibarra Parroquia: San Francisco

Sector: La Florida

Calles: Av. Los Galeanos

3.2 MATERIALES

Para la elaboración del vinagre de piña se utiliza lo siguiente:

3.2.1 MATERIA PRIMA E INSUMOS

- Piña *Ananas comosus*
- Fosfato de Amonio Monobásico (Fosfomonoamonio)
- Levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- Cultivo industrial
- Úrea (Carbamida)
- Bicarbonato de sodio
- Ácido Cítrico

3.2.2 MATERIALES Y EQUIPOS

- Equipo de fermentación (Biorreactor)
- Extractor
- pH-metro
- Turbidímetro
- Refractómetro
- Densímetro
- Incubadora
- Bureta
- Balanza
- Cajas Petri
- Envases de vidrio
- Algodón
- Filtros
- Probetas
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Jarras
- Papel aluminio
- Papel toalla
- Pipetas (1 y 10 ml)

- Cuchillos
- Agua destilada
- Buffer para pH 4 y 7
- Agua
- Cloro
- Fenolftaleína
- Hidróxido de Sodio 0,1 N
- Recipientes de 3 a 5 litros

3.3 MÉTODOS

Para la elaboración del vinagre de piña se realizó una fermentación alcohólica de manera estándar, basada en la información bibliográfica descrita en el marco teórico de esta investigación, con la finalidad de obtener los datos del factor A (mosto alcohólico).

Se comenzó caracterizando la materia prima en este caso al jugo de la pulpa de la piña y al jugo de las cáscaras y corazones determinando los °Brix y el pH respectivamente.

En la fermentación alcohólica para los tratamientos se corrigió el pH para el óptimo desarrollo de las levaduras ya que según Romo (2011), estos microorganismos en la fermentación alcohólica se desarrollan de mejor manera en pH de 4 a 6.

Se corrigió también los °Brix iniciales de la materia prima (jugo de pulpa y jugo de cáscaras y corazones), debido a que el equipo contiene un recipiente de fermentación, cuya capacidad es de 5 litros; por lo tanto, no es preciso efectuar una fermentación alcohólica completa de toda la cantidad de jugo y a su vez dividirlo como mosto alcohólico para cada tratamiento a realizar en esta investigación. La unidad experimental planteada fue de 2 litros, pero al hacer un total de jugo para fermentar y luego fraccionarlo para los tratamientos, el sobrante va a alterar sus características y la investigación no se realizaría correctamente, entonces se optó por hacer la fermentación alcohólica por separado pero con la corrección de la variable °Brix.

Los °Brix se los corrigió de la siguiente manera:

Se calculó un promedio de °Brix de todos los jugos obtenidos para la fermentación alcohólica de cáscaras y corazones y otro para los obtenidos de pulpa de piña, con el objetivo de

brindarle características similares a las unidades experimentales con las que se trabajó en las fermentaciones alcohólica y acética.

Una vez caracterizada la materia prima se determinaron los siguientes parámetros para la fermentación alcohólica:

Tabla 5. Parámetros para la fermentación alcohólica

PARÁMETROS	UNIDAD
Temperatura	30°C
pH	4,3 (corregido)
°Brix	°Brix de la fruta

Como siguiente paso y antes de continuar con la fermentación acética se realizó la activación de las bacterias acéticas *Acetobacter aceti* realizando el siguiente procedimiento:

1. Se adquirieron las cepas de las bacterias *Acetobacter aceti*, las cuales forman parte de la investigación ya que sirven como inóculo para la fermentación acética.



Fotografía 1. Cepas de *Acetobacter aceti*

2. Para la conservación de las bacterias acéticas se elaboró un mosto alcohólico único para este proceso.

Basados en la información bibliográfica descrita en el capítulo 2 de esta investigación se determinó que los parámetros para la fermentación alcohólica con los cuales se realizó este proceso fueron:

Tabla 6. Parámetros para la obtención del cultivo industrial

PARÁMETROS	UNIDAD
Temperatura	30°C
pH	4,3
°Brix	20°

A este medio único se lo denominó cultivo industrial por ser el lugar en donde se albergaron los microorganismos que fueron de posterior uso en las respectivas fermentaciones acéticas para cada tratamiento en la investigación.

A continuación se detallan los pasos a seguir para la activación de las bacterias acéticas *Acetobacter aceti* mediante la elaboración del cultivo industrial.

Pasos a seguir para la obtención del cultivo industrial:

1. Activación de bacterias acéticas *Acetobacter aceti*

La activación de las bacterias acéticas se realizó mediante el método descrito en la ficha técnica. (Ver anexo 1).



Fotografía 2. Activación bacterias acéticas *Acetobacter aceti*

2. Conservación de las bacterias

Una vez realizada la activación de las bacterias de acuerdo a la ficha técnica se procedió a recolectar y conservarlas en cryobanks que son pequeñas cápsulas que contienen un medio ideal más unas pequeñas perlititas de cerámica en donde se almacenan los microorganismos, estas cápsulas se llevaron a congelar para permitir la supervivencia de las bacterias para posterior uso.



Fotografía 3. Conservación de las bacterias acéticas

3. Reactivación de las bacterias

Se extrajo del cryobank 3 o 4 perlitas de cerámica en las cuales se encuentra albergado el microorganismo y se depositaron en el medio de cultivo establecido en el método de activación de las bacterias descrito en el punto 1 de este proceso y se realiza el mismo procedimiento que en la activación inicial.



Fotografía 4. Reactivación de microorganismos

4. Inoculación de las bacterias

Transcurrido el tiempo de reactivación de las bacterias acéticas (35-40h) se inoculó directamente en el mosto alcohólico único para este proceso. Para ello se utiliza un hisopo estéril con el cual se recoge los microorganismos y se llevan al medio.





Fotografía 5. Inoculación de bacterias acéticas al medio

5. Fermentación

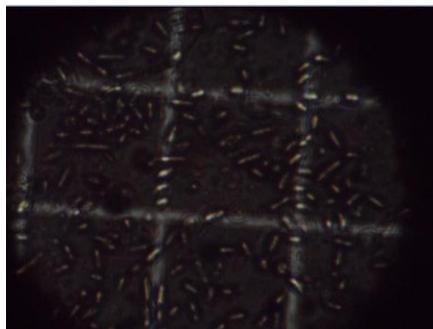
Se revisó y controló los parámetros de fermentación en el biorreactor hasta alcanzar una población máxima de microorganismos, se observó el crecimiento en el microscopio mediante el uso de la cámara de neubauer con la siguiente fórmula.

FÓRMULA:

$$\# \text{ m/o} = ((x \text{ (m/o) en 4 cuadros}) * 1000000) / 2.5$$



Fotografía 6. Fermentación acética para el cultivo industrial



Fotografía 7. Vista de microorganismos al microscopio

Una vez determinada la población viable que nos permita continuar con la investigación, se procedió a frenar el crecimiento de los microorganismos mediante la refrigeración, con la finalidad de mantenerlos en estado latente de tal manera que permita ser inoculados en el mosto alcohólico para cada tratamiento y continuar con el proceso de fermentación acética.

3.3.1 FACTORES EN ESTUDIO

Una vez obtenidos los resultados del cultivo industrial y la fermentación alcohólica de los diferentes tratamientos se procedió a realizar el respectivo diseño.

En la investigación se realizó un diseño experimental para la fermentación acética.

FACTOR A: Mosto alcohólico

A1: Cáscara y corazones

A2: Pulpa

FACTOR B: Agitación

B1: Con agitación

B2: Sin agitación

FACTOR C: Temperatura

C1:20 °C

C2:25 °C

C3:30 °C

3.3.2 TRATAMIENTOS

Los tratamientos, resultado de la combinación de factores en estudio, son:

Tabla 7. Tratamientos a evaluarse

Tratamientos	Mosto alcohólico	Agitación	Temperatura de fermentación	Combinaciones
T1	A1	B1	C1	A1B1C1
T2			C2	A1B1C2
T3			C3	A1B1C3
T4		B2	C1	A1B2C1
T5			C2	A1B2C2
T6			C3	A1B2C3
T7	A2	B1	C1	A2B1C1
T8			C2	A2B1C2
T9			C3	A2B1C3
T10		B2	C1	A2B2C1
T11			C2	A2B2C2
T12			C3	A2B2C3

3.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.3.1 Tipo de diseño

Por tratarse de un experimento en donde todas las condiciones se controlaron, se optó por aplicar un Diseño Completamente al Azar (DCA), con tres repeticiones y arreglo factorial AxBxC para la fermentación acética.

Se realizaron pruebas de significación Tukey en caso de encontrar diferencia significativa en los tratamientos y DMS para los factores.

Se aplicó la prueba de Freedman para evaluar las características organolépticas: color, olor, sabor, apariencia y aceptabilidad.

3.3.4 CARACTERÍSTICAS DEL EXPERIMENTO

Repeticiones 3

Tratamientos 12

Unidades Experimentales 36

3.3.4.1 Características de la unidad experimental

En el experimento se trabajó con 36 unidades experimentales, cada una se constituyó de 2 litros de jugo.

3.3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El esquema del análisis estadístico se presenta en el siguiente cuadro:

Tabla 8. Esquema de análisis de varianza ADEVA

Fuentes de Variación	GL
Total	35
Tratamientos	11
A	1
B	1
C	2
AxB	1
AxC	2
BxC	2
AxBxC	2
Error experimental	24

3.3.6 VARIABLES A EVALUARSE

3.3.6.1 Mediciones a realizarse en la fermentación alcohólica

Para la materia prima

- °Brix
- pH

Durante la fermentación

- Cantidad de alcohol
- °Brix
- pH

Después de la fermentación

- °Brix finales
- Cantidad de alcohol
- Acidez titulable
- pH

3.3.6.2 Mediciones a realizarse en la fermentación acética

Durante la fermentación acética

- pH
- Acidez titulable
- Alcohol

Final de la fermentación acética

- Rendimiento ácido acético
- °Brix
- pH
- Velocidad de acetificación
- Acidez
- Alcohol

3.3.6.3 Análisis al producto final

- Alcohol
- Determinación de acidez: acidez total, acidez fija, acidez volátil.
- Densidad
- Turbidez
- pH
- °Brix

Nota: Los análisis se realizaron para los tratamientos que cumplen con la Norma INEN 2296 (2003).

3.3.6.4 Análisis microbiológico

- Mohos y levaduras

Nota: Se realizaron análisis microbiológicos a los tratamientos que cumple con la Norma INEN 2296 (2003).

3.3.6.5 Descripción de las técnicas utilizadas en la investigación

Caracterización de la materia prima

Para efecto de esta investigación se procedió a realizar el análisis físico químico a la materia prima (jugo de cáscaras y corazones y jugo de pulpa de piña) determinando los °Brix y el pH.

Fermentación alcohólica

Durante la fermentación alcohólica se realizaron las siguientes mediciones:

- **Determinación de los °Brix.-** Por lo general la piña cuenta con un nivel de °Brix no superior a 15 dependiendo del grado de madurez, pero para efecto de esta investigación se trabajó con los °Brix iniciales del jugo obtenido de la fruta y del jugo

obtenido de las cáscaras y corazones, utilizando la norma NTE INEN-ISO 2173:2013 que determina los sólidos solubles en la muestra.



Fotografía 8. Refractómetro o brixómetro

- **pH.-** El pH del jugo de piña y del jugo de cáscaras y corazones se midió mediante la utilización de un pHmetro digital previamente calibrado, para lo cual se tomó una muestra del jugo, se esperó un tiempo mínimo de cinco minutos y se procedió a tomar el dato proporcionado de dicha medida, luego se realizó la debida corrección de acuerdo a lo propuesto en esta investigación. En caso de que se desee subir el pH añadimos bicarbonato de sodio, o por el contrario, se agrega ácido cítrico.



Fotografía 9. pH metro

- **Cantidad de alcohol.-** Para analizar la cantidad de alcohol en el mosto alcohólico se usó un refractómetro de alcohol para vinos previamente calibrado y para comprobar los resultados obtenidos se realizó cálculos estequiométricos de la reacción de fermentación alcohólica.



Fotografía 10. Refractómetro de alcohol para vinos

- **Acidez titulable.-** Se midió la cantidad de acidez al finalizar la fermentación alcohólica. Por medio de la norma AOAC 1990, Sección 930.35 J.



Fotografía 11. Acidez titulable

Fermentación acética

Durante la fermentación acética se realizaron las siguientes mediciones:

- **Acidez titulable.-** Se midió la cantidad de acidez durante el proceso de fermentación acética para observar la producción de ácido acético por parte de las bacterias acéticas. Por medio de la norma AOAC 1990, Sección 930.35 J.



Fotografía 12. Acidez titulable

- **Velocidad de acetificación.-** Para la obtención del resultado de velocidad de acetificación se ejecutaron mediciones de la acidez titulable que se expresa como ácido acético y se realizaron los cálculos utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Velocidad de acetificación} = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1}$$

A₂- A₁= cambio de acidez.

t₂ - t₁ = tiempo transcurrido para el cambio de acidez.

Unidades = g/l.h

- **Cantidad de alcohol.-** Para analizar la cantidad de alcohol en el vinagre se usó un refractómetro de alcohol para vinos debidamente calibrado.



Fotografía 13. Refractómetro de alcohol para vinos

- **Rendimiento.-** Es importante determinar la relación entre los kg de mezcla inicial y final dentro del proceso fermentativo. Para ello se tomaron los pesos del día inicial y final, y el tiempo de fermentación. Se realizó con el propósito de obtener la cantidad de alcohol que las bacterias pudieron convertir a ácido acético. Utilizando la siguiente fórmula, se obtuvo el rendimiento expresado en porcentaje:

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

- **Turbidez.-** Para la medición de la turbidez se utilizó el método HACH 8237 para los tratamientos que cumplieron con la Norma INEN 2296 (2003).
- **Acidez fija.-** La acidez fija es un requisito del vinagre, que se determinó a través de la norma AOAC Método oficial 947.05.
- **Acidez volátil.-** La acidez volátil se determinó utilizando la ecuación siguiente, que se encuentra dispuesta en la norma AOAC Método oficial 947.05:

$$AV = AT - AF$$

Siendo:

AV = acidez volátil.

AT = acidez total.

AF = acidez fija.

- **Densidad.-** Se midió la densidad a los tratamientos que cumplan con la norma NTE INEN 2296 (2013), utilizando un densímetro.



Fotografía 14. Densímetro

- **Mohos y levaduras.-** Para garantizar la inocuidad del producto final, se realizó un análisis microbiológico, específicamente de mohos y levaduras, tal como se propone el método de análisis AOAC 997.02.

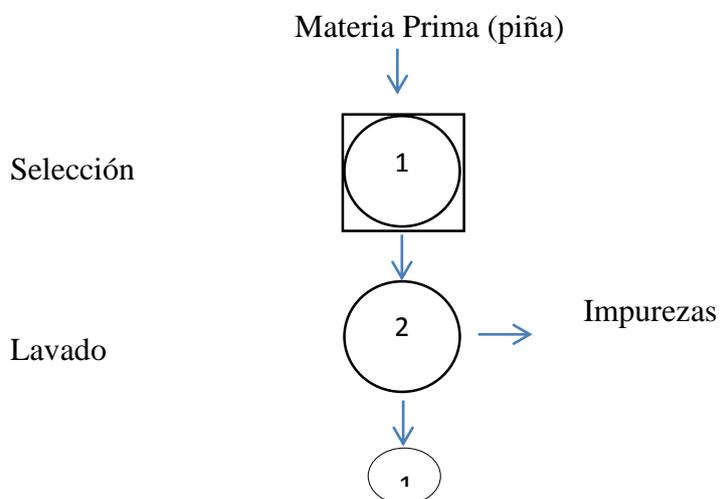
3.3.6.6 Características cualitativas

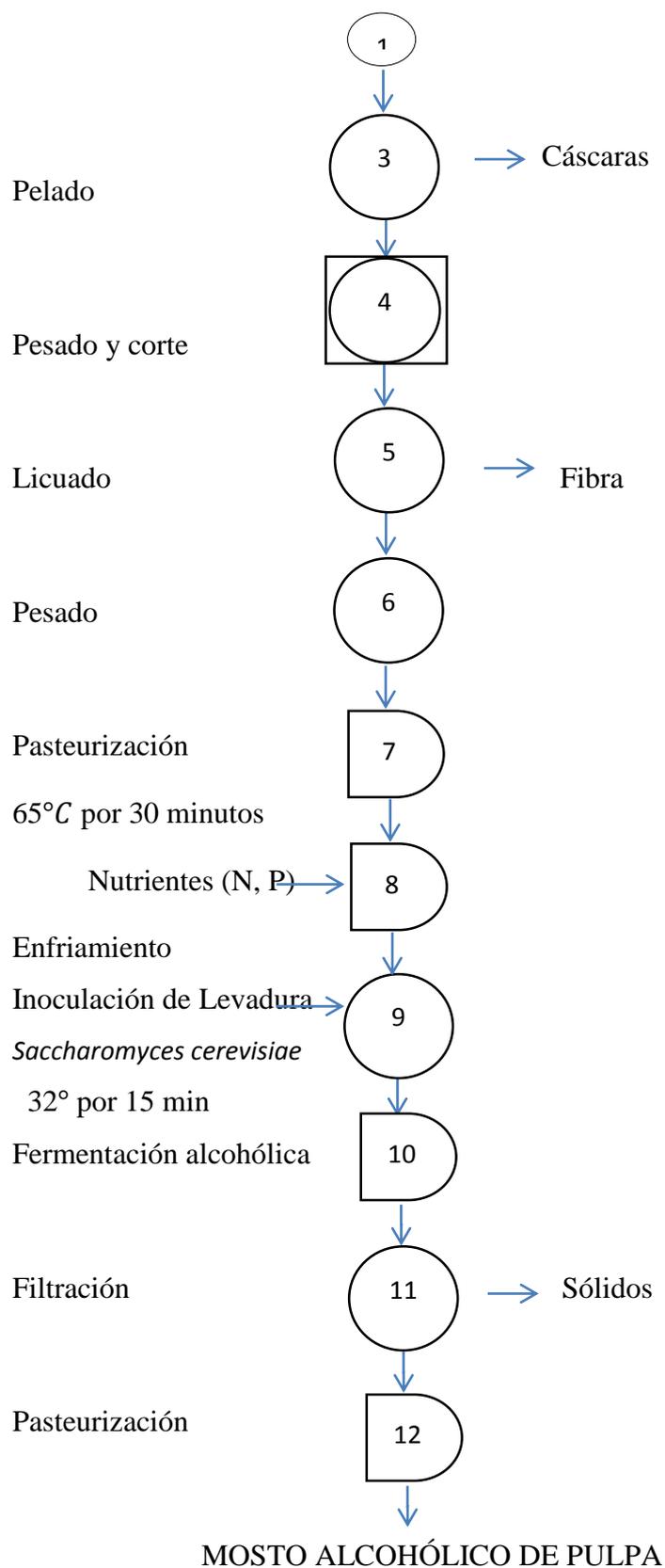
Estas características fueron evaluadas por panelistas, las cuáles se realizaron por escrito y se interpretaron los resultados por el método de Friedman, para avalar la calidad y aceptabilidad del producto.

- ✓ Olor: Característico de la piña
- ✓ Color
- ✓ Sabor
- ✓ Apariencia
- ✓ Aceptabilidad

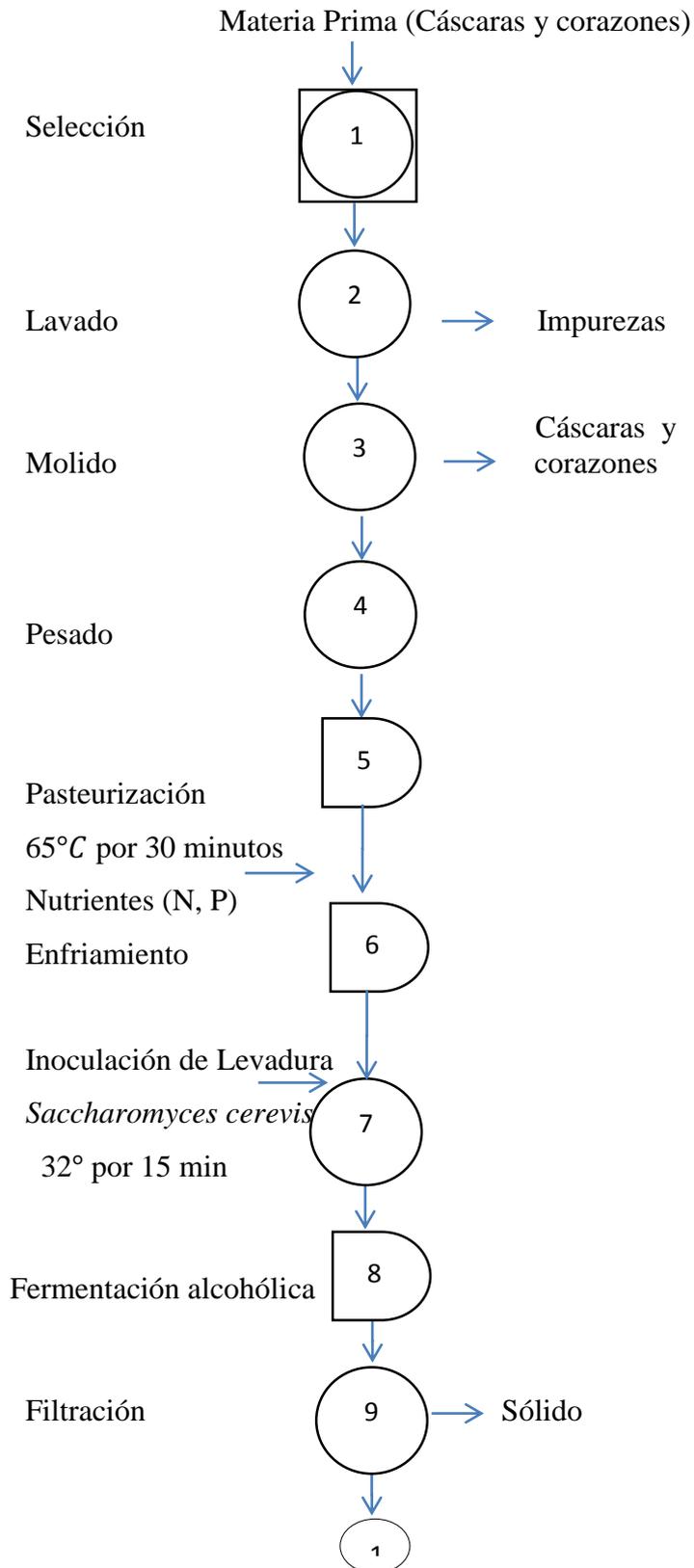
3.4 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

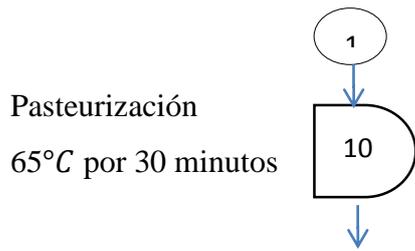
3.4.1 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE MOSTO ALCOHÓLICO DE PULPA





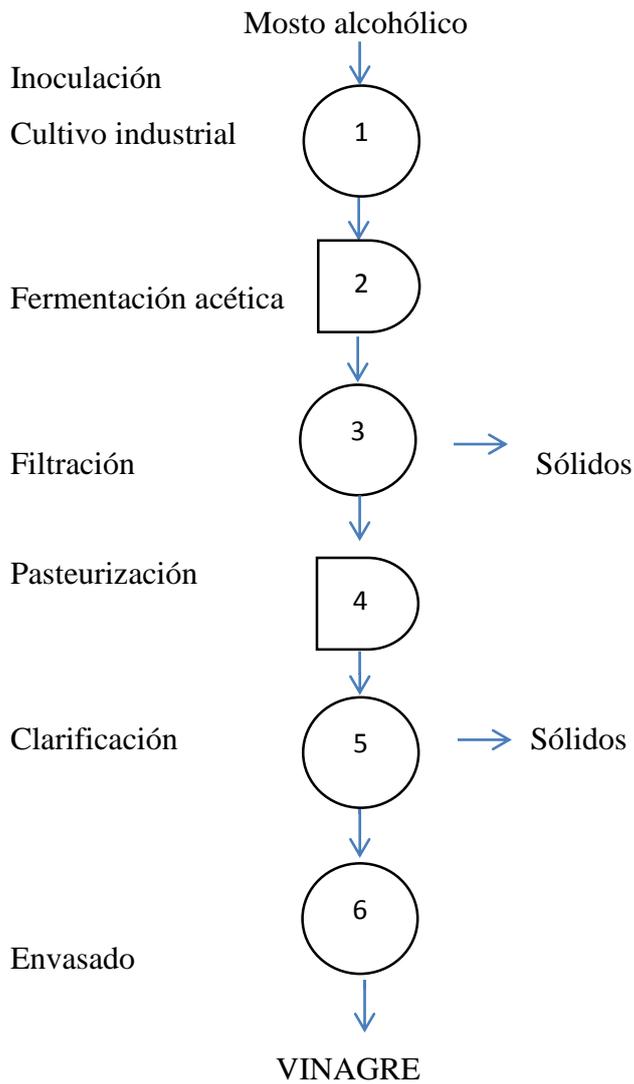
3.4.2 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE MOSTO ALCOHÓLICO DE CÁSCARAS Y CORAZONES





MOSTO ALCOHÓLICO DE CÁSCARAS Y CORAZONES

3.4.3 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE VINAGRE



3.4.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

3.4.5 TIPO DE MOSTO ALCOHÓLICO

Se trabajó con dos tipos de mostos alcohólicos, el primero que se obtuvo de la fermentación del jugo de la pulpa de la piña y el segundo que se obtuvo de la fermentación del jugo de las cáscaras y corazones.

3.4.6 TIPO DE LEVADURA Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Saccharomyces cerevisiae: Levadura fresca instantánea. Almacenada a temperatura de refrigeración de 0°C a 4°C.

3.4.7 EQUIPO DE FERMENTACIÓN

Se utilizó un biorreactor, diseñado especialmente para este tipo de fermentaciones, el cual consta de un frasco de fermentación, capacidad de 5 litros, en cuyo interior se encuentra el agitador que es controlado por un rotor, unidades de toma de muestra, inoculación y salida de gases, un recirculador de agua, un termómetro y un pH metro, para el control de la acidez y salinidad.

3.4.8 OBTENCIÓN DE MOSTO ALCOHÓLICO

Recepción de la materia prima. La piña para la investigación presentó las siguientes características basadas en la norma NTE INEN 1836 (2009) que determina los requisitos de la piña, obteniéndose los siguientes resultados: óptima madurez, sabor dulce, coloración adecuada para este proceso que va del orden de 5 a 6 según la escala colorimétrica establecida en la norma.

La fruta fue adquirida en los mercados locales de la ciudad.

La cáscara y corazones de piña para la investigación presentaron casi las mismas características de la fruta con la diferencia de que el sabor es diferente debido a la variación en los grados °Brix. Esta materia prima se obtuvo en los mercados de la ciudad.

Selección: En este paso se eliminó las impurezas que puedan alterar al proceso.

Lavado: La fruta seleccionada se sometió a un lavado con agua potable.

Pelado: Se separó las cáscaras de la pulpa de la piña ya que este elemento es la materia prima en la investigación.

Pesado y corte: Se determinó la cantidad de pulpa, cáscaras y corazones para proceder al siguiente paso.

Obtención del jugo:

- 1. Licuado de la pulpa:** El jugo puro se obtuvo mediante el uso de un extractor de pulpa.
- 2. Triturado de cáscaras y corazones:** Se utilizó un molino para triturar las cáscaras y corazones y extraer el jugo presente en los mismos.

Pesado: Se pesó el jugo que se obtuvo aproximadamente 3 litros para continuar con el siguiente proceso.

Pasteurización: Fue necesario pasteurizar el jugo a 65°C por 30 minutos, para eliminar cualquier bacteria patógena que afecte al proceso de fermentación.

Enfriamiento: Se enfrió el jugo pasteurizado a una temperatura de 32 a 35°C, para proceder con el siguiente proceso.

Activación de levadura: Se activó la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, 1% en relación a la cantidad de jugo a utilizarse. Se disolvió la levadura en 50 ml del jugo a 32 °C agitando, y dando aireación; se esperó un lapso de 15 minutos y se observó la formación de una capa espumosa, siendo señal que la levadura está activada.

Inoculación: En este paso se agregó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* previamente activada al jugo pasteurizado, de esta manera se mantiene el medio totalmente libre de bacterias para un buen crecimiento de las levaduras.

Fermentación alcohólica: El proceso de fermentación alcohólica se realizó de manera estandarizada con las siguientes condiciones: °Brix (Brix de la fruta), 30 °C y 4,3 de pH corregido (Temperatura y pH óptimos para el desarrollo de las levaduras), en este proceso se mantienen controladas las condiciones antes mencionadas, siendo esta una etapa crítica de la investigación.

Filtración: Una vez terminada la fase de fermentación alcohólica, se procedió a pasar el mosto que se obtuvo por una coladera para excluir los sedimentos presentes.

Pasteurización: Con la pasteurización del mosto a 65°C por 30 minutos se quiere eliminar las levaduras vivas, es decir, para empezar con la fermentación aerobia se necesita de un medio de cultivo estéril.

3.4.8.1 Fermentación acética, elaboración de vinagre

Inoculación: Se usaron bacterias acéticas *Acetobacter aceti* (cultivo industrial) para iniciar la fermentación acética en una relación de 10% con respecto a la cantidad de mosto a fermentar.

Fermentación acética: En esta etapa se observó que en un ambiente adecuado el accionar de bacterias acéticas (cultivo industrial: dosificación al 10%) y entrada de aire constante, se produjo vinagre.

-

Filtrado: Una vez terminada la fermentación acética se procedió al filtrado en donde se eliminaron sólidos y residuos para mejorar la apariencia y calidad del producto final dándole brillantez.

Pasteurización y enfriamiento: Obtenido el vinagre filtrado se realizó finalmente un tratamiento térmico de 65°C por 30 minutos con el objeto de parar el crecimiento bacteriano en el producto obtenido y finalmente se enfrió para clarificar y almacenar.

Clarificación: Se clarificó con gelatina sin sabor con una proporción 0,01 g/l, para suprimir cualquier tipo de residuos que perjudiquen la apariencia del vinagre.

Envasado: El vinagre fue envasado en botellas de vidrio previamente esterilizadas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA EL CULTIVO INDUSTRIAL

En la elaboración del cultivo industrial se comenzó caracterizando la materia prima (jugo de piña), obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 9. Características del jugo de piña para el cultivo industrial

JUGO	°Brix	pH
	14	3,8

Una vez obtenido los resultados, se realizó la corrección del jugo para la fermentación alcohólica del cultivo industrial.

Se realizó la corrección de los °Brix y pH al jugo, con el objetivo de mejorar las características del medio para la activación de las bacterias acéticas.

Tabla 10. Características iniciales mosto corregido para cultivo industrial

Parámetros	Valores	Corrección
pH	3,8	4,3 (5g bicarbonato sodio)
°BRIX	14	20 (225g sacarosa)

Transcurrido un período de 35 horas de fermentación alcohólica en el biorreactor a una temperatura de 30 °C se obtuvo el mosto alcohólico con las siguientes características:

Tabla 11. Características mosto alcohólico obtenido para el cultivo industrial

°BRIX	pH	°GL
7,5	3,7	6,38

Con los resultados obtenidos de la fermentación alcohólica, se procedió a inocular el mosto con las bacterias acéticas previamente activadas, y se continuó con la fermentación acética.

Durante el proceso de fermentación acética del cultivo industrial, se realizó el conteo de microorganismos utilizando la cámara de Neubauer y el microscopio.

Para el conteo de las bacterias se realizó el siguiente procedimiento:

- Se toma 0,1 ml de la solución y se coloca en la cámara de Neubauer.
- Se coloca el cubre objetos, y se observa en el microscopio.
- Se busca el primer cuadro para realizarse el recuento, posteriormente se toma lectura de 8 cuadros de 1 mm² en forma diagonal, como muestra la Figura 11 se registra los datos y por medio de la ecuación descrita en la metodología y se calcula.

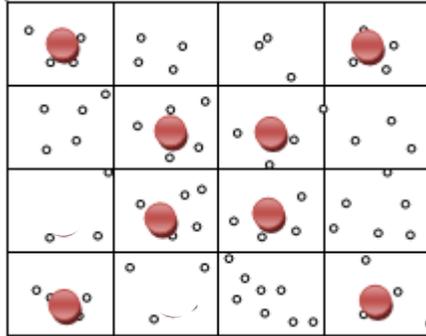


Figura 4. Recuento en la cámara de Neubauer.
(Bastidas, 2008)

Durante la fermentación acética del cultivo industrial se determinó la población viable de microorganismos, luego se detuvo el crecimiento bacteriano para conservar las bacterias activas, mismas que fueron utilizadas como inóculo en las fermentaciones de los tratamientos de esta investigación. Para mantener los microorganismos en estado latente, se los conservó en refrigeración a una temperatura de 4 °C.

Una vez realizado el conteo de las bacterias, se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 12. Crecimiento bacteriano

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	6500000	6,81
24	39400000	7,60
48	41400000	7,62
72	41400001	7,62

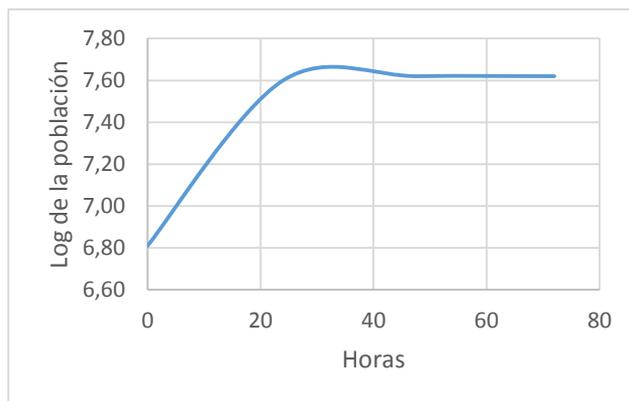


Gráfico 1. Curva de crecimiento de las bacterias acéticas (*Acetobacter acetii*).

Finalmente, se obtuvo el cultivo industrial, mismo que fue utilizado como inóculo en la fermentación acética de los tratamientos, con las siguientes características:

Tabla 13. Características cultivo industrial para fermentación acética

°BRIX	pH	°GL	ACIDEZ(ácido acético)
7	3,6	2,64	2,97

4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA DE LA MATERIA PRIMA PARA LOS TRATAMIENTOS

Para realizar la fermentación alcohólica se procedió a determinar las características físico-químicas del jugo obtenido (pulpa de piña y cáscaras y corazones) con los siguientes resultados:

Tabla 14. Características físico químicas de cáscara y corazones

Jugo de cáscaras y corazones		
Tratamiento	°Brix	pH
T1	11	3,5
T2	11	3,6
T3	11	3,7
T4	11	3,8
T5	11	3,5
T6	11	3,7

Tabla 15. Características físico-químicas de pulpa de piña

Jugo de pulpa de piña		
Tratamiento	°Brix	pH
T7	14	4,2
T8	14	3,8
T9	14	3,6
T10	14	3,4
T11	14	3,7
T12	14	3,6

Para efecto de esta investigación se corrigió el pH a 4,3 ya que este es el óptimo para el desarrollo de las levaduras en la fermentación alcohólica.

Basados en la información bibliográfica descrita en el marco teórico de esta investigación se trabajó la fermentación alcohólica bajo los siguientes parámetros óptimos para este proceso:

- pH: 4,3
- Temperatura: 30°C
- °Brix: 11 °Brix Cáscaras y corazones

14 °Brix pulpa de piña

4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICA DEL MOSTO ALCOHÓLICO

Para este proceso se detuvo la fermentación alcohólica cuando la variable °Brix se mantuvo constante en dos etapas consecutivas de la toma de datos.

Una vez realizada la fermentación alcohólica se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 16. Características físico químicas

Mosto alcohólico de cáscaras y corazones				
Tratamiento	°Brix	pH	°GL	Acidez (%)
T1	5,5	3,5	2,78	0,6
T2	5,5	3,5	2,78	0,68
T3	5,5	3,5	2,78	0,6
T4	5,5	3,9	2,78	0,78
T5	5,5	3,7	2,78	0,72
T6	5,5	3,5	2,78	0,68

Tabla 17. Características físico químicas

Mosto alcohólico de pulpa de piña				
Tratamiento	°Brix	pH	°GL	Acidez (%)
T7	5,5	4,3	4,35	0,51
T8	5,5	3,5	4,35	0,51
T9	5,5	3,45	4,35	0,78
T10	5,5	3,5	4,35	0,87
T11	5,5	3,4	4,35	1,5
T12	5,5	3,6	4,35	0,66

Como se puede apreciar en las tablas, las características físico químicas tanto del mosto de cáscara y corazones como de pulpa de piña, fueron diferentes con respecto al grado alcohólico; esto se debe a que el jugo obtenido a partir de las cáscaras y corazones contiene menos ° Brix en comparación con el jugo de pulpa de piña, por lo que esta característica influyó en el proceso de fermentación alcohólica para las otras variables que fueron medidas.

Según la norma NTE INEN 374 (1987), la acidez de un vino (mosto alcohólico) tiene un porcentaje máximo de 2% como ácido acético.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS VARIABLES DE VINAGRE

4.4.1 DETERMINACIÓN DE pH FINAL DEL VINAGRE

Tabla 18. Promedio de pH final del vinagre

Tratamientos		I	II	III	MEDIA
T1	A1B1C1	2,8	3	3,1	3,0
T2	A1B1C2	2,9	3	3	3,0
T3	A1B1C3	3,2	3	2,8	3,0
T4	A1B2C1	2,9	3,1	3,5	3,2
T5	A1B2C2	3	2,8	3	2,9
T6	A1B2C3	2,8	2,8	2,9	2,8
T7	A2B1C1	3,3	3,5	3,5	3,4
T8	A2B1C2	3,4	3	3,2	3,2
T9	A2B1C3	2,8	2,8	2,8	2,8
T10	A2B2C1	3,4	3,5	3,5	3,5
T11	A2B2C2	2,9	2,8	2,8	2,8
T12	A2B2C3	2,8	2,8	2,8	2,8
MEDIA					3,0

Según la información detallada en la tabla el valor de pH final en la fermentación acética para los tratamientos T6, T9, T11 y T12 cumple con el parámetro de 2,8 establecido en la

norma NTE INEN 2296 (2003), porque la fermentación se realizó a temperaturas de 25°C y 30°C ya que el desarrollo de las bacterias acéticas es mejor en estos niveles de temperatura, obteniéndose los mejores resultados para estos tratamientos.

Tabla 19. Análisis de la varianza de pH final del vinagre

F de V	GL	SC	CM	Fc		Tabulares	
Total	35	2,65				1%	5%
Tratamientos	11	2,18	0,2	10,03	**	3,19	2,265
A	1	0,16	0,16	8,11	**	7,94	4,3
B	1	0,05	0,05	2,76	NS	7,94	4,3
AxB	1	0,05	0,05	2,76	NS	7,94	4,3
C	2	1,19	0,6	30,27	**	5,72	3,44
AxC	2	0,11	0,25	12,72	**	5,72	3,44
BxC	2	0,09	0,05	2,38	NS	5,72	3,44
AxBxC	2	0,12	0,06	2,97	NS	5,72	3,44
E.Exp	24	0,47	0,02				

CV= 4,67%

NS: No significativo

*: Significativo

**: Altamente significativo

Al analizar la varianza de pH, se observó que existe alta significación estadística para: tratamientos, factor A (Mosto alcohólico), factor C (Temperatura) e interacción de factores AxC. Por lo que se considera que el pH influye en la obtención del vinagre.

Al existir diferencia significativa se procedió a realizar las pruebas de Tukey para tratamientos y DMS para los factores A y C.

Tabla 20. Prueba DMS para el factor A (Mosto alcohólico)

A	Medias	Rangos
A2	2,98	a
A1	3,11	b

Al realizar DMS para el factor A (Mosto alcohólico), se observó que el nivel A2 (Mosto de pulpa de piña) y A1 (Mosto de cáscaras y corazones) poseen rangos diferentes, esto se debe a que el pH final varía de acuerdo a la condición de la materia prima; presentando menor pH el nivel A2, cumpliendo con el parámetro de pH de 2,3 a 2,8 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

Esto se debe a que existe mayor producción de metabolitos por parte de las bacterias acéticas en la fermentación del mosto alcohólico de pulpa de piña ya que este posee mayor cantidad de alcohol en comparación con el mosto alcohólico de cáscaras y corazones, es decir, a mayor producción de ácido acético, el pH disminuye.

Tabla 21. Prueba DMS para el factor C (Temperatura)

C	Medias	Rangos
C3	2,86	a
C2	2,98	a
C1	3,29	b

Al realizar DMS para el factor C (Temperatura), se observó que los niveles C2 (25°C) y C3 (30°C) poseen rangos iguales, pero difieren con respecto a C1 (20°C), esto se debe a que la temperatura influye en la variable pH ya que en estos dos niveles la producción de ácido acético por parte de las bacterias es mayor en comparación con C1 (20°C).

Según Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C. Por lo tanto, de acuerdo con la información descrita y los resultados obtenidos en esta investigación se concuerda, que mientras mayor es la temperatura de fermentación, se incrementa la acidez y el pH disminuye.

Tabla 22. Prueba de Tukey para tratamientos

Tratamientos	A	B	C	Medias	Rangos
T12	A2	B2	C3	2,8	a
T9	A2	B1	C3	2,8	a
T6	A1	B2	C3	2,83	a
T11	A2	B2	C2	2,83	a
T5	A1	B2	C2	2,93	a
T2	A1	B1	C2	2,97	a
T1	A1	B1	C1	2,97	a
T3	A1	B1	C3	3	a
T4	A1	B2	C1	3,17	b
T8	A2	B1	C2	3,2	b
T10	A2	B2	C1	3,47	b
T7	A2	B1	C1	3,57	b

Al realizar la prueba de tukey se observó que los tratamientos: T12 (Mosto de pulpa de piña, sin agitación a 30°C), T9 (Mosto de pulpa de piña, con agitación a 30°C), T6 (Mosto de cáscaras y corazones, sin agitación a 30°C), T11 (Mosto de pulpa, sin agitación a 25°C), T5

(Mosto de cáscaras y corazones sin agitación a 25°C), T2 (Mosto de cáscaras y corazones, con agitación a 25°C), T1 (Mosto de cáscaras y corazones, con agitación a 20°C) y T3 (Mosto de cáscaras y corazones, con agitación a 30°C) se encuentran dentro de un mismo rango (a), es decir que su comportamiento estadístico es igual, pero en esta investigación, los tratamientos que cumplieron con el parámetro de pH de 2,8 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003), fueron: T6, T9, T11 y T12, porque la fermentación se realizó a temperaturas de 25°C y 30°C obteniéndose mejores resultados con estas temperaturas y en menor tiempo.

4.4.1.1 Interacción AxC

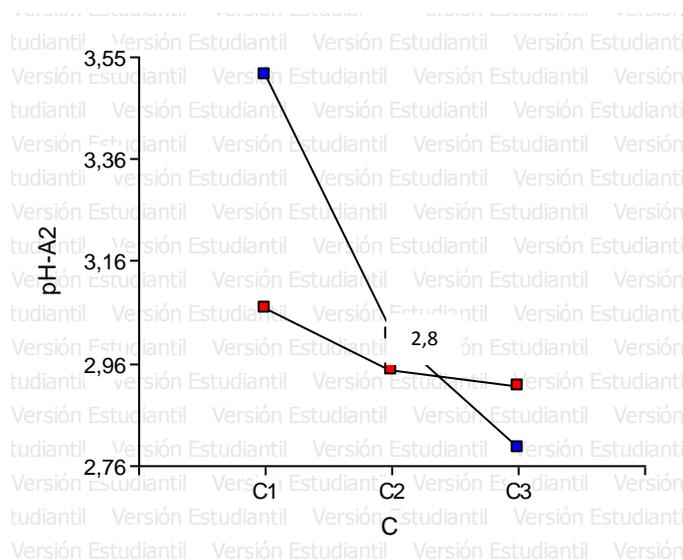


Gráfico 2. Interacción de los factores A (Mosto alcohólico) y C (Temperatura) en la variable pH final.

Al graficar la interacción A (Mosto alcohólico) y C (Temperatura) para el vinagre, se observó que A2 (Mosto alcohólico de pulpa de piña) con los niveles C2 (25°C) y C3 (30°C) se obtiene como pH óptimo al final de la fermentación el punto 2,8.

Según Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C. Por lo tanto, de acuerdo con la información descrita y los resultados obtenidos en esta investigación se concuerda con lo enunciado por este autor, ya que mientras mayor es la temperatura de fermentación, menor es el pH.

En la investigación se demostró que mientras mayor fue la temperatura y mayor fue el grado de alcohol obtenido en la fermentación alcohólica, mayor fue la producción de metabolitos por parte de las bacterias acéticas en el proceso de fermentación acética; por lo que la

producción de acidez subió y el pH disminuyó ya que existe una relación inversamente proporcional entre estas dos variables, es decir, a mayor acidez menor pH, todo esto en menor tiempo ya que el objetivo de esta investigación fue obtener un producto en el menor tiempo posible.

4.4.1.2 Curva de pH vs. Tiempo

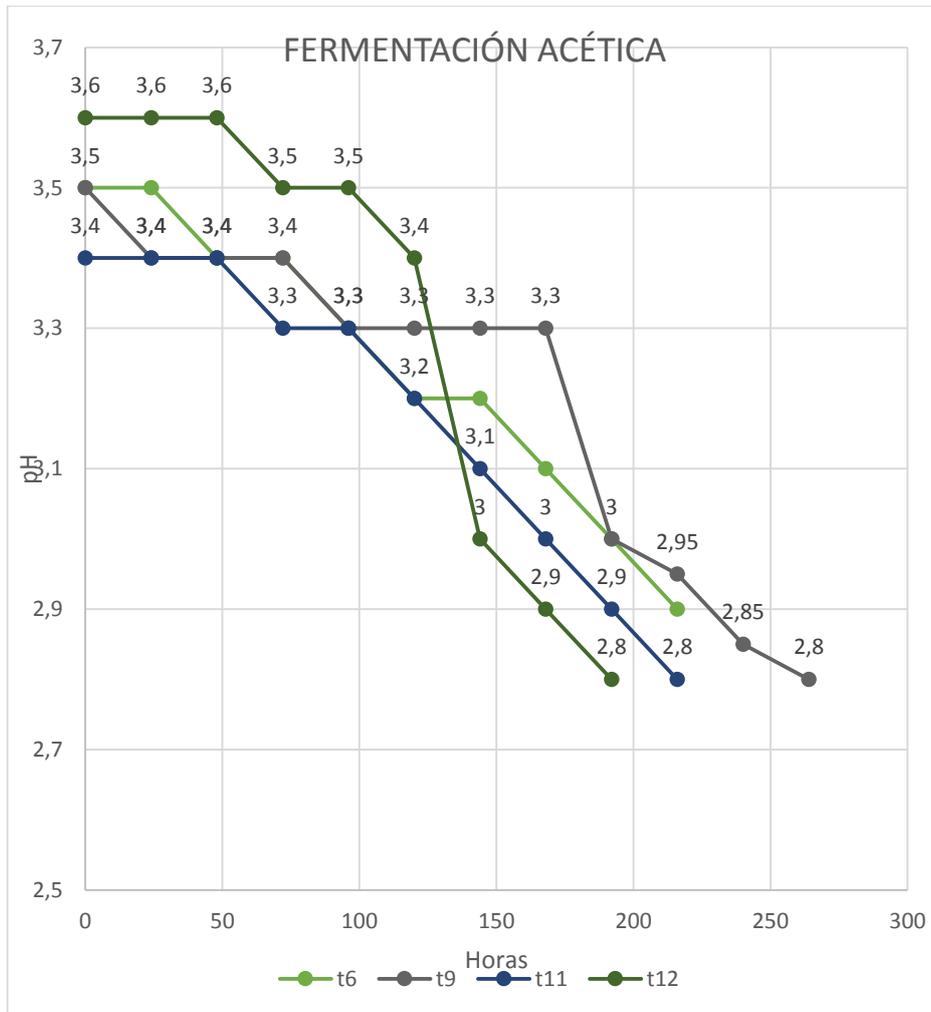


Gráfico 3. pH en la elaboración de vinagre

En el gráfico se resume cómo se redujeron los valores de pH, según la tabla de tukey, los tratamientos del rango (a) durante la fermentación (260 horas), los mejores tratamientos fueron: T6, T9, T11 y T12.

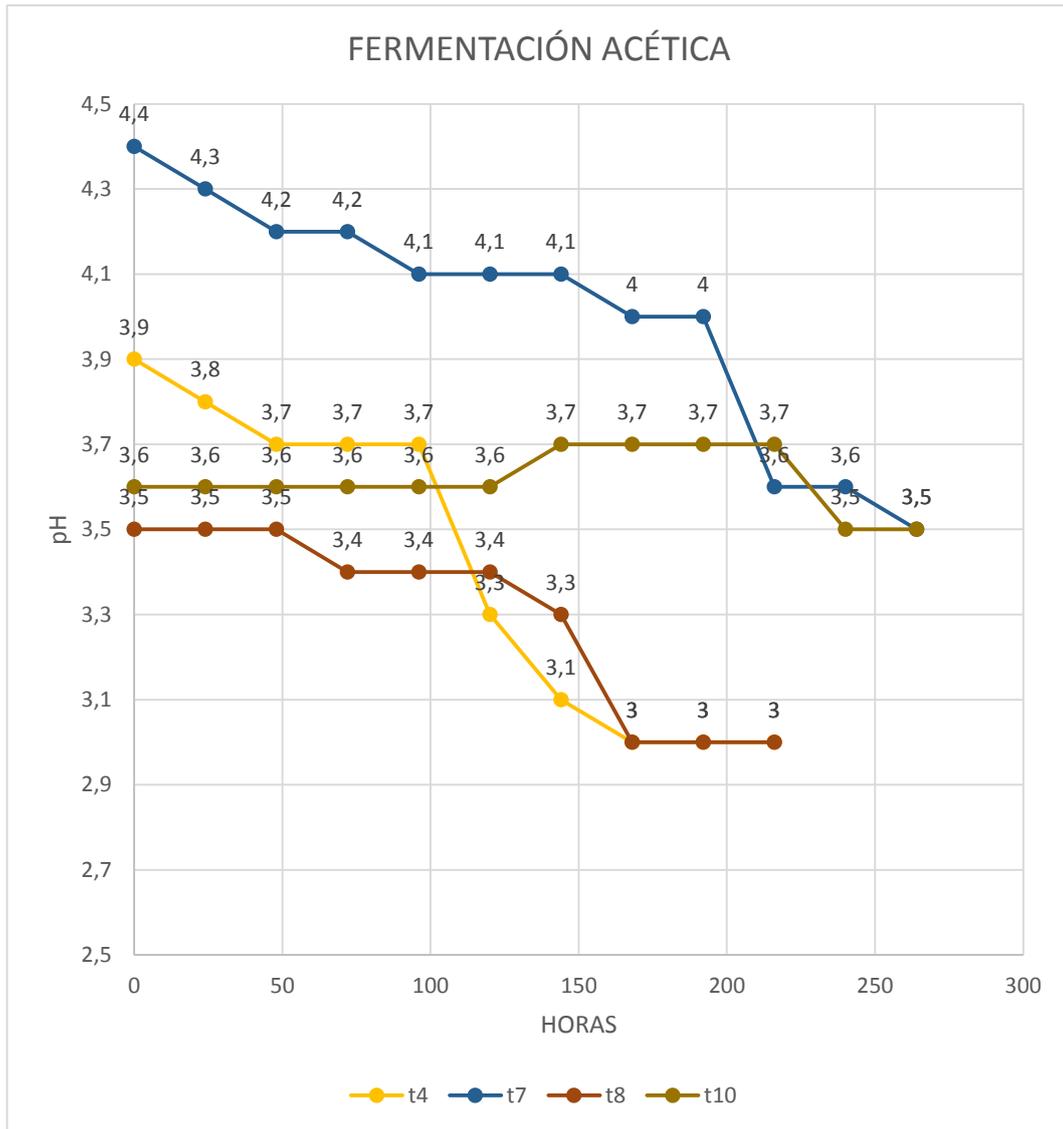


Gráfico 4. pH en la elaboración de vinagre

En el gráfico se observó el comportamiento de pH durante la fermentación (260 horas) para los tratamientos: T4, T7, T8 y T10 que se encontraron el rango (b) según la tabla de tukey.

4.4.2 DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO FINAL DEL VINAGRE

Tabla 23. Promedio del grado alcohólico final del vinagre

Tratamientos		I	II	III	MEDIA
T1	A1B1C1	1,3	1,2	1,2	1,2
T2	A1B1C2	1,25	1,2	1,3	1,3
T3	A1B1C3	1	1	1	1,0
T4	A1B2C1	1,3	1,2	1,2	1,2
T5	A1B2C2	0,9	0,9	0,8	0,9
T6	A1B2C3	1,3	1,2	1,2	1,2
T7	A2B1C1	1,2	1	1,2	1,1
T8	A2B1C2	1,25	1,2	1,3	1,3
T9	A2B1C3	0,9	1	0,95	1,0
T10	A2B2C1	1,3	1,25	1,2	1,3
T11	A2B2C2	0,8	0,9	0,9	0,9
T12	A2B2C3	1	0,9	0,9	0,9
SUMA					1,1

Al realizar la tabla, se consideró que los mejores tratamientos fueron aquellos en los que se observó que el Grado de alcohol final en la fermentación acética cumple con el parámetro de máximo 1°GL establecido en la norma NTE INEN 2296, (2003).

Los mejores tratamientos según el comportamiento del grado de alcohol fueron: T3, T5, T9, T11 y T12, siendo estos valores los más adecuados en obtención de vinagre.

Tabla 24. Análisis de la varianza del grado alcohólico final del vinagre

F de V	GL	SC	CM	Fc		Tabulares	
Total	35	0,96				1%	5%
Tratamientos	11	0,87	0,08	21,99	**	3,19	2,265
A	1	0,05	0,05	13	**	7,94	4,3
B	1	0,05	0,05	13	**	7,94	4,3
AxB	1	0,004	0,004	1,23	NS	7,94	4,3
C	2	0,23	0,12	32,25	**	5,72	3,44
AxC	2	0,05	0,03	6,94	**	5,72	3,44
BxC	2	0,44	0,22	60,83	**	5,72	3,44
AxBxC	2	0,05	0,03	7,29	**	5,72	3,44
E.Exp	24	0,09	0,036				

CV= 4,61%

NS: No significativo

*: Significativo

** : Altamente significativo

Al analizar la varianza de grado alcohólico, se observó que existe alta significación estadística para: tratamientos, factor A (Mosto alcohólico), factor B (Agitación), factor C (Temperatura), interacción de factores AxC e interacción AxBxC. Por lo que se considera que el grado alcohólico influye en la obtención del vinagre.

Al existir diferencia significativa se procedió a realizar las pruebas de Tukey para tratamientos y DMS para los factores A, B y C.

Tabla 25. Prueba DMS para el factor A (Mosto alcohólico)

A	Medias	Rango
A2	1,06	a
A1	1,14	b

Al realizar DMS para el factor A (Mosto alcohólico), se observó que el nivel A2 (Mosto de pulpa de piña) y A1 (Mosto de cáscaras y corazones) poseen rangos diferentes, esto se debe a que el grado alcohólico final varía de acuerdo a la condición de la materia prima, presentando menor °GL el nivel A2 cumpliendo con el parámetro de máximo 1°GL establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

Esto es porque existe mayor cantidad de alcohol en el mosto alcohólico de pulpa de piña; por lo tanto, las bacterias acéticas lo desdoblán y producen gran cantidad de metabolitos en la fermentación acética disminuyendo el porcentaje de alcohol en el producto final.

Según Llaguno y Polo (1991), menciona que, es aconsejable para obtener buenas fermentaciones acéticas, una concentración de alcohol de 10 a 13 %, y con el empleo de concentraciones muy bajas como inferiores a 1 o 2 % se oxidan los ésteres y el ácido acético con pérdida de aroma y sabor.

En esta investigación no se obtuvieron valores de alcohol en el mosto alcohólico que estén entre 10 y 13% pero de la misma manera los datos no fueron inferiores a 2%, estando en un rango de 3 a 10, presentándose las características propicias para lograr una fermentación según la información que detalla el autor y según los resultados que se obtuvieron.

Tabla 26. Prueba DMS para el factor B (Agitación)

B	Medias	Rango
B2	1,06	a
B1	1,14	b

Al realizar DMS para el factor B (Agitación), se observó que el nivel B1 (Con agitación) y B2 (Sin agitación) poseen rangos diferentes, esto se debe a que el grado de alcohol final en

la fermentación acética varía por la agitación que se realiza en el proceso de elaboración de vinagre, demostrándose que existe menor °GL para el nivel B2.

Según Rhodes y Fletcher (2005), el objetivo principal de la agitación es desintegrar las burbujas de aire y mantener un intercambio adecuado de nutrientes entre el caldo y el organismo e impedir la formación de bolsas que pueden situarse en las paredes del fermentador. En esta investigación se determinó que la fermentación acética es mejor realizarla sin agitación para reducir el tiempo de fermentación ya que al brindar agitación, la fermentación se produce pero en mayor tiempo, debido que al realizar este procedimiento se rompe la película formada por los microorganismos en la superficie del medio, lo cual impide el consumo de aire propicio para esta fermentación. Sin embargo, esto no quiere decir que la fermentación acética no pueda llevarse a cabo.

Tabla 27. Prueba DMS para el factor C (Temperatura)

C	Medias	Rango
C3	1,03	a
C2	1,06	a
C1	1,21	b

Al realizar DMS para el factor C (Temperatura), se observa que los niveles C2 (25°C) y C3 (30°C) poseen rangos iguales, pero difieren con respecto a C1 (20°C) esto se debe a que la temperatura influye en la variable grado de alcohol porque con niveles mayores a 20°C el comportamiento de las bacterias acéticas es mejor, es decir, que la producción de metabolitos para la fermentación acética es mayor a medida que se incrementa la temperatura sin exceder el límite de 31°C según Romo (2011).

Según Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C. Por lo tanto, de acuerdo con esta información y los resultados obtenidos se determinó, que mientras mayor es la temperatura de fermentación, mayor es el consumo de alcohol y mayor es la producción de ácido acético.

Tabla 28. Prueba de Tukey para tratamientos

Tratamientos	A	B	C	Medias	Rango
T5	A1	B2	C2	0,87	a
T11	A2	B2	C2	0,87	a
T12	A2	B2	C3	0,93	a
T9	A2	B1	C3	0,95	a
T3	A1	B1	C3	1	b
T7	A2	B1	C1	1,13	c
T1	A1	B1	C1	1,23	c
T4	A1	B2	C1	1,23	c
T6	A1	B2	C3	1,23	c
T2	A1	B1	C2	1,25	c
T10	A2	B2	C1	1,25	c
T8	A2	B1	C2	1,25	c

Al realizar la prueba de tukey se observó que los tratamientos: T5 (Mosto de cáscaras y corazones sin agitación a 25°C), T11 (Mosto de pulpa, sin agitación a 25°C), T12 (Mosto de pulpa de piña, sin agitación a 30°C) y T9 (Mosto de pulpa de piña, con agitación a 30°C), se encuentran dentro de un mismo rango (a), es decir que su comportamiento estadístico es igual, cumpliendo con el parámetro de °GL de máximo 1 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003); por ende son los mejores tratamientos.

Esto se debe a que la producción de metabolitos en la fermentación acética fue mayor para estos tratamientos en comparación con los tratamientos que no cumplen con la norma los cuales son: T1, T2, T4, T6, T7, T8 Y T10.

4.4.2.1 Interacción AxC

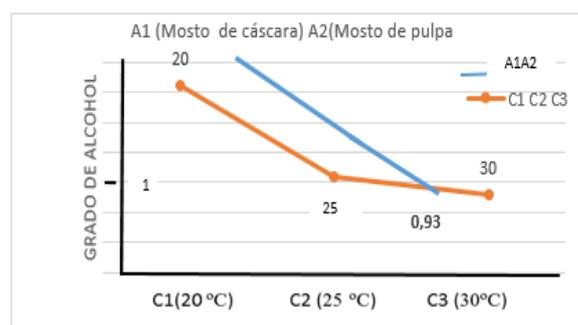


Gráfico 5. Interacción de los factores A (Mosto alcohólico) y C (Temperatura) en la variable grado alcohólico final.

Al graficar la interacción A (Mosto alcohólico) y C (Temperatura) para el vinagre, se observó que con A2 (Mosto alcohólico de pulpa de piña) y C3 (30°C) se obtiene como °GL óptimo al final de la fermentación el punto 0,93.

En la interacción de los factores al final de la fermentación acética, la gráfica demostró que el mosto alcohólico y la temperatura influyen en las características finales del vinagre.

Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C. Esto en cualquier rango de alcohol no inferior a 2 como indica Llaguno y Polo (1991).

Se concuerda con Romo (2011), ya que este proyecto plantea temperaturas dentro del rango establecido por el autor mencionado, pero, para efecto de esta investigación mientras mayor fue la temperatura y mayor fue el grado de alcohol obtenido en la fermentación alcohólica, mayor fue la producción de metabolitos por parte de los microorganismos en el proceso de fermentación acética; por lo que la producción de acidez subió y el pH disminuyó ya que existe una relación inversamente proporcional entre estas dos variables como se demuestra en los resultados obtenidos, es decir, a mayor acidez menor pH, cumpliendo con el objetivo de obtener un producto en el menor tiempo posible.

4.4.2.2 Interacción BxC

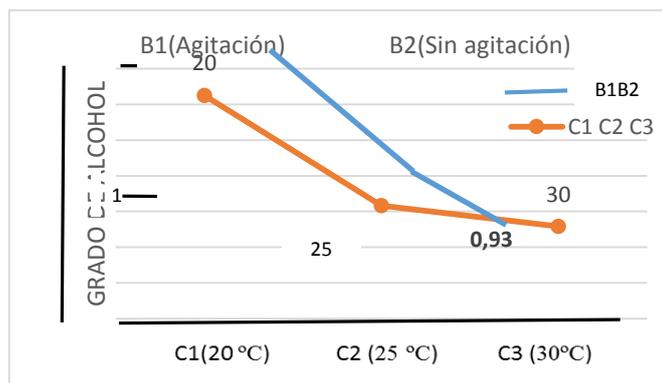


Gráfico 6. Interacción de los factores B (Agitación) y C (Temperatura) en la variable grado alcohólico final.

Al graficar la interacción B (Agitación) y C (Temperatura) para el vinagre, se observó que con B2 (Sin agitación) y C3 (30°C) se obtiene como °GL óptimo al final de la fermentación el punto 0,93.

En la interacción de los factores al final de la fermentación, la gráfica indicó que la Agitación y la Temperatura influyen en las características del vinagre.

Según Rhodes y Fletcher (2005), el objetivo principal de la agitación es desintegrar las burbujas de aire y mantener un intercambio adecuado de nutrientes entre el caldo y el organismo e impedir la formación de bolsas que pueden situarse en las paredes del fermentador. Sin embargo en esta investigación se determina que la fermentación acética es

mejor realizarla sin agitación para reducir el tiempo de fermentación ya que al brindar agitación se rompe la película formada por los microorganismos en la superficie del medio, lo cual impide el consumo de aire propicio para este proceso. Sin embargo, esto no quiere decir que la fermentación acética no pueda llevarse a cabo.

Según Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C pero, para efecto de esta investigación se determinó que mientras mayor fue la temperatura, mayor fue la producción de metabolitos por parte de las bacterias acéticas en el proceso de fermentación acética.

4.4.2.3 Curva de grado alcohólico vs. Tiempo

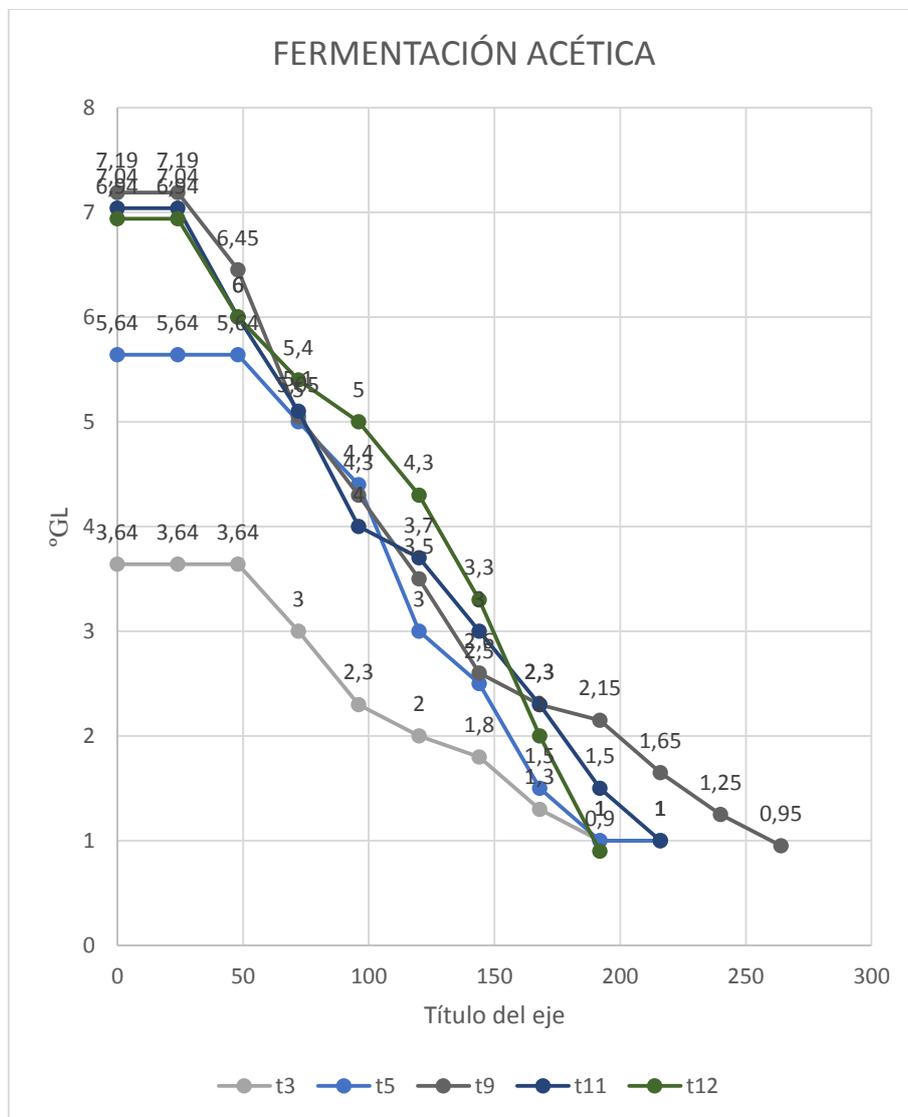


Gráfico 7. Grado alcohólico en la elaboración de vinagre

En el gráfico se observó un resumen del comportamiento del grado alcohólico durante el tiempo de fermentación, en el cual se determinó que los mejores tratamientos fueron: T9,

T11 y T12 donde los valores del grado alcohólico tienden a disminuir durante el transcurso de las horas, esto se debe a que el mosto alcohólico pierde su poder fermentativo por la acción de las bacterias acéticas *Acetobacter aceti*.

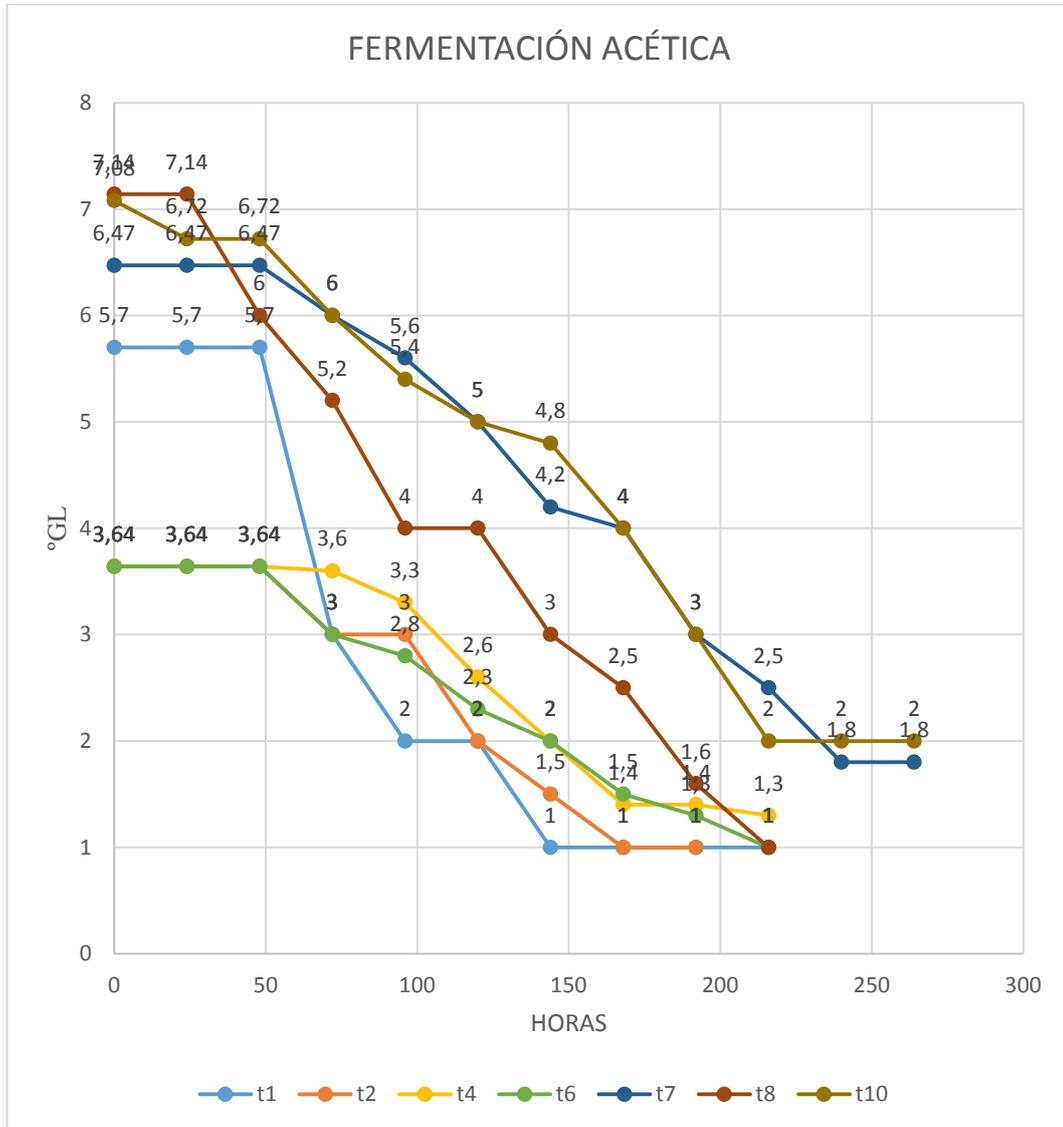


Gráfico 8. Grado alcohólico en la elaboración de vinagre

En el gráfico se observó el comportamiento de grado alcohólico durante la fermentación (260 horas) para los tratamientos: T1, T2, T4, T6, T7, T8 y T10, que se encontraron el rango (b) según la tabla de tukey.

4.4.3 DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ FINAL DEL VINAGRE

Tabla 29. Promedio de la acidez final del vinagre

Tratamientos		I	II	III	MEDIA
T1	A1B1C1	2,5	2,3	2,4	2,4
T2	A1B1C2	3,1	3,4	3	3,2
T3	A1B1C3	3,5	3,8	3,9	3,7
T4	A1B2C1	3,2	2,9	2,8	2,9
T5	A1B2C2	3,7	3,8	3,9	3,8
T6	A1B2C3	3,6	3,8	3,9	3,7
T7	A2B1C1	3,4	3,6	3,2	3,4
T8	A2B1C2	2,8	3,2	2,6	2,9
T9	A2B1C3	4,05	4,3	4,3	4,2
T10	A2B2C1	2,8	3	3	2,9
T11	A2B2C2	4	4	4	4
T12	A2B2C3	4,2	4,1	4,1	4,1
SUMA					3,4

Al realizar la tabla, se observó que la acidez final en la fermentación acética cumple con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003) para los tratamientos T9, T11 y T12 determinándose como los mejores tratamientos, siendo estos valores los más adecuados para la obtención de vinagre.

Tabla 30. Análisis de la varianza de la acidez final del vinagre

F de V	GL	SC	CM	Fc		Tabulares	
						1%	5%
Total	35	11,75					
Tratamientos	11	11,06	1,01	35,05	**	3,19	2,265
A	1	0,74	0,74	25,69	**	7,94	4,3
B	1	0,83	0,83	28,77	**	7,94	4,3
AxB	1	0,11	0,11	3,68	NS	7,94	4,3
C	2	6,46	3,23	112,62	**	5,72	3,44
AxC	2	0,51	0,26	8,95	**	5,72	3,44
BxC	2	1,53	0,76	26,59	**	5,72	3,44
AxBxC	2	0,89	0,45	15,57	**	5,72	3,44
E.Exp	24	0,69	0,03				

CV= 4,91%

NS: No significativo

*: Significativo

** : Altamente significativo

Al analizar la varianza de acidez, se observó que existe alta significación estadística para: tratamientos, factor A (Mosto alcohólico), factor B (Agitación), factor C (Temperatura),

interacción de factores Ax C, interacción de factores Bx C e interacción Ax Bx C. Por lo que se considera que la acidez influye en la elaboración del vinagre.

Al existir diferencia significativa se procedió a realizar las pruebas de Tukey para tratamientos y DMS para los factores A, B y C.

Tabla 31. Prueba DMS para el factor A (Mosto alcohólico)

A	Medias	Rango
A1	3,31	a
A2	3,59	b

Al realizar DMS para el factor A (Mosto alcohólico), se observó que el nivel A2 (Mosto de pulpa de piña) y A1 (Mosto de cáscaras y corazones) poseen rangos diferentes, esto se debe a que el grado alcohólico final varía de acuerdo a la condición de la materia prima, presentando mayor acidez el nivel A2 cumpliendo con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

Esto es porque existe mayor cantidad de alcohol en el mosto alcohólico de pulpa de piña en comparación con el mosto alcohólico de cáscaras y corazones; por lo tanto, las bacterias acéticas actúan de mejor manera en este medio, mismas que lo desdoblán y producen gran cantidad de metabolitos en la fermentación acética incrementándose el porcentaje de acidez en el producto final, es decir, que a mayor consumo de alcohol en la fermentación acética por parte de los microorganismos metabolizantes como son las *Acetobacter aceti*, mayor es la producción de acidez en el vinagre.

Tabla 32. Prueba DMS para el factor B (Agitación)

B	Medias	Rango
B1	3,3	a
B2	3,6	b

Al realizar DMS para el factor B (Agitación), se observó que el nivel B1 (Con agitación) y B2 (Sin agitación) poseen rangos diferentes, esto se debe a que la acidez final en la fermentación acética varía por la agitación que se realiza en el proceso de elaboración de vinagre, demostrándose que existe mayor acidez para el nivel B2 cumpliendo con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

Según Rhodes y Fletcher (2005), el objetivo principal de la agitación es desintegrar las burbujas de aire y mantener un intercambio adecuado de nutrientes entre el caldo y el

organismo e impedir la formación de bolsas que pueden situarse en las paredes del fermentador.

En esta investigación se determinó que la fermentación acética es mejor realizarla sin agitación para reducir el tiempo de fermentación ya que al brindar agitación, la fermentación se produce pero en mayor tiempo, debido que al realizar este procedimiento se rompe la película formada por los microorganismos en la superficie del medio, lo cual impide el consumo de aire propicio para esta fermentación. Sin embargo, esto no quiere decir que la fermentación acética no pueda llevarse a cabo.

Tabla 33. Prueba DMS para el factor C (Temperatura)

C	Medias	Rango
C1	2,93	a
C2	3,46	b
C3	3,96	c

Al realizar DMS para el factor C (Temperatura), se observa que los niveles C1 (20°C), C2 (25°C) y C3 (30°C) poseen rangos diferentes, esto se debe a que la temperatura influye en la variable acidez siendo el mejor nivel C3 cumpliendo con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

Esto es porque con niveles mayores a 20°C el comportamiento de las bacterias acéticas es mejor, es decir, que la producción de metabolitos para la fermentación acética es mayor a medida que se incrementa la temperatura sin exceder el límite de 31°C citados por Romo (2011).

Según Romo (2011) la temperatura ideal para el desarrollo de las bacterias acéticas va de 15 a 31°C. Se concuerda con lo enunciado por este autor, ya que este proyecto plantea temperaturas dentro del rango establecido por él pero, para efecto de esta investigación mientras mayor fue la temperatura, mayor fue la producción de metabolitos por parte de los microorganismos en el proceso de fermentación acética; por lo que la producción de acidez subió.

Tabla 34. Prueba de Tukey para tratamientos

Tratamientos	A	B	C	Medias	Rango
T1	A1	B1	C1	2,4	a
T8	A2	B1	C2	2,87	a
T10	A2	B2	C1	2,93	b
T4	A1	B2	C1	2,97	b
T2	A1	B1	C2	3,17	c
T7	A2	B1	C1	3,4	c
T3	A1	B1	C3	3,73	d
T6	A1	B2	C3	3,77	d
T5	A1	B2	C2	3,8	d
T11	A2	B2	C2	4	e
T12	A2	B2	C3	4,13	e
T9	A2	B1	C3	4,22	e

Al realizar la prueba de tukey se observó que los tratamientos: T11 (Mosto de pulpa, sin agitación a 25°C), T12 (Mosto de pulpa de piña, sin agitación a 30°C) y T9 (Mosto de pulpa de piña, con agitación a 30°C), se encuentran dentro de un mismo rango (e), es decir que su comportamiento estadístico es igual cumpliendo con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

4.4.3.1 Interacción AxC

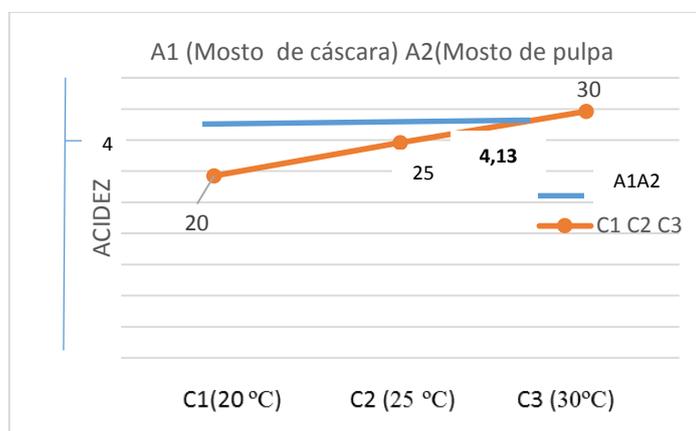


Gráfico 9. Interacción de los factores A (Mosto alcohólico) y C (Temperatura) en la variable acidez final.

Al graficar la interacción A (Mosto alcohólico) y C (Temperatura) para el vinagre, se observó que A2 (Mosto alcohólico de pulpa de piña) y C3 (30°C) se obtiene como acidez óptima al final de la fermentación en el punto 4,13; cumpliendo con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

En la interacción de los factores A y C al final de la fermentación acética, la gráfica demostró que el mosto alcohólico y la temperatura influyen en las características finales del vinagre.

Según Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C. Se concuerda con lo enunciado por el autor, ya que este proyecto plantea temperaturas dentro del rango establecido pero, para efecto de esta investigación determinamos que, mientras mayor fue la temperatura y mayor fue el grado de alcohol obtenido en la fermentación alcohólica, mayor fue la producción de metabolitos por parte de las bacterias acéticas en el proceso de fermentación acética; por lo que la producción de acidez fue alta, todo esto en menor tiempo cumpliendo con el objetivo de obtener un producto en el menor tiempo posible.

4.4.3.2 Interacción BxC

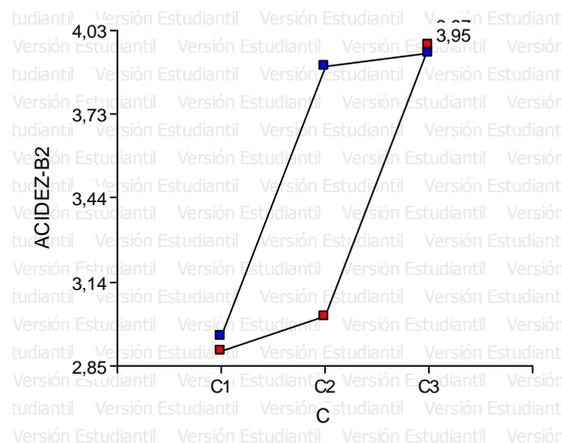


Gráfico 10. Interacción de los factores B (Agitación) y C (Temperatura) en la variable acidez final. Al graficar la interacción B (Agitación) y C (Temperatura) para el vinagre, se observó que con B2 (Sin agitación) y C3 (30°C) se obtiene como acidez óptima al final de la fermentación el punto 3,95 cumpliendo con el parámetro de acidez de 4 a 6 establecido en la norma NTE INEN 2296 (2003).

En la interacción de los factores al final de la fermentación, la gráfica indicó que la Agitación y la Temperatura influyen en el rendimiento del vinagre.

Según Rhodes y Fletcher (2005), el objetivo principal de la agitación es desintegrar las burbujas de aire y mantener un intercambio adecuado de nutrientes entre el caldo y el organismo e impedir la formación de bolsas que pueden situarse en las paredes del fermentador. Se concuerda con el autor ya que la fermentación acética se puede realizar tanto

con agitación como sin ella, sin embargo en esta investigación se determinó que la fermentación acética es mejor realizarla sin agitación para reducir el tiempo de fermentación.

Según Romo (2011), menciona que las bacterias acéticas se desarrollan a temperaturas de 15 a 31°C, y según los resultados obtenidos en esta investigación se determina que mientras mayor fue la temperatura, mayor fue la producción de metabolitos por parte de las bacterias acéticas en el proceso de fermentación acética.

4.4.3.3 Curva de % Acidez vs. Tiempo

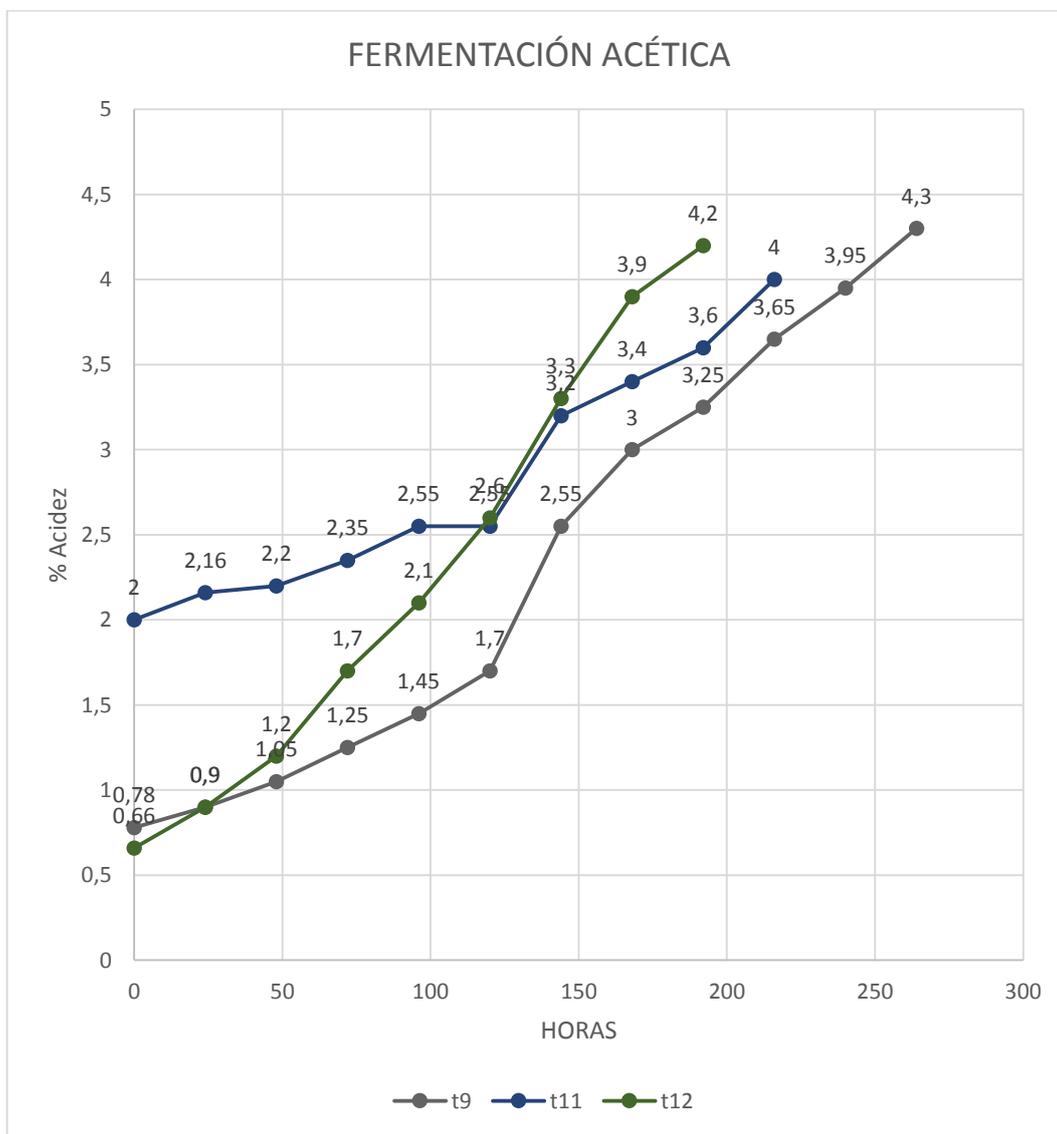


Gráfico 11. % de acidez en la elaboración de vinagre

En el gráfico se muestra un resumen del comportamiento del porcentaje de acidez durante el tiempo de fermentación acética, siendo los mejores tratamientos: T9, T11 y T12; en donde

los valores de acidez obtenidos se encontraron dentro del rango óptimo en la elaboración del vinagre.

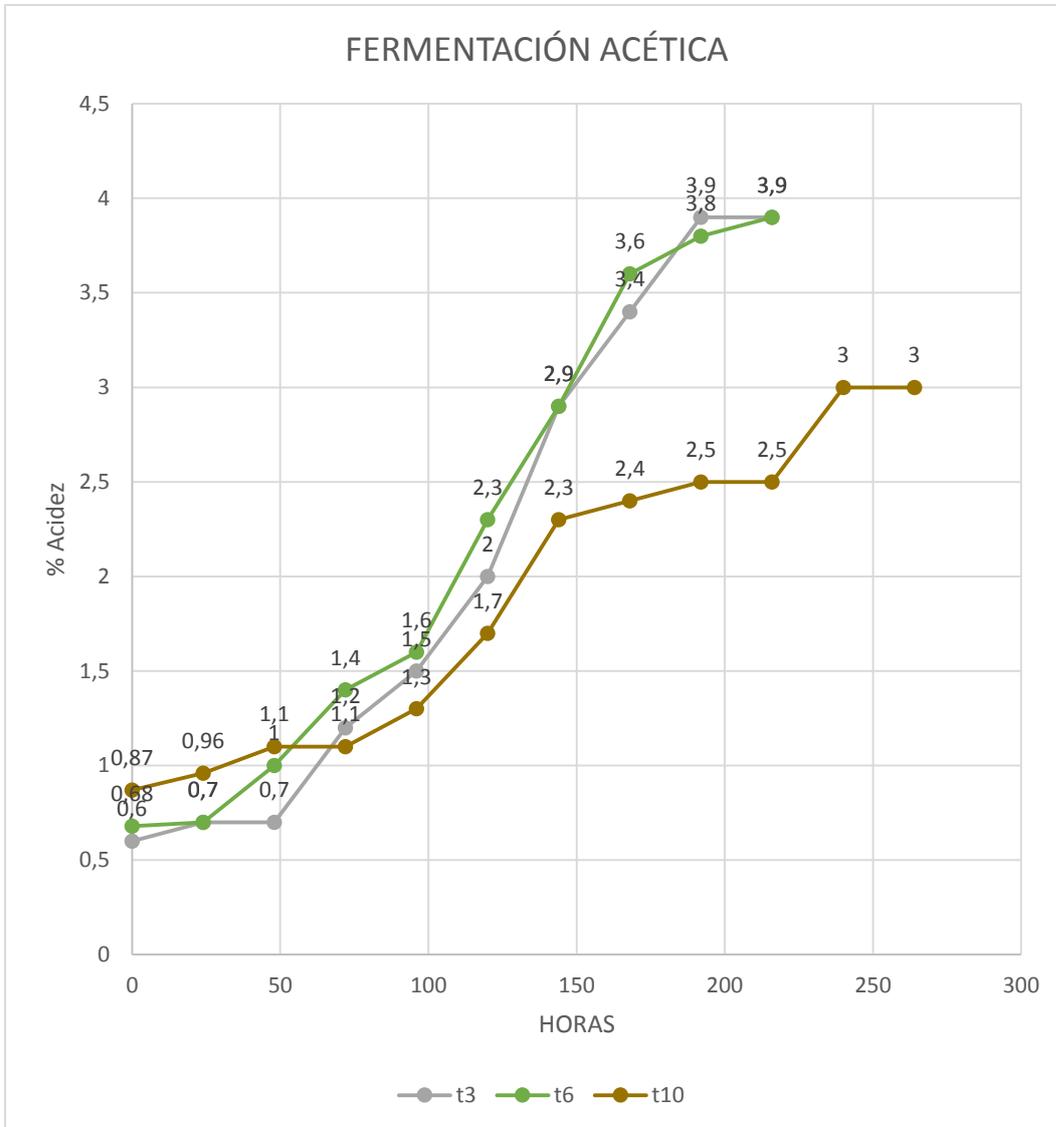


Gráfico 12. % de acidez en la elaboración de vinagre

En el gráfico se observó el comportamiento del porcentaje de acidez durante la fermentación (260 horas) para los tratamientos: T3, T6, y T10, que se encontraron en diferentes rangos según la tabla de tukey.

4.5 ANÁLISIS DE PARÁMETROS EVALUADOS EN EL VINAGRE

Tabla 35. Velocidad de acetificación

TRATAMIENTOS	VELOCIDAD DE ACETIFICACIÓN (g/l.h)
T1	0,19
T2	0,30
T3	0,33
T4	0,21
T5	0,35
T6	0,35
T7	0,26
T8	0,28
T9	0,32
T10	0,19
T11	0,32
T12	0,44

Según la tabla, se determinó en base al cálculo de la velocidad de acetificación, que los mejores tratamientos fueron: T5, T6 y T12.

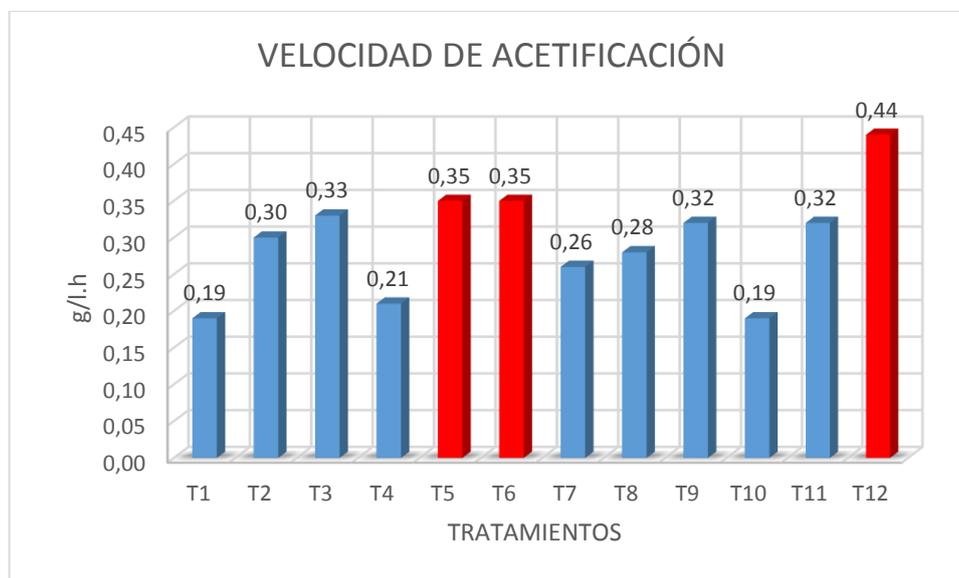


Gráfico 13. Velocidad de acetificación para tratamientos.

Tabla 36. Rendimiento (%)

TRATAMIENTOS	RENDIMIENTO Vol. (%)
T1	59,00
T2	68,25
T3	64,75
T4	40,50
T5	43,50
T6	49,00
T7	57,50
T8	32,26
T9	53,75
T10	65,00
T11	69,00
T12	67,25

Según la tabla, se determinó en base al cálculo del rendimiento en porcentaje de volumen, que los mejores tratamientos fueron: T2, T11 y T12.

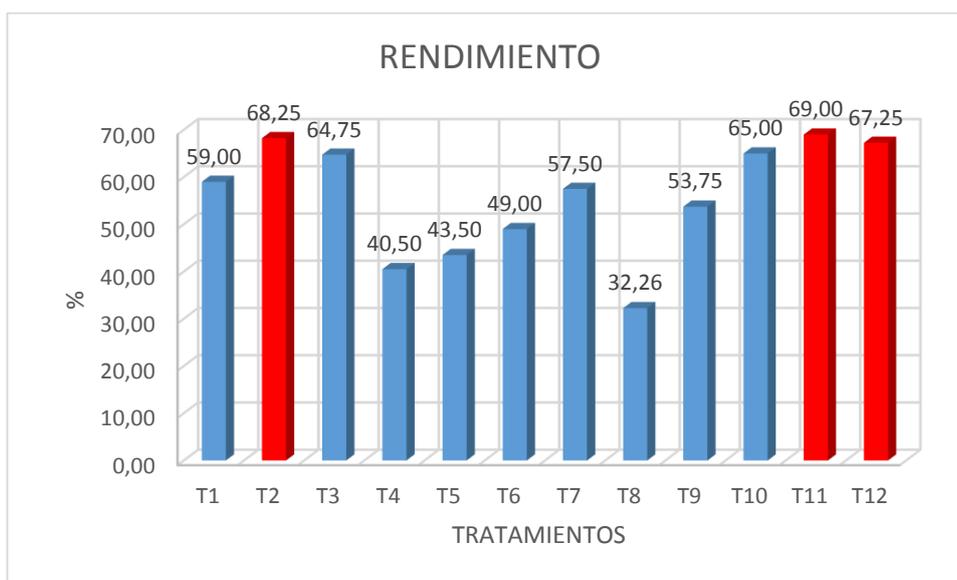


Gráfico 14. Rendimiento en volumen para tratamientos.

Tabla 37. Alcohol consumido

TRATAMIENTOS	ALCOHOL CONSUMIDO (°GL)
T1	1,58
T2	1,48
T3	1,78
T4	1,58
T5	1,88
T6	1,58
T7	3,25
T8	3,05
T9	3,35
T10	3,05
T11	3,45
T12	3,45

Según la tabla, se determinó en base al cálculo del alcohol consumido, que los mejores tratamientos fueron: T9, T11 y T12.



Gráfico 15. Alcohol consumido para tratamientos.

Tabla 38. Rendimiento

TRATAMIENTOS	RENDIMIENTO EN ÁCIDO ACÉTICO (%)
T1	1,06
T2	0,99
T3	1,19
T4	1,06
T5	1,26
T6	1,06
T7	2,18
T8	2,04
T9	2,24
T10	2,04
T11	2,31
T12	2,31

Según la tabla, se determinó en base al cálculo del rendimiento en ácido acético que los mejores tratamientos fueron: T9, T11 y T12.

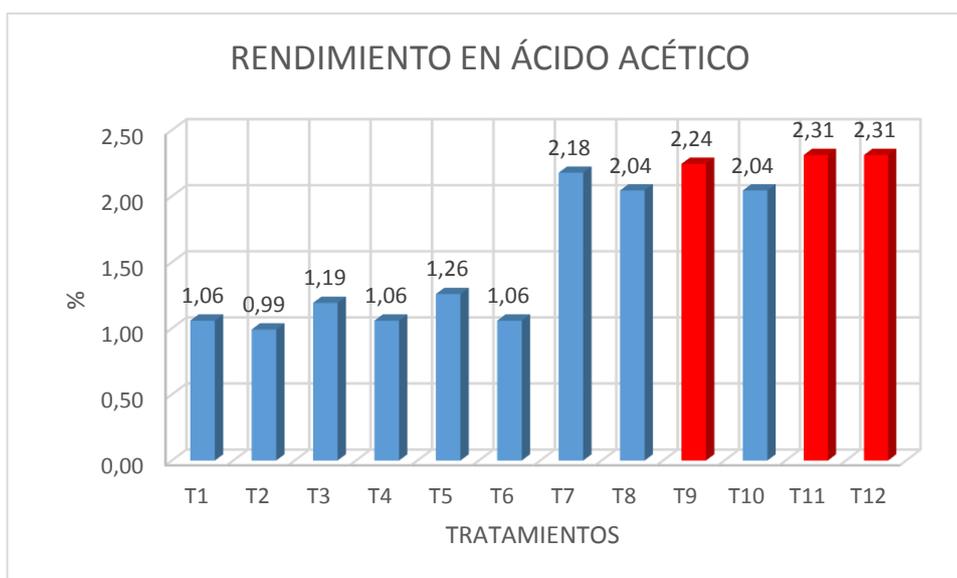
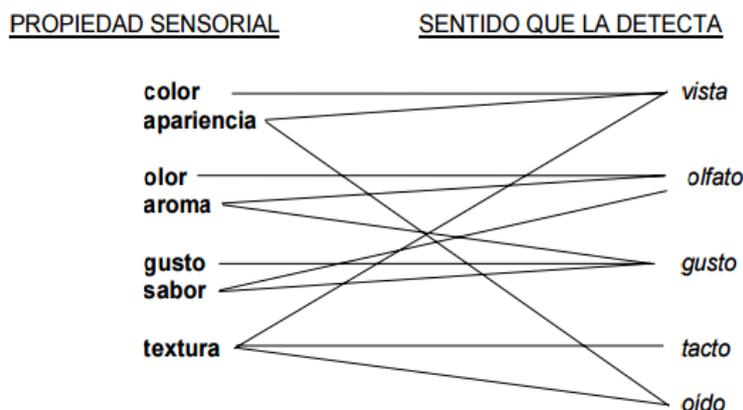


Gráfico 16. Rendimiento en ácido acético para tratamientos.

4.6 ANÁLISIS SENSORIAL DEL PRODUCTO TERMINADO

Para el análisis sensorial se tomó como referencia los siguientes descriptores organolépticos:



Fuente: (Reglero Rada, 2011)

Vista: la principal es el color. Es el primer “filtro” para la aceptación de un alimento ya que puede revelar normalidad o anomalías en un producto. También se aprecia la apariencia (forma, superficie, tamaño, rugosidad). El color de un objeto tiene tres características: tono, intensidad (depende de la concentración de las sustancias colorantes) y brillo (depende de la cantidad de luz reflejada que generalmente es función de las características superficiales). (Reglero Rada, 2011).

Olfato: Olor es la sensación debida a la percepción de sustancias volátiles por medio de la nariz. Las sustancias volátiles atraviesan la mucosa pituitaria y entran en contacto con las células que reconocen los olores y con las terminaciones nerviosas que los transmiten. Aroma es la sensación debida a la percepción de sustancias volátiles a través de la mucosa del paladar una vez que el alimento se ha introducido en la boca. Las sustancias volátiles se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe y llegan a la pituitaria a través de la Trompa de Eustaquio. No se puede evaluar el aroma sin introducir el material en la boca (no se debe decir “el aroma de las flores” a menos que se metan en la boca). El olor es el segundo “filtro” en la aceptación de los alimentos. (Reglero Rada, 2011).

Gusto: el gusto (también se le denomina “sabor básico”) de los alimentos es detectado por las papilas de la lengua. Hay cuatro sabores básicos: dulce, salado, ácido y amargo. También se denomina gusto o sabor básico a las combinaciones de los 4 anteriores. Sabor es una combinación de gusto y aroma, con mayor contribución del aroma (con la nariz tapada y sin circulación de aire por vía retro nasal no se puede apreciar el sabor. Solo se detectarían los

gustos o sabores básicos). El sabor es una sensación compleja que puede ser descompuesto en componentes o notas que pueden evaluarse por separado como son la apariencia y aceptabilidad. El gusto/sabor interacciona con la valoración sensorial de parámetros que afectan a otros sentidos. (Reglero Rada, 2011).

El análisis sensorial del producto terminado, se realizó con la finalidad de evaluar las características organolépticas tomando como referencia los siguientes aspectos: color.- característico de la materia prima utilizada, olor.- característico de la materia prima utilizada, sabor.- ácido-agridulce, agradable al paladar; aceptabilidad y apariencia (Anexo 11), para así determinar los tres mejores tratamientos según la degustación del panel catador que estuvo conformado por 15 personas.

Tabla 39. Análisis de Friedman vinagre de piña

VARIABLE	VALOR CALCULADO(X ²)	VALOR TABULAR (5%)	VALOR TABULAR (1%)	SIGN.	TRATAMIENTOS
COLOR	23,56	11,07	15,08	**	T12,T3 Y T9
OLOR	17,55	11,07	15,08	**	T12,T9 Y T11
SABOR	26,21	11,07	15,08	**	T12, T3 Y T9
ACEPTABILIDAD	18,07	11,07	15,08	**	T12, T3 Y T11
APARIENCIA	18,71	11,07	15,08	**	T12, T3 Y T11

Como se puede apreciar en el análisis de Friedman para las variables de la evaluación sensorial; color, olor, sabor, aceptabilidad y apariencia presentaron significación estadística, es decir que los degustadores detectaron diferenciación en los tratamientos T3, T9, T11 y T12 siendo el mejor tratamiento T12.

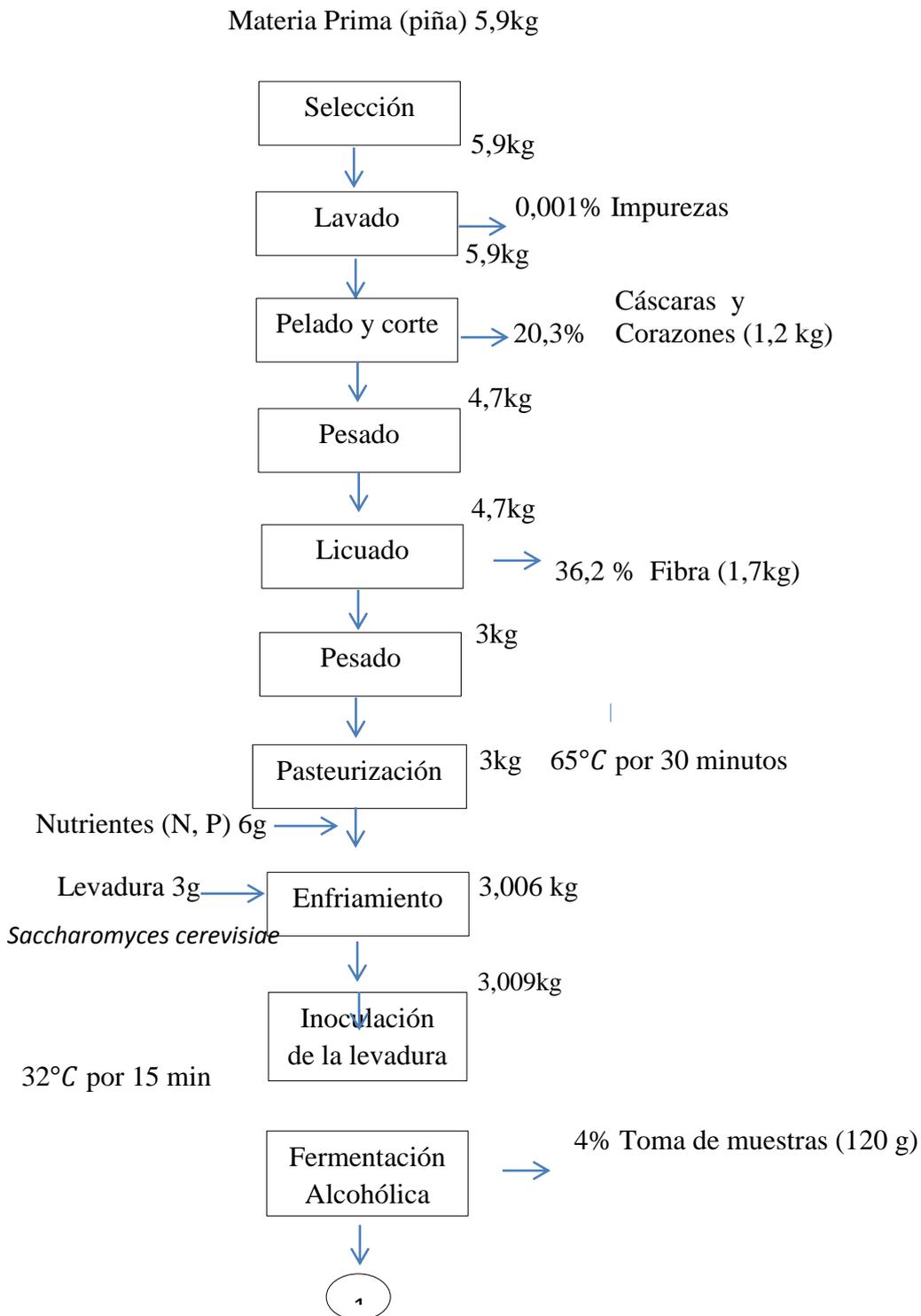
Se pudo comparar el vinagre de piña con el vinagre obtenido en la zona costera de nuestro país hecho a base de guineo y que es muy apetecido por los pobladores locales de esta región ya que le brinda buen sabor a las comidas y más. El problema para que este vinagre, a pesar de tener gran aceptabilidad por la gente, es que no es hecho bajo ninguna norma de calidad, por ende no se sabe cuáles son las características finales de este producto, además, el envasado se realiza en botellas que han sido utilizadas previamente y no en envases previamente esterilizados.

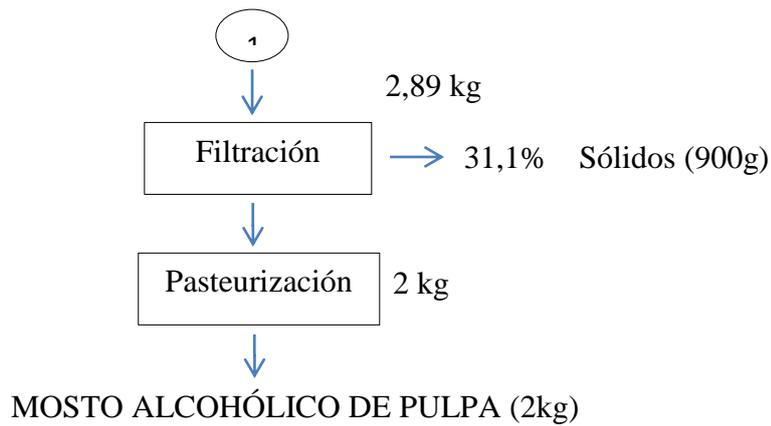
Por lo tanto, se determinó que el producto obtenido en esta investigación cumplió con las normas de calidad expuestas en el CODEX ALIMENTARIUS (CODEX STAN 162-1987)

el cual menciona que, el único vinagre aceptado para uso en la industria alimenticia es aquel producido a partir de productos idóneos que contengan almidón o azúcares que se sometan al proceso de doble fermentación, la alcohólica y acética, cumpliendo también con los parámetros establecidos en la norma NTE INEN 2296 (2003) para consumo humano.

4.7 BALANCE DE MASA

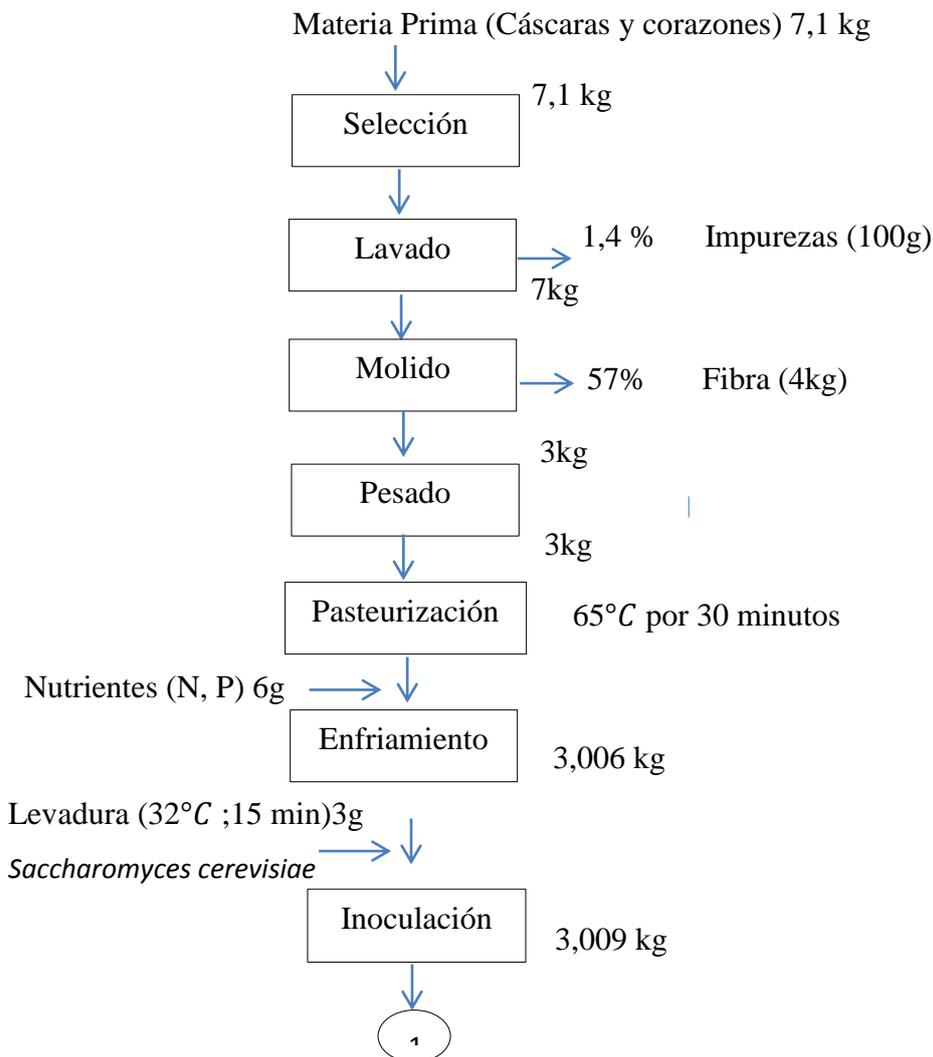
4.7.1 BALANCE DE MASA DEL MOSTO ALCOHÓLICO DE PULPA DE PIÑA

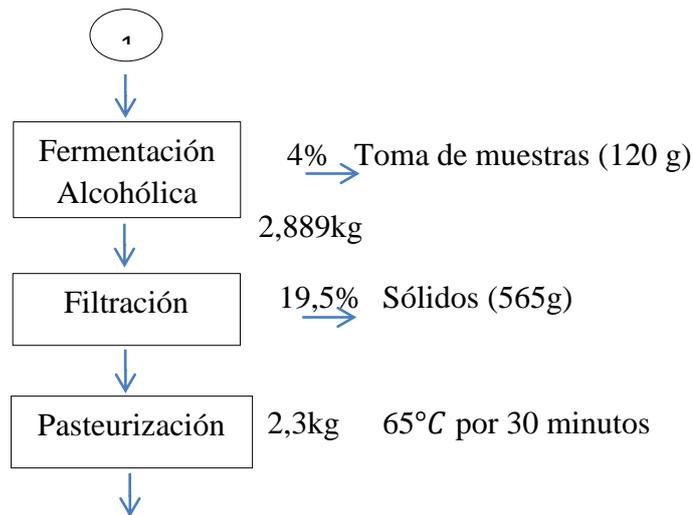




Luego de realizar el balance de materia para el mosto alcohólico de pulpa de piña (*Ananas comosus*) se obtuvo un rendimiento de 34% siendo un rango aceptable para esta investigación, ya que el 66% restante corresponde a los desperdicios (cáscara, semilla y a la cantidad de sedimentos presentes en el mosto fermentado y obtenidos en la filtración).

4.7.2 BALANCE DE MASA DEL MOSTO ALCOHÓLICO DE CÁSCARAS Y CORAZONES



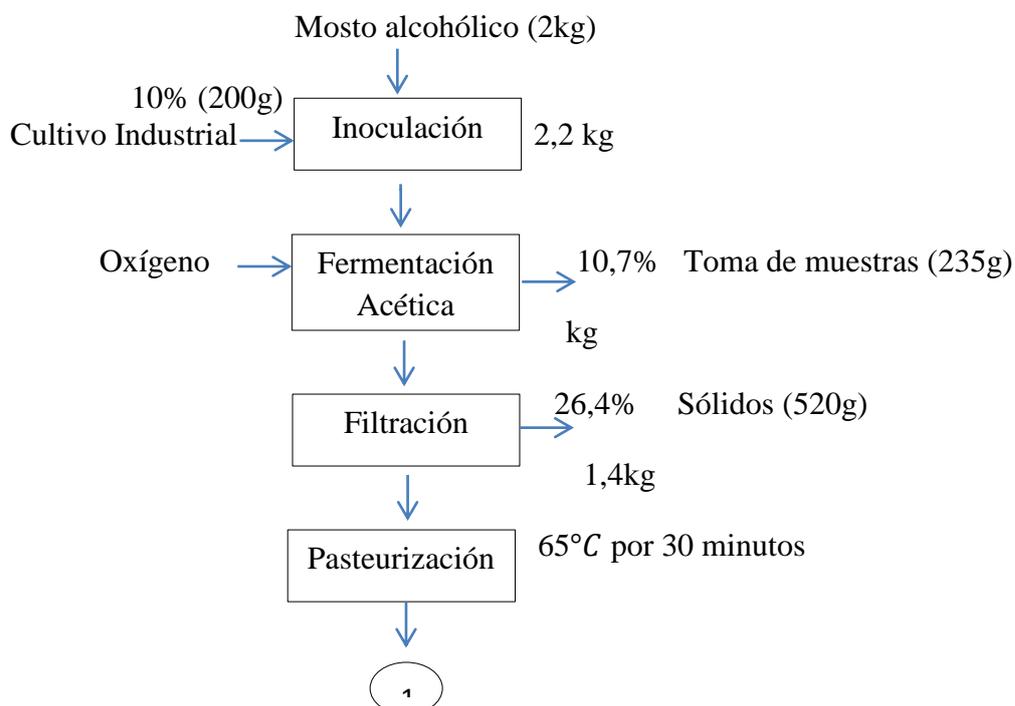


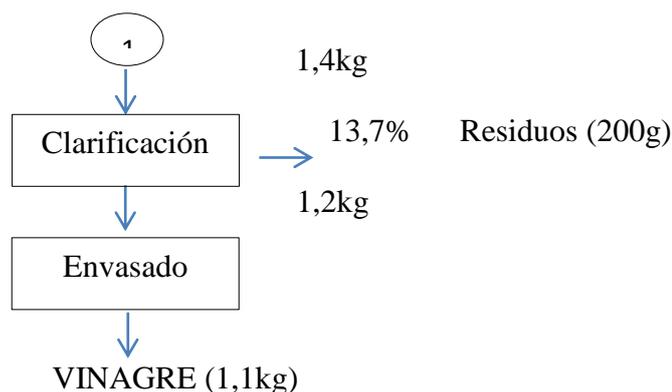
MOSTO ALCOHÓLICO DE CÁSCARAS Y CORAZONES (2,3kg)

Luego de realizar el balance de materia para el mosto alcohólico de cáscaras y corazones de piña (*Ananas comosus*) se obtuvo un rendimiento de 32,4% siendo un rango aceptable para esta investigación, ya que la materia prima no contiene suficiente jugo y para la obtención de el mismo se utilizó grandes cantidades; sin embargo el 67,6% restante corresponde a los desperdicios de cáscaras y corazones (fibra, semilla y a la cantidad de sedimentos presentes en el mosto fermentado).

4.7.3 BALANCE DE MASA DEL VINAGRE

De la cantidad total de mosto alcohólico obtenido, se tomó para cada tratamiento, 2 litros de la mezcla y se realizó la fermentación acética por separado para cada uno de los tratamientos debido a que la unidad experimental para esta investigación es de 2 litros de mosto alcohólico.





Luego de realizar el balance de materia para el vinagre de piña (*Ananas comosus*) se obtuvo un rendimiento de 65% siendo un rango aceptable para esta investigación, ya que el 35% restante corresponde a los desperdicios (toma de muestras y a la cantidad de sedimentos presentes en el mosto fermentado).

4.7.4 Costos de producción

Para producir 1000 ml de vinagre se ha realizado un balance de costos, los cuales están desglosados en el siguiente cuadro.

Tabla 40. Costos de producción de vinagre de piña

Balance de materiales para la producción de vinagre de piña (1000ml)				
		Unidades	Cantidad	Valor total (usd)
Materia prima	Piña(jugo)	ml	3000	5
Insumos	Levadura s. c.	g	3	0,05
	Fosfato de amonio monobásico	g	3	0,006
	Carbamida (úrea)	g	3	0,006
	Cultivo industrial	ml (%)	200 (10)	0,5
Reactivos	Hidróxido de sodio	ml	-	-
	fenolftaleína	ml	-	-
Otros	Luz eléctrica	Kwh	10,8 días (25,18)	1,00
	Agua potable	m ³	0,5	0,41
Total				6,97

Según el análisis de costos se puede observar que el obtener 1000ml de vinagre tiene un valor de 6,97 dólares, lo cual en comparación con un vinagre comercial que se encuentra en los mercados de la ciudad es mayor el costo debido a que este producto es realizado 100%

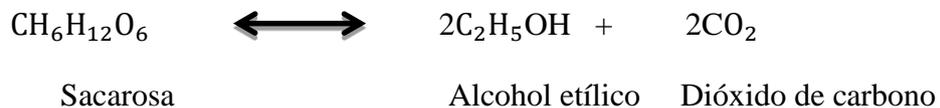
de forma natural sin adición de agua y edulcorantes que hacen que se abarate el costo de producción.

La presentación de 250 ml de un vinagre comercial tiene un valor de 0,70 dólares en los mercados de la ciudad, es decir la mitad menos de lo que valdría la misma presentación pero del vinagre obtenido en esta investigación. El valor se incrementa por la calidad con la que se encuentra el producto.

4.8 BALANCE ESTEQUIOMÉTRICO

- **Fermentación alcohólica:**

Reacción química que ocurre en el alcohol:



$$\text{CH}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 180 \text{ g/mol}$$

$$2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 92 \text{ g/mol}$$

Entonces:

$$180 \text{ g de } \text{CH}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \quad \longrightarrow \quad 92 \text{ g de } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$$

$$1 \text{ g } \text{CH}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \quad \longrightarrow \quad X$$

$X = 0,5111 \text{ g de Alcohol Etílico/ Glucosa consumida. RENDIMIENTO TEÓRICO.}$

Conversión Teórica: $1 \text{ g de Glucosa} \quad \longrightarrow \quad 0,51 \text{ g de Alcohol Etílico}$

Es decir, se tiene un rendimiento del 51,11% en Alcohol Etílico, con 300 g de glucosa consumida se obtiene 153 g de alcohol, según los rendimientos.

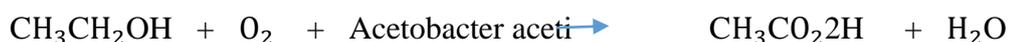
Entonces, con un mosto de 15°Brix con un rendimiento del 51,11%, se obtendrá un grado alcohólico:

$$X = 15 \times 0,5111$$

$$X = 7,65^\circ\text{GL}$$

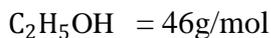
- **Fermentación acética**

Reacción química que ocurre en el vinagre:

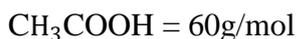


Alcohol etílico Oxígeno Bacteria Acética Ácido acético Agua

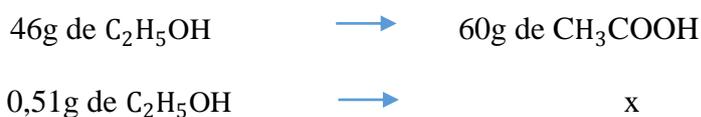
Al sumar los dos pesos moleculares se obtiene:



Suma: 78g/mol



Entonces:

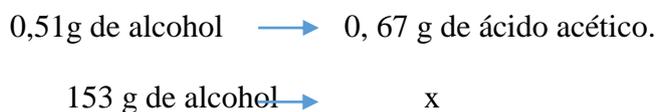


X = 0,6652 g de CH₃COOH. RENDIMIENTO TEÓRICO

Es decir, se tiene un rendimiento del 67% en ácido acético. **RENDIMIENTO TEÓRICO**

Conversión teórica: 0,51g de Alcohol Etílico \longrightarrow 0,67 g de Ácido acético

Si se dispone de 153g de alcohol, si el rendimiento es de 67% de ácido acético, entonces se obtendrá:



X = 201 g de ácido acético. RENDIMIENTO TEÓRICO

Prácticamente, cuando se usan frutas como materia prima para la producción de vinagre, se obtienen del 85 al 90% del rendimiento teórico en la reacción alcohólica y del 77 al 84% en la acetificación.

4.9 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS

Los análisis se realizaron para los tratamientos que cumplen con la Norma INEN 2296 (2003).

Tabla 41. Características de los mejores tratamientos

Parámetros analizados	Unidades	Resultados						Requisitos del vinagre NTE INEN 2 296:		Método de ensayo
		T3	T5	T6	T9	T11	T12	Max	Min	
Sólidos solubles	°Brix	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	-	-	NTE INEN-ISO 2173:2013
pH	----	2,8	2,9	2,9	2,8	2,8	2,8	2,3	2,8	pH metro
Grado alcohólico	°GL	1	1	1	1	1	1	-	1	Cálculos Estequiométricos
Acidez	%	4	3,9	4	4,1	4	4,2	4	6	NTE INEN 2 323:2002.
Densidad	g/cm ³	1,032	1,032	1,032	1,032	1,032	1,032	-	-	Densímetro

Al realizar el análisis físico químico se observó que para cada una de las variables analizadas los mejores tratamientos fueron: T9, T11 y T12 y los parámetros se encontraron dentro del rango establecido por la norma NTE INEN 2 296:2003.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Al finalizar la presente investigación, con los resultados se determinó las siguientes conclusiones:

- La materia prima utilizada en la elaboración de vinagre fue el jugo de pulpa de piña y el de la mezcla de cáscaras y corazones, con una medida de 14°Brix el primero y 11°Brix el segundo; además, se determinó que el pH del jugo tuvo un valor de 4,3. Con lo que se concluye que los jugos utilizados como materia prima presentan características adecuadas para un proceso de fermentación.
- Al evaluar las características físico químicas del mosto alcohólico resultante de la fermentación del jugo de cáscaras y corazones y el mosto alcohólico del jugo de pulpa de piña, se comprueba que la cantidad de azúcares en el jugo es directamente proporcional al porcentaje de alcohol obtenido con valores de 2,75 a 4,35 %. En cuanto al pH final con un valor de 3,45 a 4,3 influye directamente en la fermentación acética ya que mientras más bajo es el pH mayor será la acidez.
- Del análisis de resultados de la caracterización físico química del mosto alcohólico se concluye que los sólidos solubles no tienen influencia en la fermentación acética ya que el mosto alcohólico fue sometido a un proceso de pasteurización con lo que se eliminó la población de levaduras activas por lo tanto no se evidenció consumo de azúcares.
- Durante la fermentación acética se observó que el factor B (Agitación) influyó en el proceso de elaboración de vinagre, ya que según los resultados obtenidos se determinó que la fermentación acética es más eficiente sin agitación debido a que las

bacterias acéticas se albergan en la superficie del medio formando una película, en donde las bacterias acéticas actúan con mayor eficiencia en el consumo de alcohol; por lo tanto, el tiempo de fermentación se reduce, como se notó en los tratamientos T5, T6, T11 y T12 con un tiempo promedio de 260 horas a diferencia de T3 y T9 que se realizaron con agitación y el tiempo de fermentación fue de 290 horas.

- Analizando el factor temperatura se concluye que la fermentación a 30°C fue la mejor debido a que se logró el crecimiento óptimo de las bacterias acéticas *Acetobacter aceti* con una población de 3×10^8 millones en su etapa máxima de crecimiento.
- Mediante el análisis físico químico se determinó que el mejor tratamiento fue T12 ya que cumple con todos los parámetros acidez 4-6; pH: 2,3- 2,8; y cantidad de alcohol: máximo 1 establecidos en la norma INEN 2296.
- Al realizar el análisis organoléptico para los mejores tratamientos se determinó que el de mayor agrado fue el tratamiento T12 ya que obtuvo la total aprobación de los catadores para las variables olor, color, sabor, aceptabilidad y apariencia.
- Según el análisis microbiológico realizado a los tratamientos T3, T5, T6, T9, T11 y T12, se concluye que los mismos cumplieron con la condición estipulada en la norma INEN 2296 (2003), misma que señala que el vinagre debe estar exento de mohos y levaduras.
- En la presente investigación se acepta la hipótesis alternativa, en donde se menciona que la temperatura y agitación influyen en la obtención de vinagre concluyéndose que el mejor tratamiento fue T12 (mosto alcohólico de pulpa de piña a 30°C sin agitación), ya que su desarrollo fue óptimo en estas condiciones.

5.2 RECOMENDACIONES

- ✓ El pH y acidez que se evaluaron al final de la fermentación alcohólica para los mostos fueron diferentes, por lo que se determinó que estas características influyen en el proceso de obtención de vinagre, ya que a menor pH mayor es la acidez y viceversa;

por lo tanto es recomendable evaluar estas variables partiendo de rangos establecidos.

- ✓ Durante el proceso de obtención de vinagre se recomienda mezclar el medio durante un minuto cada 72 horas, para permitir la homogenización de las bacterias acéticas con el sustrato.
- ✓ Al realizar la toma de muestras, es recomendable que este procedimiento se efectúe en periodos largos de tiempo, por ejemplo: cada 24 horas, para evitar la contaminación del medio con vectores externos tales como: insectos, polvo, etc. Con la finalidad de desarrollar una correcta fermentación, o a su vez realizar una investigación en lugares inocuos e idóneos libres de contaminantes.
- ✓ En la manipulación y limpieza del equipo de fermentación se aconseja utilizar agua destilada en su totalidad, porque ésta es totalmente limpia de impurezas y químicos tales como el cloro, ya que al existir un residual de este elemento, puede ocasionar que aromas de este componente se volatilicen y se impregnen en el medio a fermentar ocasionando una fermentación incorrecta, lo que provocaría que los resultados obtenidos no sean los correctos.
- ✓ Una vez obtenido el vinagre se recomienda almacenarlo en refrigeración de 7°C a 4°C para asegurar la estabilidad del producto

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS

6.1 BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C. (2012). *Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel*. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/9933/1/300060.2012.pdf>, 14.
- Badui, S. (1993). *Química de los Alimentos*. México: Longman de México Editores, Tercera Edición, México D.F.
- Barahona, M., y Rodríguez, 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)*. Zamorano -Honduras.
- Bastidas, O. (2008). *Technical Note-Neubauer Chamber Cell Counting*. Celeromics, 1-6.
- Brock y Madigan, (1991). *Microbiología*, sexta edición. México: Prentice Hall Hispanoamericana México.
- Chamorro, M., & Herrera, M. (2012). *Obtención de vinagre a partir del fruto de ovo (Spondias purpurea L) producido en Ambuquí provincia de Imbabura*. Ibarra, 24-26.
- Chavarría, L. (04 de 2010). *Piña*. Recuperado el 02 de 05 de 2013, de <http://www.minec.gob.sv/cajadeherramientasue/images/stories/fichas/honduras/hn-pina.pdf>
- Coronel, M. A. (2007). *Estandarización y optimización de procesos de vino de mora de castilla*. Obtenido de <http://www.ute.edu.ec/fci/Coronel.pdf>, 59.
- Durán, E. (2008). *Control de los procesos de elaboración, calidad y trazabilidad del vinagre de jerez*. Puerto Real: Mundi prensa, 15-31-32.

- Gallego, C. M. (2007). *Influencia de la acidez volátil en el proceso de fermentación de la planta de alcohol del ingenio Risalda S.A.* Obtenido de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1101/1/6626692G166.pdf>, 21-22.
- Gilces, P., y Veloz, P. (2006). *Estudio del uso de los nutrientes para la levadura en fermentación con el propósito de mejorar la producción del alcohol etílico.* Guayaquil- Ecuador, 23.
- Grainger, K., y Tattersall, H. (2005). *Producción de vino: Desde la vid hasta la botella.* Zaragoza- España: Acribia S.A.
- Hoyos, O., y Vélez, P. (2000). *Análisis de alimentos: Manual de prácticas de laboratorio.* Popayán: Universidad del Cauca, 15.
- INEN 374. (1987). *Vino de frutas.* Quito- Ecuador, 1-2.
- Llaguno, M., y Polo, C. (1991). *El vinagre del vino.* España: Ebcomp S.A, 1-10-26-35.
- Magallanes, J., y Salcedo, N. (2013). *Extracción, caracterización y secado por Aspersión de bromelina cruda obtenida a partir de residuos de piña "perolera".* Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/25407/1/Nuestra%20Tesis%20Bromelina.pdf>, 5.
- Merchuck, J. (1993). *Microbiología Industrial.* Zaragoza: ACRIBIA, S.A.
- Monroy, O., y Viniegra, G. (1981). *Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos.* Mexico: AGT S.A,33-34.
- Montaña, M. (2006). *Caracterización de derivados de piña: zumos y néctares.* España: Universidad Complutense de Madrid,17.
- NTE INEN 1836. (02 de 02 de 2009). *Frutas frescas.Piña.Requisitos.* Obtenido de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1836.2009.pdf>, 2.
- NTE INEN 2296. (2003). *Vinagre. Requisitos.* Quito- Ecuador, 2.
- Ochoa, D., y Ríos, D. (2003). *Construcción de un prototipo didáctico para la fermentación alcohólica y acética de ciclo cerrado.* Obtenido de http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5344/1/22259_1.pdf, 18-23-32-34-39.

- OIRSA. (2005). *Manual técnico de fitosanidad en piña*. Obtenido de <http://www.ebrary.com>, 2-4.
- Paz, M. (1988). *Fundamentos de la biotecnología industrial*. Quito, 16.
- Pólit, P. (2001). *Manual de Manejo Postcosecha de piña*. Quito - Ecuador: Graficas Guimar, 3.
- Prescott, S. (1992). *Microbiología Industrial*. Madrid: Aguilar S.A. 2 ed, 25.
- PRO ECUADOR. (2013). *Perfil de piña*. Obtenido de <http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2011/11/PROEC-P2011-PINA-ECUATORIANA.pdf>, 1
- Reglero Rada, G. (2011). Conceptos básicos. Importancia del as en la industria alimentaria. *Curso de análisis sensorial de alimentos*. Madrid.
- Rhodes, A., y Fletcher, D. (2005). *Principios de la Microbiología Industrial*. Zaragoza (España): Acribia,12-14;81-98;102-107.
- Roger Stainer, J. I. (1992). *Microbiología*. Barcelona: Reverté. 197
- Romo, S. (2011). *Obtención de vinagre a partir de la biofermentación de residuos de banano y otras frutas para su industrialización*. Obtenido de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/404/1/TIA-2011-19.pdf>, 24-32.
- Ruiz, H., Rodriguez, H., Contreras, J., y Aguilar, C. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana de ingeniería química*, 34-35.
- Sasson, A. (1984). *La biotecnología: Desafíos y promesas*. Unesco S.A, 180.
- Trevan, M., S.Boffer, K.H.Goolding, y P.Stanbury. (1990). *Biotecnología: Principios Biológicos*. Zaragoza (España): Acribia S.A, 110-121.
- Vásquez, P. (2005). *Optimización de temperatura, pH y tipo de levadura, en la obtención de vino de mora de castilla(Rubus glaucus Benth)*. Ibarra.
- Velásquez, L., y Alemán, A. (2014). *Elaboración de vinagre a partir de chirimoya (Annona cherimola mill) que se produce en la zona de Urcuquí*. Ibarra.
- W.Bamfort, C. (2005). Alimentos, fermentación y microorganismos. Zaragoza: Acribia S.A, 80-95.

6.2 ANEXOS

Anexo 1

Ficha técnica de bacterias *Acetobacter aceti*

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: <i>Acetobacter aceti</i> Catalog Number: 0511 Lot Number: 511-15 Reference Number: ATCC® 15973™* Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2017/1/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2015/3/3
Macroscopic Features: Small, circular, convex, entire edge, pale white to translucent; colonies become larger, flat and rough as culture ages.	Performance Medium: CNA
Microscopic Features: Gram negative pleomorphic rods occurring singly, in pairs or in chains. Ellipsoidal, rod, club shaped, swollen, curved and filamentous forms may be seen.	Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GN (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Indole (DMACA Spot Test): negative  Brad Goskowicz, President AUTHORIZED SIGNATURE
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
	<small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
<small>TESTING CERT #2655.01</small>	

<i>Rhodotorula</i> sp.	Method 5
<i>Saccharomyces</i> sp.	Method 5
Note: Sabouraud Dextrose Emmons Agar is the best medium for growth of <i>Saccharomyces</i> sp.	
<i>Salmonella</i> sp.	Method 1
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Method 5
<i>Serratia</i> sp.	Method 1
<i>Shewanella</i> sp.	Method 10
<i>Shigella</i> sp.	Method 1
<i>Sordaria</i> sp.	Method 5
Note: <i>Sordaria</i> sp. sporulates better on Sabouraud Dextrose Emmons Agar than on Sabouraud Dextrose Agar.	
<i>Sphingobacterium</i> sp.	Method 1
<i>Sphingomonas</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Sporobolus</i> sp.	Method 5
<i>Staphylococcus</i> sp.	Method 1
Note: The degree of resistance of <i>S. aureus</i> , Microbiologics #0158, to Vancomycin tends to decrease depending on age of culture, type of media, and number of subcultures. For best results, propagate strain on Brain Heart Infusion Agar with 4mcg/mL Vancomycin.	
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 30°C.	
<i>Streptococcus</i> sp.	Method 2
Note: <i>S. inconstans</i> must be incubated in a microaerophilic environment. <i>Streptococcus</i> sp., Microbiologics #0978, should be grown in CO ₂ .	
<i>Streptomyces</i> sp.	Method 5
Note: <i>Streptomyces</i> sp. does not grow on Potato Dextrose Agar.	
<i>Thermoanaerobacterium</i> sp.	Method 4
Note: Primary growth medium for <i>T. thermosaccharolyticum</i> , Microbiologics #0726, is Cooked Meat Medium. Incubation at 45°C for 72 hours is required. After initial growth, organism may be grown on Anaerobic Blood Agar which is incubated at 45°C for 72 hours in anaerobic atmosphere.	
<i>Tetrahymena</i> sp.	Method 5
<i>Trichosporon</i> sp.	Method 5
<i>Ureaplasma</i> sp.	Method 13
<i>Yersinia</i> sp.	Method 4
<i>Vibrio</i> sp.	Method 10
<i>Virgibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Yarrowia</i> sp.	Method 5
<i>Yersinia</i> sp.	Method 1
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	Method 5
Note: <i>Z. bailii</i> , Microbiologics #01011, does not grow well on nonselective Sheep Blood Agar, Nutrient Agar, or Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar).	

3. The following information lists methods for growing microorganisms. When possible, more than one type of agar medium per method is listed.

Method 1

- Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), nonselective Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar (Plate Count Agar) or Nutrient Agar - 35°C in aerobic atmosphere - 24 to 48 hours.

Method 2

- Nonselective Sheep Blood Agar - 35°C in aerobic atmosphere - 24 to 72 hours. Growth of some species such as *Streptococcus* and *Arcanobacterium* are enhanced by CO₂ enrichment of the incubation atmosphere. 5% CO₂ is recommended for the culture of *Streptococcus pneumoniae* and other streptococcal species of the viridians group.

Method 3

- Chocolate Agar - 35°C in 5% to 7% CO₂ - 24 to 48 hours.

Method 4

- Anaerobic Blood Agar 35°C in Anaerobic Environment - 48 to 72 hours.
- Some obligate anaerobes may require 5 to 7 days to demonstrate sufficient growth.
- Fresh prepared Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), Standard Methods Agar (Plate Count Agar) are appropriate alternatives for some *Clostridium* species together with an additional period (24 hours) of incubation.

Anexo 2

Ficha técnica de la levadura

Levapan del Ecuador S.A.

FICHA TECNICA

Item: - LEVA FRESCA 500g IMPORTACION	Código: 70701LVF05I
Descripción General La levadura fresca Levapan es un cultivo Puro de Saccharomyces cerevisiae y agua, manufacturada a partir de cepas clasificadas para panadería. Por sus características debe manipularse con especial cuidado, conservándose refrigerada.	Vida Util Cuarenta y cinco días en las condiciones indicadas de almacenamiento.
Materias Primas Declaración como ingredientes: Saccharomyces cerevisiae y agua.	Aplicaciones Elaboración de pan, vino, galletas.
Proceso Almacenamiento y Manejo Almacénese refrigerada de 0 °C a 5 °C. No congelar.	Evaluación Presentación Paquetes de 500 g, cubiertos con papel parafinado. Embalaje 50 unidades por caja de cartón corrugado.

Análisis Promedio	Unidad	Mínimo	Máximo
Fósforo	%	1,50	
Humedad	%		70,00
pH	pH	3,50	
Proteína	%	40,00	

Perfil Microbiológico	Unidad	Mínimo	Máximo
E. Coli	ufc/g		0
Coliformes Totales	ufc/g		230
Hongos	upm/g		100
Salmonella	ufc/25g		Ausencia

ELABORO: Jefe de Control de Calidad 	REVISO: Jefe de Investigación y Desarrollo 	APROBO: Gerente de Producción 
FECHA: 2013/04/02	FECHA: 2013/04/02	FECHA: 2013/04/03

Anexo 3

Ficha Técnica de Refractómetro de alcohol

www.pce-iberica.es



PCE Iberica S.L.
C/ Mayor, 53 - Bajo
02500 Tobarra
Albacete-España
Tel. : +34 967 543 543
Fax : +34 967 543 542
info@pce-iberica.es
www.pce-iberica.es

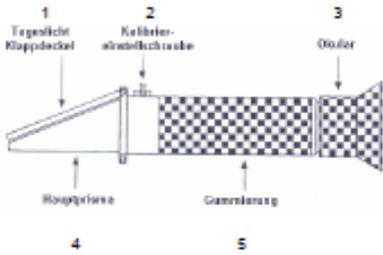


Refractómetro de mano

Instrucciones de uso

Descripción:
Los refractómetros son instrumentos ópticos de precisión que miden en brix, en grados Oechsle, en babbé, miden el contenido de azúcar, de alcohol o de sal ... (según el tipo) de pruebas de fluidos. Todos los aparatos disponen de una compensación de temperatura automática a 20°C y están preparados para cantidades muy pequeñas. Su formato pequeño y ligero lo hacen propicio para realizar mediciones in situ.

Composición



1. Tapa de solapa para la luz solar
2. Tornillo de ajuste del calibre
3. Ocular
4. Prisma principal
5. Cobertura de goma

Manejo
Limpiar y secar cuidadosamente la tapa y el prisma antes de comenzar la medición. Ponga 1-2 gotas de la prueba en el prisma, al cerrar la tapa, la prueba se reparte homogéneamente entre tapa y prisma. Puede utilizar una pipeta para poner la prueba sobre el prisma principal. Evite que se formen burbujas de aire, ya que esto podría tener un efecto negativo en el resultado de medición. Moviendo ligeramente la tapa conseguirá repartir más homogéneamente el fluido de prueba.
Sostenga el refractómetro bajo la luz solar, podrá ver la escala a través del ocular. El valor se podrá leer entre el límite claro / oscuro. Girando el ocular podrá ajustar / precisar la escala. Limpiar y secar cuidadosamente el prisma y la tapa después de cada medición para evitar que queden restos que pudieran afectar a futuras mediciones.

Calibración
Limpiar y secar cuidadosamente la tapa y el prisma también antes de la calibración. Ponga 1-2 gotas de agua destilada en el prisma. Si el límite claro / oscuro no se encuentra en 0% (línea del agua), ajústelo con ayuda del tornillo de calibración bajo la cobertura de goma, ayúdense para ello del destornillador que viene en el envío. El RH-B-82 no se puede calibrar con agua destilada, en este caso deberá utilizar una solución de prueba con un contenido en azúcar conocido (p.e. solución de azúcar al 50%). **Atención:** los instrumentos viene calibrados de fábrica.

Importante:

- > Mantener limpios tanto la tapa como el prisma, la suciedad puede influir negativamente sobre la precisión en la medición.
- > Evite las rayaduras sobre el prisma, también pueden influir negativamente en la medición.
- > En la limpieza utilice sólo un paño húmedo y evite limpiadores agresivos, seque perfectamente el aparato tras su limpieza.
- > Limpiar el aparato simplemente con un paño húmedo y nunca bajo el agua, ya que ésta podría penetrar en el aparato.
- > Evite golpes o caídas que podrían dañar el sistema óptico.
- > Guarde el aparato en un lugar seco.

Una visión general de todos los medidores encuentre usted aquí:
<http://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/medidores.htm>
Una visión general de todos los instrumentos medida encuentre usted aquí:
<http://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/instrumentos-medida.htm>
Una visión general de las balanzas encuentre usted aquí:
<http://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/balanzas-y-los-acepajel.htm>



Anexo 4

Norma NTE INEN 2296:2003



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2 296:2003

VINAGRE. REQUISITOS.

Primera Edición

VINEGAR. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, especias y condimentos, aditivos alimentarios, vinagre.
AL 02.05-408
COU: 683.242
CIIU: 3121
ICS: 67.220.10

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	VINAGRE. REQUISITOS.	NTE INEN 2 296:2003 2003-12
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el vinagre.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a todo tipo de vinagre envasado y destinado al consumo directo.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Vinagre. Es el producto líquido, apto para el consumo humano, producido exclusivamente con productos idóneos que contengan almidón y/o azúcares por el procedimiento de doble fermentación, alcohólica y acética.</p> <p>3.2 Vinagre de vino. Es el vinagre obtenido del vino por fermentación acética, salvo que en la materia prima podrá ser mayor el nivel de ácidos volátiles.</p> <p>3.3 Vinagre de fruta, baya, sidra. Son vinagres obtenidos por fermentación acética y/o mixta de las frutas o del vino de frutas, bayas o sidra, salvo que en la materia prima podrá ser mayor el nivel de ácidos volátiles.</p> <p>3.4 Vinagre de alcohol. Es el vinagre obtenido por fermentación acética de alcohol destilado.</p> <p>3.5 Vinagre de grano. Es el vinagre obtenido sin destilación intermedia de cualquier cereal en grano, cuyo almidón se ha convertido en azúcares por un proceso distinto del de solo la diastasa de la cebada malteada.</p> <p>3.6 Vinagre de malta. Es el vinagre obtenido sin destilación intermedia, a partir de la cebada malteada con o sin adición de cereales en grano cuyo almidón se ha convertido en azúcares únicamente mediante la diastasa de la cebada malteada. Puede ser destilado o no.</p> <p>3.7 Vinagre de suero de leche. Es el vinagre obtenido sin destilación intermedia del suero.</p> <p>3.8 Vinagre de miel de abeja. Es el vinagre obtenido sin destilación intermedia de la miel.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 El vinagre debe elaborarse con materias primas libre de mohos, insectos y materias extrañas.</p> <p>4.2 Se permite la adición de especias y condimentos o sus extractos, oleoresinas o aceites esenciales.</p> <p>4.3 Se permite la adición de aromas y aromatizantes naturales.</p> <p>4.4 Como coadyuvantes de elaboración se permite utilizar extractos de levaduras, autolisatos, aminoácidos y sus sales como nutrientes para acetobacterias.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <hr/> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, especias y condimentos, aditivos alimentarios, vinagre.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3499 – Baquerizo Moreno (B-29) y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

4.5 Se podrá utilizar clarificantes y filtrantes aprobados por la autoridad sanitaria competente, el Codex alimentario y el FDA.

4.6 Los aditivos permitidos son los indicados en la tabla 4.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El vinagre debe tener color uniforme, sabor y olor característicos.

5.1.2 El vinagre no debe contener anguilla del vinagre o materias y sedimentos en suspensión además debe estar exento de la turbiedad causada por microorganismos (madre del vinagre).

5.1.3 El vinagre debe cumplir con los requisitos indicados en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos del vinagre

	Min.	Máx.
Acidez total, (como ácido acético), % m/v	4	6
Acidez fija, (como ácido acético), % m/v	—	0,3
Acidez volátil, (como ácido acético), % m/v	3,7	—
Alcohol etílico a 20 °C, % v/v	—	1,0
pH a 20 °C	2,3	2,8
Número de oxidación con permanganato	3	—

5.1.5 El vinagre cuando se haya analizado con métodos apropiados de muestreo y análisis:

- Debe estar exento de microorganismos patógenos, aeróbios mesófilos, coliformes totales, bacterias acidúricas y mohos y levaduras.
- Debe estar exento de sustancias procedentes de microorganismos en cantidades que puedan representar un peligro para la salud.

5.1.6 La cantidad máxima permisible para contaminantes es la indicada en la tabla 3.

TABLA 3. Contaminantes

	Límite máximo
Arsénico (As)	0,1 mg/kg
Plomo (Pb)	0,1 mg/kg
Cobre (Cu) más Zinc (Zn)	10 mg/kg
Hierro (Fe)	10 mg/kg

5.1.7 Los aditivos alimentarios y sus límites máximos permisibles son los indicados en la tabla 4.

NOTA: Los ensayos se realizarán con las NTE INEN correspondientes, en caso de que estas no existan se utilizarán los métodos de ensayo de la AOAC en su última edición.

(Continúa)

TABLA 4. Aditivos

	Dosis máxima
Dióxido de azufre	70 mg/kg
Ácido L-ascórbico (como antioxidante)	400 mg/kg
Ácido sórbico o sus sales (como conservante)	400 mg/kg
Glucamilasa	0,1 %
Color caramelo (natural)	Ilimitado por PCF
Color caramelo (procedimiento del sulfito de amonio)	1 mg/kg
Color caramelo (procedimiento de amoniaco)	1 mg/kg (sólo para el vinagre de malta)
Glutamato monosódico, monopotásico y cálcico	Limitado por PCF

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo

6.1.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 476.

6.2 Aceptación o rechazo

6.2.1 Se aceptan los lotes de producto que cumplan con las especificaciones de esta norma, caso contrario se rechaza.

7. ENVASADO Y EMBALADO

7.1 El producto se envasará en recipientes con cierre hermético que le proporcionen una adecuada protección durante el almacenamiento, transporte y expendio.

7.2 El material del envase y tapa debe ser apto para este tipo de productos.

8. ROTULADO

8.1 El rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en el Reglamento de alimentos, en la NTE INEN 1 334 y en otras disposiciones legales vigentes en tanto no se contrapongan con dicho Reglamento.

8.2 No debe tener leyendas de significado ambiguo, ni descripciones de características del producto que no puedan ser comprobadas.

(Continúa)

Instituto Ecuatoriano de Normalización, IEN - Sucursalía Manabí E8-20 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2) 501885 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567815
Dirección General: [E-Mail:Info@ien.gov.ec](mailto:Info@ien.gov.ec)
Área Técnica de Normalización: [E-Mail:Normalizacion@ien.gov.ec](mailto:Normalizacion@ien.gov.ec)
Área Técnica de Certificación: [E-Mail:Certificacion@ien.gov.ec](mailto:Certificacion@ien.gov.ec)
Área Técnica de Verificación: [E-Mail:Verificacion@ien.gov.ec](mailto:Verificacion@ien.gov.ec)
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: [E-Mail:Servicios@ien.gov.ec](mailto:Servicios@ien.gov.ec)
Regional Guayas: [E-Mail:InfoGuayas@ien.gov.ec](mailto:InfoGuayas@ien.gov.ec)
Regional Azuay: [E-Mail:InfoAzuay@ien.gov.ec](mailto:InfoAzuay@ien.gov.ec)
Regional Chimborazo: [E-Mail:InfoChimborazo@ien.gov.ec](mailto:InfoChimborazo@ien.gov.ec)
y en: www.ien.gov.ec

Anexo 5

Análisis de laboratorio a los mejores tratamientos

Análisis físico-químicos

ECUACHEMLAB Cía. Ltda.
Laboratorio Químico y Microbiológico del Ecuador

INFORME DE RESULTADOS

INF.AFQ. 000158 n
ORDEN DE TRABAJO: 00158 a

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GÓMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	068513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PINA (CASCARA Y CORAZONES Y PULPA DE PINA) T3	Lote:	----
		Fecha Elaboración:	----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS-PINA	Fecha Vencimiento:	----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	CARACTERISTICO	Fecha de recepción:	11-12-2015
		Hora de recepción:	08H59
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	14-12-2015

RESULTADOS FÍSICO QUÍMICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Acidez Fija	0,30	%	AOAC 947.05
Acidez Volátil	3,81	%	AOAC 947.05
Turbidez	682	UFT	HACH 8237

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohíbida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.



Quím. Al Tarín Bestidas
AREA FISICOQUIMICO



Dr. Blasimir Aceña
GERENTE GENERAL

R-03-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia I
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Tel: 6007470, 0983192976 / e mail: ecuachemlab@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AFQ. 000158 b
ORDEN DE TRABAJO: 00158 b

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	068513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PINA (CASCARA Y CORAZONES Y PULPA DE PINA) T5	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS-PINA	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	CARACTERISTICO	Fecha de recepción:	11-12-2015
		Hora de recepción:	08:159
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	14-12-2015

RESULTADOS FISICOQUÍMICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Acidez Fija	0,28	%	AOAC 947.05
Acidez Volátil	3,82	%	AOAC 947.05
Turbidez	750	UFT	HACH 8237

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio


Quím. Al Tania Bastidas
AREA FISICOQUIMICO


Dr. Vladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-03-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia |
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Telf: 6007470, 0983192976 / e mail: ecuachemlab@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AFQ. 000158 c
ORDEN DE TRABAJO: 00158 c

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	068513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PINA (CASCARA Y CORAZONES Y PULPA DE PINA) T6	Lote:	----
		Fecha Elaboración:	----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS-PINA	Fecha Vencimiento:	----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	CARACTERISTICO	Fecha de recepción:	11-12-2015
		Hora de recepción:	08H59
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LÍQUIDO	Fecha Entrega:	14-12-2015

RESULTADOS FÍSICO QUÍMICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Acidez Fija	0,11	%	AOAC 947.05
Acidez Volátil	3,98	%	AOAC 947.05
Turbidez	1345	UFT	HACH 8237

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quím. Al Tania Bastidas
AREA FISICOQUIMICO


Dr. Vladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-03-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia I
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Tel: 6007470, 0983192976 / e mail: ecuachemlab@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INFAPQ. 000158 d
ORDEN DE TRABAJO: 00158 d

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	BEGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	068513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS – PINA (CASCARA Y CORAZONES Y PULPA DE PINA) T9	Lote:	----
		Fecha Elaboración:	----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS-PINA	Fecha Vencimiento:	----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreada por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	CARACTERISTICO	Fecha de recepción:	11-12-2015
		Hora de recepción:	08H59
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LÍQUIDO	Fecha Entrega:	14-12-2015

RESULTADOS FÍSICO QUÍMICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Acidez Fija	0,23	%	AOAC 947.05
Acidez Volátil	3,87	%	AOAC 947.05
Turbidez	2320	UFT	HACH 8237

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio

x 

Quim. AL Tania Bastidas
AREA FISICOQUIMICO



Dr. Vladimir Acesta
GERENTE GENERAL

R-03-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Telf: 6007470, 0983192976 / e mail: ecuachemlab@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AFQ. 000158 e
ORDEN DE TRABAJO: 00158 e

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE FIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	068513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PINA (CASCARA Y CORAZONES Y PULPA DE PINA) T11	Lote:	----
		Fecha Elaboración:	----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS-PINA	Fecha Vencimiento:	----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrada:	100 ml
Color:	CARACTERISTICO	Fecha de recepción:	11-12-2015
		Hora de recepción:	06H59
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	14-12-2015

RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Acidez Fija	0,95	%	AOAC 947.05
Acidez Volátil	3,73	%	AOAC 947.05
Turbidez	1285	UFT	HACH 8237

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio

x 

Quím. Al. Yusta Bastidas
AREA FÍSICOQUÍMICO

x 

Dr. Bladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-03-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador

Telf: 6007470, 0983192976 / e mail: ecuachemlab@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AFQ. 000158 f
ORDEN DE TRABAJO: 00158 f

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	068513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PINA (CASCARA Y CORAZONES Y PULPA DE PINA) T12	Lote:	----
		Fecha Elaboración:	----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS-PINA	Fecha Vencimiento:	----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	CARACTERISTICO	Fecha de recepción:	11-12-2015
		Hora de recepción:	08H59
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	14-12-2015

RESULTADOS FISICO QUÍMICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Acidez Fija	0,21	%	AOAC 947.05
Acidez Volátil	3,84	%	AOAC 947.05
Turbidez	1390	UFT	HACH 8237

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio



Quím. Al Yanis Bautillo
AREA FISICOQUIMICO



Dr. Blasimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-03-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Telf: 6067470, 0983192976 / e mail: ecuachemlab@gmail.com

Análisis microbiológicos

INFORME DE RESULTADOS

INF-AMB. 00157a
ORDEN DE TRABAJO: 00157a

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GÓMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTÓBAL DE TROYA
Teléfono:	0968513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA (CASCARA, CORAZONES Y PULPA DE PIÑA) T3	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	AMARILLO INTENSO	Fecha y hora Recepción:	10-12-2015 08:28
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	10-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	16-12-2015

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Recuento de Mohos	< 10	UFC/ml	AOAC 997.02
Recuento de Levaduras	30	UFC/ml	AOAC 997.02

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quím. Alim. Guillermo Pineda
ÁREA MICROBIOLOGÍA


Dr. Bladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-04-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Telf: 6007470, 0999441402 / e mail: bladyacosta@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AMB. 00157b
ORDEN DE TRABAJO: 00157b

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	0908513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA (CASCARA, CORAZONES Y PULPA DE PIÑA) T5	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	AMARILLO INTENSO	Fecha y hora Recepción:	10-12-2015 08H28
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	10-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	16-12-2015

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Recuento de Mohos	< 10	UFC/ml	AOAC 997.02
Recuento de Levaduras	30	UFC/ml	AOAC 997.02

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quím. Alis. Guillermo Pineda
ÁREA MICROBIOLOGIA


Dr. Vladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-04-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Tel: 6007470, 0999441402 / e mail: bladyacosta@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AMB. 00157c
ORDEN DE TRABAJO: 00157c

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GÓMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTÓBAL DE TROYA
Teléfono:	0968513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA (CASCARA, CORAZONES Y PULPA DE PIÑA) T6	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	AMARILLO INTENSO	Fecha y hora Recepción:	10-12-2015 08H28
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	10-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	16-12-2015

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Recuento de Mohos	< 10	UFC/ml	AOAC 997.02
Recuento de Levaduras	20	UFC/ml	AOAC 997.02

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quim. Alim. Guillermo Posib
ÁREA MICROBIOLOGIA


Dr. Blasimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-04-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia I
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Tel: 6807470, 0999441402 / e mail: blasimiacosta@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AMB. 00157d
ORDEN DE TRABAJO: 00157d

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GÓMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTÓBAL DE TROYA
Teléfono:	0968513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA (CASCARA, CORAZONES Y PULPA DE PIÑA) T9	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	AMARILLO INTENSO	Fecha y hora Recepción:	10-12-2015 08H28
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	14-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	18-12-2015

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Recuento de Mohos	< 10	UFC/ml	AOAC 997.02
Recuento de Levaduras	20	UFC/ml	AOAC 997.02

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quím. Alm. Guillermo Pineda
ÁREA MICROBIOLOGIA


Dr. Vladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-04-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Telf: 6007470, 0999441402 / e mail: bladyacosta@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.AMB. 00157e
ORDEN DE TRABAJO: 00157e

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	0968513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA (CASCARA, CORAZONES Y PULPA DE PIÑA) T11	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarada:	100 ml
Mostrado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	AMARILLO INTENSO	Fecha y hora Recepción:	10-12-2015 08H28
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	10-12-2015
Estado:	LÍQUIDO	Fecha Entrega:	16-12-2015

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Recuento de Mohs	< 10	UFC/ml	AOAC 997.02
Recuento de Levaduras	10	UFC/ml	AOAC 997.02

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quím. Alm. Guillermo Pineda
AREA MICROBIOLOGIA


Dr. Bladimir Acosta
GERENTE GENERAL

R-04-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia I
Valle de Los Chillos-Quito-Ecuador
Tel: 6007470, 0999441402 / e mail: bladyacosta@gmail.com

INFORME DE RESULTADOS

INE.AMB. 00157/
ORDEN DE TRABAJO: 00157

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	REGALADO IMBAQUINGO LEANDRO ALBERTO
Dirección:	SAN FRANCISCO, CALLE PIEDAD GOMEZ JURADO 1-35 Y AV. CRISTOBAL DE TROYA
Teléfono:	0968513978

DATOS DE LA MUESTRA

Nombre de la muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA	Lote:	-----
		Fecha Elaboración:	-----
Tipo de muestra:	VINAGRE DE FRUTAS - PIÑA (CASCARA, CORAZONES Y PULPA DE PIÑA) T12	Fecha Vencimiento:	-----
		Contenido declarado:	100 ml
Muestreado por:	CLIENTE	Contenido encontrado:	100 ml
Color:	AMARILLO INTENSO	Fecha y hora Recepción:	10-12-2015 08H28
Olor:	CARACTERISTICO	Fecha Análisis:	10-12-2015
Estado:	LIQUIDO	Fecha Entrega:	16-12-2015

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS
Recuento de Mohos	< 10	UFC/ml	AOAC 997.02
Recuento de Levaduras	10	UFC/ml	AOAC 997.02

Nota 1: El resultado se refiere únicamente a la muestra entregada al laboratorio.

Nota 2: Prohibida la reproducción excepto en su totalidad sin aprobación escrita del laboratorio.


Quím. Alim. Guillermo Pineda
ÁREA MICROBIOLOGÍA


Dr. Gladys Acosta
GERENTE GENERAL

R-04-4.1

Pasaje S/N N3-62 y Simón Bolívar, Puente 9, Urbanización Armenia 1
Valle de Los Chillus-Quito-Ecuador
Telf: 6007470, 0999441402 / e mail: hladyacosta@gmail.com

Anexo 6

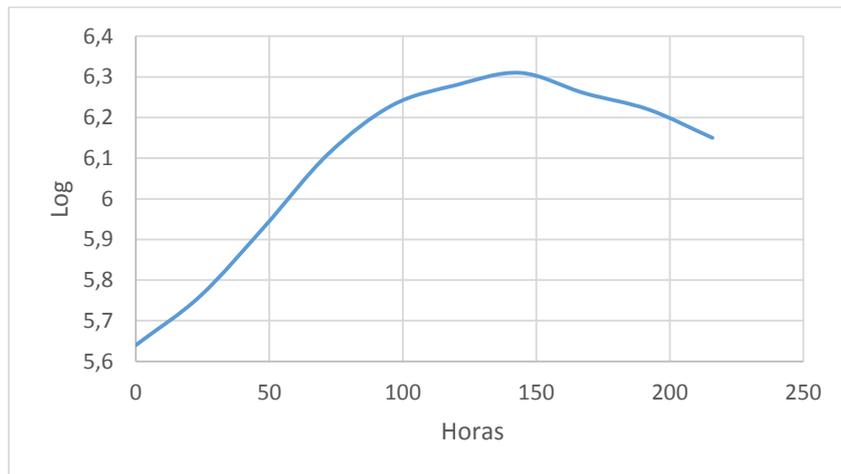
Curva de crecimiento bacteriano

En la fermentación acética se observó el crecimiento de las bacterias *Acetobacter aceti* en la cámara de Neubauer y se obtuvo el número de bacterias por cada mililitro de muestra cómo se representan en las siguientes tablas con su respectiva gráfica:

Crecimiento de bacterias en T1:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	440000	5,64
24	570000	5,76
48	850000	5,93
72	1300000	6,11
96	1700000	6,23
120	1900000	6,28
144	2050000	6,31
168	1800000	6,26
192	1650000	6,22
216	1400000	6,15

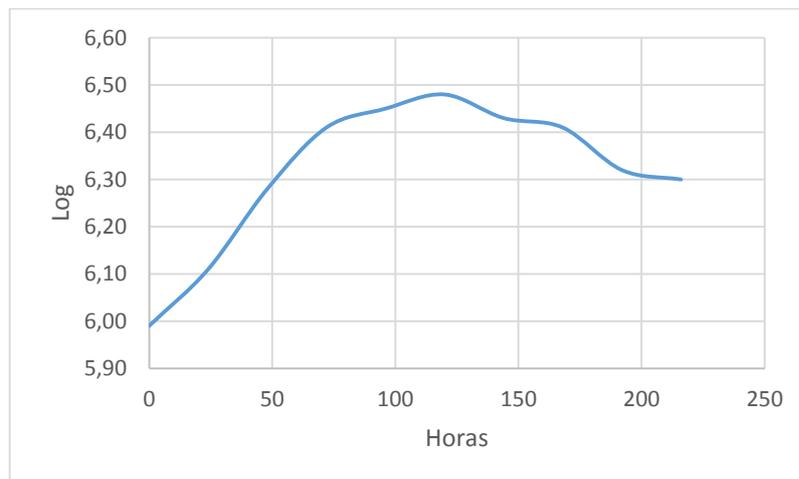
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T2:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	980000	5,99
24	1300000	6,11
48	1900000	6,28
72	2600000	6,41
96	2800000	6,45
120	3000000	6,48
144	2700000	6,43
168	2600000	6,41
192	2100000	6,32
216	2000000	6,30

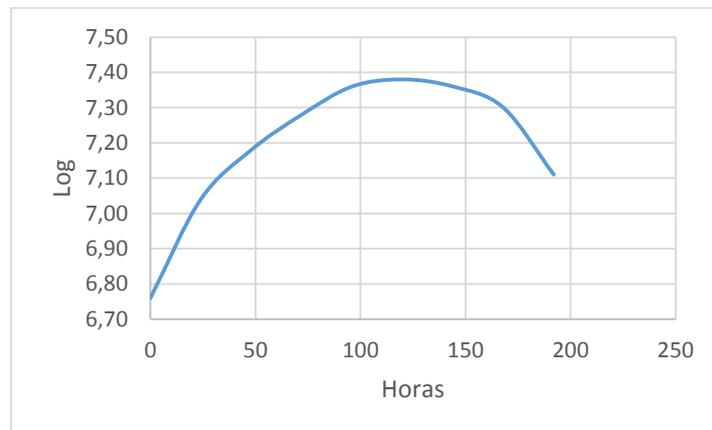
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T3:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	5800000	6,76
24	11000000	7,04
48	15000000	7,18
72	19000000	7,28
96	23000000	7,36
120	24000000	7,38
144	23000000	7,36
168	20000000	7,30
192	13000000	7,11

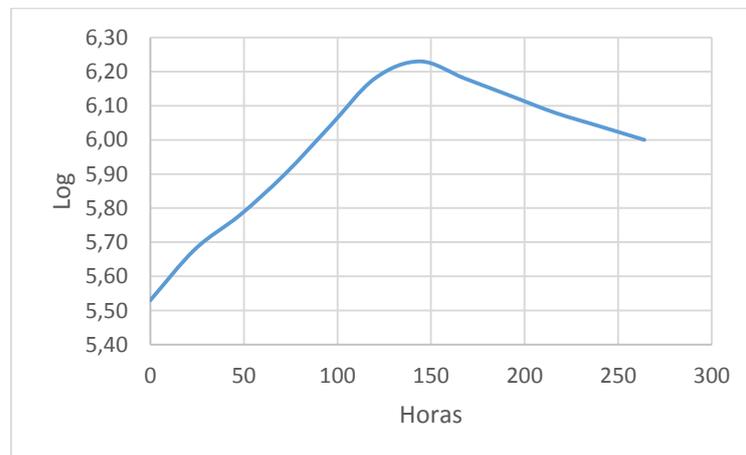
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T4:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	340000	5,53
24	480000	5,68
48	600000	5,78
72	800000	5,90
96	1100000	6,04
120	1500000	6,18
144	1700000	6,23
168	1500000	6,18
192	1350000	6,13
216	1200000	6,08
240	1100000	6,04
264	1000000	6,00

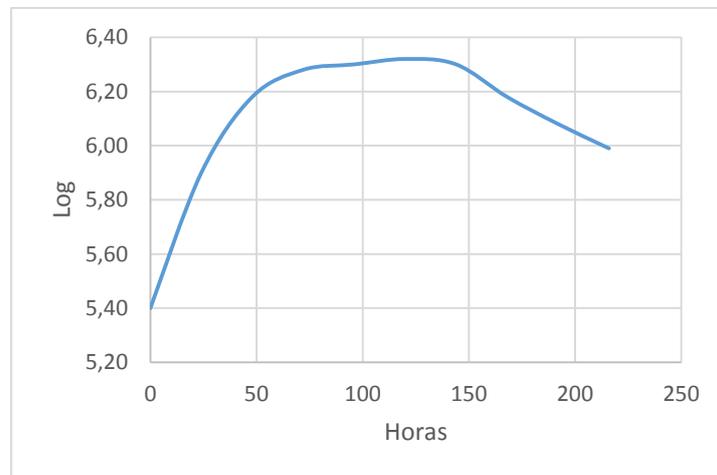
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T5:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	250000	5,40
24	800000	5,90
48	1500000	6,18
72	1900000	6,28
96	2000000	6,30
120	2100000	6,32
144	2000000	6,30
168	1500000	6,18
192	1200000	6,08
216	970000	5,99

Curva de crecimiento de bacterias:

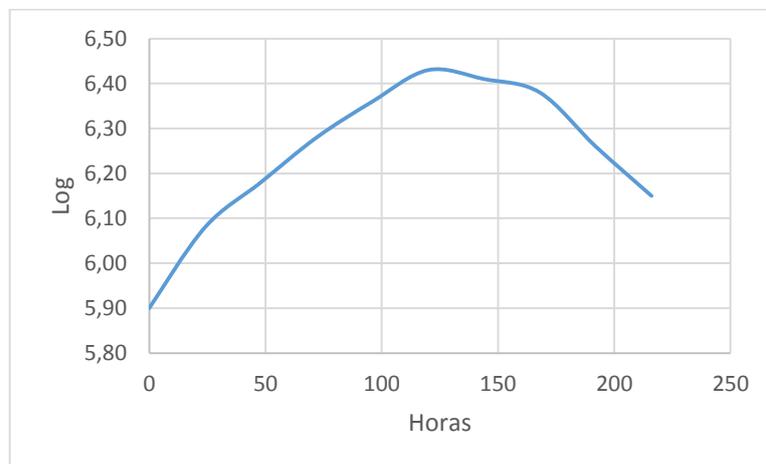


Crecimiento de bacterias en T6:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	800000	5,90
24	1200000	6,08
48	1500000	6,18
72	1900000	6,28
96	2300000	6,36
120	2700000	6,43
144	2600000	6,41
168	2400000	6,38
192	1800000	6,26
216	1400000	6,15

Curva de crecimiento de bacterias

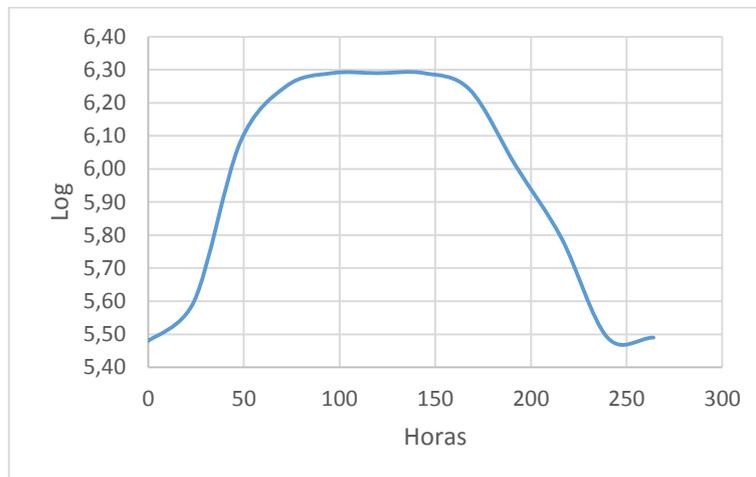
:



Crecimiento de bacterias en T7:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	300000	5,48
24	400000	5,60
48	1200000	6,08
72	1760000	6,25
96	1960000	6,29
120	1960000	6,29
144	1960000	6,29
168	1720000	6,24
192	1032000	6,01
216	619200	5,79
240	310000	5,49
264	310000	5,49

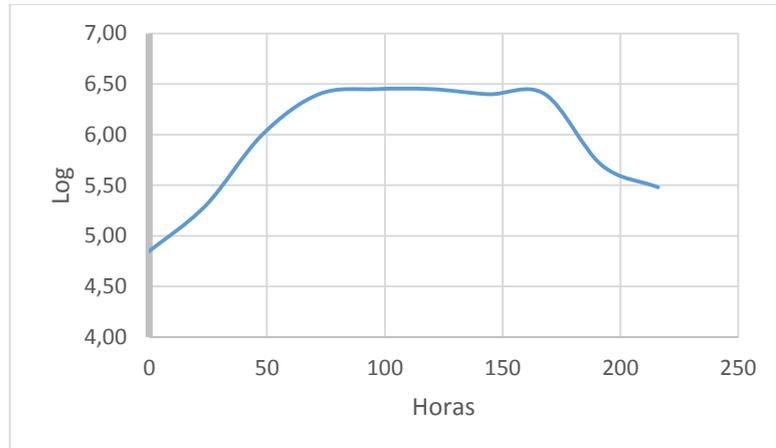
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T8:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	70000	4,85
24	200000	5,30
48	1000000	6,00
72	2500000	6,40
96	2800000	6,45
120	2800000	6,45
144	2500000	6,40
168	2500000	6,40
192	500000	5,70
216	300000	5,48

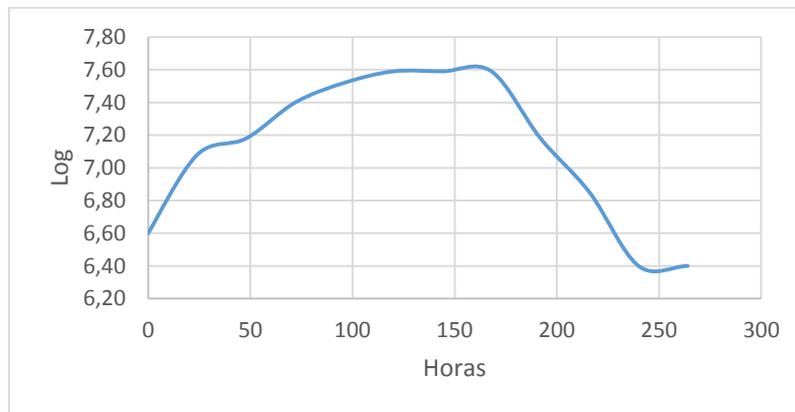
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T9:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	4000000	6,60
24	12000000	7,08
48	15000000	7,18
72	25000000	7,40
96	33000000	7,52
120	39000000	7,59
144	39000000	7,59
168	39000000	7,59
192	15000000	7,18
216	7000000	6,85
240	2500000	6,40
264	2500000	6,40

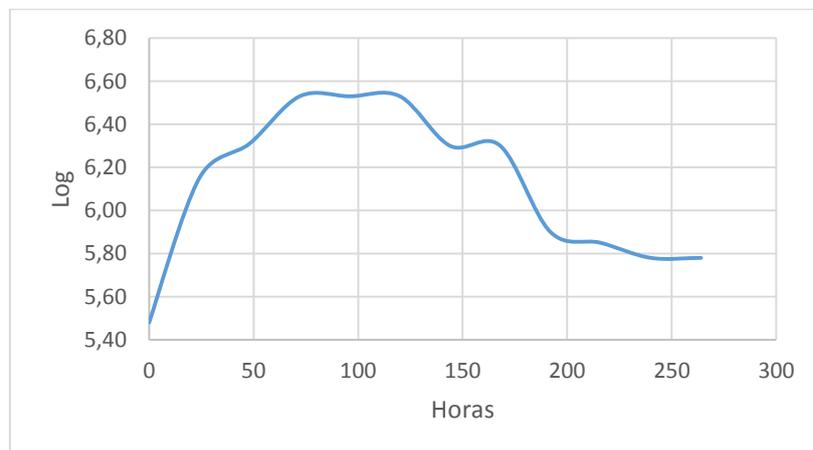
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T10:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	300000	5,48
24	1400000	6,15
48	2050000	6,31
72	3400000	6,53
96	3400000	6,53
120	3400000	6,53
144	2000000	6,30
168	2000000	6,30
192	800000	5,90
216	700000	5,85
240	600000	5,78
264	600000	5,78

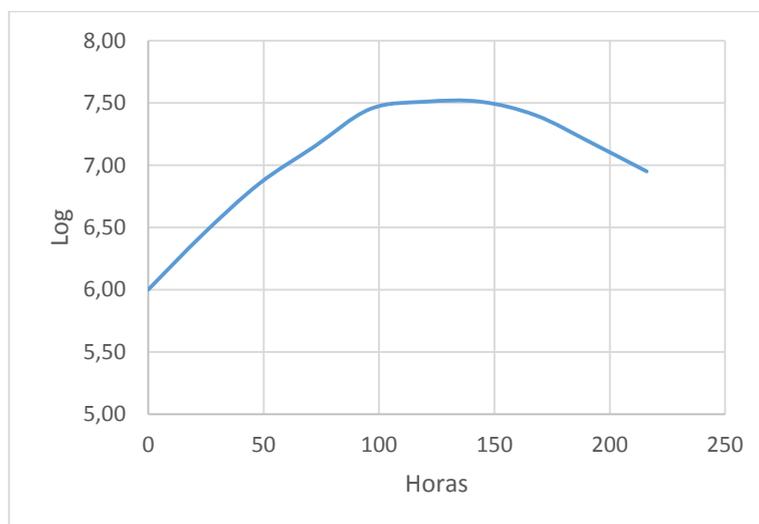
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T11:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	1000000	6,00
24	2800000	6,45
48	7000000	6,85
72	14000000	7,15
96	28000000	7,45
120	32000000	7,51
144	32000000	7,51
168	25000000	7,40
192	15000000	7,18
216	9000000	6,95

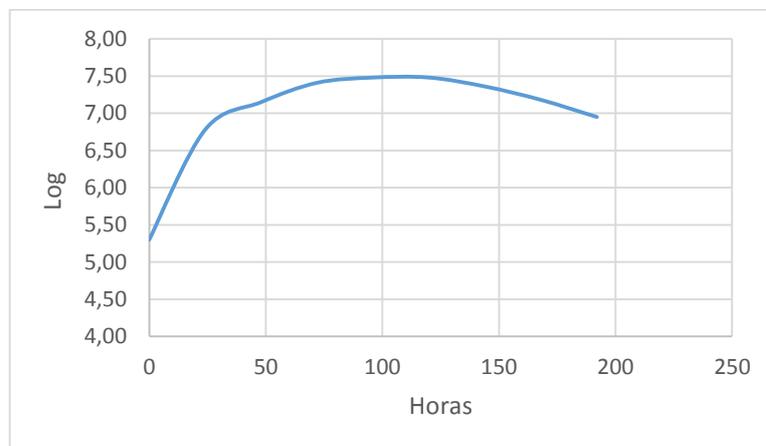
Curva de crecimiento de bacterias:



Crecimiento de bacterias en T12:

TIEMPO (HORAS)	NÚMERO DE BACTERIAS	LOG DE LA POB
0	200000	5,30
24	6000000	6,78
48	14000000	7,15
72	25600000	7,41
96	30000000	7,48
120	30000000	7,48
144	23000000	7,36
168	15000000	7,18
192	9000000	6,95

Curva de crecimiento de bacterias:



Anexo 7

Determinación acidez vinagre

Forma de expresar la acidez del vinagre:

El vinagre se considera una disolución acuosa obtenida por fermentación acética del vino o de la sidra y contiene ácidos volátiles como el acético y ácidos no volátiles como el ácido tartárico. La acidez total o grado acético se define como la totalidad de los ácidos que contiene el vinagre, expresada en gramos de ácido acético ($\text{CH}_3 - \text{COOH}$), por 100 ml de vinagre.

Materiales:

Vaso de precipitación

Vasos vidrio

Pipeta

Probeta

Reactivos

Solución Hidróxido de sodio al 0.1 N

Agua destilada

Vinagre de piña

Fenolftaleína

➤ Procedimiento experimental:

Como reactivo valorante de una disolución de NaOH 0.1N estandarizada previamente y como indicador se usa fenolftaleína al 0,1% en etanol.

Medir exactamente 2 ml de vinagre, con una pipeta aforada de 2 ml o con una graduada de 5 ml y verterlos en un Erlenmeyer.

Diluir con unos 25 ml de agua destilada medidos en una probeta.

Añadir 2 o 3 gotas de la disolución de fenolftaleína. Procedimiento que se realizó a partir de la norma AOAC 1990, Sección 930.35 J.

Valorar con NaOH 0,1N hasta el punto final indicado por el viraje del indicador.

Cálculos:

$$\text{acidez total o grado acético} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times 10^{-3} \times N \times P_m \times 100}{V_{\text{vinagre}}}$$

V = volumen en ml

Pm = masa molecular ácido acético = 60g/mol

Anexo 8

Norma del CODEX-STAN-162-1987



RECOPIADO POR:
EL PROGRAMA UNIVERSITARIO DE ALIMENTOS



CODEX-STAN-162-1987. NORMA DEL CODEX PARA EL VINAGRE. (NORMA REGIONAL EUROPEA).

1. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente Norma se aplica a los productos definidos más adelante en la Sección 2.1.

2. DESCRIPCIÓN

2.1 Definición del producto

2.1.1 El **vinagre** es un líquido, apto para el consumo humano, producido exclusivamente con productos idóneos que contengan almidón o azúcares, o almidón y azúcares por el procedimiento de doble fermentación, alcohólica y acética, tal como se define más detalladamente en las subsecciones 2.1.1.1 a 2.1.1.8. El vinagre contiene una cantidad especificada de ácido acético. El vinagre puede contener ingredientes facultativos, según se indica en la Sección 3.2.

2.1.1.1 El **vinagre de vino** es el vinagre obtenido del vino por fermentación acética, salvo que en las materias primas podrá superarse el nivel máximo de ácidos volátiles.

2.1.1.2 Los **vinagre de fruta (vino)**, **vinagre de baya (vino)**, **vinagre de sidra**, son vinagres obtenidos por fermentación acética del vino de frutas o del de bayas o de la sidra, salvo que en las materias primas podrá superarse el nivel máximo de ácidos volátiles. Los productos pueden obtenerse también de las frutas por el procedimiento definido en la subsección 2.1.1.

2.1.1.3 El **vinagre del alcohol** es el vinagre obtenido por fermentación acética de alcohol destilado.

2.1.1.4 El **vinagre de grano** es el vinagre obtenido, sin destilación intermedia por el procedimiento definido en la subsección 2.1.1, de cualquier cereal en grano, cuyo almidón se ha convertido en azúcares mediante un procedimiento distinto del de sólo la diastasa de la cebada malteada.

2.1.1.5 El **vinagre de malta** es el vinagre obtenido, sin destilación intermedia por el procedimiento definido en la subsección 2.1.1, a partir de la cebada malteada, con o sin adición de cereales en grano cuyo almidón se ha convertido en azúcares únicamente mediante la diastasa de la cebada malteada.

2.1.1.6 El **vinagre de malta destilado** es el vinagre obtenido del producido por destilación del vinagre de malta definido en la precedente subsección 2.1.1.5, a presión reducida. Contiene solamente los constituyentes volátiles del vinagre de malta del que deriva.

2.1.1.7 El **vinagre de suero** es un vinagre obtenido del suero, sin destilación intermedia, por el procedimiento definido en la subsección 2.1.1.

2.1.1.8 El **vinagre de miel** es un vinagre obtenido de la miel, sin destilación intermedia, por el procedimiento definido en la subsección 2.1.1.

Anexo 9

Norma INEN 1836: 2009



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1 836:2009
Primera revisión

FRUTAS FRESCAS. PIÑA. REQUISITOS.

Primera Edición

FRESH FRUITS. PINEAPPLE. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES: Producto vegetal, industria alimentaria, producto agrícola, fruta fresca, piña, requisitos.
AL: 02.03-438
CDU: 634.774
CIIU: 1110
ICS: 67.060

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	FRUTAS FRESCAS. PIÑA. REQUISITOS.	NTE INEN 1836:2009 Primera revision 2009-02
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la piña destinada para consumo en estado fresco, después de su acondicionamiento y a los frutos destinados para procesamiento industrial, que se comercialicen dentro del territorio ecuatoriano.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta Norma se aplica a las variedades comerciales de piñas obtenidas de <i>Ananas comosus</i> Linneo. Meer., de la familia <i>Bromeliaceae</i>.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 1 751 y las que a continuación se detallan:</p> <p>3.1.1 <i>Piña Ananas comosus</i> (L.) 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 ácido. Tiene pulpa carnosa de consistencia firme; el pedúnculo en el momento de la cosecha, debe ser desprendido desde la base, de preferencia libre de brácteas. La corona debe tener un largo mínimo de 10 cm y de máximo 1,5 veces más que la longitud de la fruta, recta y libre de esquejes. Las variedades más comunes en el Ecuador son: hawaiiana (cayena lisa), milagrefia (cambray) o perolera, criolla (marañona), MD-2 (golden, super o extra sweet) y champaka.</p> <div data-bbox="593 1218 1088 1818" data-label="Image"></div> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <hr/> <p>DESCRPTORES: Producto vegetal, industria alimentaria, producto agrícola, fruta fresca, piña, requisitos.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, IEN - Cañita 17-01-9999 - Baquerizo Moreno 09-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción



3.1.2 *Piña fuera de norma.* Es aquella que no cumple con los requisitos establecidos en esta norma.

3.1.3 *Corona.* Conjunto de hojas dispuestas en rosetas, situadas en el extremo superior de la piña.

3.1.4 *Brácteas.* Pequeñas hojas subyacentes cuyo extremo es apergaminado y curvado hacia arriba.

3.1.5 *Esquijos.* Son coronas secundarias pequeñas que se encuentran deformando la corona de la fruta, también conocido como hijuelos de corona.

3.1.6 *Redúnculo.* Sección que une la planta con el fruto (cabo).

4. CLASIFICACIÓN

4.1 Independiente del calibre, la clasificación de la piña admite tres grados que se definen a continuación:

4.1.1 *Grado extra.* Las piñas de este grado deben cumplir los requisitos generales definidos en el numeral 6.1. Su forma y color deben ser característicos de la variedad. No deben tener defectos, salvo defectos superficiales muy leves de la cáscara siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto, su calidad y estado de conservación. La corona debe ser simple y recta, sin brotes y brácteas, y su longitud puede variar entre 1 y 1,5 veces la longitud del fruto; se aceptan, leves deformaciones en hombros o base de fruta, irregularidad en la secuencia diagonal de los ojos de las inflorescencias, se permite una variabilidad mínima de colores en la cáscara, no se acepta fruta bicolor.

4.1.2 *Grado I.* Las piñas de este grado deben poseer el color y la forma característicos de la variedad. Podrán permitirse, sin embargo, los siguientes defectos leves, siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto, su calidad y estado de conservación:

a) Defectos moderados en la forma (como deformaciones en hombros o base de fruta, irregularidad en la secuencia diagonal de las inflorescencias);

(Continúa)

- b) Defectos moderados en el color, causados por el sombreado que se produce por el contacto entre los frutos con el medio y cicatrices superficiales ocasionadas por insectos. Estos defectos en conjunto no deben exceder el 10 % del área total del fruto.
- c) Se permite fruta bicolor, causada por problemas en la maduración de la fruta
- d) La corona debe ser simple y recta o ligeramente curva, sin brotes, y su longitud puede variar entre 1 y 1,5 veces la longitud del fruto.
- e) Se permiten defectos moderados de cáscara causados por insectos, siempre y cuando no afecten el aspecto general del producto y su calidad interna; este tipo de daño no puede superar 10%

4.1.3 Grado II. Este grado comprende las piñas que no pueden clasificarse en los grados anteriores, pero satisfacen los requisitos mínimos especificados en 6.1. Se admiten los siguientes defectos, siempre que conserven sus características esenciales en lo que respecta a su calidad, estado de conservación y presentación:

- a) Defectos en la forma (como deformaciones en hombros o base de fruta, irregularidad en la secuencia diagonal de las inflorescencias);
- b) Ligeras cicatrices o fisuras profundas que no afecten la pulpa de la fruta y se encuentren secas. Manchas en la cáscara debido a roce o manejo. Ligeró magullamiento, cáscara levemente quemada por efectos del sol. Estos defectos en conjunto no deben exceder el 20% del área total del fruto.

4.2 Calibre. El calibre se determina por el diámetro en mm de la sección ecuatorial de la fruta y la masa expresada en g. La correlación entre calibre, diámetro y masa es la siguiente:

TABLA 1. Calibres de la piña

Calibre	Diámetro ecuatorial, mm (ver 8.1.1)	Masa promedio, g (ver 8.1.2)
Milagrera y criolla		
Grande	> 130	> 2000
Mediana	130 - 120	2000 - 1500
Pequeña	< 120	< 1500
Hawaiana, MD2 y champaka		
Grande	> 120	> 1500
Mediana	120 - 110	1500 - 1000
Pequeña	< 110	< 1000

4.3 Tolerancias. Se admiten las siguientes tolerancias de calidad y calibre en cada unidad de empaque para los productos que no cumplan los requisitos de la categoría indicada.

4.3.1 Tolerancias de calidad

4.3.1.1 Grado extra. Se admite hasta el 5% en número o en peso de frutos que no correspondan a los requisitos de este grado, pero cumplan los requisitos del grado I.

4.3.1.2 Grado I. Se admite hasta el 10 % en número o en peso de frutos que no correspondan a los requisitos de este grado.

(Continúa)

4.3.1.3 *Grado II.* Se admite hasta el 10% en número o en peso de frutos que no cumplan los requisitos de este grado, ni los requisitos generales definidos en el numeral 5.1, con excepción de los productos con magulladuras severas, fisuras o con heridas no cicatrizadas.

4.3.2 *Tolerancias de calibre.* Para todos los grados se acepta hasta el 10% en número o en peso de frutos, que corresponda al calibre inmediatamente inferior o superior, al señalado en el empaque.

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1 Los frutos destinados a la comercialización, deben cumplir con los grados y calibres considerados anteriormente, deben estar bien formados, tener pulpa carmosa, corteza de color típico a la variedad. El producto no debe tener heridas, pudriciones y daños causados por insectos.

5.2 El proveedor debe garantizar que la muestra inspeccionada cumpla con el grado y calibre declarado en el rótulo o etiqueta del envase o embalaje.

6. REQUISITOS

6.1 *Requisitos específicos.*

6.1.1 Además de los requisitos y tolerancias permitidas para cada grado, las pifias deben tener las siguientes características físicas:

6.1.1.1 Estar enteras.

6.1.1.2 Estar libre de golpes.

6.1.1.3 La forma característica de la variedad.

6.1.1.4 Estar sanas (libres de ataques de insectos y/o enfermedades, que demeriten la calidad interna del fruto).

6.1.1.5 Estar libres de humedad externa anormal producida por mal manejo en las etapas poscosecha (recolección, acopio, selección, clasificación, adecuación, empaque, almacenamiento y transporte).

6.1.1.6 Estar exentas de cualquier olor y/o sabor extraño (provenientes de otros productos, empaques o recipientes y/o agroquímicos, con los cuales hayan estado en contacto).

6.1.1.7 Presentar aspecto fresco y el interior del fruto debe tener consistencia firme.

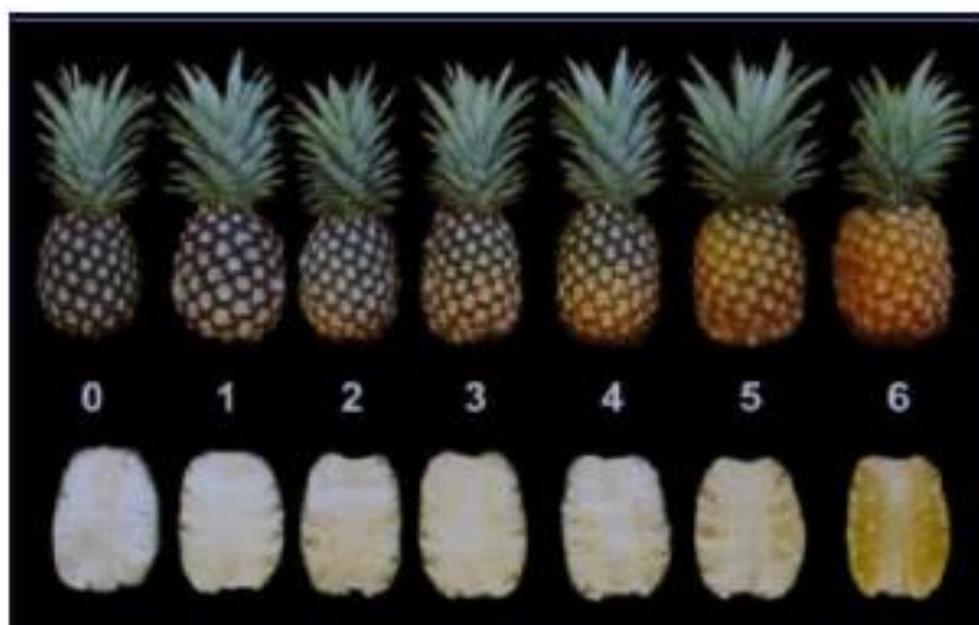
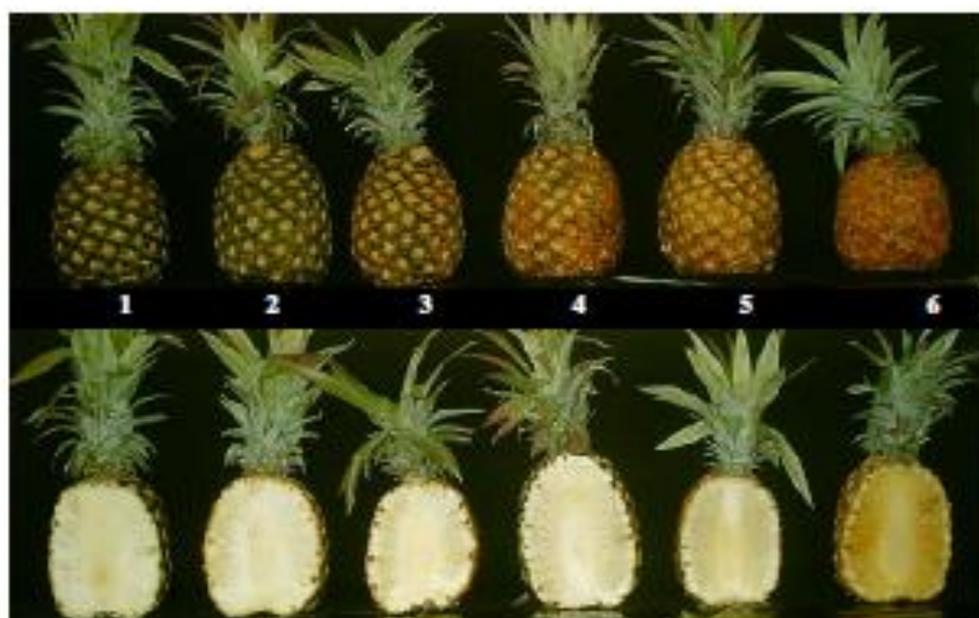
6.1.1.8 Estar exentos de materiales extraños (tierra, polvo, agroquímicos y cuerpos extraños) visibles en el producto o en su empaque.

6.1.1.9 Cuando tengan pedúnculo, su longitud no debe ser superior a 2,0 cm, y el corte deberá ser transversal y limpio.

6.1.2 Las pifias deben presentar un punto de madurez mínimo. El punto, sazón o grado de madurez se presenta en la forma, sabor, textura de la pulpa y aroma característicos de la variedad que se verifica sensorialmente.

6.1.2.1 La siguiente descripción relaciona los cambios de color con los diferentes estados de madurez:

(Continúa)



Fuente: Cenicafé, Centro Nacional de Investigaciones de café, Colombia

Estado verde: va del color 0 a color 1
 Estado pintón: va de color 2 a color 4
 Estado maduro: va de color 5 a color 6

(Continúa)

TABLA 2. Requisitos físico químicos de las piñas (milagraña, criolla, hawaiana, MD-2 y champaka) de acuerdo con su estado de madurez

	MADUREZ DE CONSUMO		MÉTODO DE ENSAYO
	Min	Max	
Acidez titulable % (ácido cítrico)	-	0,9	NTE INEN 381
Sólidos solubles totales, °Brix	11,0	17,0	NTE INEN 380
Contenido de pulpa, %	50	-	Ver 8.2

6.1.3 Los residuos de plaguicidas no deben exceder los límites máximos establecidos en el Codex Alimentarius

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 El desarrollo y condición de las piñas deben ser tales que les permitan:

- Soportar el transporte y la manipulación, y
- Llegar en estado satisfactorio al lugar de destino.

6.2.2 Condiciones de almacenamiento

6.2.2.1 Para evitar daños el fruto no debe exponerse al sol.

6.2.2.2 Las áreas de transporte y almacenamiento deben mantenerse frescas y ventiladas

6.2.3 Para su cosecha y comercialización se debe tener en cuenta que el fruto no es climatérico.

6.2.4 La comercialización de este producto debe sujetarse con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

7. INSPECCIÓN

7.1 Muestreo. El muestreo de las piñas se realizará de acuerdo con la NTE INEN 1 750.

7.2 Aceptación y rechazo. Si la muestra inspeccionada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en esta norma, se considera rechazada. En caso de discrepancia, se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tal fin. Cualquier resultado no satisfactorio, en este segundo caso, será motivo para considerar el lote como fuera de norma, y se debe rechazar el lote quedando su comercialización sujeta al acuerdo de las partes interesadas.

8. MÉTODO DE ENSAYO

8.1 Determinación del calibre

8.1.1 *Díámetro ecuatorial.* Se mide el diámetro de la sección ecuatorial del fruto con un calibrador y el resultado se expresa en milímetros (mm).

8.1.2 *Masa.* Pesar las piñas usando una balanza con sensibilidad a 1 gramo; la masa de la piña hawaiana, MD-2 y champaka es con la corona incluida; la masa de la piña milagraña y criolla es con la corona y el pedúnculo incluido.

8.2 *Determinación del contenido de pulpa.* Se obtiene mediante extracción manual (separando la pulpa de la cáscara) y se establece la relación de la masa de la pulpa con respecto a la masa total de la fruta (sin tomar en cuenta el pedúnculo, pero sí el corazón). El resultado se expresa en porcentaje (%).

(Continúa)

$$\text{Contenido de pulpa} = \frac{M \text{ pulpa (g)}}{M \text{ fruto (g)}} \times 100$$

9. EMBALAJE

9.1 El contenido de cada unidad de empaque debe ser homogéneo y estar compuesto únicamente por frutos de la misma variedad, grado, color y calibre. La parte visible del contenido del empaque debe ser representativa del conjunto.

9.2 Los empaques deben estar limpios y compuestos por materiales que no causen alteraciones al producto, así por ejemplo en cajas de madera, cartón corrugado o de otro material adecuado que reúna las condiciones de higiene, limpieza, ventilación y resistencia a la humedad, manipulación y transporte, de modo que garantice una adecuada conservación del producto.

9.3 Las características del embalaje de madera se encuentran establecidas en la NTE INEN 1 735.

10. ROTULADO

10.1 Los envases deben llevar etiquetas o impresiones con caracteres legibles e indelebles redactados en español (sin perjuicio de que además se expresen en otro idioma) y colocadas en tal forma que no desaparezcan bajo condiciones normales de almacenamiento y transporte, debiendo contener la información mínima siguiente:

- a) Identificación del productor, emparador y/o distribuidor (marca comercial, nombre, dirección o código).
- b) Nombre del producto: PIÑA Variedad....
- c) País de origen y región productora.
- d) Características comerciales: grado, calibre, contenido neto expresado en unidades del Sistema Internacional.
- e) Fecha de empaque.
- f) Impresión con la simbología que indique el manejo adecuado del producto, ver NTE INEN 2 058

10.2 Si se usan impresiones litográficas, éstas no deben estar en contacto con el producto.

(Continúa)

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 380:1986	Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 381:1986	Conservas vegetales. Determinación de la acidez titulable. Método potenciométrico de referencia
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 735:1989	Embalajes de madera para frutas y hortalizas. Requisitos.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 750:1994	Hortalizas y frutas frescas. Muestreo.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 751:1996	Frutas frescas. Definiciones y clasificación.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 058:1996	Embalajes. Símbolos gráficos para la manipulación de mercancías.
CODEX ALIMENTARIUS CAC/LMR 1-2001.	Limites máximos para residuos de plaguicidas.
Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad	Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Instituto Colombiano de Normas Técnicas Colombianas (ICONTEC) Norma Técnica Colombiana NTC 729-1 *Frutas frescas. Piña. Especificaciones.* Santa fe de Bogotá, 1997.

Instituto Ecuatoriano de Normalización, Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1836:1992 *Frutas frescas. Piña. Requisitos.* Quito, Ecuador

Programa Conjunto FAO/OMS NORMA DEL CODEX PARA LA PIÑA. (CODEX STAN 182-1993, REV. 1-1999, EMD. 1-2005)

Secretaría de comercio y Fomento Industrial, NMX-FF-028-1995-SCFI PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS PARA USO HUMANO - FRUTA FRESCA - PIÑA (Ananas comosus) - ESPECIFICACIONES

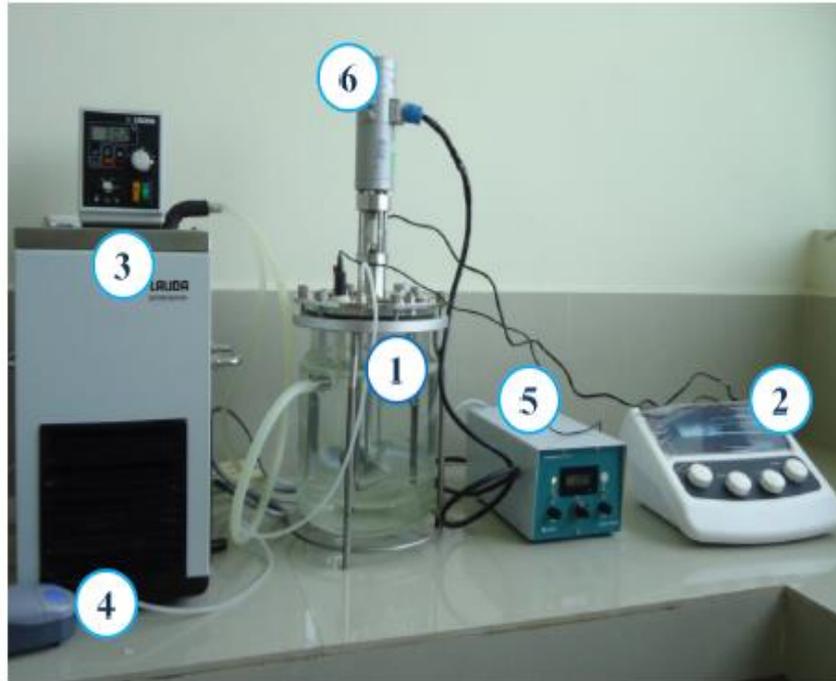
INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 1 836 Primera revisión	TÍTULO: FRUTAS FRESCAS. PINA. REQUISITOS	Código: AL 02.03-438
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1992-01-06 Oficialización con el Carácter de Obligatorio por Acuerdo No. 030 de 1992-01-21 publicado en el Registro Oficial No. 916 de 1992-04-15 Fecha de iniciación del estudio: 2007-05	
Fechas de consulta pública: de _____ a _____		
Subcomité Técnico: Frutas y Hortalizas frescas		
Fecha de iniciación: 2007-06-05		Fecha de aprobación: 2008-01-03
Integrantes del Subcomité Técnico:		
NOMBRES:	INSTITUCIÓN REPRESENTADA:	
Ing. Franklin Hernández (Presidente)	UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE	
Ing. César Mayorga	SUBSECRETARÍA DE FOMENTO	
Ing. Mándala Lema	AGROPRODUCTIVO MAG	
Sr. Jaime Capelo	MERCADO DE PRODUCTORES "SAN PEDRO DE RIOBAMBA" EEMPA	
Ing. José Sánchez	MERCADO DE PRODUCTORES "SAN PEDRO DE RIOBAMBA" EEMPA	
Ing. Yolanda Arguello	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR	
Ing. Susana Velásquez	COLEGIO DE INGENIEROS DE ALIMENTOS DE PICHINCHA	
Ing. Galo Sandoval	DECAB- ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL	
Ing. Guillermo Cevallos	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE ANBATO-FCIAL	
Ing. Rafael Altamirano	INIAP	
Ing. Ricardo Moreira	CORPEI	
Ing. Anthony Burgos	INIAP	
Dr. Jaime Campaña	FUNDACIÓN MANGO - ECUADOR	
Ing. Mónica Méndez	SECTOR ALIMENTOS CÁMARA PEQUEÑA	
Ing. Marcelo García	INDUSTRIA DE PICHINCHA	
Ing. María E. Dívalos (Secretaría Técnica)	SESA	
	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR	
	INEN - REGIONAL CHIMBORAZO	
Otros trámites:		
El Directorio del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2008-09-11		
Oficializada como: Obligatoria	Por Resolución No. 115-2008 de 2008-11-27	
Registro Oficial No. 519 de 2009-02-02		

**Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquería Moreno ES-20 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3699 - Telfs: (593 2) 2 501883 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567813**
Dirección General: [E-Mail: INEN@inen.gov.ec](mailto:INEN@inen.gov.ec)
Área Técnica de Normalización: [E-Mail: ntn@inen.gov.ec](mailto:ntn@inen.gov.ec)
Área Técnica de Certificación: [E-Mail: certificacion@inen.gov.ec](mailto:certificacion@inen.gov.ec)
Área Técnica de Verificación: [E-Mail: verificacion@inen.gov.ec](mailto:verificacion@inen.gov.ec)
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: [E-Mail: ts@inen.gov.ec](mailto:ts@inen.gov.ec)
Regional Guayaquil: [E-Mail: rguayaquil@inen.gov.ec](mailto:rguayaquil@inen.gov.ec)
Regional Azuay: [E-Mail: razuay@inen.gov.ec](mailto:razuay@inen.gov.ec)
Regional Cotacachi: [E-Mail: rcotacachi@inen.gov.ec](mailto:rcotacachi@inen.gov.ec)
URL: www.inen.gov.ec

Anexo 10

Fotografías



- | | |
|-------------------------------|-------------------------|
| 1. Frasco de fermentación | 2. Potenciómetro |
| 3. Controlador de temperatura | 4. Sistema de aireación |
| 5. Regulador del agitador | 6. Rotor |

Descripción del proceso de obtención de vinagre de piña

Tipo de mosto alcohólico



Mosto alcohólico de pulpa de piña



Mosto alcohólico de cáscaras y corazones

Obtención del mosto alcohólico

Recepción de la materia prima



Piña



Cáscaras y corazones

Selección



Selección piña



Selección cáscaras y corazones

Lavado



Pelado



Pesado y corte



Pesado y corte de la piña



Pesado de cáscaras y corazones

Obtención del jugo

Licuada de la pulpa



Obtención del jugo de pulpa de piña

Triturado de cáscaras y corazones



Obtención del jugo de cáscaras y corazones

Pesado



Pesado del jugo

Pasteurización



Pasteurización del jugo

Enfriamiento



Activación de levaduras



Inoculación



Inoculación de levaduras

Fermentación alcohólica



Filtración



Filtración mosto alcohólico

Pasteurización



Pasteurización y enfriamiento del mosto alcohólico

Fermentación acética, elaboración de vinagre

Inoculación



Acondicionamiento del mosto alcohólico e inoculación con vinagre iniciador (*Acetobacter aceti*).

Fermentación acética



Fermentación acética sin agitación



Fermentación acética con agitación

Filtrado



Filtración del vinagre

Pasteurización y enfriamiento



Pasteurización y enfriamiento del vinagre

Clarificación



Clarificación del vinagre

Envasado



Envasado del vinagre

Producto final



Vinagre

Anexo 11

Ficha de Análisis Sensorial

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

FECHA:.....

MARQUE CON UNA X SEGÚN SEA SU CRITERIO DE ANALISIS SENSORIAL PARA EL VINAGRE DE PIÑA								
			ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO					
	PUNTAJE	CARACTERÍSTICA	T3	T5	T6	T9	T11	T12
COLOR	5	ME GUSTA						
	4	ME GUSTA MODERADAMENTE						
	3	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA						
	2	ME DISGUSTA LEVEMENTE						
	1	NO ME GUSTA						
OLOR	5	ME GUSTA						
	4	ME GUSTA MODERADAMENTE						
	3	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA						
	2	ME DISGUSTA LEVEMENTE						
	1	NO ME GUSTA						
SABOR	5	ME GUSTA						
	4	ME GUSTA MODERADAMENTE						
	3	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA						
	2	ME DISGUSTA LEVEMENTE						

	1	NO ME GUSTA							
ACEPTABILIDAD	5	ME GUSTA							
	4	ME GUSTA MODERADAMENTE							
	3	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA							
	2	ME DISGUSTA LEVEMENTE							
	1	NO ME GUSTA							
APARIENCIA	5	ME GUSTA							
	4	ME GUSTA MODERADAMENTE							
	3	NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA							
	2	ME DISGUSTA LEVEMENTE							
	1	NO ME GUSTA							