



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

“ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE  
VINAGRE A  
PARTIR DE MIEL DE ABEJA (*Apis Mellifera*).”

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
AGROINDUSTRIAL.

**Autor: Morales Chimarro Jhenifer Jazmín**

**Director: Ing. Jimmy Núñez Pérez, MSc.**

**Ibarra- Ecuador**

**2022**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS  
Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE VINAGRE A  
PARTIR DE MIEL DE ABEJA *Apis Mellífera*.

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su  
presentación como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**APROBADA**

Ing. Jimmy Núñez, MSc.

**DIRECTOR DE TESIS**



---

**FIRMA**

Ing. Rosario Espín, MSc.

**OPOSITOR**



---

**FIRMA**

Ing. Holguer Pineda, MBA.

**OPOSITOR**



---

**FIRMA**



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

**1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA**

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

<b>DATOS DE CONTACTO</b>			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	172467810-5		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	Morales Chimarro Jhenifer Jazmín		
<b>DIRECCIÓN:</b>	Calle 13 de abril y América, Parroquia Juan Montalvo – Cayambe		
<b>EMAIL:</b>	jjmoralesc@utn.edu.ec		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>	ninguno	<b>CELULAR:</b>	0961309789

<b>DATOS DE LA OBRA</b>	
<b>TÍTULO:</b>	Estandarización del proceso de producción de vinagre a partir de miel de abeja <i>Apis Mellífera</i> .
<b>AUTOR:</b>	Morales Chimarro Jhenifer Jazmín
<b>FECHA:</b>	20/05/2022
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TÍTULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniero Agroindustrial
<b>ASESOR/DIRECTOR:</b>	Ing. Jimmy Núñez, MSc.

## **I. CONSTANCIAS**

El autor manifiesta 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 el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 20 días del mes de mayo de 2022.

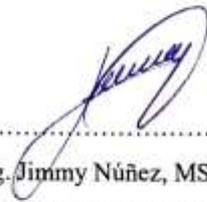
**EL AUTOR:**

(Firma).....

**Morales Chimarro Jhenifer Jazmín**

### **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue realizado por la Srta. Jhenifer Jazmín Morales Chimarro, con cedula de ciudadanía 172467810-5 bajo mi supervisión.



.....

Ing. Jimmy Núñez, MSc.

**DIRECTOR DE TESIS**

## **DEDICATORIA**

*Quiero empezar dedicando este título a Dios porque el merece toda la gloria y la honra ya que me ha permitido culminar esta etapa de mi vida en medio de toda situación, nunca me ha soltado siempre ha estado conmigo. A mi madre Hilda quien, con su amor, oraciones y apoyo siempre me alentado a seguir adelante, a mi padre Jaime me apoyado en el transcurso de la carrera, a mis hermanos, familiares y amigos que han estado presentes durante este largo proceso.*

**Jazmín**

## **AGRADECIMIENTOS.**

*Agradezco a Dios por darme la fortaleza para culminar mi carrera con gran éxito. A mis padres que han estado apoyándome tanto moral como en económicamente en toda situación, a mis hermanos Jean y Andy, a mis abuelitas Delita y Juanita por estar pendiente de mí.*

*A mi novio Pato por ser una de las personas que me apoyado incondicionalmente y ha sido cómplice de cada una de las vivencias en la Universidad.*

*De la misma forma estoy agradecida con la Universidad Técnica del Norte por brindarme la oportunidad de ampliar mis conocimientos en la carrera de Agroindustrias.*

*Gracias a cada uno de los docentes que durante la carrera han aportado con un granito de arena en mi crecimiento educativo y personal.*

*A mi director Jimmy Núñez y opositores Rosario Espín y Holguer Pineda que me han guiado con paciencia y sabiduría durante esta etapa de titulación.*

*Gracias a todos amigos y personas quienes formaron parte de este sueño.*

***Jazmín***

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	i
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ii
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	iii
RESUMEN.....	iv
SUMMARY .....	v
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1.1.    PROBLEMA.....	1
1.2.    JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3.    OBJETIVOS.....	4
1.3.1.    OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2.    Objetivos específicos .....	4
1.4.    HIPÓTESIS .....	4
1.4.1.    HIPÓTESIS NULA (HO).....	4
1.4.2.    HIPOTESIS ALTERNATIVA (Ha).....	4
CAPITULO II .....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. GENERALIDADES DE LA MIEL DE ABEJA.....	5
2.1.1. Composición química de la miel.....	6
2.1.2. Tipos de miel.....	7
2.1.3. Requisitos físicos y químicos en miel.....	8
2.1.3. Valor nutritivo de la miel.....	8
2.1.4.    Propiedades organolépticas de la miel de abeja.....	9
2.2.    El polen y su composición.....	10
2.2.1. Composición nutricional del polen de abeja.....	10
2.2.2    El polen en la fermentación alcohólica.....	12
2.2.3. Cantidad de polen e la fermentación alcohólica.....	12
2.2.4.    Características funcionales del polen de abeja.....	13
2.3.    VINAGRE .....	13

2.3.1. Definición.....	13
2.3.2. Tipos de vinagres. ....	13
2.3.3. Caracterización del vinagre.....	14
2.3.4. Producción y usos. ....	15
2.4. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA. ....	15
2.4.1. Factores para controlar durante la fermentación alcohólica. ....	16
2.5. FERMENTACIÓN ACÉTICA.....	17
2.5.1. Las bacterias ácido-acéticas (baa) en la producción de vinagre. ....	18
2.5.2. Métodos de acetificación. ....	18
2.5.3. Factores que influyen en la producción de vinagre.....	19
2.6. COMPUESTOS FENOLICOS EN EL VINAGRE.....	20
2.6.1. Antioxidantes. ....	20
2.6.2. Antioxidantes en el vinagre.....	21
CAPÍTULO III.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS. ....	22
3.1. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	22
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.....	23
3.3. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA. ....	24
3.3.1. Caracterización de los componentes fisicoquímicos del sustrato (miel de abeja y polen). ....	24
3.3.3. Establecimiento de las características antioxidantes presentes en el productofinal. ....	29
3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO. ....	30
CAPÍTULO IV.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1. CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LA MIEL DE ABEJA.....	36
4.1.1. Humedad. ....	37
4.1.2. Acidez. ....	37
4.1.3. Contenido de Azúcares (°Brix). ....	38
4.1.4. pH.....	38
4.1.5. Capacidad Antioxidante y Polifenoles en miel de abeja. ....	39
4.1.6. Caracterización Fisicoquímica del polen de abeja. ....	40
4.1.7. Humedad. ....	40
4.1.8. Proteína. ....	41

4.1.9.	Polifenoles y capacidad antioxidante. ....	41
4.2.	EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE VINAGRE A PARTIR DE MIEL DE ABEJA (Apis mellífera). ....	42
4.2.1.	Análisis de la fermentación alcohólica.....	43
4.2.2.	Análisis de la productividad en la fermentación alcohólica.....	45
4.3.	ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN VINAGRE DE MIEL.....	52
4.3.1.	Análisis de Antioxidantes.....	52
4.4.	Análisis fisicoquímico y organoléptico en vinagre de miel para cada tratamiento.....	58
4.4.1.	Análisis sensorial por atributos de vinagre de miel.....	59
CAPÍTULO V .....		61
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		61
5.1.	Conclusiones. ....	61
5.2.	Recomendaciones.....	62
BIBLIOGRAFÍA.....		63
ANEXOS.....		69

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Composición química de la miel.....	7
<b>Tabla 2:</b> Composición de polen apícola % (p/p).....	11
<b>Tabla 3:</b> Aminoácidos presentados como % de proteína en crudo. ....	11
<b>Tabla 4:</b> Condiciones Geográficas del área de experimentación. ....	22
<b>Tabla 5:</b> Materiales, Insumos y Equipos utilizados. ....	23
<b>Tabla 6:</b> Localización de la materia prima.....	24
<b>Tabla 7:</b> Variables y métodos utilizados en la caracterización fisicoquímica de miel. de abeja. ....	25
<b>Tabla 8:</b> Análisis fisicoquímicos para el polen de abeja. ....	25
<b>Tabla 9:</b> Tratamientos para la elaboración de vinagre de miel. ....	27
<b>Tabla 10:</b> Variables medidas durante el proceso fermentativo. ....	28
<b>Tabla 11:</b> Análisis de Varianza .....	29
<b>Tabla 12:</b> Análisis de Antioxidantes y Polifenoles para vinagre de miel.....	30
<b>Tabla 13:</b> Características fisicoquímicas de miel de abeja.....	36
<b>Tabla 14:</b> Características fisicoquímicas de polen de abeja. ....	40
<b>Tabla 15:</b> Análisis de varianza del tiempo en la fermentación alcohólica. ....	43
<b>Tabla 16:</b> Análisis de varianza de la productividad en la fermentación alcohólica. ....	46
<b>Tabla 17:</b> Análisis de varianza para la productividad en la fermentación acética. ....	49
<b>Tabla 18:</b> Análisis de varianza de capacidad antioxidante en vinagre de miel.....	52
<b>Tabla 19:</b> Análisis de varianza polifenoles en vinagre de miel.....	55
<b>Tabla 20:</b> Características de los mejores tratamientos en vinagre de miel.....	58
<b>Tabla 21:</b> Análisis sensorial por atributos de vinagre de miel. ....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Escala de color de miel por el método de Pfund. ....	9
<b>Figura 2:</b> Diagrama de proceso vinagre de miel. ....	31
<b>Figura 3:</b> Materia prima utilizada en el proceso. ....	31
<b>Figura 4:</b> A) Miel diluida en agua, B) Medición de °Brix con refractómetro .....	32
<b>Figura 5:</b> Pasteurización de mosto .....	33
<b>Figura 6:</b> A) Activación de levadura LALVIN D47, B) Inoculación del mosto, C) Adición de polen de abeja. ....	33
<b>Figura 7:</b> Etapa de fermentación alcohólica.....	34
<b>Figura 8:</b> Fermentación acética.....	35
<b>Figura 9:</b> Producto Final .....	35
<b>Figura 10:</b> Interacción Temperatura -Suplemento en función del tiempo .....	44
<b>Figura 11:</b> Interacción Brix-Suplemento en función del tiempo de fermentación. ....	45
<b>Figura 12:</b> Interacción Temperatura -Brix en función de la productividad. ....	47
<b>Figura 13:</b> Interacción Temperatura-Suplemento en función de la productividad. ....	48
<b>Figura 14:</b> Factor Suplemento en función de la productividad.....	50
<b>Figura 15:</b> Interacción de Temperatura-Suplemento en función de la productividad. ....	51
<b>Figura 16:</b> Interacción Temperatura -Suplemento en función de Capacidad Antioxidante.....	53
<b>Figura 17:</b> Interacción Temperatura-Brix en función de la Capacidad Antioxidante. ....	54
<b>Figura 18:</b> Interacción Temperatura-Suplemento en función de Polifenoles Totales. ....	56
<b>Figura 19:</b> Correlación Capacidad Antioxidante -Polifenoles totales en vinagre de miel.....	57
<b>Figura 20:</b> Análisis sensorial por atributos en vinagre de miel.....	60

## ÍNDICE DE ECUACIONES

**Ecuación 1:** Reacción química en la fermentación alcohólica.....16

**Ecuación 2:** Reacción química en la fermentación acética. ....18

## RESUMEN

La miel es muy reconocida por sus beneficios y propiedades, por otro lado, el polen es considerado como un suplemento muy completo, rico en aminoácidos y otros compuestos, sin embargo, estas materias primas no han sido explotadas correctamente para su crecimiento e industrialización ya que habido muy poca dinamización en el sector apícola, lo que incurre en una escasa cartera de productos a partir de miel y polen. Es por lo anterior que en la presente investigación se pretende obtener un producto estandarizado conocido como vinagre, donde se utilizó miel de abeja (*Apis Mellífera*) como fuente de carbono y polen como suplemento, dicho producto se llevó a cabo en dos etapas de experimentación. La primera etapa conocida como Fermentación alcohólica de los azúcares, propios de la miel y la segunda fermentación acética, enfocada en una fermentación oxidativa del alcohol obtenido, mediante cultivo sumergido. Previo a esto se realizó la caracterización fisicoquímica del sustrato miel y polen, determinando condiciones adecuadas para la fermentación alcohólica y acética. Se utilizó un diseño completamente al azar  $A \times B \times C$  considerando 2 niveles en factores como Temperatura °C, 24- 30; °Brix 23-24 y cantidad de suplemento 0% -1.5% para las dos fermentaciones, con 8 tratamientos y 3 repeticiones dando un total de 24 unidades experimentales. Además, se evaluó el contenido de antioxidantes y polifenoles del producto final por el método FRAP. Los datos fueron analizados estadísticamente donde se midieron variables de tiempo (h) y productividad (g/L.h) para la fermentación alcohólica y acética, dando como mejor tratamiento T5 con: Temperatura 30 °C, °Brix 22 y polen 30g, ya que permitió una velocidad de fermentación adecuada principalmente para la alcohólica logrando que el proceso se lleve a cabo en tan solo 7 días, con una productividad alta de 0,41g/Lh. Además, de cumplir los requisitos Fisicoquímicos establecidos por la norma ecuatoriana, el producto final logro tener una concentración alta y rica en antioxidantes y polifenoles totales.

**Palabras claves:** miel, polen, vinagre, fermentación alcohólica, fermentación acética, temperatura, tiempo, productividad.

## SUMMARY

Honey is well known for its benefits and properties, on the other hand, pollen is considered a very complete supplement, rich in amino acids and other compounds, however, these raw materials have not been properly exploited for growth and industrialization since there was very little dynamism in the beekeeping sector, which incurs in a scarce portfolio of products from honey and pollen. It is for the above that in the present investigation it is intended to obtain a standardized product known as vinegar, where bee honey (*Apis Mellifera*) was extracted as a carbon source and pollen as a supplement, this product was carried out in two stages of experimentation. The first stage known as alcoholic fermentation of sugars, typical of honey and the second acetic fermentation, focused on an oxidative fermentation of the alcohol obtained, through submerged culture. Prior to this, the physicochemical characterization of the honey and pollen substrate was carried out, determining the appropriate conditions for alcoholic and acetic fermentation. A completely randomized AxBxC design was acquired considering 2 levels in factors such as Temperature °C, 24-30: °Brix 23-24 and amount of supplement 0% -1.5% for the two fermentations, with 8 treatments and 3 repetitions giving a total of 24 experimental units. In addition, the content of antioxidants and polyphenols of the final product was evaluated by the FRAP method. The data were statistically analyzed where variables of time (h) and productivity (g/L.h) were measured for alcoholic and acetic fermentation, giving T5 as the best treatment with: Temperature 30 °C, °Brix 22 and pollen 30g, since it allowed a suitable fermentation speed mainly for alcohol, making the process complete in just 7 days, with a high productivity of 0.41g/Lh. In addition, meeting the physicochemical requirements established by the Ecuadorian standard, the final product managed to have a high concentration rich in antioxidants and total polyphenols.

**Keywords:** honey, pollen, vinegar, alcoholic fermentation, acetic fermentation, temperature, time, productivity.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. PROBLEMA

Ecuador se cataloga como un país privilegiado por su ventaja climática apto para la producción de miel de abeja. Según (LÍDERES, 2018) menciona que la productividad apícola alcanza, en promedio 10.2 kilogramos de miel por colmena, generando alrededor de 161.36 t/año, situándose la mayor cantidad en la provincia de Pichincha con un 22.8%, (Vivas, 2015) siendo así una de las provincias de mayor producción conformada por La Asociación de Apicultores de Pichincha (Adapi).

Sin embargo, dicha cantidad es baja debido a que el sector apícola nacional no ha sido correctamente explotado para su crecimiento e industrialización, así como también para la elaboración de sus productos derivados, lo que ha incurrido en un déficit en el mercado de dichos productos. Según (Vivanco et al., 2020) mencionan que todavía falta potencializar subproductos tales como la apitoxina, polen, jalea real entre otros. Por otro lado, (Currian, 2021) señala que otras de las problemáticas se extienden a la baja promoción y publicidad al consumo de miel, pero sobre todo escasos productos derivados a partir de miel, lo que incurre en la elaboración de los productos ordinarios y comunes

donde ya existe demasiada competencia. A esto se puede adicionar la falta de regularización de la miel la cual es importada y en ocasiones hasta falsificada o adulterada lo que afecta de manera negativa a la producción apícola ecuatoriana y así al desinterés por emprender nuevos productos.

A lo anterior expuesto se suma la falta de investigación de los procesos, la inexperiencia en la utilización de tecnologías e importación de estas que llegan a tener altos impuestos, limitando la industria a tecnologías tradicionales que se manifiesta en bajos rendimientos de la producción, falta de competitividad a nivel internacional lo que provoca la pérdida no solo de tiempo en trabajo si no también, sumas cuantiosas de dinero y sobre todo evita que se pueda conocer las características beneficiosas de este importante producto.

## **1.2. JUSTIFICACIÓN.**

La miel es el producto estrella de la producción apícola, que permite la obtención de una serie de subproductos de alto valor agregado tales como el polen, cera, jalea real, entre otros, mismos que hacen rentable y exitosa esta actividad (Ayora et al., 2019).

En la presente investigación se propone obtener vinagre utilizando la miel de abeja como fuente de carbono y como suplemento el polen. La miel y el polen son considerados componentes importantes en sustratos para algunos procesos de fermentación y pudiera brindar valor nutricional al producto final. Por otro lado, el vinagre es un producto muy valorado en el arte culinario en países como Estados Unidos y gran parte de Europa por sus características organolépticas y propiedades (Whitley, 2014)

El vinagre en general es considerado como un producto global, económico y de fácil producción con muchos usos y variaciones que cambian considerablemente dependiendo del mercado (Solieri & Giudici, 2009).

Es por lo anterior que se busca proponer un proceso de producción de vinagre con base de miel y polen el cual tiene la finalidad de ampliar la cartera de productos de la industria apícola para lograrlo introducir al mercado ecuatoriano ya que según (El Comercio, 2018) la aceptación de este producto en

los mercados nacionales se encuentra en crecimiento especialmente en el campo gastronómico.

Hoy en día la innovación y el emprendimiento son pilares muy importantes para el desarrollo económico de un país, permitiendo, generar fuentes de empleo. Un nuevo producto como es el vinagre de miel y polen pretende dinamizar el mercado de los productos apícolas y su agro industrialización a partir de materias primas 100% naturales, procedentes de la producción apícola ecuatoriana.

### **1.3. OBJETIVOS.**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Estandarizar el proceso de producción de vinagre a partir de miel de abeja *ApisMellifera*.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar los componentes fisicoquímicos del sustrato (miel de abeja y polen).
- Evaluar los parámetros de operación en la doble fermentación: temperatura, °Brix y cantidad de suplemento (polen).
- Establecer las características antioxidantes presentes en el producto final.

### **1.4. HIPÓTESIS**

#### **1.4.1. HIPÓTESIS NULA (H<sub>0</sub>)**

Los parámetros de temperatura y suplemento (polen) influyen en la obtención de los compuestos fenólicos en el producto final.

#### **1.4.2. HIPOTESIS ALTERNATIVA (H<sub>a</sub>)**

Los parámetros de temperatura y suplemento (polen) no influyen en la obtención de los compuestos fenólicos en el producto final.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. GENERALIDADES DE LA MIEL DE ABEJA.**

Según la FAO, 2019 el mercado mundial de la miel ha experimentado grandes cambios en los últimos años ya que se ha vuelto más sensible a las condiciones de calidad e inocuidad del producto transado, es así como los principales países productores de miel anivel mundial son China, Turquía, Argentina, Irán y Estados Unidos.

Además, en relación con la demanda mundial de miel, Estados Unidos, fue considerado como el mayor comprador de miel con un 24.4%, Alemania con el 12.9%, seguido de Japón, Francia, Reino Unido y China.

Por otro lado, en cuanto al producción nacional de miel en el Ecuador según (Vivanco et al., 2020) al ser un país privilegiado por su clima es considerado como un lugar adecuadopara la óptima producción de miel. Sin embargo, el sector apícola nacional no ha obtenidola atención necesaria para su crecimiento e industrialización. Esta desatención por pate del gobierno no le ha permitido su desarrollo total, Según el Programa Nacional Agrocalidad, este sector no ha sido correctamente explotado a pesar de contar con los recursos necesarios

para hacerlo, lo que ha provocado un déficit en el mercado con una demanda insatisfecha de productos apícolas (MAG, 2018).

La miel ha sido utilizada en la antigüedad por su valor nutritivo y medicinal, sus beneficios se conocen hace miles de años, por lo que su aprovechamiento se remonta a tiempos prehistóricos, la primera referencia escrita aparece en una tabla Sumeria y data del año 2100-2000 A.C, donde la miel se usaba como medicamento y como ungüento (Currian, 2021). Los antepasados se nutrían de la miel, recolectándola directamente de las colmenas silvestres o naturales.

La apicultura conocida como la técnica de criar y sacar provecho de las abejas, es posterior y data del Neolítico, en los comienzos de la agricultura. La civilización egipcia otorgó a la miel una gran importancia como alimento, medicamento y bebida (hidromiel) (Cuevas et al., 2021).

Por otro lado, se considera a la miel como una fuente muy rica en azúcares entre el 70- 80% (p/p), principalmente constituida por sacarosa, fructosa y glucosa, proporciones que dependen del origen botánico del néctar recolectado por las abejas. (Solieri & Giudici, 2009)

Cuando las abejas cosechan néctar, se almacena en sus estómagos de miel, separados de su estómago normal. El néctar se mezcla con enzimas que descomponen los azúcares más grandes, como la sacarosa, en los azúcares más pequeños, glucosa y fructosa (Encolmena, 2017).

### **2.1.1. Composición química de la miel.**

La miel está compuesta mayormente por los azúcares glucosa y fructosa los componentes mayoritarios reportados se encuentran en la Tabla 1

**Tabla 1:** Composición química de la miel.

<b>Componente</b>	<b>% (v/v)</b>
Glucosa	31.0
Fructosa	38.2
Sacarosa	1.5
Maltosa	7.2
Carbohidratos trisacáridos	4.2
Humedad/Agua	17.1
Vitaminas, minerales y enzimas	0.5

Fuente: (Encolmena, 2017)

### **2.1.2. Tipos de miel.**

Existe una gran variedad o clases de miel, según la procedencia de la flor o arbusto y recolección.

Monofloral: predominio del néctar de una especie. Las más usuales son de castaño, romero, tomillo, brezo, naranjo o azahar, tilo, acacia, eucalipto, lavanda o cantueso, zarzamora, alfalfa, etcétera.

Multifloral (mil flores): del néctar de varias especies vegetales diferentes, y en proporciones muy variables.

De la sierra o de montaña, y del desierto (varadulce, mezquite, gatun), que son tipos especiales de mil flores (Prior, 1981).

### **2.1.3. Requisitos físicos y químicos en miel**

Se puede describir la calidad de la miel de muchas maneras, pero existen unos criterios de calidad que son aplicables a todas las mieles según la Norma INEN:

- La miel debe presentar un color, aroma u olor característicos de su origen botánico. La miel no debe contener ningún ingrediente adicional, ni aditivos alimentarios, conforme con NTE INEN-CODEX 192.
- La miel no debe contener ningún material extraño o sabor, aroma u olor objetables que hayan sido absorbidos durante su procesamiento y almacenamiento.
- La miel de abejas de *Apis mellífera* no debe fermentar o producir efervescencia.
- No se debe utilizar tratamientos químicos o bioquímicos para modificar la cristalización /composición de la miel (INEN 1572, 2016).

### **2.1.3. Valor nutritivo de la miel.**

La miel al ser compuesta principalmente por hidratos de carbono como glucosa y fructosa se considera como un alimento energético de calidad.

- La presencia de fructosa aporta energía a largo plazo, la que al ser digerida es acumulada en el hígado en forma de glucógeno, siendo liberada al organismo en la medida que se requiere, favoreciendo el funcionamiento del páncreas y protegiendo el hígado.
- La miel contiene, aproximadamente un 20% menos de calorías y con mayor poder edulcorante que el azúcar de mesa.
- A lo largo de la historia, ha sido usada como desinfectante, debido a la presencia de peróxido de hidrógeno producido por la enzima glucosa-oxidasa y antioxidantes fenólicos que inhiben un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Lobos & Currian, 2021).

#### 2.1.4. Propiedades organolépticas de la miel de abeja.

Entre las propiedades organolépticas principales de la miel se encuentra el color, olor y sabor, mismos que son características de la planta de la cual procede.

El color es uno de los primeros atributos percibidos, y la propiedad óptica de mayor variabilidad. En apicultura, el color, es una de las propiedades sensoriales atribuidas a la localidad, origen, propiedades funcionales, entre otras.

Algunos estudios atribuyen el color a diversos factores como:

- Buenas condiciones de envejecimiento: ya que un inadecuado almacenamiento afecta a la intensidad del color en la miel.
- Origen botánico, ya que altos contenidos de compuestos fenólicos y antioxidantes contribuyen a una miel más oscura (Lobos & Currian, 2021).

A continuación, en la Figura 1 se indica la clasificación de la miel respecto de su color. La escala de colores mm Pfund es universal de la USDA (Departamento de Agricultura de Estados Unidos) y permite clasificar las mieles.

BLANCO AGUA	EXTRA BLANCO	BLANCO	AMBAR EXTRA CLARO	AMBAR CLARO	AMBAR	AMBAR OSCURO
0-8	9-17	18-34	34-50	51-85	86-114	>114

**Figura 1:** Escala de color de miel por el método de Pfund.

Fuente: Boletín INIA 2021

La miel tiene un sinnúmero de propiedades terapéuticas que la convierten en un remedio natural muy eficaz frente a diversas afecciones.

A continuación, se presentan algunas de las propiedades terapéuticas más relevantes:

**Tonificante:** La miel aporta azúcares simples, además de sustancias con alto valor biológico como antioxidantes, flavonoides, carotenoides, fenoles, enzimas, etc.

Bactericida, antiséptico y cicatrizante: La miel posee un gran poder antibiótico y cicatrizante, por lo que ha sido utilizada desde tiempos remotos en el tratamiento de heridas.

Mineralizante: La miel mejora la absorción de otros nutrientes, como es el caso del calcio y el hierro.

Prebiótica: La miel puede ser considerada como alimento prebiótico por su contenido en oligosacáridos, azúcares de cadena media presentes en la misma, como la melecitosa, la maltotriosa y la rafinosa, que parecen estimular el crecimiento y la actividad de especies de bifidobacterias que habitan en el colon humano y que forman parte de la microflora intestinal saludable (Encolmena, 2017).

## **2.2. El polen y su composición.**

El polen de abeja es considerado como parte en la dieta de los seres humanos, el cual presenta propiedades nutricionales y beneficios para la salud.

Este producto presenta en su composición nutricional proteínas, lípidos, azúcares, fibras, sales minerales, aminoácidos y vitaminas (S. Carpes et al., 2007).

### **2.2.1. Composición nutricional del polen de abeja.**

**Tabla 2:** Composición de polen apícola % (p/p).

<b>Componente</b>	<b>% (p/p)</b>
Hidratos de Carbono	13-55
Proteínas	10-40
Lípidos	1-10
Fibra bruta	0.3-2
Cenizas	2-6

Fuente:(Pascoal et al., 2014)

**Tabla 3:** Aminoácidos presentados como % de proteína en crudo.

<b>Aminoácido</b>	<b>Cantidad % (p/p)</b>
Lisina	7.7
Isoleucina	7.0
Valina	6.9
Prolina	6.21
Fenilalanina	5.94
Arginina	5.35
Alanina	5.38
Treonina	5.3
Serina	4.95
Glicina	4.81
Tirosina	3.69

Metionina	1.17
Leucina	9.06
Histidina	Menos de 1.0
Cistina	Menos de 1.0
Ac. Glutámico	12.18
Ac. Aspártico	12.57

---

Fuente: Dirección de industria alimentaria como se citó en (Mendoza, 2014).

### **2.2.2 El polen en la fermentación alcohólica.**

El polen es conocido como un activador nutriente natural en la fermentación alcohólica. Según (Amores, 2018) “Afirma que este suplemento presenta mejores y completas funcionalidades permitiendo aumentar la cantidad de Nitrógeno Funcional Asimilable (NFA) en los mostos, mejorando así la cinética fermentativa, como la producción de biomasa viable”. Por otro lado (Roldan et al., 2011) mencionan que el polen de abeja en los hidromiel o aguamiel mejora la calidad sensorial (aromática y gustativa) al tiempo que evita las desviaciones metabólicas de las levaduras durante la fermentación alcohólica.

### **2.2.3. Cantidad de polen e la fermentación alcohólica.**

Según estudios realizados indican que la adición de polen conlleva un aumento significativo de los niveles de nitrógeno asimilable en mostos blancos, sin embargo, no se indican cambios significativos en la densidad, salvo para dosis más altas entre (10 y 20 g/L), donde hay una cierta aportación de azúcar, en el caso de estudios preliminares con hidromiel.

De la misma manera, aquellos vinos los cuales presentan polen tienen mayor capacidad para el incremento en las poblaciones de levaduras y no produce

ningún tipo de alteración en los parámetros físicos y químicos, color de los vinos finales por lo que presentan mejor aceptación y características organolépticas (Amores, 2018)

#### **2.2.4. Características funcionales del polen de abeja.**

Debido a su composición nutricional el polen se utiliza como suplemento en otros alimentos. Presenta actividad antioxidante, misma que es reconocida por la captación de radicales libres y la inhibición de la peroxidación lipídica. Dicha actividad está ligada a la presencia de vitaminas C, E, B carotenos y compuestos fenólicos. Además, las propiedades terapéuticas y los efectos protectores del polen están relacionadas con el contenido de polifenoles, los cuales son los compuestos principales que determinan la actividad antioxidante del polen de abejas (Aloisi & Ruppel, 2014).

### **2.3. VINAGRE**

#### **2.3.1. Definición**

El vinagre es uno de los condimentos más usados en la cocina ya que proporciona a los alimentos un sabor y un aroma particular. También se viene usando antiguamente, tanto en la cocina como en la industria alimentaria, como excelente conservante ya que impide la proliferación de microorganismos, aumentando así la vida útil del alimento (Zudaire, 2003)

Según (INEN 2296, 2013) “El vinagre es el producto líquido, apto para el consumo humano, proveniente de la doble fermentación alcohólica y acética de productos alimenticios que contienen azúcares y/o sustancias amiláceas”.

#### **2.3.2. Tipos de vinagres.**

Existe una extensa diversidad de materias primas de origen agrícola que se emplean para la obtención de vinagres. En los países mediterráneos la principal materia prima empleada es el vino; en otros países donde no se cultiva la vid, se dice que optan por la utilización de otras materias primas como frutas, sidra, malta, alcohol de vino, de cañales, de melazas, de suero de leche, miel o de arroz

(Cerezo, 2008).

Según (INEN 2296, 2013) los vinagres se pueden clasificar en:

- Vinagre de vino: por fermentación acética de vino
- Vinagre de frutas: obtenido a partir de frutas o bayas.
- Vinagre de sidra: a partir de sidra o sus piquetas.
- Vinagre de alcohol: por la fermentación acética del alcohol destilado de origen agrario.
- Vinagre de malta: elaborado sin destilación intermedia por el procedimiento de doble fermentación alcohólica y acética a partir de cebada malteada.
- Vinagre de miel de abejas: Obtenido a partir de la miel.
- Vinagre del suero de leche: obtenido a partir del suero de leche.
- Anguílula del vinagre (*Turbatrix aceti* o *Anguillula aceti*). Son pequeños nematodos dorados causantes de la fermentación acética, que se encuentran en el vinagre no pasteurizado, se lo conoce como madre del vinagre.

### **2.3.3. Caracterización del vinagre.**

La caracterización de un vinagre se basa principalmente en criterios de calidad. Su finalidad es la protección de los consumidores, frente a la comercialización de productos con baja calidad. Para dicha caracterización es necesario la utilización de materiales principales como sustrato fermentativo y procesos de acetificación.

El primer requisito que debe cumplir el vinagre es poseer la concentración de ácido acético para lo cual se realiza un análisis de aminoácidos por cromatografía gaseosa- espectrometría de masas logrando así diferencias entre vinagre fermentado y sintético (Cerezo, 2008).

#### **2.3.4. Producción y usos.**

Se considera que la producción de vinagre es una industria pequeña en los países industrializados, mientras que, en países en desarrollo, donde la tecnología de conservación de alimentos es limitada, el vinagre es un agente de preservación importante, razón por la cual existe un gran potencial para esta industria. Se dice que casila mayoría de los vinagres son de origen vegetal con excepción de los que se producen apartir del suero de leche y miel.

Se considera al vinagre balsámico un producto el cual posee varios usos, entre los más conocidos tenemos:

- Utilizado especialmente como aderezos, en platos fuertes y hasta en los postres; lo que lo vuelve una pieza esencial en la cocina.
- Se utiliza como aliño todo tipo de carnes al carbón.
- Al tener un contenido de ácido acético se caracteriza como un compuesto bactericida.

Según investigaciones científicas anuncian que el vinagre ayuda la absorción de minerales principalmente el calcio (OKIDIARIO, 2017).

#### **2.4. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA.**

La fermentación alcohólica es considerada como una biorreacción que permite degradar desde fuentes de carbono hasta aminoácidos que son utilizadas por las levaduras como (*Saccharomyces cerevisiae*). Dicha fermentación se genera por un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono como glucosa, fructosa, sacarosa, el almidón etc. Para tener como productos finales un alcohol en forma de etanol (Cruz, Hurtado, Terán, & Tomas, 2012).

La reacción química que ocurre en la fermentación alcohólica es:

(1)



Sacarosa

Alcohol etílico Dióxido de Carbono

**Ecuación 1:** Reacción química en la fermentación alcohólica.

#### **2.4.1. Factores para controlar durante la fermentación alcohólica.**

- **Temperatura**

Según (Gómez et al., 1997)“La temperatura influye principalmente en la velocidad de fermentación y en las características del producto final. Sin embargo, (M. López, 2007)menciona “Un aumento de temperatura excesivo conlleva a la producción de menos etanol y compuestos secundarios lo que afectan a la calidad como aromas y propiedades organolépticas del producto final. Por ello la autora menciona “Una temperatura de 24 a 27°C en miel poco coloreada como la de trébol, puede lograr fermentaciones sin agitación hasta alcanzar un 12 a 13% de etanol.”

Además, para un buen desarrollo de la fermentación alcohólica, la temperatura debe mantenerse a valores próximos a la temperatura optima (25 °C) permitiendo obtener hidromieles con aromas más intensos y armoniosos, mientras tanto (Iglesias et al., 2014) mencionan que para la cepa de *S. cerevisiae*, se obtienen tasas de fermentación más altas a temperaturas entre 20 y 30 °C, mientras que temperaturas inferiores a 15 °C se asocian con disminuciones significativas en el rendimiento fermentativo.

- **pH**

Como el pH es un factor determinante en la velocidad de fermentación, se ha podido establecer que valores entre 3.7 y 4.6 son ideales para este proceso. La

utilización de sistemas reguladores como el ácido cítrico (citrato de sodio) puede regular el pH en este intervalo (Gómez et al., 1997).

- **Azúcares**

Los azúcares se caracterizan por ser sustancias carbonadas, los mismos que tiene influencia sobre el alcohol que se tendrá en el producto final. Para el caso de producción de vinos se usa azúcar para llegar a un correcto acondicionamiento de 22-23 °Brix.

Sin embargo, según (M. López, 2007) menciona “La velocidad de fermentación al estar influenciada con concentración de azúcares iniciales muy altos (superior 200 g/l) disminuirán la velocidad de fermentación y a concentraciones de azúcares en torno a los 600 g/l no es posible la fermentación del medio”.

- **Concentración de miel.**

Para las diferentes concentraciones se conoce que la miel generalmente contiene entre un 65-75% en peso de azúcares reductores (Velásques & Goetchel, 2019). Es por ello que la dilución debe efectuarse hasta alcanzar 12 a 30% de estos carbohidratos. A partir de estas soluciones se puede obtener un contenido de 10 a 16% de etanol.

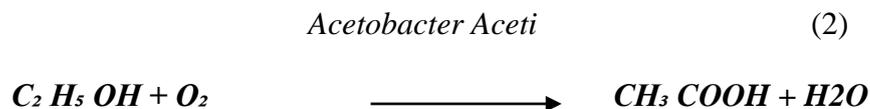
Según (Iglesias et al., 2014) La proporción en que se diluye la miel determina el tipo de hidromiel que se obtiene: la más fina a 1:0.5 (miel: agua) y las demás variantes a 1:1, 1:2 y 1:3. Las mezclas que contienen las mayores concentraciones de azúcar (tipos 1:0.5 y 1:1) se obtienen añadiendo miel de manera sucesiva, para evitar detener la fermentación por presiones osmóticas excesivas.

## **2.5. FERMENTACIÓN ACÉTICA.**

Considerada como segunda fermentación, de la cual se obtendrá como producto final vinagre, donde en las soluciones diluidas de etanol se llevará a cabo la oxidación mediante bacterias acéticas y oxígeno disuelto para posteriormente ser transformadas en ácido acético y agua.

Según (M. López, 2007)“Menciona que la fermentación acética es la fermentación bacteriana por *Acetobacter*, un género de bacterias aerobias, que transforma el alcohol en ácido acético. Dichas bacterias son microorganismos vivos que al igual que las levaduras, son sensibles a las condiciones del medio y requieren ciertos nutrientes para su adecuado desarrollo (Cerezo, 2008).

La reacción que tiene lugar es:



**Ecuación 2:** Reacción química en la fermentación acética.

### **2.5.1. Las bacterias ácido-acéticas (baa) en la producción de vinagre.**

A pesar de los intentos de estandarizar el proceso de acetificación para la elaboración de vinagres, todavía, no hay disponible en el mercado un cultivo iniciador de bacterias del ácido acético. La falta de arrancadores puede causar varios problemas en la producción de vinagre y, consecuentemente, pérdidas económicas. Contar con un cultivo starter fiable podría acelerar el comienzo de la oxidación, así como también, disminuir los problemas de contaminación y los tiempos de proceso (Gerard, 2015).

### **2.5.2. Métodos de acetificación.**

Las bacterias acéticas son las responsables de la fermentación acética. El aporte de oxígeno del que disponga determina la velocidad de acetificación”. A continuación, dos métodos fundamentales en la elaboración de vinagre:

#### **2.5.2.1. Acetificación con cultivo superficial.**

Las bacterias acéticas se encuentran situadas en la superficie del líquido a acetificar o bien fijadas a soportes tales como virutas. El crecimiento del cultivo se restringe a una zona reducida del volumen a acetificar con lo cual la velocidad de acetificación es lenta, la producción de escaso volumen y el coste más elevado.

La lentitud de la acetificación ocasiona un proceso de envejecimiento simultáneo que favorece el desarrollo de propiedades sensoriales muy apreciadas (Cerezo, 2008).

#### **2.5.2.2. Acetificación con cultivo sumergido.**

Las bacterias acéticas están sumergidas libremente en el seno del líquido a fermentar, en el que constantemente se introduce aire, en condiciones que permitan la máxima transferencia posible desde la fase gaseosa a la fase líquida. Así se obtienen de forma rápida la mayoría de los vinagres que existen en el mercado y cuyo coste de producción es menor.

Una de las características más importantes de los biorreactores utilizados en estos procesos es el sistema de aireación. Este consta de una turbina que aspira el aire desde el exterior y lo libera en los orificios radiales, en forma de finas burbujas. La mezcla de aire-líquido es empujada hacia arriba y desviada por los deflectores. Toda la masa se mantiene en un estado constante de agitación para evitar la formación de zonas de baja tensión de oxígeno, que son desfavorables para la actividad metabólica de BAA (Gullo et al., 2014).

#### **2.5.3. Factores que influyen en la producción de vinagre.**

- **Temperatura:** las bacterias acéticas son viables en 28-33 °C, sin embargo, la velocidad de fermentación varía en función de la temperatura. Según (Balconi, 2016) menciona que la temperatura de óptima de fermentación es de 30 °C ya que por encima de los 35 °C la actividad decrece rápidamente y entorno a los 45 °C mueren.
- **Oxígeno Disuelto:** debido a que las bacterias como tal requieren oxígeno para su supervivencia. La falta de oxígeno por tiempos cortos (3-5 min) puede ser un riesgo y paralizar la acetificación. Por otro lado, un exceso contenido de oxígeno provocará la sobre oxidación y arrastre de los componentes volátiles.
- **Ciclos de carga y descarga:** los acetificadores operan en régimen semicontinuo realizando ciclos de carga y descarga, logrando así que las

bacterias acéticas impidan que se metabolice el ácido acético formado, transformándolo en CO<sub>2</sub> y agua.

- **Concentración de etanol:** Según (Gerard, 2015) menciona “altas concentraciones de etanol puede provocar un decrecimiento de BAA y valores superiores a 50 g/L influyen de forma negativa en la velocidad de acetificación y por el contrario valores bajos ocasionan efectos sobre la viabilidad celular dependiendo de la acidez del medio.

Por otro lado (M. López, 2007) menciona que el etanol debe estar en concentraciones adecuadas para favorecer el crecimiento microbiano. Por lo que el autor menciona que a concentraciones per encima de 40 g/L el crecimiento microbiano se inhibe de manera considerable.

## **2.6. COMPUESTOS FENOLICOS EN EL VINAGRE.**

Se encuentran en alimentos como vegetales, frutas, chocolates, té, café, vino y vinagre en diferentes concentraciones. Los mostos de vino y vinagre son una rica fuente en flavonoides y otros fenoles en la dieta humana incrementando la capacidad antioxidante, disminuyendo así la oxidación de proteínas ente otros beneficios (Rivera, 2013).

### **2.6.1. Antioxidantes.**

Estos compuestos se encuentran presentes principalmente en especies vegetales tales como plantas, frutas, verduras y en diferentes tipos de bebidas.

Se dice que el organismo humano posee antioxidantes endógenos mediados por varias enzimas como la catalasa sin embargo este mecanismo de defensa en algunas ocasiones no es suficiente por lo que es necesario la ingestión de antioxidantes exógenos mediantela alimentación o en forma de suplementos.

Las plantas son fuente de compuestos con actividad antioxidante que podrían contribuir a la protección del organismo frente a enfermedades degenerativas como el cáncer y otras (Echavarría et al., 2012).

### **2.6.2. Antioxidantes en el vinagre.**

La transformación del mosto en vino y posteriormente en vinagre es un proceso que se genera principalmente por levaduras y bacterias juntamente con la gran cantidad de metabolitos secundarios asociados a los diferentes tipos de mieles, se hacen responsables de la actividad antioxidante del producto final como compuestos fenólicos.

Estos compuestos se encuentran presentes en las plantas de las cuales las abejas han tomado el néctar para elaborar la miel. En algunos casos, estos pueden estar ligados a otros ingredientes que pueden haber sido introducidos en los mostos como frutas y extractos de hierbas aromáticas (Kahoun et al., 2008). La gran cantidad de metabolitos secundarios asociados a los diferentes tipos de mieles, se hacen responsables de la actividad antioxidante del producto final como compuestos fenólicos.

Estos compuestos se encuentran presentes en las plantas de los cuales las abejas han tomado el néctar para elaborar la miel. En algunos casos, estos pueden estar ligados a otros ingredientes que pueden haber sido introducidos en los mostos como frutas y extractos de hierbas aromáticas.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.

La presente investigación y experimentación se llevó a cabo en la provincia de Imbabura, cantón Ibarra. Específicamente en los laboratorios de la Universidad Técnica del Norte, perteneciente a la carrera de Agroindustrias, Unidades Edu-Productivas área de Biotecnología misma que cuenta con las siguientes condiciones climáticas:

**Tabla 4:** Condiciones Geográficas del área de experimentación.

<b>Condiciones climatológicas</b>	<b>Descripción</b>
Provincia	Imbabura
Cantón	Ibarra
Parroquia	El Sagrario
Altitud	2256 m.s.n.m

Humedad relativa promedio	89.2%
Temperatura	16.3 °C
Pluviosidad	623 mm Año

Fuente:(INHAMI, 2020)

### 3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.

Para el desarrollo de la fase experimental se utilizaron los siguientes materiales expuestos en la Tabla 5:

**Tabla 5:** Materiales, Insumos y Equipos utilizados.

<b>Materia prima e insumos</b>	<b>Materiales y Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Miel	Balanza Papel indicador de pH	Solución NaOH Fenolftaleína
Levadura Comercial D47.	Probeta Bureta	Solución Buffer Alcohol
<i>Acetobacter aceti</i>	Pipeta	Agua destilada
Polen de abeja	Pinza de doble nuez Soporte universal Jarra de medida Envases de vidrio Mangueras Agitador Potenciómetro Equipo de fermentación alcohólica y acética Alcoholímetro Refractómetro	

### 3.3. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA.

#### 3.3.1. Caracterización de los componentes fisicoquímicos del sustrato (miel de abeja y polen).

La miel y polen seleccionado para la elaboración de vinagre a partir de miel de abeja (*Apis mellífera*) se obtuvo de la ciudad de Tabacundo, cantón Pedro Moncayo, parroquia Guallaro Chico. En el sitio existe variedad de plantas nativas, tales como aguacate, tomillo, trébol y una gran predominancia de eucalipto, donde las abejas realizan sus labores de recolección de néctar y polen para posteriormente convertirlas en miel.

Por tal motivo la miel y polen que se utilizó fue de tipo multifloral con alta predominación de eucalipto. En la Tabla 6 se detallan las condiciones climáticas que cuenta dicho lugar:

**Tabla 6:** Localización de la materia prima.

<b>Condiciones Climatológicas</b>	<b>Descripción</b>
Provincia	Pichincha
Cantón	Pedro Moncayo
Parroquia	Tabacundo
Altitud	2877 msnm
Humedad relativa promedio	90%
Temperatura	14.1 °C
Precipitación	550.3 mm/año

Presión

1013.88 mbar

Fuente:(INHAMI, 2020)

La miel y polen se conservó a una temperatura de 20 °C para los respectivos análisis, esto con la finalidad de mantener presentes sus características organolépticas y evitar la prontos cristalización y posible degradación. En la Tabla 7 se muestra la metodología usada para la determinación de acidez total, pH, contenido de azúcares, humedad; además de la composición de polifenoles y capacidad antioxidante. Mientras que en la Tabla 8 se muestra la metodología utilizada para el contenido de proteínas, humedad, antioxidantes y polifenoles presentes en el polen.

**Tabla 7:** Variables y métodos utilizados en la caracterización fisicoquímica de miel de abeja.

Variables	Unidad	Norma
Humedad	%	NTE INEN 1632 (AOAC-969.38)
Acidez Total	meq/Kg	NTE INEN 1634 (AOAC 962.19)
Contenido de azúcares	°Brix	NTE INEN 1633
pH	--	NTE INEN 1572
Antioxidantes	um Trolox/g	FRAP (Oyaizu,1986)
Polifenoles totales	Mg Ac. Gálico	Official Methods of Analysis AOAC

**Tabla 8:** Análisis fisicoquímicos para el polen de abeja.

Análisis	Unidad	Norma
Humedad	%	Salvadoreña AOAC 17 EDICION, 2003
Proteína	%	Código alimentario argentino.

Antioxidantes	um Trolox/g	FRAP (Oyaizu,1986)
Polifenoles totales	Mg Ac. Gálico/g	Official Methods of Analysis AOAC

### **3.1.2. Evaluación de parámetros de operación en la doble fermentación: temperatura, °Brix y cantidad de suplemento (Polen).**

La evaluación de los parámetros de fermentación del vinagre a partir de miel de abeja (*Apis mellífera*) se realizó mediante un diseño experimental utilizando el programa Desing Expert que consistió en:

**Diseño:** DCA AxBxC

**Tratamientos:** 8

**Repeticiones:** 3

**Unidades Experimentales:** 24

### **3.3.2. Proceso de fermentación.**

Se realizó la fase experimental bajo la consideración de (Acosta, 2012) y (Gómez et al., 1997) donde señalan que el proceso de fermentación tanto alcohólica como acética requieren ser verificados mediante factores tales como (Temperatura y °Brix ) adicional a esto (Amores, 2018) menciona la adición de un suplemento o nutriente como el polen que además de ser un activador nutriente natural en la fermentación, conlleva un aumento significativo de los niveles de nitrógeno, mejorando así la cinética y el rendimiento en el proceso fermentación. A continuación, en la Tabla 9 se muestra los parámetros utilizados para la fermentación tanto alcohólica como acética de la bebida:

**Tabla 9:** Tratamientos para la elaboración de vinagre de miel.

	<b>Factor A</b>	<b>Factor B</b>	<b>Factor C</b>
<b>Tratamientos</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>°Brix</b>	<b>Suplemento (Polen)</b>
T1	A1	B1	C1
T2	A1	B1	C2
T3	A1	B2	C1
T4	A1	B2	C2
T5	A2	B1	C1
T6	A2	B1	C2
T7	A2	B2	C1
T8	A2	B2	C2

**Factor A:** Temperatura de fermentación alcohólica y acética.

A1: 24 °C

A2: 30 °C

**Factor B:** °Brix

B1: 22

B2: 23

**Factor C:** Cantidad de Suplemento (Polen)

C1: 0%

C2: 1.5%

### 3.3.2.1 Variables dependientes.

Las variables dependientes utilizadas para la elaboración de vinagre de miel se rigieron en base a las normas Internacionales AOAC y Codex 162-1987, que se describe en la Tabla 10.

**Tabla 10:** Variables medidas durante el proceso fermentativo.

	<b>VARIABLES</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>NORMA</b>
Fermentación alcohólica y acética	Alcohol	%	AOAC 930.35
	pH	--	AOC 981.12
	Sólidos solubles	°Brix	CODEX 162-1987
Fermentación acética	Acidez Total (Ácido Acético)	%	AOAC 930.35

### 3.3.2.2. Análisis estadístico ADEVA

Se llevó a cabo un ADEVA con la finalidad de que la presente investigación cumpla con los supuestos planteados, en la Tabla 11 se determinó la influencia de los factores y su interacción (Temperatura, °Brix y cantidad de suplemento polen) frente a las variables dependientes.

**Tabla 11:** Análisis de Varianza

<b>FV</b>	<b>GL</b>
TOTAL	23
Tratamientos	7
Temperatura de fermentación (Factor A)	1
°Brix (Factor B)	1
Suplemento polen (Factor C)	1
Interacción AxB	1
Interacción AxC	1
Interacción BxC	1
Interacción AxBxC	1
Error experimental	16

### **3.3.3. Establecimiento de las características antioxidantes presentes en el productofinal.**

El contenido de polifenoles totales PFT presentes en el vinagre se determinó mediante un ensayo donde se empleó el reactivo conocido como Folin-Ciocalteu (F-C), con la finalidad de medir la capacidad que tienen los polifenoles (Panagiotis, H. Tsarouhas Ioannis, 2011). Por otro lado, para la capacidad antioxidante se llevó a cabo el método reducción de ion férrico FRAP. A

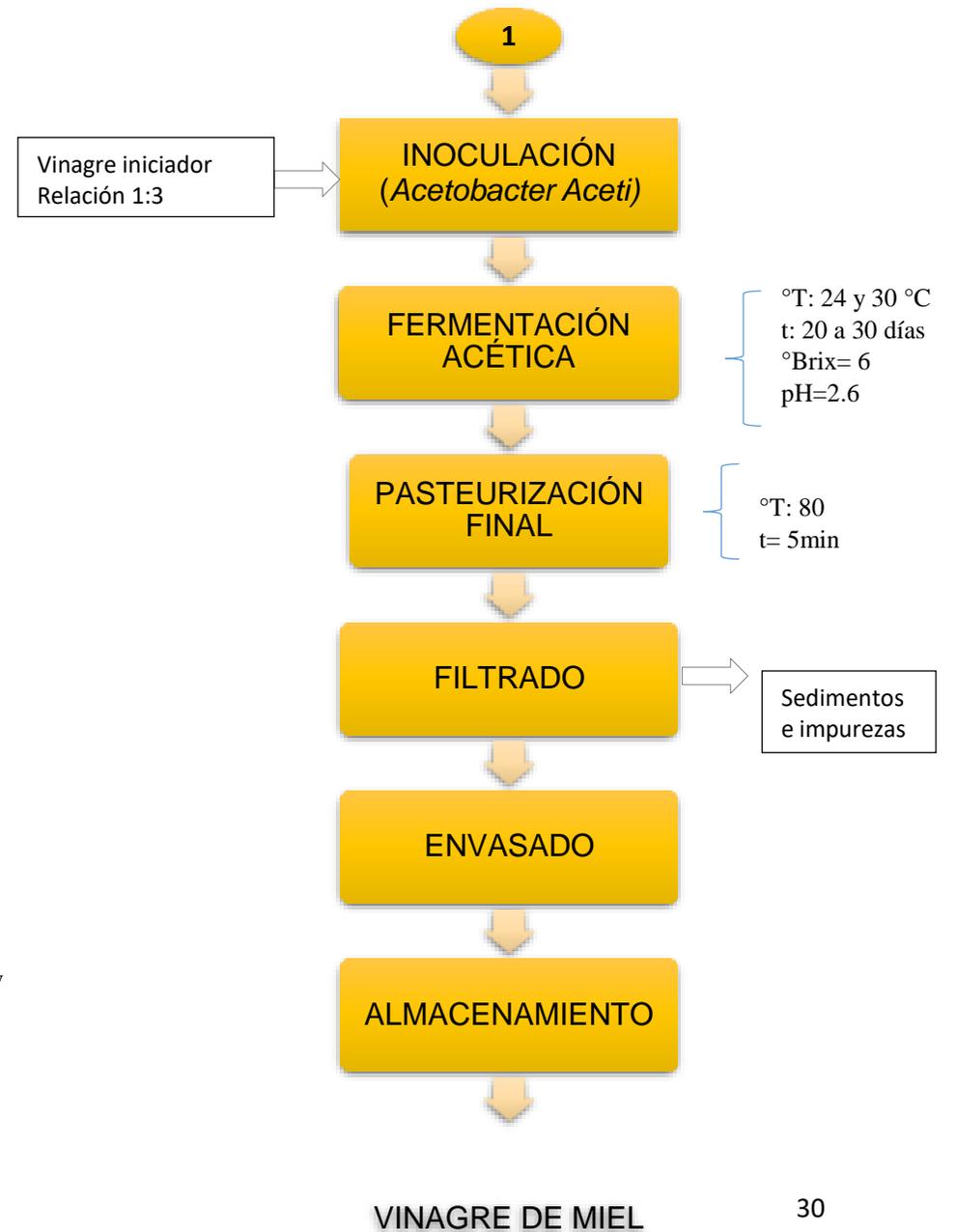
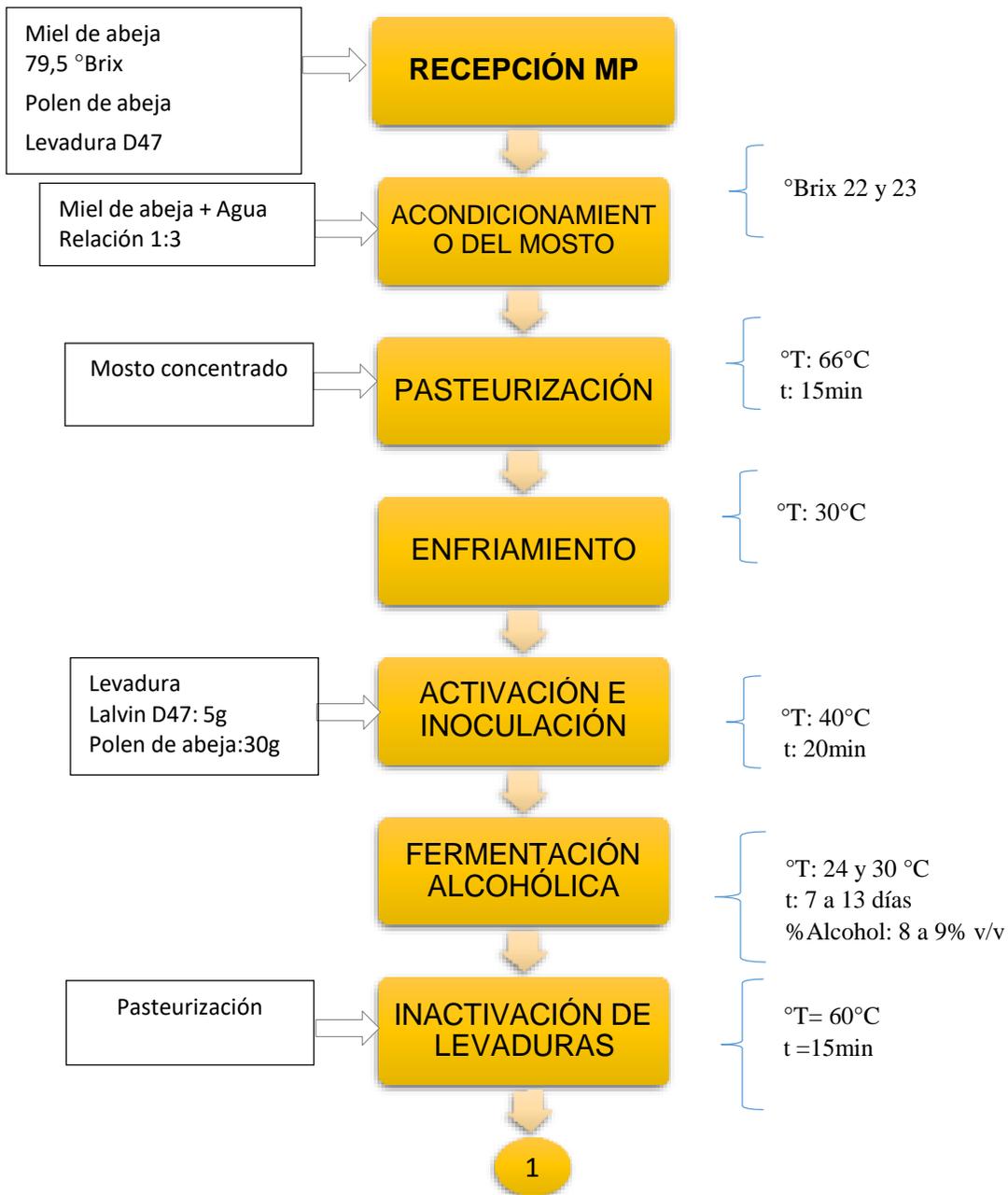
continuación, en la Tabla 12 se muestra la metodología utilizada:

**Tabla 12:** Análisis de Antioxidantes y Polifenoles para vinagre de miel.

<b>Análisis</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>
Antioxidantes	um Trolox/g	FRAP (Oyaizu,1986)
Polifenoles totales	Mg Ac. Gálico/g	Official Methods of Analysis AOAC

### **3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO.**

El proceso de obtención de vinagre a partir de miel de abeja (*Apis mellífera*) se dividió en dos etapas de fermentación. La primera etapa fermentación alcohólica donde intervinieron levaduras de tipo *S. cerevisiae* y la segunda fermentación acética donde se inocularon bacterias acéticas. El volumen de fermentación fue de 3 litros para cada unidad experimental donde se controlaron las variables de temperatura (°C), °Brix y pH cada 4 días hasta llegar al porcentaje de alcohol y acidez total requerida. Cada tratamiento se realizó por triplicado en la Figura 2 se presenta el diagrama de proceso:



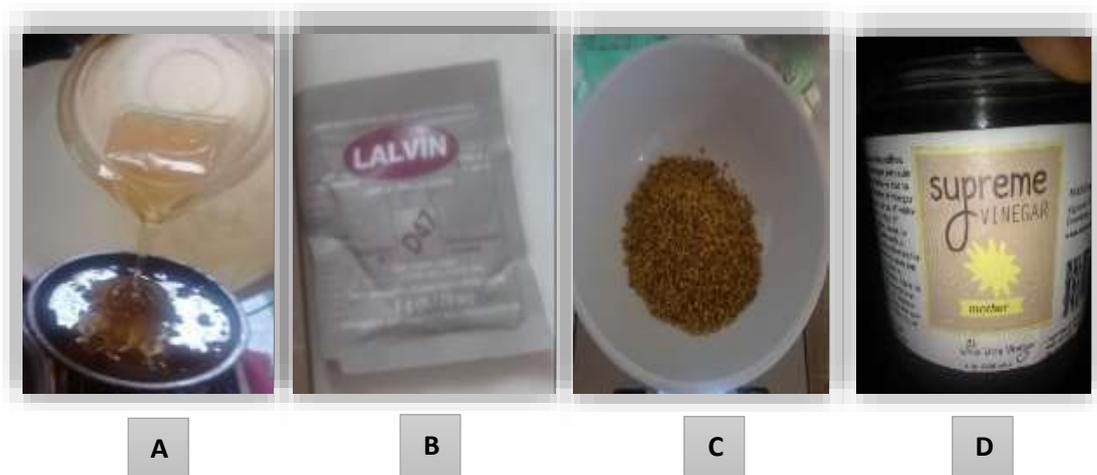
**Figura 2:** Diagrama de proceso vinagre de miel.

**Descripción del proceso.**

La miel multifloral y polen seleccionado para la elaboración de vinagre a partir de miel de abeja (*Apis mellífera*) se obtuvo de la ciudad de Tabacundo, cantón Pedro Moncayo, parroquia Guallaro Chico. Con características fisicoquímicas como contenido de azúcares 79.5 °Brix, Acidez 37.25; pH: 4.13 y humedad 18.60 % (bh).

**Recepción de Materia Prima. Condiciones de m/p**

Consistió en la identificación y adquisición de materias primas e insumos que se utilizaron para la elaboración de vinagre a partir de miel de abeja y estos fueron: miel de abeja, levadura, polen y vinagre iniciador.



**Figura 3:** Materia prima utilizada en el proceso.

**A)** Miel de abeja, **B)** Levadura LALVIN D47, **C)** Polen de abeja, **D)** Vinagre iniciador

### **Acondicionamiento del mosto.**

Se procedió al acondicionamiento del mosto en función a la concentración de azúcares en el sustrato, la dilución de agua/miel se llevó a cabo tomando como referencia (Acosta, 2012) con una concentración de azúcares 1:3 por lo que se tomó dicho valor como referencia para un total de 3 L de mosto teniendo así dicho valor para el desarrollo de la primera etapa.

Es por lo anterior que se preparó una dilución de 1:3 para posteriormente fijar el nivel de grados °Brix que fue de 23. Tomando lo anterior como base, se decidió trabajar en un rango de concentración de 22 y 23 °Brix.



**Figura 4: A) Miel diluida en agua, B) Medición de °Brix con refractómetro**

### **Pasteurización.**

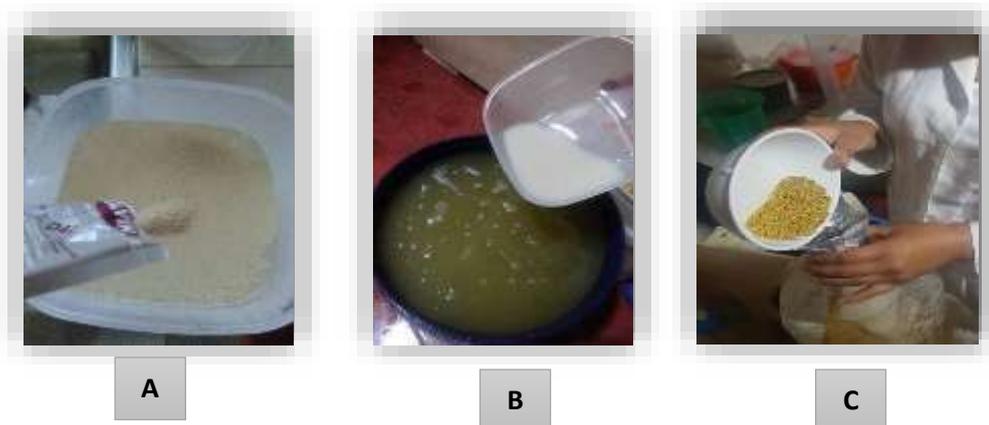
Una vez acondicionado el mosto se procedió a la pasteurización, a temperatura de 66 °C por 15 min con la finalidad de eliminar todo tipo de microorganismo presente en la miel, los cuales eviten la actividad de levaduras durante la fermentación alcohólica (Williamson, 2018).



**Figura 5:** Pasteurización de mosto

### **Activación e inoculación.**

Se utilizó levadura de tipo LALVIN D47 en cantidad de 5 g y se activó según las especificaciones del fabricante(LALLEMAND, 2021) en 250 ml de mosto a 40 °C se adicionaron 1% (m/v) de levadura, se disolvió y se dejó reposar por 20 min., se procedió a inocular el mosto (3 L) con la adición de 30 g de polen de abeja para los tratamientos con suplemento, los pasos se encuentran en la figura 6.



**Figura 6:** **A)** Activación de levadura LALVIN D47, **B)** Inoculación del mosto, **C)** Adición de polen de abeja.

### **Fermentación alcohólica.**

Esta etapa se llevó a cabo con control de temperatura y se realizaron mediciones cada 48 horas, hasta alcanzar 8 a 9% (v/v) de alcohol, según cada tratamiento el acondicionamiento de los tratamientos se presenta en la figura 7.



**Figura 7:** Etapa de fermentación alcohólica.

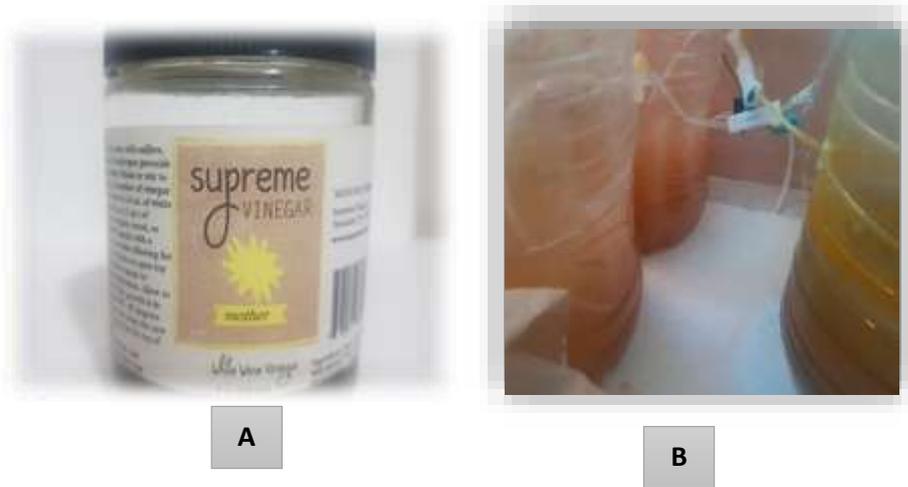
### **Inactivación de las levaduras.**

Una vez alcanzado el porcentaje de alcohol fijado se procedió a pasteurizar el mosto alcohólico tomando como referencia a (Zorokiain, 2020) la cual utiliza una temperatura de 60 °C por 15 min, con la finalidad inactivar los microorganismos presentes, eliminando la mayor cantidad de sulfitos presentes y dar paso a la segunda etapa de fermentación.

### **Fermentación acética.**

Una vez pasteurizado se procedió a realizar la inoculación de vinagre iniciador marca Supreme vinegar, en el mosto en relación 1:3 (500 ml de vinagre iniciador en 2500 ml de mosto para acetificación), según las recomendaciones del autor. Este proceso se llevó a cabo también por el método de cultivo sumergido y constante suministro de aire al interior del mosto, en condiciones que permitieron transferencia de oxígeno de la fase gaseosa a la fase líquida. En la Figura 8 se

muestra el proceso.



**Figura 8:** Fermentación acética.

**A)** Vinagre iniciador, **B)** acetificación por burbujeo (cultivo sumergido)

### **Almacenamiento.**

El producto obtenido se almacenó a temperatura ambiente alejado del calor y resguardado de la luz solar, con el objetivo de una mejor conservación.



**Figura 9:** Producto Final

**A)** Llenado, **B)** Almacenamiento del producto final

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 4.1. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LA MIEL DE ABEJA

Los análisis fisicoquímicos realizados a la miel de abeja son la etapa de iniciación para determinar la calidad de la materia prima para ser utilizados en el proceso de elaboración de vinagre, todos los datos reportados presentaron una distribución normal.

En la Tabla 13 y 14 se muestran los resultados obtenidos de la miel de abeja y polen propuestos para este estudio.

**Tabla 13:** Características fisicoquímicas de miel de abeja.

Variables fisicoquímicas	Miel	Requisitos Según NTE INEN	
		Min	Max
Humedad (%bh)	18.60± 0.28	--	20.00
Acidez (meq/kg)	37.25 ± 0.35	--	50.00
Contenido de azúcares (°Brix)	79.5± 0.35	65.00	--
pH	4.13± 0.09	3.50	5.50
Antioxidantes (um Trolox/100g)	47.3	7.70 (Quino & Alvarado, 2017)	57.44

---

Polifenoles Totales (mg Ac. Gálico/100g)	63	67.50 (Z. López, 2021)	175.30
---	----	---------------------------	--------

---

#### **4.1.1. Humedad.**

Una de las características fisicoquímicas más importantes en la miel, es la humedad tal como menciona (Escuredo et al., 2013) que dicho parámetro determina propiedades, como la viscosidad, cristalización, además del sabor, color, aroma, solubilización y conservación. Es por lo anterior que se llevó a cabo el análisis de humedad en base húmeda (%bh) para miel multifloral el cual registró, un comportamiento homogéneo de  $18.60 \pm 0.28\%$  bh. Dicha miel contiene valores inferiores al 20% bh, establecida como límite máximo según la Norma INEN 1572 (2016).

(Gómez, 2020) Menciona que estos parámetros son catalogados como criterios de calidad que permitan evaluar la estabilidad y resistencia al deterioro de la miel además son indicativos de que la miel ha completado su proceso de maduración, ya que valores mayores (20%) de humedad en la miel puede llegar a fermentar y alterar algunas características.

Por otro lado (Bogdanov, 2011) menciona aquellas mieles con bajo contenido de humedad (<15%) son altamente propensas a la cristalización. Sin embargo, dichos parámetros se relacionan con la botánica y origen geográfico del néctar, condiciones climáticas, temporada de cosecha, manipulación por parte de los apicultores, condiciones de procesamiento/almacenamiento. Por lo anterior la miel multifloral tomada en estudio se encuentra apta para ser utilizada en posteriores procesos.

#### **4.1.2. Acidez.**

Para este parámetro los resultados obtenidos indican que el promedio para la miel multifloral es de  $37.25 \pm 0.35$  meq/kg lo que indica un comportamiento homogéneo con un CV= 0.95, logrando un valor por debajo de 40 meq/kg, límite máximo establecido dentro de los rangos según la norma INEN 1572 (2016).

Al tener un valor por debajo del aceptable según (Periago et al., 2016) indican la

ausencia de fermentaciones por crecimiento de levaduras osmófilas, las cuales pueden proceder del suelo. Por otro lado (Acosta, 2012) menciona que este rango de acidez es un valor propio en la miel fresca que no muestra desarrollo de procesos fermentativos y puede desarrollar aceptable calidad sensorial. Además (Zadamela, 2008) menciona que la acidez protege a la miel de los ataques microbianos y contribuye a otorgarle aromas, aunque no sea notable en el sabor.

#### **4.1.3. Contenido de Azúcares (°Brix).**

En cuanto al análisis de azúcares (°Brix) según (Periago et al., 2016) mencionan que este parámetro define el índice de madurez de la miel, así como la composición nutricional y la autenticidad del producto, determinando la no adición de azúcares o jarabes de azúcares.

Por lo anterior, se realizó el contenido de azúcares, el cual reportó un promedio para la miel multifloral de  $79.55 \pm 0.35$  mostrando un comportamiento homogéneo.

Según (Zadamela, 2008) menciona que los dos azúcares predominantes en la miel son la fructosa y glucosa que representan del 85 al 95% del total, el cual según el Codex Alimentarius (Commission, 2001) dicho valor no debe encontrarse por debajo de 60/ 100% y sacarosa no más de 5% (m/m).

Sin embargo (Velásquez-Ruiz et al., 2016) menciona que valores que sobrepasa el 80% de azúcares podrían indicar una adulteración con endulzantes provenientes de caña de azúcar o una alimentación artificial prolongada de las abejas con sacarosa donde este disacárido alcanza a desdoblarse en glucosa y fructosa.

Teniendo en cuenta lo anterior, el valor obtenido en este estudio al encontrarse dentro del rango establecido por dichos autores representa una miel de calidad, ya que se encuentra en el rango establecido, 80% de azúcares, la cual se considera una miel apta para ser utilizada.

#### **4.1.4. pH**

El valor promedio obtenido para el pH en la miel multifloral fue de 4.07, lo que significa que se encuentra dentro los valores límites establecidos por la norma 1572 (INEN 1572, 2016).

(Gómez et al., 1997) menciona que el pH es considerado como un factor determinante en la velocidad de fermentación por lo que se ha establecido que valores entre 3.7 y 4.6 son ideales para este proceso. Por otro lado (Periago et al., 2016) enfatiza en sus estudios realizados, que los valores normales de la miel oscilan entre 3.2 y 4.5, de tal manera que esta acidez permita inhibir el crecimiento de microorganismos principalmente de bacterias patógenas y conservar la miel. Teniendo en cuenta lo anterior el valor obtenido de pH es adecuado para ser usado en procesos posteriores.

#### **4.1.5. Capacidad Antioxidante y Polifenoles en miel de abeja.**

La Capacidad Antioxidante en miel de abeja se llevó a cabo por el método FRAP el cual reportó 47.3  $\mu\text{mTrolox}/100\text{ g}$ , valores similares a los obtenidos por (Quino & Alvarado, 2017) que van de 7.70 a 57.44  $\mu\text{m ET}/100\text{ g}$  y valores que van por debajo a los obtenidos por (Z. López, 2021).

Lo anterior se manifiesta según (Parra et al., 2009) en que la capacidad antioxidante varía dependiendo de la fuente floral de la miel, el contenido de metabolitos secundarios de la planta como polifenoles y actividades enzimáticas. Además, que se han encontrado varios componentes dentro de la miel que juegan un papel significativo en la capacidad antioxidante.

Por otro lado, en cuanto a la cantidad de polifenoles se reportó un contenido de 63  $\text{mg Ac. Gálico}/100\text{g}$ , valores levemente inferiores a que va de 67.50 a 175.30  $\text{mg Ac. Gálico}/100\text{g}$  en muestras de diferentes tipos de mieles. Dicha autora menciona que lo anterior radica principalmente en el origen botánico, el lugar geográfico donde proceden las mieles, además de la coloración de la miel (Z. López, 2021).

En ese contexto la miel analizada al ser proveniente de un área con especies nativas y exóticas como el eucalipto y al presentar un color ámbar claro, incidió en un contenido bajo de antioxidante y polifenoles tal como menciona (Currian, 2021) que altos contenidos de compuestos fenólicos y antioxidantes están asociados a mieles más oscuras y por el contrario bajo contenido en estos compuestos son característicos de mieles claras.

#### 4.1.6. Caracterización Físico-química del polen de abeja.

Según (Albores et al., 2021) mencionan que la composición Físico-química en polen tiene implicación en su calidad, valor nutricional, terapéutico y antimicrobiano. Es por lo anterior que en la Tabla 14 se indican los siguientes análisis en polen:

**Tabla 14:** Características físicoquímicas de polen de abeja.

Variables físicoquímicas en polen.	Mediciones	Requisitos según Norma Salvadoreña y Argentina		
		Min	Max	
Humedad (%)	14.06	--	30	SA
Proteína (bs %)	32.34	15	28	AR
Capacidad Antioxidante (um Trolox/L)	307.49	151	536	(Currian, 2021)
Polifenoles Totales (mg Ac. Gálico/g)	29.86	50.5	163	(Aloisi & Ruppel, 2014)

Norma Salvadoreña: SA; Norma Argentina: AR

#### 4.1.7. Humedad.

El contenido de humedad se llevó a cabo en polen fresco, según la norma Salvadoreña NSO 65.38.01:05 esta no debe exceder un máximo del 30% de humedad, por lo que se obtuvo un porcentaje promedio de 14.06 %, logrando así mantenerse dentro del rango establecido. (Lull, 2016) menciona que el polen fresco con un contenido de 20 a 30 g de agua por cada 100 g puede ser un medio de cultivo ideal para la proliferación de microorganismos y al mismo tiempo perder su calidad. Para evitar cualquier deterioro y conservar su calidad una vez cosechado debe ser sometido a un buen almacenamiento y luego de dos días deberá ser ingresado al congelador.

Por otro lado, según (Mesa, 2015) menciona que un polen sometido a un secado extremo con menos del 3% de humedad, tiende a sufrir posibles decoloraciones y

desarrollo de reacciones químicas como Maillard y oxidación lipídica las cuales generan olores desagradables y rancidez en el producto.

#### **4.1.8. Proteína.**

El contenido de proteína en polen tuvo un promedio de 32.34% lo que significa que sobrepasa el rango según el artículo 785 del código alimentario argentino, ya que establece como mínimo un 15% y como máximo un 28% de proteína en el polen. Sin embargo en el estudio de (Feás et al., 2012) se encontró un porcentaje de polen que oscila de 10% y 40%, por lo que el autor menciona que todo depende del origen botánico y geográfico del polen recolectado.

Por otro lado (Aloisi & Ruppel, 2014) menciona que niveles de proteína cruda inferiores a 20% no satisfacen los requerimientos de la colonia, siendo ideales niveles superiores a 23%. Además, que la abeja utiliza especies con diversos porcentajes de proteína, y no solo aquellas ricas en esa sustancia, asegurando, de esta manera, una dieta variada y equilibrada, satisfactoria para su desarrollo, debido a que cada tipo polínico poseen una composición nutricional particular.

Por lo anterior, el polen analizado se establece adecuado para ser utilizado ya que proviene de una zona geográfica donde hay la existencia de variedad de plantas nativas y exóticas como el eucalipto, apto para ser utilizado como complemento alimenticio.

#### **4.1.9. Polifenoles y capacidad antioxidante.**

El contenido de polifenoles reportados en polen seco fue de 29.86 mg. Ac gálico/g superando a (S. Carpes et al., 2007) donde se obtuvieron resultados inferiores. Dicho autor menciona que estudios de polifenoles totales en polen recolectado por nativos de la región de Viena en Austria, muestran características de polifenoles con algunas variaciones debido a su origen botánico. Por otro lado (Aloisi & Ruppel, 2014) en su estudio reportó un máximo en polifenoles de 163 mg Ac/g, cantidad que supera el resultado obtenido, sin embargo, (S. T. Carpes, 2008) menciona que lo anterior depende de la presencia de otros posibles compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos.

En cuanto a la capacidad antioxidante (Albores et al., 2021) menciona en su estudio de polen agregado, a las variables fisicoquímicas en conjunto con la capacidad antioxidante, fenoles, flavonoides y acidez libre que tienen incidencia en ejercer mayor acción inhibitoria en el crecimiento micelial.

Además (Currian, 2021) menciona al polen como una sustancia nutracéutica por el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante ya que en varios estudios se han encontrado diferentes grados de antioxidantes correspondientes al origen botánico del polen, donde utilizaron el índice de capacidad de absorción de radicales de oxígeno y cuyos valores oscilaron en 151  $\mu\text{m/g}$  a 536  $\mu\text{m/g}$ . Lo anterior justifica el resultado obtenido en cuanto a capacidad antioxidante en polen seco, el cual reportó de 307.49  $\mu\text{m/g}$  lo que significa que se encuentra en el rango adecuado a ser considerado como un componente nutracéutico y un potencial antioxidante el cual puede ser implementado en la alimentación humana.

#### **4.2. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE VINAGRE A PARTIR DE MIEL DE ABEJA (*Apis mellífera*).**

El proceso se llevó a cabo en dos etapas. La primera etapa conocida como Fermentación alcohólica donde se determinaron parámetros que permiten desarrollar una adecuada fermentación y productividad para el proceso, posterior o segunda etapa conocida como fermentación acética, que consiste en la transformación del alcohol producido en ácido acético por la acción de microorganismos.

En el desarrollo de la fase experimental tanto para la primera etapa (fermentación alcohólica), como la segunda (fermentación acética) se controlaron principalmente factores de Temperatura y contenido de azúcares ( $^{\circ}\text{Brix}$ ). A continuación, se presentan y analizan los resultados obtenidos.

#### 4.2.1. Análisis de la fermentación alcohólica.

Durante el proceso de fermentación alcohólica se analizaron cada una de las variables y sus interacciones, teniendo como punto final de esta etapa 8% (v/v) de alcohol, comenzando por ANOVA para la variable respuesta tiempo en la fermentación alcohólica, los resultados se encuentran en la Tabla 15.

**Tabla 15:** Análisis de varianza del tiempo en la fermentación alcohólica.

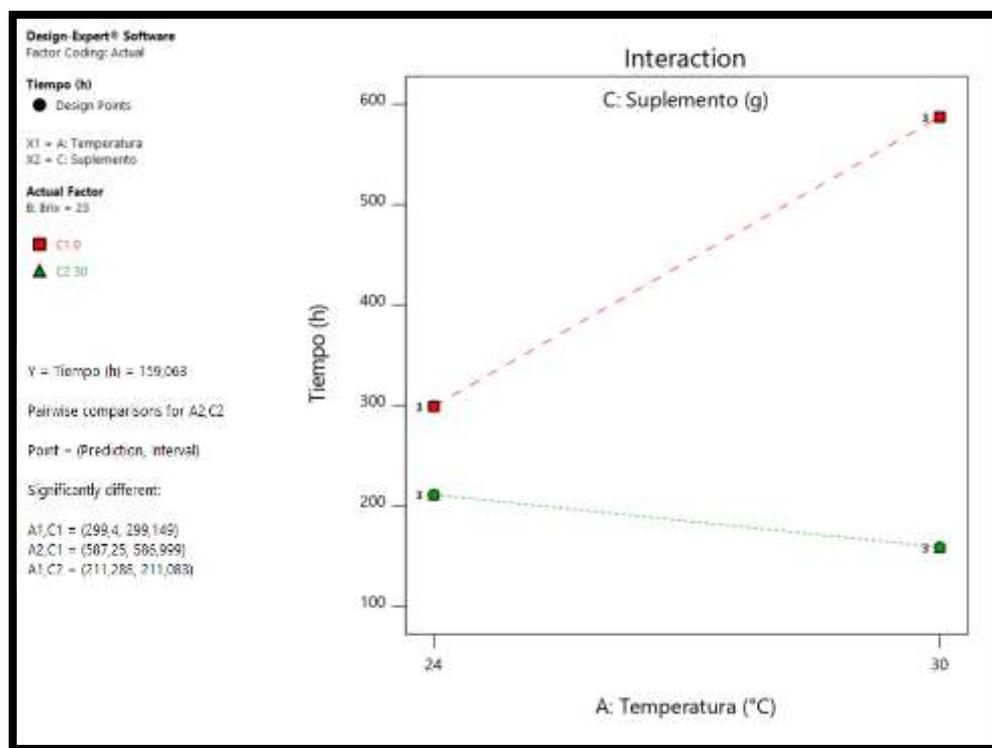
Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrados Medios	F	p-valor	
Temperatura (Factor A)	6981.98	1	6981.98	2.257E+05	< 0.0001	**
Brix (Factor B)	1.90	1	1.90	61.36	< 0.0001	**
Suplemento (Factor C)	67559.18	1	67559.18	2.184E+06	< 0.0001	**
Interacción AxC	1968.38	1	1968.38	63624.27	< 0.0001	**
Interacción BxC	0.08	1	0.08	3.37	0.848	
Residuos	0.3600	16	0.0225			

\*Significativo; \*\* Altamente significativo

Se determinó que el modelo es altamente significativo para los Factores A (Temperatura), Factor B (°Brix), Factor C (Suplemento polen) y para la interacción AxC (Temperatura- Suplemento). Además, se pudo observar que no existe significancia de los datos en la interacción BxC (Brix- Suplemento polen).

En cuanto a la interacción AxC (Temperatura – Suplemento polen) se trabajó con dos niveles de temperaturas y dos cantidades de polen, lo que causó la variabilidad en cuanto a los tiempos de fermentación, es así como se pudo observar que la temperatura más alta y polen influyó en la velocidad de fermentación lo que permitió que el proceso se lleve a cabo en menor tiempo, como se puede observar en la Figura 10.

Figura 10: Interacción Temperatura -Suplemento en función del tiempo

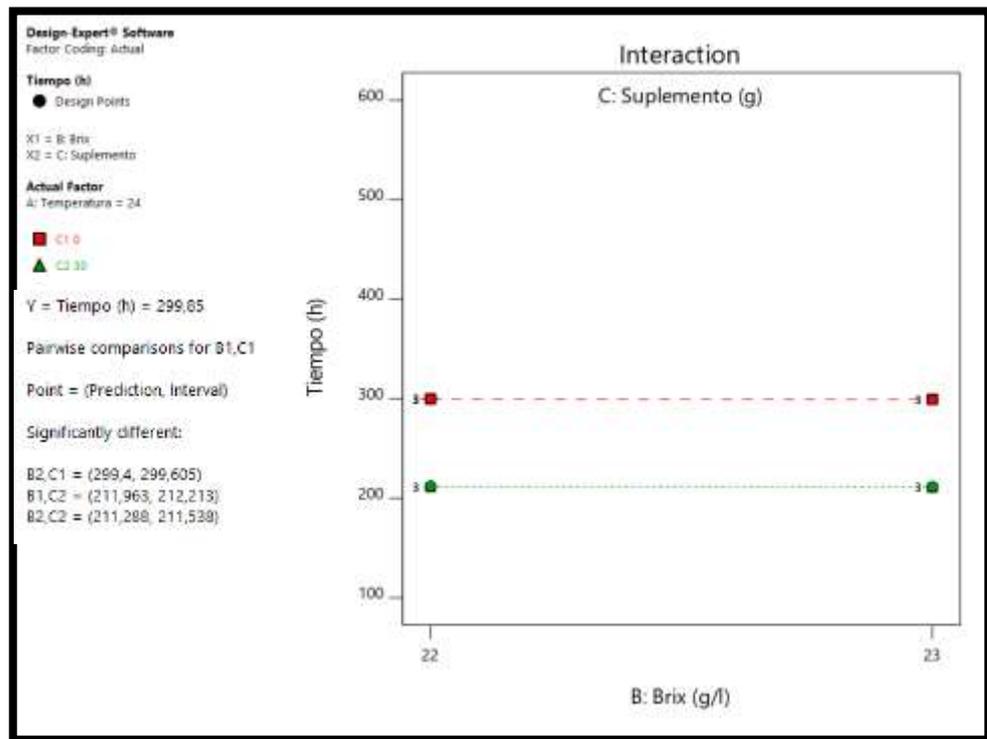


De acuerdo con el resultado anterior se tuvo como mejor tratamiento A2C2 (Temperatura 30 °C- Suplemento 30 g) al manejar estos valores permitieron, un aumento de la velocidad de fermentación logrando obtener una fermentación alcohólica en tan solo 7 días. Sin embargo, también se pudo observar que para el tratamiento A2C1 (Temperatura 30 °C - Sin suplemento) la fermentación se tornó más lenta, lo que se entiende que, al no agregar polen al mosto, esto retrase la fermentación y se tarde hasta el triple de tiempo.

Como menciona (Gómez et al., 1997) la temperatura influye principalmente en la velocidad de fermentación y además en las características del producto final, lo que se entiende que temperaturas cercanas a 30 °C acelera la fermentación alcohólica. Por otro lado (Amores, 2018)“Afirma que el polen se considera como un suplemento el cual presenta mejores y completas funcionalidades permitiendo aumentar la cantidad de Nitrógeno Funcional Asimilable (NFA) en los mostos, mejorando así la cinética fermentativa. Lo anterior nos demuestra la gran influencia

de polen y temperatura, en el mosto para un mejor tiempo de fermentación. Por otro lado, se identificó que la interacción BxC (°Brix – Suplemento polen) no es significativa, en la Figura 11.

**Figura 11:** Interacción Brix-Suplemento en función del tiempo de fermentación.



Los resultados reflejan que los datos son muy cercanos entre el grupo de tratamientos con respecto al Brix, por lo que se identificó una diferencia mínima, además a esto se suma que los azúcares al ser sustancias carbonadas poseen más influencia sobre el alcohol que se tendrá como producto final de la fermentación. Sin embargo, también se pudo observar que las cantidades del suplemento (polen) influyeron en cuanto al tiempo de fermentación ya que se identificó que en el grupo B2C2 logró un tiempo de fermentación de 9 días (211.28 h).

#### 4.2.2. Análisis de la productividad en la fermentación alcohólica.

La productividad se evaluó en relación con la cantidad teórica de etanol esperada según la cantidad de azúcares presentes en cada tratamiento. Esta productividad se estableció como gramos de etanol por litro de mosto (L) y el tiempo del proceso (h), expresado como: g/L.h el ANOVA se presenta en la Tabla 16.

**Tabla 16:** Análisis de varianza de la productividad en la fermentación alcohólica.

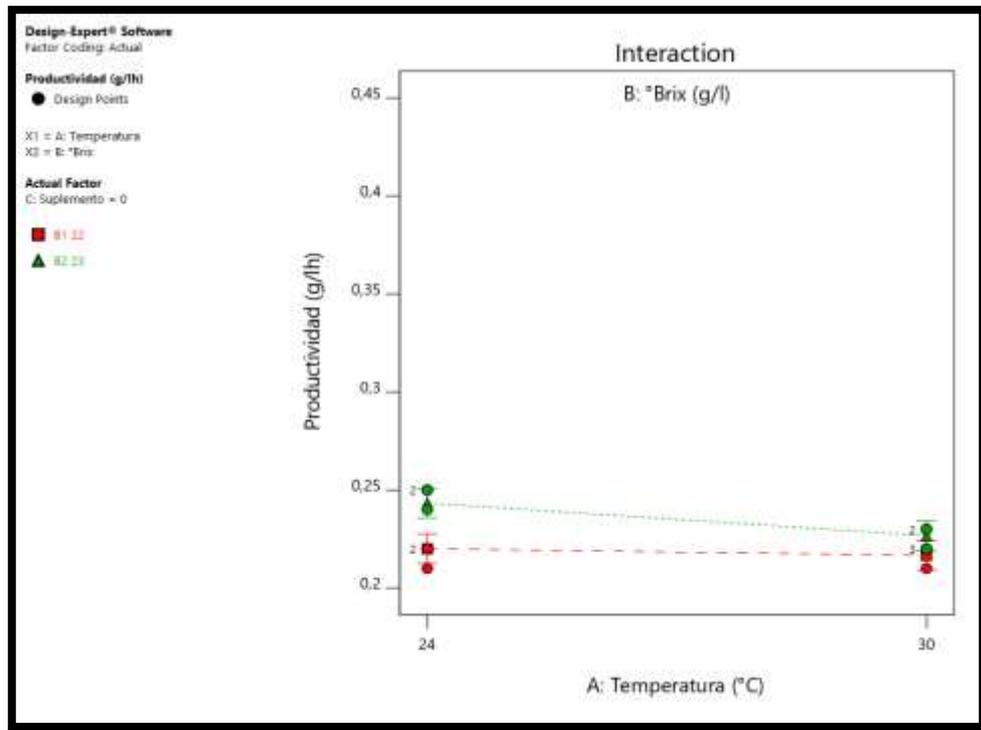
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrados Medios	F	p-valor	
Temperatura (Factor A)	0.0081	1	0.0081	66.35	0.0001	**
Brix (Factor B)	0.0017	1	0.0017	13.71	0,0018	**
Suplemento (Factor C)	0.1176	1	0.1176	967.435	< 0.0001	**
Interacción AxB	0.0003	1	0.0003	2.19	0.1569	**
Interacción AxC	0.0131	1	0.0131	107.48	< 0.0001	**
Interacción BxC	0.0000	1	0.0000	0.0000	1.0000	
Residuos	0.0016	16	0.0001			

\*Significativo, \*\*Altamente significativo

Se determinó que existe una alta significancia de los datos para Factor A (Temperatura), Factor B (°Brix), Factor C (Suplemento polen) y para las Interacciones AxB (Temperatura- Brix) y AxC (Temperatura- Suplemento polen).

En cuanto al estudio de productividad la interacción AxB correspondiente a los factores de (Temperatura- °Brix) presentaron velocidades bajas para el grupo de tratamientos A1B2 (24 °C y 23 °Brix), presentando una velocidad de producción de 0.24g/L.h como se muestra en la Figura 12.

**Figura 12:** Interacción Temperatura -Brix en función de la productividad.

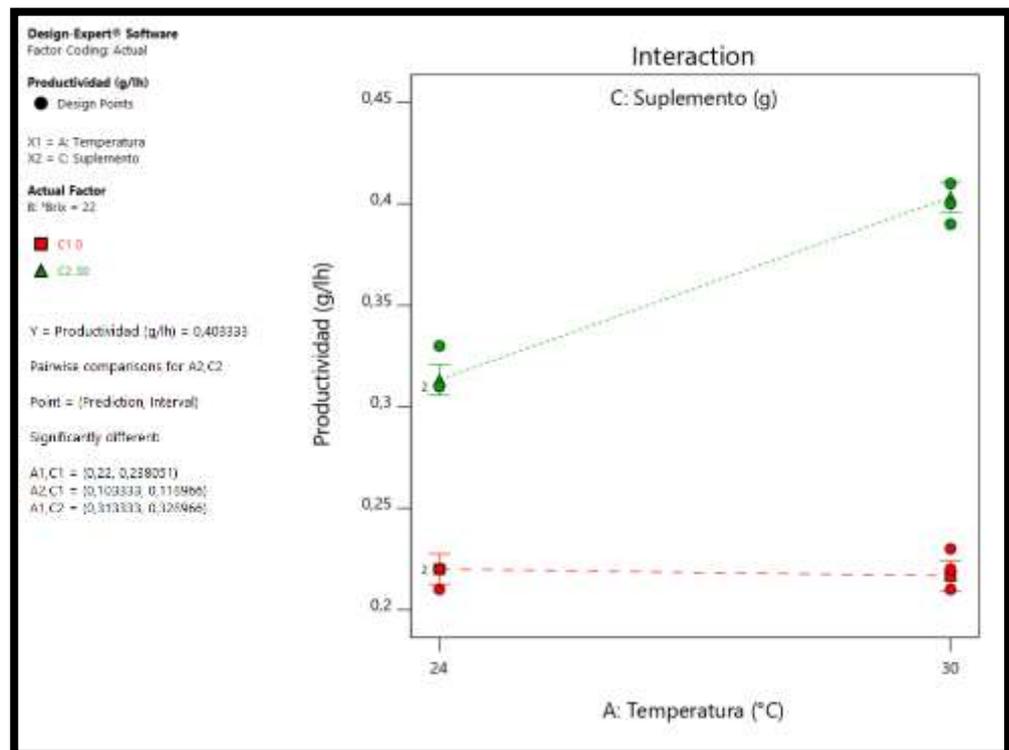


Lo anterior se manifiesta según (Riegel & Kent, 2003) debido a una excesiva concentración de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos, que puede disminuir la actividad bacteriana. Además, que concentraciones límite dependen del tipo de azúcar, así como de la levadura responsable de la fermentación. En este caso, la concentración de azúcares al ser de 23 °Brix y temperatura de 24 °C se manifestó en un retardo de la fermentación alcohólica. (Collado, 2001) manifiesta que temperaturas de 30 °C son adecuadas para mejorar la velocidad del proceso fermentativo siendo también mayor la proporción de productos secundarios. Por el contrario, temperaturas menores solo se refleja en un mayor grado alcohólico. Por otro lado, la interacción AxC correspondiente a (Temperatura- Suplemento polen), evidenció que el tratamiento A2C2 (30 °C - 30 g), alcanzó valores de velocidad de producción más altos con un promedio de 0.41 g/L.h. Lo anterior puede ser debido al contenido de Nitrógeno Funcional Asimilable (NFA) en el polen, el cual ayudó al transporte de azúcares durante la fermentación.

Tal como menciona (Lallemand, 2015) que el contenido de NFA es el que más influye en la velocidad de fermentación, impactando tanto en la biomasa de la levadura al comienzo de la fermentación como en las cinéticas de transporte de azúcar durante la fermentación.

Una vez más se pudo constatar que la influencia de suplemento (polen) al ser un nutrimento activador, así como una adecuada temperatura en los mostos logra desarrollar una mejor fermentación, permitiendo obtener una buena velocidad de producción. Además, que, a la hora de elegir un nutriente, la calidad es tan importante como la cantidad puesto que solo los nutrientes orgánicos proporcionarán esos factores de crecimiento óptimo, además de nitrógeno, y tienen un mejor equilibrio nutricional. En la Figura 13 se muestra la interacción AxC.

**Figura 13:** Interacción Temperatura-Suplemento en función de la productividad.



Además, se puede evidenciar la cercanía de los datos entre los grupos A2C1 y A1C1, pero en especial una gran diferencia existente de productividad en los grupos de tratamientos A2C1 (Temperatura 30 °C – Suplemento polen 0 g) ya que aun

teniendo una temperatura de 30 °C apenas logra llegar a la mitad de productividad del grupo A2C2 tomando un promedio de 0.22 g/L.h. Esto debido a la falta de suplemento como es el polen, que una vez adecuado en el mosto proporciona mejores condiciones de fermentación.

#### 4.2.3. Análisis de la productividad en la fermentación acética (segunda etapa).

Una vez analizada la etapa de fermentación alcohólica, se procedió a estabilizar e inocular con bacterias de tipo (*Acetobacter aceti*) para comenzar la etapa de fermentación acética.

**Tabla 17:** Análisis de varianza para la productividad en la fermentación acética.

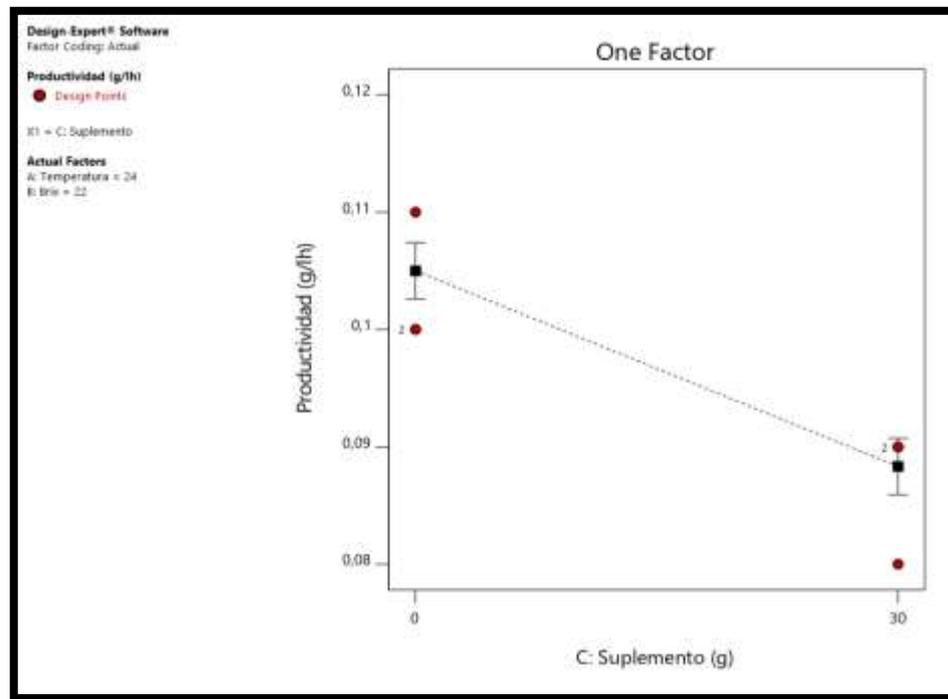
Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	G L	Cuadrados Medios	F-value	p-value	
Model	0.0019	7	0.0003	9.39	0.0001	**
A-Temperatura	0.0000	1	0.0000	0.5714	0.4607	
B-Brix	0.0001	1	0.0001	2.29	0.1501	
C-Suplemento	0.0017	1	0.0017	57.14	< 0.0001	**
AxB (Temperatura-°Brix)	0.0001	1	0.0001	2.29	0.1501	
AxC (Temperatura-Suplemento)	0.0001	1	0.0001	2.29	0.1501	
BxC (°Brix-Suplemento)	0.0000	1	0.0000	0.5714	0.4607	
ABC	0.0000	1	0.0000	0.5714	0.4607	
Residuos	0.0005	16	0.0000			

Significativo \*\*

En la Tabla 17 ANOVA, se encontró que existe significancia de los datos para el factor C (Suplemento), y la no significancia para la interacción AxB (Temperatura-°Brix) y la interacción BxC (Brix -Suplemento) para esta etapa.

Lo anterior refleja la influencia de suplemento polen en la segunda fermentación tal como se observa en la Figura 14 donde se encuentra el análisis de productividad en la fermentación acética para el factor C (Suplemento).

**Figura 14:** Factor Suplemento en función de la productividad.



Se puede observar que aquellos tratamientos que no incluyeron polen tuvieron un aumento significativo en cuanto a productividad, logrando un rango de 0.10 a 0.11 g/L.h en 20 días de fermentación, lo que promovió la obtención de ácido acético en menor tiempo.

Según (Rivera, 2013) menciona que los compuestos fenólicos sobre los microorganismos presentan algunos efectos no muy claros ya que algunos estimulan el crecimiento y actividad de las bacterias, otros tienen efectos inhibitorios. Es así como algunos ácidos fenólicos tienen una influencia negativa sobre el crecimiento y supervivencia de bacterias, disminuyendo su tasa de crecimiento y la concentración final.

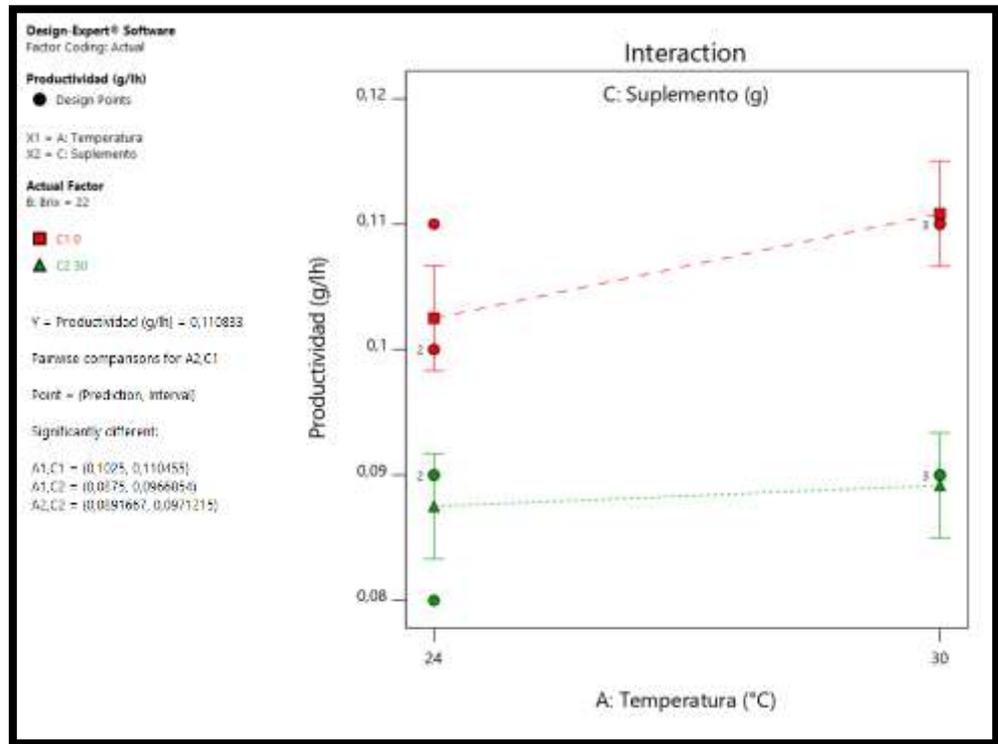
Por lo anterior se cree que el polen y la miel al tener un contenido alto de polifenoles, durante el proceso de fermentación acética, no dieron paso a la total producción de ácido acético, evitando que dichas bacterias oxiden el etanol y que conviertan éste en acetaldehído y luego en ácido acético, retardando el tiempo para llegar a la concentración final en la segunda fermentación.

Es así como el contenido de polen para este caso influyó de manera negativa durante el proceso de acetificación, obteniendo una productividad de tan solo 0.08 a 0.09

g/L.h haciendo que tarde más el tiempo de fermentación acética.

Por otro lado, en la Figura 15 la interacción AxC (Temperatura- Suplemento) reportó para el grupo A2C1 una productividad de 0.11 g/L.h

**Figura 15:** Interacción de Temperatura-Suplemento en función de la productividad.



Aunque el polen no tuvo mayor influencia en la fermentación se puede observar que la temperatura fue un factor importante que destacó, para mejorar la productividad en fermentación acética, especialmente aquellos tratamientos del grupo A2C1, tal como menciona (Cerezo, 2008) las bacterias acéticas son viables a temperaturas 28- 33 °C ya que la velocidad de fermentación varía en función de la temperatura. Sin embargo, temperaturas comprendidas dentro del intervalo de 30 - 31 °C son consideradas como temperatura óptima. Por otro lado, con respecto al contenido de polen una vez más se puede observar que los tratamientos que contenían polen se retardaron más tiempo en la fermentación acética disminuyendo la velocidad de producción en 0.08 g/L.

### 4.3. ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN VINAGRE DE MIEL.

#### 4.3.1. Análisis de Antioxidantes.

Uno de los aspectos importantes que se menciona en el contenido del vinagre son su capacidad antioxidante y polifenoles los cuales tienen sobradas investigaciones de su beneficio para la salud humana, por lo que se evaluó su contenido en el producto obtenido. El ANOVA se presenta en la Tabla 18.

**Tabla 18:** Análisis de varianza de capacidad antioxidante en vinagre de miel.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrados medios	F-valor	p-valor	
Temperatura (Factor A)	13538.45	1	13538.45	0.9981	0.3318	ns
Brix (Factor B)	2603.75	1	2603.75	0.1920	0.6668	ns
Suplemento (Factor C)	9.143E+05	1	9.143E+05	67.40	< 0.0001	**
Interacción AxB	12474.34	1	12474.34	0.9196	0.3510	ns
Interacción AxC	1.053E+05	1	1.053E+05	7.77	0.0127	**
Interacción BxC	5357.48	1	5357.48	0.3950	0.5381	ns
Residuos	2.295E+05	16	14344.56			

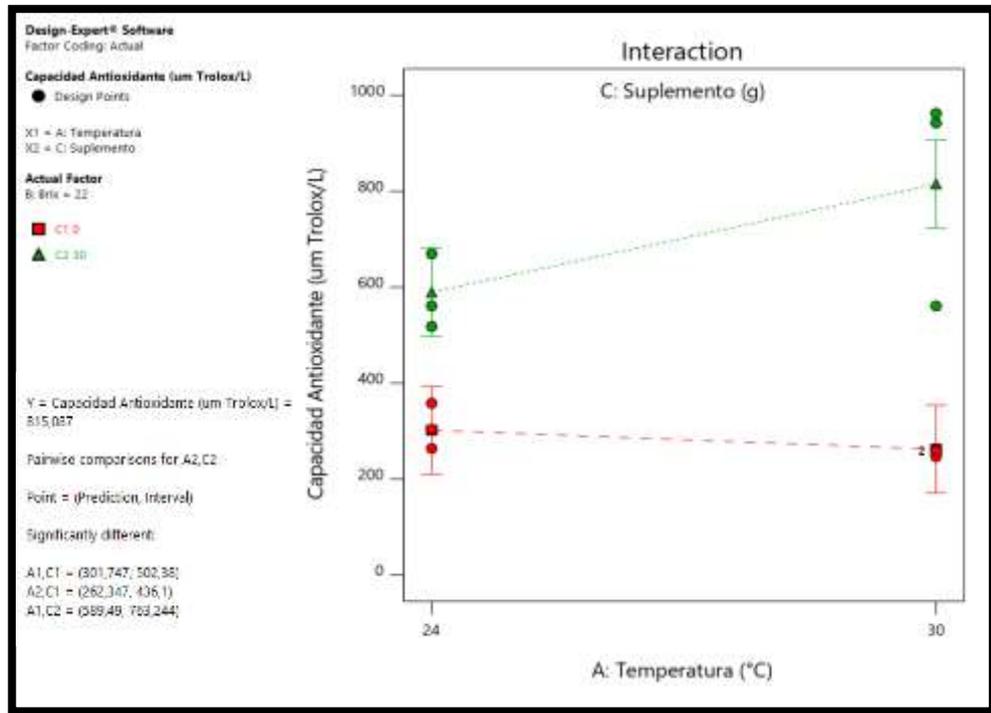
Significativo \*\*

No significativo ns

Existe significancia de datos para el factor C (Suplemento) y la interacción AxC (Temperatura- Suplemento), para la capacidad antioxidante.

En la Figura 18 se puede observar que en la interacción AxC (Temperatura – Suplemento) donde existe una alta capacidad antioxidante para el grupo de tratamientos A2C2 reportando 962.29 um Trolox/L.

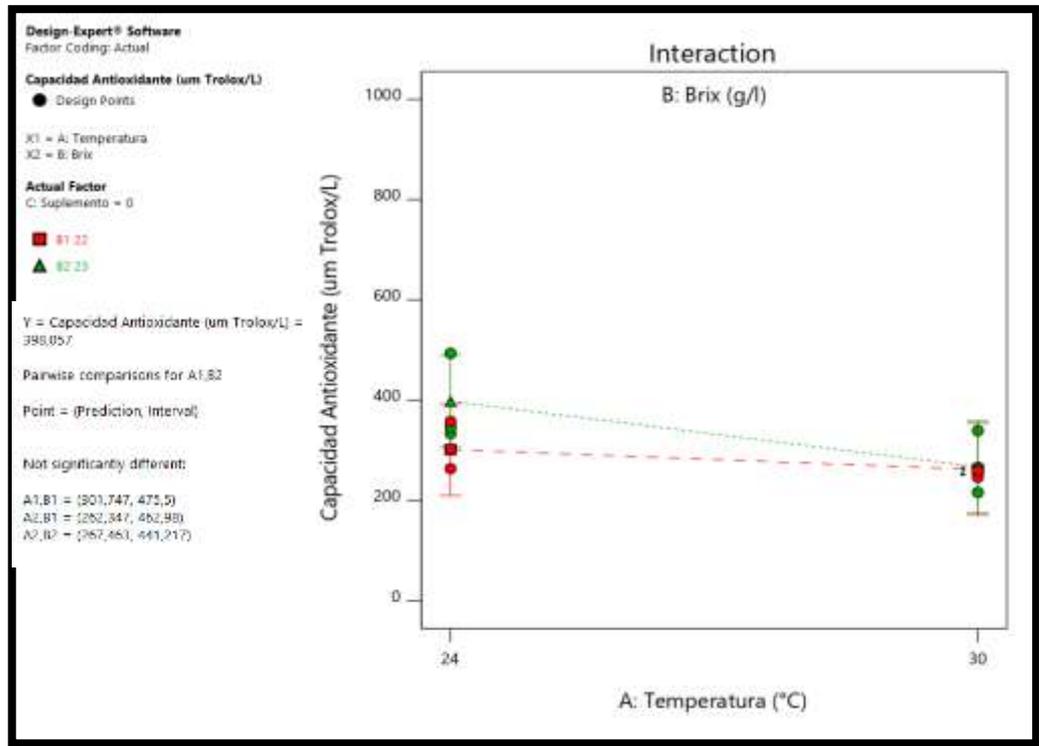
**Figura 16:** Interacción Temperatura -Suplemento en función de Capacidad Antioxidante.



Al realizar el proceso de acetificación se utilizó la metodología por cultivo sumergido misma que se manejó a temperatura de 30 °C y 30 g de polen lo que permitió obtener un producto con elevado contenido de antioxidantes. Lo anterior se debe principalmente al contenido de antioxidantes y polifenoles presentes en las materias primas como fue la miel y el polen reportados en la Tabla 12 y 13. Sin embargo, (Rivera, 2013) considera que no todos los polifenoles presentan la misma capacidad antioxidante, por lo que manifiesta que es la calidad y no la cantidad de polifenoles la que determinara la capacidad antioxidante de un vinagre. Además, que varía dependiendo del tipo de vinagre, la metodología utilizada y la materia prima utilizada durante la elaboración (Carbó et al., 2006).

Por otro lado, en la Figura 17 se pudo observar que no existe significancia de los datos en cuanto tratamiento AxB (Temperatura- Brix).

**Figura 17:** Interacción Temperatura-Brix en función de la Capacidad Antioxidante.



Los factores analizados solo se manifestaron en apoyo al proceso de acetificación, pero más no, para el aporte de antioxidantes, esto debido a que la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de un producto se asocia más con las materias primas tal como menciona (Raimil, 2012) la capacidad antioxidante del vinagre dependerá en gran manera de la materia prima utilizada y de la calidad de polifenoles presentes en ésta.

También se analizó el contenido de polifenoles para conocer el valor en el producto final y su relación con las variables analizadas, en la Tabla 19 el ANOVA.

#### 4.3.2. Análisis de Polifenoles.

**Tabla 19:** Análisis de varianza polifenoles en vinagre de miel.

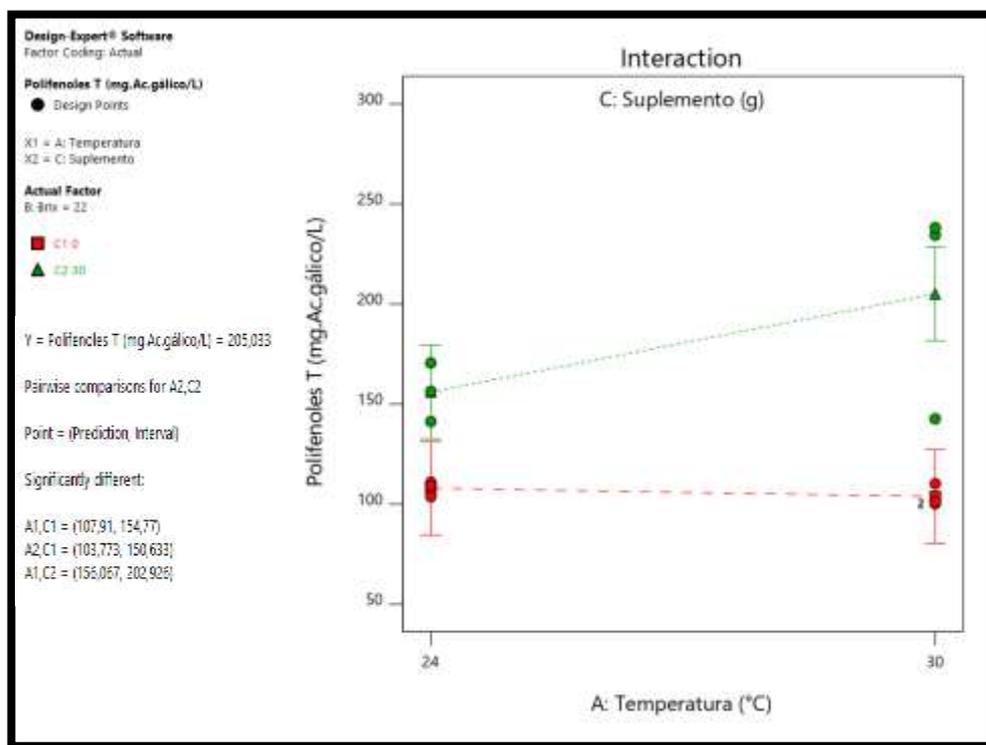
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	GL	Suma de Cuadrados	F-valor	p-valor	
Temperatura (Factor A)	4905.19	1	4905.19	6.69	0.0199	**
Brix (Factor B)	184.43	1	184.43	0.2516	0.6228	
Suplemento (Factor C)	32543.73	1	32543.73	44.40	< 0.0001	**
Interacción AxB	228.97	1	228.97	0.3124	0.5839	
Interacción AxC	4613.99	1	4613.99	6.30	0.0232	**
Interacción BxC	6.75	1	6.75	0.0092	0.9247	
Interacción AxBxC	8.34	1	8.34	0.0114	0.9164	
Residuos	11726.74	16	732.92			

Significativo \*\*

Existe significancia de los datos para el factor C Temperatura y la interacción AxC en cuanto al contenido de polifenoles.

Al igual que la actividad antioxidante los resultados reportan un alto contenido de polifenoles para el grupo de tratamiento A2C2 (Temperatura 30 °C y Suplemento 30 g) como se puede observar en la Figura 18 reportando una cantidad de 238.14 mg Ac. gálico/L.

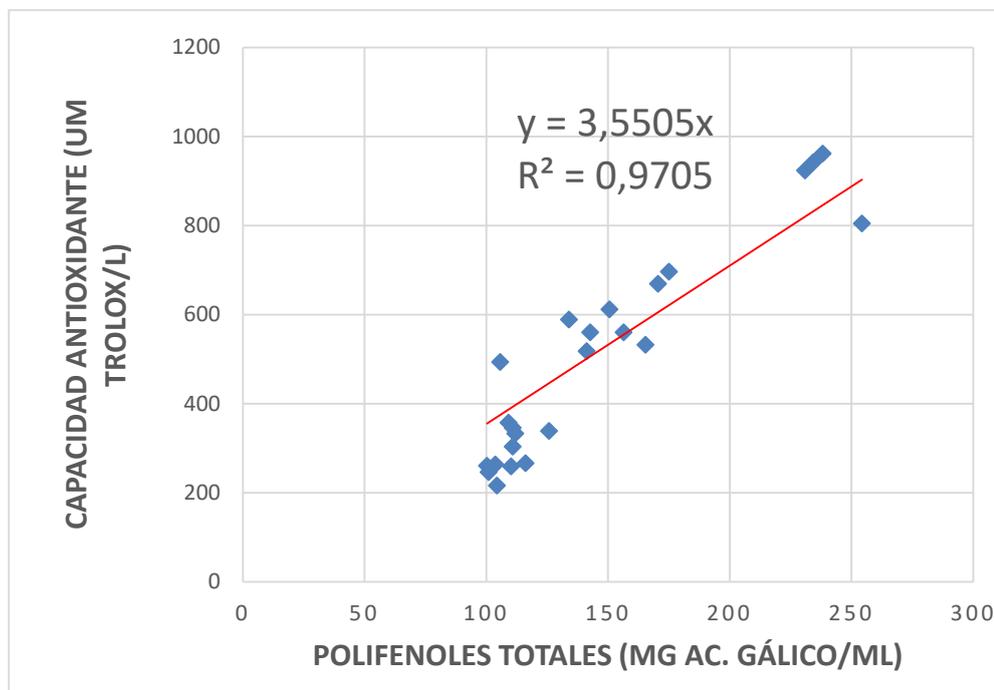
**Figura 18:** Interacción Temperatura-Suplemento en función de Polifenoles Totales.



Por otro lado (Rivera, 2013) reportó en su estudio una concentración de fenoles totales presentes en el vino blanco de 271.96 mg/L, valor que se asemeja a los resultados obtenidos de este estudio, lo anterior se da debido a que los compuestos fenólicos pueden ser modificados por procesos oxidativos, como es el proceso de acetificación. Sin embargo, existen evidencias claras de cómo también las bacterias acéticas pueden modificar los compuestos fenólicos (Testafaye et al., 2003).

Además, la cantidad que va de la mano con el contenido de antioxidantes presentes en el vinagre, Según (Rivera, 2013) esta correlacionada con el contenido de polifenoles presentes en la materia prima, como es el caso del polen y miel utilizados para la obtención de vinagre. A esto agrega (Zapata Vahos et al., 2020) que los compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos y las antocianinas expresan una alta actividad antioxidante y una disminución de estos compuestos bioactivos explica la caída de la actividad antioxidante. En la Figura 19 se muestra dicha correlación entre capacidad antioxidante y polifenoles obtenidos en este estudio.

**Figura 19:**Correlación Capacidad Antioxidante -Polifenoles totales en vinagre de miel.



Se puede asegurar como se había expuesto anteriormente que existe una correlación directa entre estas dos variables, valores similares se encontraron en (Raimil, 2012) donde los estudios en vinagre de manzana reportaron valores alrededor de 771,6  $\mu\text{mTrolox/kg}$  en actividad antioxidante y máximos de 283,3 mg Ac, gálico/kg en cuanto a polifenoles, dichos resultados son catalogados como beneficiosos para salud humana lo que se puede decir que el producto obtenido cumple con los valores para ser consumido.

Tal como menciona (Nátera, 2018) la importancia del contenido de polifenoles del producto radica en que aumenta su poder antioxidante y le confiere mayores propiedades saludables relacionadas con la prevención de enfermedades degenerativas, cardiovasculares, cáncer y arterioesclerosis.

#### 4.4. Análisis fisicoquímico y organoléptico en vinagre de miel para cada tratamiento.

Según (Cerezo, 2008) La diversidad de vinagres en el mercado y el incremento de sudemanda requiere su caracterización para establecer parámetros de control de calidad. En la Tabla 20 se indican los resultados obtenidos de los mejores tratamientos.

**Tabla 20:** Características de los mejores tratamientos en vinagre de miel.

Parámetros analizados	Resultados					Requisitos de vinagre		Método de ensayo
	T1	T2	T5	T6	T7	Min.	Max.	
Grado Alcohólico °GL	1	1	1	1	1.6	--	1,0	AOAC 930.35
Sólidos Solubles (°Brix)	6	6	5	6.3	6	0.13	--	CODEX 162-1987
pH	2.5	2.5	2.8	2.7	3	2.3	2.8	AOAC 930.35
Acidez (como ácido acético) %	4.6	4.7	4	4.3	3.5	4	6	AOAC 930.35
Polifenoles Totales (mg. Ac. gálico/L)	156.2	107.9	205	103.8	216	--	--	Official Methods of Analysis AOAC
Antioxidantes ( $\mu\text{m}$ Trolox/L)	582.8	308.5	821.8	255.6	753.7	--	--	FRAP (Oyaizu,1986)

Se pudo observar en cuanto a análisis fisicoquímicos de vinagre, que los tratamientos que se encontraron dentro del rango según la NTE INEN 2232: 2003 fueron T1, T2, T5 y T6. Sin embargo, en cuanto a Capacidad antioxidantes y Polifenoles en vinagre de miel, los mejores resultados obtenidos fueron para los tratamientos T5 con 821,8  $\mu\text{m}$  Trolox/Ly 205 mg. Ac gálico/L y T7 con y 753.7  $\mu\text{m}$ Trolox/kg y 216,9 mg.Ac. gálico/L.

En base a lo anterior se define como mejor tratamiento a T5 ya que cumple con los requisitos fisicoquímicos establecidos por la norma ecuatoriana, además de poseer un contenido alto y rico en antioxidantes y polifenoles totales. Es así como el vinagre de miely polen se constituye como un componente ideal para la dieta humana, abundante en compuestos fenólicos, tal como menciona (Margaoan et al., 2010), “El interés por los compuestos fenólicos ha aumentado debido a los antioxidantes y libres actividades de barrido radical.” Los estudios epidemiológicos han demostrado una correlación entre un mayor consumo de antioxidantes fenólicos y un riesgo reducido de enfermedad cardiovascular y ciertos tipos de cáncer.

Además (Whitley, 2014) menciona que “el vinagre de miel es muy valorado por su agradable sabor y su valor en la medicina alternativa, también por ser una adición sabrosa para ensaladas y otras preparaciones alimenticias y sobre todo sus poderosos beneficios para la salud especialmente para el sistema inmunológico.”

#### 4.4.1. Análisis sensorial por atributos de vinagre de miel.

A continuación, en la Tabla 21 se muestra el análisis sensorial de los mejores tratamientos en vinagre de miel.

**Tabla 21:** Análisis sensorial por atributos de vinagre de miel.

<b>Atributos</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T8</b>
<b>Color</b>	6.60 ± 0.13 <sup>f</sup>	4.55 ± 0.31 <sup>bdef</sup>	5.45 ± 0.31 <sup>def</sup>
<b>Aroma</b>	5.05 ± 0.15 <sup>ab</sup>	4.5 ± 0.14 <sup>ab</sup>	5.55 ± 0.29 <sup>b</sup>
<b>Sabor</b>	5.05 ± 0.30 <sup>abcd</sup>	5.95 ± 0.40 <sup>d</sup>	4.70 ± 0.33 <sup>abcd</sup>
<b>Acidez</b>	5.95 ± 0.21 <sup>f</sup>	7.30 ± 0.43 <sup>g</sup>	6.90 ± 0.26 <sup>fg</sup>
<b>Aceptabilidad general</b>	6.65 ± 0.30 <sup>e</sup>	6.80 ± 0.39 <sup>e</sup>	6.20 ± 0.26 <sup>e</sup>

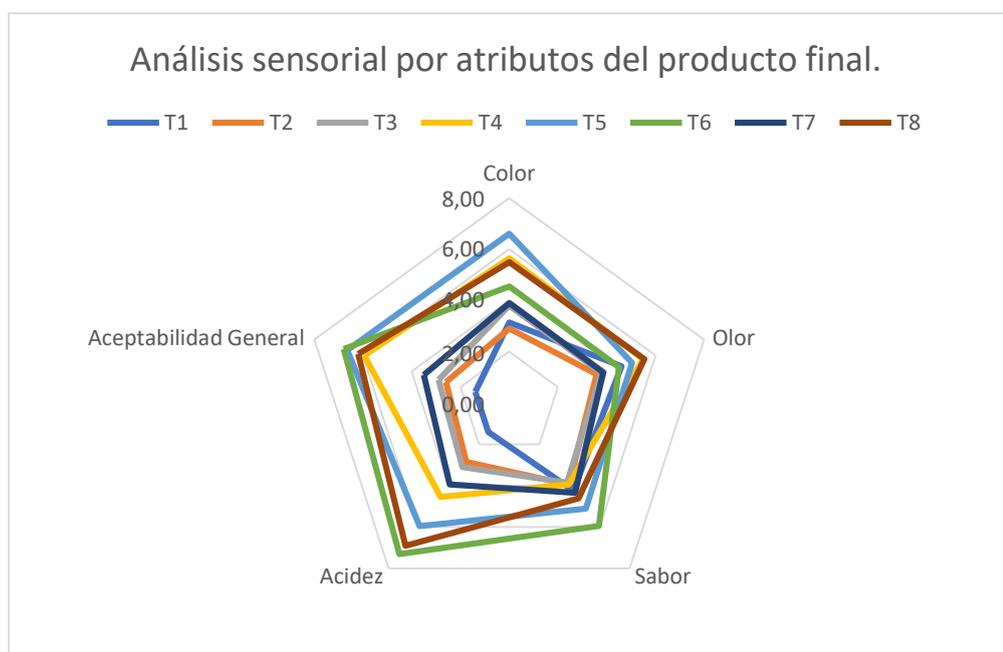
Se puede observar que los tratamientos que más sobresalieron con respecto a los atributos fueron: T5, T6 y T8, por un lado, el tratamiento T5 se catalogó como el mejor en cuanto a color, presentando diferencias significativas de los demás tratamientos.

Según (Salazar & Díaz, 2016) se da principalmente a la utilización de polen en el mosto el cual al poseer carotenoides proporcionó una coloración diferente de aquellos tratamientos los cuales no tuvieron polen. Mientras tanto, T8 sobresalió en cuanto a aroma principalmente por sus ligeras notas olfativas. Sin embargo, el mejor

tratamiento que tuvo mejor aceptación por los panelistas fue T6 logrando un color, olor, sabor dulce ligero y acidez agradable. Además, dicho tratamiento cumple con las características establecidas por la NTE INEN2232: 2003.

En la Figura 20 mediante un gráfico araña, se observa cada uno de los atributos, representados por diferentes colores según los resultados de catación en vinagre de miel.

**Figura 20:** Análisis sensorial por atributos en vinagre de miel.



La evaluación sensorial específicamente para los atributos de color y sabor sobresalieron principalmente para el tratamiento T5 (color celeste), siendo uno de los mejores puntuados, generando un color y sabor agradables propios de la miel y polen lo que lleva a tener mejor aceptabilidad por los degustadores.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

#### **5.1. Conclusiones.**

La miel y polen son materias primas aptas para ser utilizadas como componentes en sustratos, tanto para mostos alcohólicos como acéticos ya que contienen elementos necesarios para el metabolismo celular.

Los estándares definidos para el proceso de producción de vinagre de miel, de acuerdo con el mejor tratamiento en la investigación son: temperatura de 30 °C, 22 °Brix y 30g polen ya que logran fermentaciones alcohólicas mas rápidas con valores altos de productividad en menor tiempo.

El polen no solo es un componente importante para el desarrollo de fermentaciones, si no que aporta cantidades significativas de polifenoles antioxidantes y aminoácidos, obteniéndose un producto con características únicas de dichos componentes.

Se acepta la hipótesis alternativa donde la temperatura y específicamente el polen de abeja influyen en la obtención de compuestos fenólicos del producto final.

## **5.2.Recomendaciones.**

- Realizar análisis nutraceúticos en el producto final ya que al contener sustratos como miel y polen este presenta compuestos fenólics, lo que confiere una gran cantidad de beneficios y propiedades para la salud humana.
- Analizar la factibilidad técnico-económica a escala piloto.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C. (2012). Evaluación de la Fermentación Alcohólica para la Producción de Hidromiel. *Linea de Investigación Bio-Procesos e Ingeniería de Alimentos*, 1–144.
- Albores, V., Saavedra, E., López, J., & Grajales, J. (2021). Caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante y antifúngica de agregado de polen de tres especies de abejas (Apidae: Meliponini) provenientes del Soconusco, Chiapas. *Revista Mexicana de Fitopatía Vol 39*, 1–5.
- Aloisi, P., & Ruppel, S. (2014). Propiedades bioactivas y nutricionales del polen apícola de la provincia del Chubut , Argentina. *Ria*, 40, 296–302. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ria/v40n3/v40n3a13.pdf>
- Amores, A. (2018). *Aplicación de polen de abeja como activador en el proceso de fermentación alcohólica*. 274. [https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/21018/Tesis\\_Doctoral\\_Antonio\\_Amores\\_Arrocha.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/21018/Tesis_Doctoral_Antonio_Amores_Arrocha.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Ayora, T., Hernandez, J., Flores, A., González, T., Fabela, M., Patrón, J., & Pacheco, N. (2019). Usos y beneficios de los subproductos de la miel. *Centro de Investigación y Asistencia En Tecnología y Diseño Del Estado de Jalisco*, 0, 167–171.
- Balconi, G. (2016). MEJORAMIENTO DE LOS PROCESOS DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y ACÉTICA PARA LA ELABORACIÓN DE VINAGRE A PARTIR DE AZÚCAR, EN INDUSTRIA ALIMENTICIA GUATEMALTECA. *Universidad de San Carlos de Guatemala*, 4, 1–75. <http://emecanica.ingenieria.usac.edu.gt/sitio/wp-content/subidas/6ARTÍCULO-III-INDESA-SIE.pdf>
- Bogdanov, S. (2011). *The Honey Book*. <http://www.bee-hexagon.net/honey/>
- Carpes, S., Alencar, S., & Masson, M. (2007). *Estudio de preparados de extractos de polen de abeja, actividad antioxidante y antibacteriana*. 0.
- Carpes, S. T. (2008). Estudio das características físico-químicas e biológicas do pólen

- apícola de *Apis mellifera* L. da região sul do Brasil Solange Teresinha Carpes estudo das características físico-químicas e biológicas. *universidade federal do paraná*, 249.
- Cerezo, A. (2008). Composición polifenólica de vinagres de vino tinto: Influencia de la acetificación y la madera. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 287.
- Collado, Q. (2001). Levaduras y la fermentación alcohólica (II). *VEREMA*, 0. <https://www.verema.com/blog/verema/500449-levaduras-fermentacion-alcoholica-ii>
- Commission. (2001). Codex Alimentarius Commission Standards. *Codex Stan 12-1981*, 1–8.
- Cuevas, M., Ruiz, C., Pavez, P., Lobos, I., Acevedo, C., & Currian, M. (2021). Apicultura en el territorio Patagonia Verde, Región de los Lagos. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, 140–143.
- Currian, M. (2021). Boletín N  442 - Apicultura en el Territorio Patagonia Verde, Región de Los Lagos. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias - INIA*, 442, 138–146. <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/67894>
- Echavarría, C. A., Yepes, F. J., & Torres, P. H. (2012). Determinación del potencial antioxidante en extractos de vinagre *Guadua angustifolia* Kunth para aplicaciones alimenticias Determination of the antioxidant potential in *Guadua angustifolia* Kunth vinegar extracts for food applications. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 330–342.
- El Comercio. (2018). Más variedades para preparar aderezos. *Lecturas* 821, 0, 1.
- Encolmena. (2017). Cómo hacen la miel las abejas y por qué nunca caduca. *Inovación Social En Apicultura*, 1. <https://www.ecocolmena.org/como-hacen-la-miel-las-abejas-y-por-que-nunca-caduca/>
- Escuredo, O., Dobre, I., Fernandez, Gonzalez, M., & Seijo, M. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chem*, 138, 851–856.
- Feás, X., Vázquez-Tato, M Pilar Estevino, L., A Seijas, J., & Iglesias, A. (2012). Polen de abeja orgánico: origen botánico, valor nutricional, compuestos bioactivos, actividad antioxidante y calidad microbiológica. *PUBMED*.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22785265/>

Gerard, L. (2015). CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DEL ÁCIDO ACÉTICO DESTINADAS A LA PRODUCCIÓN DE VINAGRES DE FRUTAS TESIS. *Universidad Politécnica de Valencia*, 264.

<https://riunet.upv.es/handle/10251/59401>

Gómez, J. (2020). *Bromatología Miel (Control de calidad)*.

Gómez, J., Castaño, H., & Arias, A. (1997). ESTUDIO CINÉTICO DE UNA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA UTILIZANDO MIEL DE ABEJAS COMO SUSTRATO. *Departamento de Procesos Químicos, Ingeniería Química, Facultad de Minas Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín*, 0, 82–92.

Gullo, M., De Vero, L., & Giudici, P. (2014). Succession of selected strains of *Acetobacter pasteurianus* and other acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 2585–2589.

Iglesias, A., Pascoal, A., Branco, A., Carlos, C., Feás, X., & Estevinho, L. (2014). Avances en el proceso de fermentación y estrategias de mejora de la calidad para la producción de hidromiel. *MDPI*, 1–11.

INEN 1572. (2016). Miel de abejas. Requisitos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1–11.

INEN 2296. (2013). Nte Inen 2296:2013. *VINAGRE REQUISITOS*. <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/2296-1.pdf>

Kahoun, D., Rezková, S., Veskrnová, K., Královský, J., & Holcapek, M. (2008). Determinación de compuestos fenólicos e hidroximetilfurfural en hidromiel mediante cromatografía líquida de alta resolución con matriz coulométrica y detección UV. *Pubmed*, 0. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18620360/>

Lallemend. (2015). Información práctica sobre elaboración de vino. *THE WINE EXPERT*, 2–5.

LALLEMAND. (2021). *DECLARACIÓN GENERAL*. <https://catalogapp.lallemendwine.com/uploads/yeasts/docs/c0b5cf8657db26aafa534071d6dbd920fab98638.pdf>

LÍDERES. (2018). *La apicultura se mueve con tres ejes estratégicos en Ecuador*. Red. Quito y Guayaquil. <https://www.revistalideres.ec/lideres/apicultura-miel-abejas->

ministerio-agricultura.html

- Llull, F. (2016). EL POLEN APÍCOLA: PRODUCCIÓN, COMPOSICIÓN Y ELABORACIÓN. *Facultad de Veterinaria*, 35.
- Lobos, I., & Currian, M. (2021). COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y CALIDAD DE LA MIEL PRODUCIDA EN EL TERRITORIO PATAGONIA VERDE. In *Apicultura en el Territorio Patagonia Verde, Región de Los Lagos* (pp. 107–112).
- López, M. (2007). Planta de producción de vinagre de miel. *Universidad de Cádiz. Ingeniería Química*, 3–38.  
<https://rodin.uca.es/bitstream/handle/10498/6487/33776131.pdf>
- López, Z. (2021). *Caracterización de la capacidad antioxidante de la miel de abeja Apis Mellífera en las provincias de Carchi y Sucumbios*.
- MAG. (2018). Ecuador tiene potencial para la apicultura. *Ministerio de Agricultura y Ganadería Ecuador Tiene Potencial Para La Apicultura*, 1.
- Mesa, A. F. (2015). Caracterización Físicoquímica y Funcional del Polen de Abejas (Apis Mellifera) como Estrategia para Generar Valor Agregado y Parámetros de Calidad al Producto Apícola. *Universidad Nacional de Colombia*, 84.
- OKIDIARIO. (2017). Beneficios del vinagre balsámico. *Es Noticia*.  
<https://okdiario.com/recetas/vinagre-balsamico-beneficios-80676>
- Panagiotis, H. Tsarouhas Ioannis, S. A. (2011). *Journal of Food Engineering. Quantitative Analysis for Peach Production Line Management*, 0.  
[https://www.researchgate.net/publication/241086271\\_Quantitative\\_analysis\\_for\\_peach\\_production\\_line\\_management](https://www.researchgate.net/publication/241086271_Quantitative_analysis_for_peach_production_line_management)
- Parra, Y., Blasco, G., Montero, E., & Bolado, E. (2009). Miel de abeja: propiedades antioxidantes y antimicrobianas. *REDICINA y SA*, 1–12.
- Periago, M., Navarro-González, I., Alaminos, A., Elvira-Torales, L., García-Alonso, F., Periago, M., Navarro-González, I., Alaminos, A., Elvira-Torales, L., & García-Alonso, F. (2016). PARAMÉTROS DE CALIDAD EN MIELES DE DIFERENTES ORÍGENES BOTÁNICOS PRODUCIDAS EN LA ALPUJARRA GRANADINA. *An de Veterinaria de Murcia*, 71(32), 59–71.
- Prior, M. (1981). *La miel en la alimentación humana. Técnicas del SEA, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*.

- Quino, M. L., & Alvarado, J. A. (2017). Capacidad Antioxidante Y Contenido Fenólico Total De Miel De Abeja Cosechada En Diferentes Regiones De Bolivia. *Revista Boliviana de Química*, 34(3), 65–71.
- Riegel, R., & Kent, J. (2003). *Riegel's Handbook of Industrial Chemistry/Manual de química industrial de Riegel*. 10, 329–361.
- Rivera, C. (2013). EFECTO DE UNA CEPA DE BACTERIA ACÉTICA NATIVA SOBRE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA DE VINAGRES OBTENIDOS A PARTIR DE VINO BLANCO Y TINTO TESIS. *UNIVERSIDAD DE CHILE FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE POSTGRADO*, 18–51. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/152674/Efecto-de-una-cepa-de-bacteria-acetica-nativa-sobre-la-composicion-fenolica-de-vinagres-obtenidos-a-partir-de-vino-blanco-y-tinto.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Roldan, A., Hartman, G., Lasanta, C., & Palacios, V. (2011). Influencia de la adición de polen en la elaboración de hidromiel: Características fisicoquímicas y sensoriales. *Research Gate*, 0. [https://www.researchgate.net/publication/251575488\\_Influence\\_of\\_pollen\\_addition\\_on\\_mead\\_elaboration\\_Physicochemical\\_and\\_sensory\\_characteristics](https://www.researchgate.net/publication/251575488_Influence_of_pollen_addition_on_mead_elaboration_Physicochemical_and_sensory_characteristics)
- Solieri, L., & Giudici, P. (2009). VINEGARS OF THE WORLD. In *Department of Agricultural and Food Sciences University of Modena and Reggio Emilia Italy* (1st ed., pp. 20–26). Springer, Milano.
- Velásques, D., & Goetchel, L. (2019). Determinación de la calidad físico-química de la miel de abeja comercializada en Quito y comparación con la miel artificial. *Enfoque UTE*, 52–62. <https://www.redalyc.org/journal/5722/572262062005/html/#:~:text=Con respecto al contenido de,oscilan entre 65-75 %25.>
- Velásquez-Ruiz, C. A., Gil, J. H., Urrego, J. F., Durango, D., & Castañeda, I. M. (2016). Análisis Palinológico Y Físicoquímico De Miel De Abejas (*Apis Mellifera L.*) Procedente Del Oriente Y Suroeste De Antioquia (Colombia). *Revista de La Facultad de Ciencias*, 5(2), 65–87. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v5n2.60541>
- Vivanco, I., Rosillo, Toro, W., Villavicencio, B., & Macias, V. (2020). Diagnóstico productivo y comercial de la cadena apícola: provincia del Guayas (Ecuador).

*Revista*                      *Espacios*,                      41(19),                      398–411.

<https://www.revistaespacios.com/a20v41n19/a20v41n19p29.pdf>

Vivas, L. (2015). *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA PREVALENCIA DE NOSEMA ( Nosema spp .) EN COLMENARES DE LA REGIÓN NORTE Y CENTRO NORTE DEL ECUADOR JAIRO LENIN VIVAS ESPINOSA QUITO – ECUADOR*. 64.

<https://www.revistaespacios.com/a20v41n19/a20v41n19p29.pdf>

Whitley, D. (2014). HONEY VINEGAR. In *HOW TO MAKE HONEY VINEGAR* (pp. 3–11). 28/JULIO 2014.

Williamson, K. (2018). *Yo soy Fermentista*. Cómo Hacer HIDROMIEL (Aguamiel) Con Levadura Comercial - MÓDULO 16.

<https://www.youtube.com/watch?v=KstYY-QgyJE&t=793s>

Zadamela, E. (2008). Caracterización físico-química y evaluación sanitaria de la miel de mozambique. In *Universitat Autònoma de Barcelona*.

<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf;jsessionid>

Zorokiain, N. (2020). *Viangre , dudas y soluciones*.

Zudaire, M. (2003). Los distintos vinagres. *Consumer*, 0.

<https://www.consumer.es/alimentacion/los-distintos-vinagres.html>

## ANEXOS

Anexo1. Norma INEN para elaboración de vinagre.

### 5. REQUISITOS

#### 5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El vinagre debe tener:

- a) *Aspecto*: límpido
- b) *Color*: uniforme, y si es de vino, característico del vino de procedencia.
- c) *Olor característico*
- d) *Sabor*: característico del producto.
- e) Si el vinagre es de alcohol, el color varía de incoloro a amarillento

5.1.2 El vinagre no debe contener anguilula 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**

Requisito	Min.	Máx.	Método de ensayo
Acidez total, (como ácido acético), %	4	6	AOAC 930.35
Acidez fija, (como ácido acético), %	--	0,3	AOAC 930.35
Acidez volátil, (como ácido acético), %	3,7	--	AOAC 930.35
Alcohol etílico a 20 °C, %	--	1,0	AOAC 930.35
pH a 20 °C	2,3	2,8	AOAC 981.12
Número de oxidación con permanganato	3	--	AOAC 944.10
Cenizas totales, en vinagres diferentes a los de alcohol, g/l	1	5	AOAC 930.35 (D)
Extracto seco, g/l	1,2		AOAC 930.35 (C)
Metanol, g/l		0,5	AOAC 958.04
% expresado como fracción de masa			

Activar Win

Anexo 2: Requisitos físico y químicos para la miel de abejas.

**TABLA 1. Requisitos físicos y químicos para la miel de abejas**

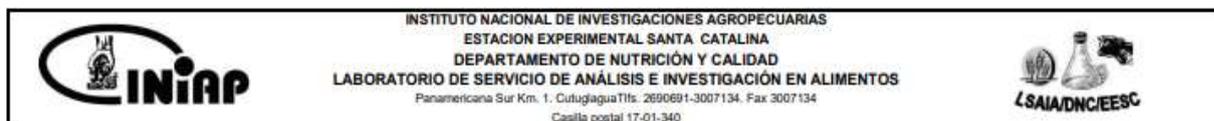
Requisitos	Unidades	Valor		Métodos de ensayo
		Mínimo	Máximo	
Contenido de humedad	% <sup>a</sup>	-	20	NTE INEN 1632
Contenido de azúcares reductores (suma de fructosa más glucosa) <sup>b</sup>	% <sup>a</sup>	65	-	NTE INEN 1633
Contenido de sacarosa aparente	% <sup>a</sup>	-	5	NTE INEN 1633
Contenido de sólidos insolubles en agua		-	0,1 (miel distinta a la prensada) 0,5 (miel prensada)	NTE INEN 1635
Acidez libre	meq/kg	-	50	NTE INEN 1634
Actividad de la diastasa <sup>c</sup>	-	3	8	NTE INEN 1638
Contenido de hidroximetilfurfural	mg/kg	-	40	NTE INEN 1637
Contenido de cenizas	% <sup>a</sup>	-	0,5	NTE INEN 1636
Conductividad eléctrica	mS/cm	-	0,8	ANEXO A

<sup>a</sup> Corresponde a la fracción de masa expresada en porcentaje.

<sup>b</sup> La relación fructosa/glucosa debe ser mayor a 1 para *Apis mellifera*, determinada con el método de NTE INEN 1633.

<sup>c</sup> La actividad de diastasa es calculada como el número de diastasa (unidad de Schade o unidad de Gothe), el cual se define como la cantidad de enzima contenida en un gramo de muestra, la cual hidroliza 0,01 g de almidón en una hora.

Anexo 3: Informe Análisis de polifenoles y antioxidantes en vinagre de miel.



INFORME DE ENSAYO No: 21-0128

**\*\*NOMBRE PETICIONARIO:** Sta. Jhenifer Morales  
**\*\*DIRECCIÓN:** Ibarra/Imbabura  
**FECHA DE EMISIÓN:** 13/07/2021  
**FECHA DE ANÁLISIS:** Del 23 de junio al 12 de julio de 2021

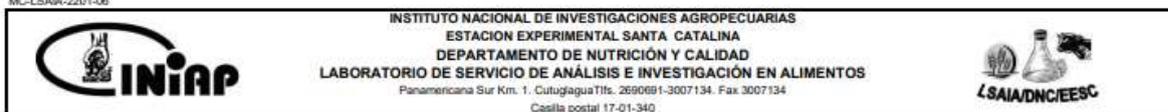
**\*\*INSTITUCIÓN:** Particular  
**\*\*ATENCIÓN:** Sta. Jhenifer Morales  
**FECHA DE RECEPCIÓN:** 23/06/2021  
**HORA DE RECEPCIÓN:** 13H30

**ANÁLISIS SOLICITADO** Polifenoles, capacidad antioxidante

ANÁLISIS	Polifenoles	Capacidad Antioxidante	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-15	MO-LSAIA-16	
METODO REF.	Cros. E. y Maringo G. (1982/1973)	FRAP	
UNIDAD	mg.Ac. Gálico/L	µm Trolox/L	
21-0778	156,41	560,86	T11
21-0779	141,24	518,00	T12
21-0780	170,55	669,43	T13
21-0781	110,90	303,71	T21
21-0782	109,17	358,00	T22
21-0783	103,66	263,71	T23
21-0784	175,03	696,57	T31
21-0785	150,55	612,29	T32
21-0786	134,00	589,43	T33
21-0787	111,93	333,71	T41
21-0788	105,72	493,71	T42
21-0789	110,90	346,57	T43
21-0790	234,34	942,29	T51
21-0791	142,62	560,86	T52
21-0792	238,14	962,29	T53
21-0793	100,21	260,86	T61
21-0794	110,21	259,43	T62
21-0795	100,90	246,57	T63
21-0796	165,38	532,29	T71
21-0797	254,34	805,14	T72
21-0798	230,90	923,71	T73
21-0799	125,72	339,43	T81

## Anexo 4: Informe análisis de polifenoles y antioxidantes en polen.

MC-LSAIA-2201-06



### INFORME DE ENSAYO No: 21-0128

ANÁLISIS	Polifenoles		Capacidad Antioxidante	
METODO	MO-LSAIA-15		MO-LSAIA-16	
METODO REF	Cros. E. y Maringo G. (1982/1973)		FRAP	
UNIDAD	mg.Ac. Gálico/L		µm Trolox/L	
21-0800	116,07		266,57	**IDENTIFICACIÓN
21-0801	104,34		216,57	T82
				T83
ANÁLISIS	HUMEDAD	Polifenoles	Capacidad Antioxidante	
METODO	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-15	MO-LSAIA-16	
METODO REF	U. FLORIDA 1970	Cros.E y Maringo	FRAP	
UNIDAD	%	mg.Ac.Gálico/g	µm Trolox/g	
21-0802	13,65	Ω 29,86	Ω 307,49	**IDENTIFICACIÓN
				Polen
ANÁLISIS	Polifenoles		Capacidad Antioxidante	
METODO	MO-LSAIA-15		MO-LSAIA-16	
METODO REF	Cros. E. y Maringo G. (1982/1973)		FRAP	
UNIDAD	mg.Ac. Gálico/g		µm Trolox/g	
21-0803	0,63		4,73	**IDENTIFICACIÓN
				Miel

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.  
OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente



IVAN RODRIGO  
SAMANIEGO  
MAYOBA

Dr. Iván Samaniego, MSc.  
RESPONSABLE TÉCNICO



BLADIMIR  
EFRAIN ORTIZ  
RAMOS

Ing. Bladimir Ortiz  
RESPONSABLE CALIDAD

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.  
Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo.

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información. La información entregada por el cliente y generada durante las actividades de laboratorio es de carácter confidencial, esta dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo puede ser usada por este. Los datos marcados con \*\* son suministrados por el cliente. El laboratorio no se responsabiliza por esta información.