

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS

**CONCENTRACIÓN DE *Acetobacter aceti* A DIFERENTE TEMPERATURA PARA
LA ELABORACIÓN DE VINAGRE DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus*)
EVALUANDO SUS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS**

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentado por el bachiller:

NESTOR JOÉL RAMOS CAMACHO

Asesor:

DR. JOSÉ GERARDO SALHUANA GRANADOS

CAJAMARCA – PERÚ

2024

CONSTANCIA ANTIPLAGIO TURNITIN DE TESIS SUSTENTADA

El que suscribe, Dr. José Gerardo Salhuana Granados, en calidad de Asesor del Trabajo de Tesis “CONCENTRACIÓN DE *Acetobacter aceti* A DIFERENTE TEMPERATURA PARA LA ELABORACIÓN DE VINAGRE DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) EVALUANDO SUS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS”

CERTIFICA

Que se ah realizado la revisión antiplagio TURNITIN del informe de Tesis sustentada, titulada “CONCENTRACIÓN DE *Acetobacter aceti* A DIFERENTE TEMPERATURA PARA LA ELABORACIÓN DE VINAGRE DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) EVALUANDO SUS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS” presentada por el Bachiller: NESTOR JOÉL RAMOS CAMACHO, identificado con DNI N° 75827906, domiciliado en Jr. San Francisco #311, Cajamarca, obteniéndose un porcentaje de semejanza al 10%.

Se expide el presente documento, de acuerdo a la Ley, para los fines que el interesado estime conveniente.

Cajamarca, 29 febrero del 2024.



Dr. José Gerardo Salhuana Granados
Asesor
Código Orcid: 0000-0002-1161-1929



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
"NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA"
Fundada por Ley N° 14015, del 13 de febrero de 1962
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Secretaría Académica



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Cajamarca, a los catorce días del mes de febrero del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el ambiente 2H - 204 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado, designados según Resolución de Consejo de Facultad N° 524-2023-FCA-UNC, de fecha 18 de diciembre del 2023, con la finalidad de evaluar la sustentación de la TESIS titulada: "CONCENTRACIÓN DE *Acetobacter acetii* A DIFERENTE TEMPERATURA PARA LA ELABORACIÓN DE VINAGRE DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) EVALUANDO SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS", realizada por el Bachiller NESTOR JOÉL RAMOS CAMACHO para optar el Título Profesional de INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.

A las once horas y cinco minutos, de acuerdo a lo establecido en el Reglamento Interno para la Obtención de Título Profesional de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Presidente del Jurado dio por iniciado el Acto de Sustentación, luego de concluida la exposición, los miembros del Jurado procedieron a la formulación de preguntas y posterior deliberación. Acto seguido, el Presidente del Jurado anunció la aprobación por unanimidad, con el calificativo de quince (15); por tanto, el Bachiller queda expedito para proceder con los trámites que conlleven a la obtención del Título Profesional de INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.

A las doce horas y cinco minutos del mismo día, el Presidente del Jurado dio por concluido el Acto de Sustentación.

Ing. M. Sc. Fanny Lucila Rimarachin Chávez
PRESIDENTE

Ing. M. Sc. Jimy Frank Oblitas Cruz
SECRETARIO

Dr. Rodolfo Raúl Orejuela Chirinos
VOCAL

Dr. José Gerardo Salhuana Granados
ASESOR

Dedicatoria

Con toda mi alma

A Dios por darme las fuerzas a no rendirme y seguir en el camino del bien

A mis padres por su apoyo incondicional, que siempre estuvieron día a día haciendo su mayor esfuerzo con el fin de llegar al objetivo.

A mis amigos y familiares que confiaron en mi

Agradecimiento

De corazón ...

A Dios por guiarme por el camino del éxito, por la salud y el bienestar de mi familia

A mis padres por su apoyo en cada paso de mi proyecto de vida, por su lucha diaria, los momentos difíciles siempre estuvieron ahí. Orgullosos padres queridos

A mis amigos que siempre estuvieron presente en cada momento, gracias por su apoyo incondicional.

Al gerente general de vivero “Santa Fe Cajamarca” señor Edgardo Alfredo Weisser Hernández, gracias por toda la facilidad para hacer realidad el proyecto, gracias por su confianza.

A mi Asesor Ing. José Salhuana Granados por su apoyo incondicional, guía para hacer llegar al objetivo.

A mi alma mater Universidad Nacional de Cajamarca por mi formación profesional, llevo el orgullo de mi bella universidad, gracias a mi escuela Académico de Ingeniería en Industrias Alimentarias y a plana docente gracias a ellos para llegar a concretar el éxito...

Índice general

I. INTRODUCCIÓN	1
II. EL PROBLEMA	2
2.1 Planteamiento del Problema	2
2.2 Formulación del Problema (pregunta de investigación)	3
2.3 Justificación de la Investigación	3
III. OBJETIVO(S)	5
3.1 Objetivo General.....	5
3.2 Objetivos Específicos.....	5
IV. Hipótesis	5
V. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA	6
5.1 Antecedentes de la investigación.....	6
5.2 Bases teóricas	8
5.2.1 Frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)	8
5.2.2 Vinagre.....	13
5.2.3 Las BAA en la producción de vinagres	14
5.2.4 Curva de crecimiento bacteriano	15
5.2.5 Beneficios del vinagre.....	20
5.2.6 Tipos de fermentaciones	20
5.2.7 Aplicaciones y usos	30
5.2.8 Definición de términos básicos	32
VI. Materiales y Métodos	34
6.1 Ubicación	34
6.2 Materiales	35
6.2.1 Materia prima e Insumos.....	35
6.2.2 Equipos.....	35
6.2.3 Materiales	35
6.3 Tipo de investigación	35
6.4 Diseño Experimental.....	36
6.4.1 Modelo estadístico	36
6.5 Metodología.....	40
6.5.1 Etapa 1 Obtención de vino de frambuesa.....	41

6.5.2	Etapa 2 elaboración de vinagre.....	44
6.6	Metodología.....	45
6.6.1	Evaluación de las características fisicoquímicas para el vinagre de frambuesa 45	
VII.	Resultados y Discusiones	47
7.1	Análisis de la varianza de las características fisicoquímicas	47
7.1.1	Parámetro fisicoquímico de acidez (ácido acético)	48
7.1.2	Parámetro fisicoquímico de pH	51
7.1.3	Parámetro fisicoquímico de °Brix	55
VIII.	Conclusiones	60
IX.	Recomendaciones	60
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Normas APA).....	61
XI.	Anexos	71

Índice de anexos

Anexo 1. Vivero santa Fe de Cajamarca, como Gerente general el Ing. Edgardo auspiciador de la materia prima.	71
Anexo 2. Análisis fisicoquímico	72
Anexo 3. Fermentación del mosto alcohólico de frambuesa por 30 días.	73
Anexo 4. Evolución fisicoquímica cada cuatro días	74
Anexo 5. Ficha técnica de <i>Acetobacter aceti</i> ,	75
Anexo 6. Ficha técnica de la gelatina	75
Anexo 7. Norma técnica peruana para vinagres	77

Índice de figuras

Figura 1. Se ilustra una curva de crecimiento de una población bacteriana. Esta curva se divide en cuatro fases denominadas fase de latencia, fase exponencial o fase logarítmica, fase estacionaria y fase de muerte.....	16
Figura 2. Población de células viables y velocidad de fermentación del vinagre	17
Figura 3. Reacción bioquímica de la fermentación alcohólica.....	22
Figura 4. Ubicación geográfica donde se realizó la investigación.....	34
Figura 5. Diagrama de bloques para la elaboración de licor de pulpa de frambuesa.....	40
Figura 6. Diagrama de bloques para obtención de vinagre de frambuesa.....	43
Figura 7. Representación gráfica de la evolución de la acidez en 30 días de fermentación.	49
Figura 8. Representación gráfica de la evolución del pH en 30 días de fermentación.	53
Figura 9. Evolución de los °Brix en los diferentes tratamientos realizados, en treinta días de fermentación.	56

Indice de Tablas

Tabla 1	<i>Clasificación taxonómica de la frambuesa.....</i>	10
Tabla 2	<i>Valor nutricional y capacidad antioxidante por 100g de frambuesa en fresco</i>	12
Tabla 3	<i>Características químicas de la frambuesa (Ribus ideus)</i>	13
Tabla 4	<i>Tipos de fermentación</i>	20
Tabla 5	<i>Propiedades y beneficios del vinagre.....</i>	31
Tabla 6	<i>Análisis de varianza</i>	37
Tabla 7	<i>factores, variables (independientes y dependientes), niveles y tratamientos en estudio.....</i>	38
Tabla 8	<i>Tratamientos combinación de niveles y numero de repeticiones</i>	38
Tabla 9	<i>Arreglo de tratamientos.....</i>	39
Tabla 11	<i>pH, Acidez (% de ácido acético), solidos solubles (°Brix) y grado alcohólico inicial de las muestras de mosto alcohólico de frambuesa utilizadas para el estudio.....</i>	47
Tabla 12	<i>Datos promedios del parámetro Fisicoquímico acidez (ácido acético), obtenidos durante un mes de experimentación.....</i>	49
Tabla 13	<i>Análisis de Varianza para la variable acidez.....</i>	50
Tabla 14	<i>Pruebas de HSD tukey para el factor temperatura de incubación, confianza de 95</i>	50
Tabla 15	<i>Pruebas de HSD tukey para la interacción (temperatura de incubación * porcentaje de acetobacter aceti) confianza de 95%.....</i>	51
Tabla 16	<i>Datos promedios del parámetro Fisicoquímico pH, obtenidos durante un mes de experimentación</i>	52
Tabla 17	<i>Análisis de Varianza para la variable pH.....</i>	53
Tabla 18	<i>Pruebas de HSD tukey para el factor temperatura de incubación, confianza de 95%.....</i>	54
Tabla 19	<i>Pruebas de HSD tukey para bloques (días de almacenamiento) confianza de 95%</i>	55

Tabla 20	<i>Datos promedios del parámetro Fisicoquímico °Brix, obtenidos durante un mes de experimentación</i>	56
Tabla 21	<i>Análisis de Varianza para la variable grados Brix</i>	57
Tabla 22	<i>Pruebas de HSD tukey para el factor temperatura de incubación, confianza de 95%</i>	57
Tabla 23	<i>Pruebas de HSD tukey para la interacción (temperatura de incubación * porcentaje de Acetobacter aceti) confianza de 95%</i>	58
Tabla 24	<i>Pruebas de HSD tukey para bloques (días de almacenamiento) confianza de 95%</i>	59

RESUMEN

El presente trabajo investigación se desarrolló en la Universidad Nacional de Cajamarca tiene como objetivo principal la concentración de *Acetobacter aceti* a diferente temperatura para la obtención de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus L*); estimando las características fisicoquímicas del vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus L*), como son la acidez, pH y solidos solubles (°Brix). En la metodología se realizó a un inicio la fermentación alcohólica durante 8 días, en la cual se utilizó levadura *Saccharomyces cerevisiae* obteniendo como producto licor de frambuesa (*Rubus idaeus L*) con las características fisicoquímicas finales de 10 grados Alcohólicos, pH: 4.8, grados Brix:5 y acidez: 2%; para luego obtener como sub producto el vinagre de frambuesa, el procedimiento aplicado para la fermentación acética es el método de cultivo sumergido. la fermentación acética fue llevada por un periodo de 30 días, en la cual se distribuyeron (3) muestras con tres (3) repeticiones, cada muestra por separado a una temperatura de 22°C, 25°C y 30°C; con un porcentaje de *Acetobacter aceti* de 2%, 3% y 4% para cada temperatura planteada en la metodología, el análisis de evolución fisicoquímico fue cada 4 días: pH, grados brix, y acidez total. El análisis de los resultados se realizó teniendo en cuenta la fermentación acética; Los parámetros evaluados fueron analizados empleando el análisis de varianza (ANOVA), para determinar la significancia estadística considerando $p > 0.05$; en caso de variabilidad se realizó la comparación múltiple con la prueba Tukey; en los que se hizo uso del paquete estadístico MINITAB 18. El análisis estadístico para la variable acidez muestra una alta significación para el factor temperatura de incubación puesto que $p < 0.05$ lo cual indica que este factor influye en la acidez del vinagre de frambuesa, la fermentación inicio con 2% de acidez para llegar a una acidez final de 4,99%, el pH es 4.8 a una temperatura de 22°C no hay variabilidad significativa, al aumentar la temperatura a 25°C influye significativamente para el descenso del pH a 2.51.

En conclusión, en condiciones favorables decrece el pH p la acidez aumenta beneficiando con las características del vinagre, es indispensable el suministro constante de oxígeno.

Palabras claves: vinagre, vino, fermentación, frambuesa, *Sacharomyces cerevisiae*, *Acetobacter aceti*.

SUMMARY

The main objective of this research work was developed at the National University of Cajamarca is to determine the concentration of *Acetobacter aceti* at different temperatures to obtain raspberry vinegar (*Rubus idaeus* L.); *estimating the physicochemical characteristics of raspberry vinegar* (*Rubus idaeus* L.), such as acidity, pH and soluble solids (°Brix). In the methodology, alcoholic fermentation was carried out for 8 days, in which *Sacharomyces cerevisiae* yeast was used, obtaining raspberry wine (*Rubus idaeus* L) as a product with the final physicochemical characteristics of 10 alcoholic degrees, pH: 4.8, Brix degrees: 5 and acids: 2% (w/v); to then obtain raspberry vinegar as a by-product. The procedure applied for acetic fermentation is the submerged culture method. the fermentation was carried out for a period of 30 days, in which (3) samples were distributed with three (3) replications, each sample separately at a temperature of 22°C, 25°C and 30°C; with a percentage of *Acetobacter aceti* of 2%, 3% and 4% for each temperature proposed in the methodology, the analysis of physicochemical evolution was every 3 days: pH, brix degrees, and total acidity. The analysis of the results was carried out taking into account acetic fermentation; The evaluated parameters were analyzed using analysis of variance (ANOVA) to determine statistical significance considering $p > 0.05$; in case of variability, multiple comparison was made with the Tukey test; using the MINITAB 18 statistical package. The statistical analysis for the acidity variable shows a high significance for the incubation temperature factor since $p < 0.05$ which indicates that this factor influences the acidity of raspberry vinegar, fermentation starts with 2% acidity to reach a final acidity of 4.99%, pH is 4.8 at a temperature of 22°C there is no significant variability, increasing the temperature to 25°C significantly influences the decrease of pH to 2.51.

In conclusion, the best treatment in obtaining vinegar is 3% *Acetobabter aceti*, at a temperature of 25°C for 30 days of acetic fermentation, at a lower incubation temperature the bacteria are inactive.

Keywords: vinegar, wine, fermentation, raspberry, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter aceti*.

I. INTRODUCCIÓN

La frambuesa, fruta que pertenece al grupo de las rosáceas, es conocida comercialmente como un *berrie*, junto con el arándano, la grosella y la zarzamora. Se le considera una fruta selecta, debido a su apariencia, sabor y tamaño. Estas características son reconocidas a escala mundial, especialmente en Europa, en donde es estimada como una fruta fina. Además, aporta importantes beneficios para la salud: una taza de frambuesa proporciona el 40% de las necesidades diarias de vitamina C y el 32% de la fibra requerida diariamente para el consumo humano (Chile, 2006)

En la actualidad el uso de berréis vine siendo utilizado en la transformación de diferentes productos aplicando Tecnología y conocimientos ingenieriles, para la transformación de los mismos. El vinagre ha formado parte de la Alimentación humana desde la antigüedad como condimento, conservador de alimentos y bases para remedios sencillos en hombres y animales. Las referencias más antiguas del uso del vinagre se encuentran en la cultura Babilónica (5000 A. C.) sobre la obtención de vinagre a partir de dátiles (Juárez, 2006).

Bajo este contexto, la línea de investigación del presente trabajo se enfoca en el proceso de fermentación acética para la producción de vinagre utilizando frambuesa del vivero santa fe en Cajamarca (*Rubus idaeus*).

Las bacterias provenientes del vinagre, también llamadas bacterias acéticas miembros del género *Acetobacter* se caracterizan por su habilidad de convertir el alcohol etílico (C_2H_5OH) en ácido acético (CH_3CO_2H) a través de una oxidación. El ácido acético se forma a partir de una reacción de cuatro pasos que envuelve la conversión de almidón a azúcares a través de amilasas, la conversión anaeróbica de azúcares a etanol por medio de fermentación con levaduras, la transformación de etanol a acetaldehído hidratado y la deshidrogenación por medio de aldehído deshidrogenasa para obtener como producto ácido acético (Tan, 2005).

El proceso de acetificación incluye además de la conversión acética procedimientos tales como la filtración, clarificación, destilación y pasteurización a $74^{\circ}C$ antes de ser envasado. El vinagre juega un rol fundamental en la creación de productos como salsas, aderezos, salsas picantes entre otros. Esto ha promovido la demanda de sistemas que sean capaces de producir grandes cantidades de vinagre. Actualmente, la tecnología más común para la producción masiva de vinagre se basa en el método de cultivo sumergido junto con la percolación continua o también llamada proceso generador (Tan, 2005).

II. EL PROBLEMA

2.1 Planteamiento del Problema

La presente investigación surge en el vivero Santa Fe – Cajamarca, a raíz de que la producción de frambuesa ha ido ganando un lugar importante en el mercado internacional de manera acelerada, sin embargo, la producción mundial aún no es suficiente para lograr satisfacer toda la demanda que existe; pues el vivero Santa Fe Cajamarca puso en marcha el cultivo de frambuesa, logrando obtener resultados importantes, pues en la región Cajamarca el cultivo de frambuesa es poco favorable, ya que no hay asesoramiento técnico, además que la inversión del Estado Peruano limita a este tipo de cultivo tan importante de frambuesa, la región Cajamarca cuenta con todas las condiciones necesarias para la producción de frambuesa ya sea de manera artesanal como de manera Industrial.

Como está claro, se hace necesaria la instalación de una planta de procesamiento que permita a la empresa realizar sus operaciones y beneficiar a la población de Cajamarca con mayores oportunidades de trabajo e impulsando la participación de nuestra región en la generación de nuevos productos para el desarrollo; para ello la presente investigación se centrará en la elaboración de un proyecto de desarrollo económico de la producción de vinagre de frambuesa, para contribuir al incremento de los ingresos de los agricultores beneficiarios de los distritos de Namora, Jesús y Baños del Inca (INIA, 2012).

Cajamarca cuenta con condiciones ambientales óptimas para la producción de frambuesas tanto por el clima, como por sus tierras y el agua limpia; cuya finalidad es capacitar constantemente a productores Cajamarquinos interesados en las técnicas de manejo Agronómico y comercial de los berries. muestra de ello, en el vivero Santa Fe de Cajamarca se maneja una técnica muy importante de cultivo de frambuesa, no se utiliza fertilizantes químicos, en su reemplazo se utiliza abonos orgánicos, así como también biol (fertilizante orgánico) para la erradicación de insectos o microorganismos que causen daños al cultivo de frambuesa. Logrando obtener frutos de frambuesa orgánicos de calidad (Andina, 2018).

Por ello la iniciativa de generar una planta procesadora de vinagre es accesible ya que se cuenta con todas las condiciones necesarias, pues la demanda de vinagre es diariamente a nivel nacional como internacional como condimento, así como también tiene uso medicinal.

En la actualidad la innovación de nuevos productos impresiona a los consumidores, en la dieta diaria se busca una alimentación sana y saludable. En ese contexto, la frambuesa ha sido una materia prima poco aprovechada industrialmente en la zona. Pese a sus cualidades exóticas únicamente se elaboran mermeladas, licores, aplicando procedimientos tradicionales. Se detectó que existe un desconocimiento de procesos técnicos respecto de una mayor transformación agroindustrial que pudiera permitir una mejor opción económica y social para los productores.

Los aspectos antes mencionados han determinado que los agricultores abandonen sus cultivos, los cambien, o simplemente se dediquen a otra actividad productiva. De esta manera se desaprovechan las bondades del clima y las cualidades nutricionales de la frambuesa; además, se deja de lado una alternativa productiva y ocupacional de interesante rentabilidad.

2.2 Formulación del Problema (pregunta de investigación)

¿Cuál es la concentración de *Acetobacter aceti* al variar la temperatura, para la elaboración de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus* L) evaluando sus características fisicoquímicas?

2.3 Justificación de la Investigación.

La presente investigación surge en el vivero Santa fe Cajamarca donde se cultiva frambuesa, el objetivo es utilizar tecnología y biotecnología para desarrollar un nuevo producto donde se pueda explotar la materia prima y así obtener los mejores resultados, ello convierte a este sector en un espacio óptimo, desde el punto de vista comercial, para desarrollar actividades relacionadas con la producción, proceso y comercialización de la frambuesa. Es importante mencionar que los restos de la fruta se aprovecha como abono para las plantas del vivero.

El vinagre es un saborizante y preservante natural cuyo uso en la industria de Alimentos es amplio. Como conservante evitando el desarrollo de bacterias en los Alimentos aumentando el tiempo de almacenamiento en anaquel de los productos elaborados. También es un agente medicinal cuyo consumo en la actualidad se ve afectado por la existencia, en el mercado, de vinagre artificial.

Durante la investigación se busca obtener un vinagre con características fisicoquímicas como pH, °Brix y acidez, aceptables por parte del consumidor, que garantice

su satisfacción. Este hecho apoya la tendencia que va ganando espacio actualmente, en el sentido de consumir Alimentos sin riesgos para la salud. Sin duda, con este estudio se busca contribuir al incremento de la información científica con datos referentes al proceso de fermentación alcohólica y acetificación del mosto de frambuesa.

III. OBJETIVO(S)

3.1 Objetivo General

Determinar la concentración de *Acetobacter aceti* al variar la temperatura para la elaboración de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus L*), evaluando sus características fisicoquímicas pH, acidez y solidos solubles (°brix).

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de *Acetobacter aceti* para la obtención de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus*) evaluando sus características fisicoquímicas.
- Determinar la temperatura para la obtención de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus*) evaluando sus características fisicoquímicas.

IV. Hipótesis

La concentración de *Acetobacter aceti* a 0.06 miliequivalente a diferentes temperaturas de (20-30) °C tienen efecto significativo en la elaboración de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus*) evaluando sus características fisicoquímicas.

V. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

5.1 Antecedentes de la investigación

Internacionales

En el proyecto de investigación “Obtención de vinagre tipo gourmet a partir de la fermentación de uchuva (*Physalis peruviana*”. Bogotá – Colombia, el autor realizó la evaluación de características sensoriales del vinagre producido. Obtuvo un vinagre de alta calidad con un contenido de ácido acético de aproximadamente 5% en peso, un contenido de alcohol etílico inferior al 0.5% permitido por la normatividad colombiana y un valor de pH de 2.8. En cuanto a características organolépticas se obtuvo un líquido de color amarillo ámbar, brillante, ligero, aromático y de un olor característico propio de la uchuva. Prada Gaitán, D. (2015).

(Pizarro), 2005 en la investigación menciona que, Los vinagres madres utilizados en el proceso de aislación e identificación del microorganismo iniciador del proceso de fermentación acética, determinaron al microorganismo *Gluconobacter spp.* como predominante en las cepas. La influencia de la concentración de etanol y el volumen de aire suministrado en el proceso fermentativo reveló que a 8 % v/v de etanol y una cantidad de 0,8 vvm de aire suministrado, el rendimiento del proceso fue 95% y la velocidad de acetificación fue de 0,210 g/Lh, en un periodo de 96 h, siendo este tratamiento el mejor evaluado por el panel sensorial. La evaluación sensorial, demostró que los tratamientos mejores evaluados, fueron aquellos que produjeron ácido acético en menor tiempo, comprobando que no hubo muchas pérdidas de compuestos volátiles, que son los que dan al vinagre la característica de calidad final.

(Lucía & Katerine), 2014 En la elaboración de “vinagre de chirimoya (*Annona Cherimola mil*) que se produce en la zona de Urqui Ecuador-2014, estudiaron que la concentración de sólidos solubles en la solución es inversamente proporcional con el tiempo que duro el proceso que fue de 8 días, en el proceso de fermentación alcohólica se obtuvo una concentración final de 8.60°Brix y que, con 11 grados alcohólicos, en cuanto a la variación de pH en el vino de chirimoya esta fue mínima. Las características del mejor vinagre elaborado en la presente investigación correspondiente, está constituida por la pulpa de chirimoya sobra-madura *sacharomyces cervisae sp*, el cual cumple con las normativas establecidas en la NTE- INEN 2 2006 – 2013; con un pH: 2,55; acidez; 5, 2% y alcohol: 1%. Se demuestra en la investigación que, en la evaluación sensorial, existe muchas perdidas de

compuestos volátiles, haciendo que el 3% de inóculo por cada litro de mosto alcohólico, para lograr una estandarización definida, mediante control de sólidos solubles °Brix, pH y acidez.

Nacionales

En el siguiente estudio (Taípe Escobar), 2014 menciona que el “efecto de la levadura (*sacharomyces cerevisiae*) y los °Brix en las características del vinagre de bananos comosus, de descarte en Río Negro – Satipo” Junín -Perú, el autor concluye que los grados alcohólicos y los °Brix del proceso de fermentación son: 1% de levadura obtuvo 9,1 grados alcohólicos, 5,7 °Brix seguido del 0,5% de levadura ocupa el segundo lugar con 9,7 grados alcohólicos y 6 °Brix, el último lugar 0,0% de levadura con 1 grado alcohólico y 14°brix, en cuanto a los °Brix el de 18°brix alcanzó 6,29 grados alcohólicos con 9,8 ° °Brix y el de 16 °Brix 5,72 grados alcohólicos y 8,9°Brix. De la interacción de los grados alcohólicos y grados °Brix y el mejor tratamiento es el 1% de levadura a 18°Brix.

(NAVARRO), 2019 el trabajo de investigación, “obtención y caracterización de vinagre a partir de banano de descarte de la cooperativa agraria de bananeros orgánicos Huayquiquira ubicada en el valle del Chira – Sullana” el análisis fisicoquímico, microbiológico y sensorial al vinagre obtenido a partir de banano (*Musa paradisiaca*), teniendo como resultados fisicoquímicos los siguientes, pH 2.72 (und de pH medido a 25 °C), acidez 4.66 %. El autor realizó el análisis de las características sensoriales, olor, color, sabor, apariencia y aceptabilidad general, mediante una prueba de degustación, utilizando una escala hedónica verbal de cinco puntos.

5.2 Bases teóricas

5.2.1 Frambuesa (*Rubus Idaeus*)

La frambuesa roja o fresa de bosque (*Rubus idaeus*) es el fruto de frambueso o sangüeso, un arbusto de la familia de las Rosáceas, con ramas provistas de espina, que crece mayoritariamente en regiones templadas. La frambuesa es un fruto formado por diferentes drupas o granos rugosos y redondeados que, agrupados, forman una pequeña piña con aspecto circular o cónico. Cada una de las drupas dispone de un pequeño pelo dorado que sobresale del fruto. Su piel contiene un fino vello, aterciopelado, apenas perceptible a simple vista y en su interior dispone de pequeñas semillas que pasan casi desapercibidas durante su degustación en fresco. El tamaño de su base comprende entre 15 y 20 mm de diámetro (Rubio, Lena, & Ara, 2014).

Las tonalidades que destacan en la frambuesa roja son las semillas cuando son ejemplares jóvenes, y rojizos en los frutos maduros, aunque otras variedades muestran colores diferentes.

Al introducirlo en la boca para su degustación desprende sensaciones jugosas, carnosas, con sabores agridulces únicos, así como aromas y perfume a frutos rojos de bosque.

5.2.1.1 Origen

Menciona que el frambueso rojo (*Rubus idaeus L.*) tiene sus orígenes, en forma silvestre, en el monte Ida de la isla de Creta (Grecia) y por ello Linneo denominó la especie como *idaeus*. Sin embargo, otros autores sugieren que esta especie se extendió a partir de las montañas de Ida en Turquía. Evidencias arqueológicas muestran que los habitantes de las cuevas paleolíticas ya comían frambuesas silvestres. La primera descripción de la planta se remonta al siglo I y la realizó Plinio el Viejo, pero los primeros registros escritos de la domesticación del frambueso los documentó Palladius, un agricultor romano del siglo IV. Los romanos extendieron el cultivo por Europa, desde Grecia a Italia, a los Países Bajos y a Inglaterra. Los británicos hicieron popular esta especie durante la Edad Media, aunque la primera cita que se conoce de su cultivo en huertos ingleses es de Turner (1548). En el siglo XVIII la exportaron a Nueva York y, a comienzos del siglo XIX, ya se cultivaban más de veinte variedades en Inglaterra y Estados Unidos. Posteriormente, los cultivares ingleses exportados a este último país se cruzaron con plantas de América del Norte, con el fin de mejorarlos. Variedades en Inglaterra y Estados Unidos. Posteriormente, los cultivares

ingleses exportados a este último país se cruzaron con plantas de América del Norte, con el fin de mejorarlos (Intagri., 2017).

5.2.1.2 Realidad de frambuesa en el Perú

En el Perú no existe una cultura de consumo de la frambuesa, lo que ha llevado a desincentivar su producción, a pesar de que el clima y geografía de nuestro país permiten el cultivo de una frambuesa de tamaño superior y más dulzor que la de países vecinos, características que se detallarán cuando se realice el análisis competitivo del Perú frente a otros países. La demanda local de esta fruta está concentrada en los super mercados, las cadenas de hoteles, los principales restaurantes y las pastelerías, lo cual representa lúmenes mínimos de consumo.

Entre las principales fortalezas con las que cuenta el Perú para el desarrollo de esta fruta se encuentra la capacidad para producir una frambuesa de superior sabor y tamaño, la mano de obra, la parte económica y la versatilidad de este fruto para su industrialización, además de la posibilidad de elaborarse gran cantidad de productos con valor agregado como dulces, jarabes, vinos, etcétera.

Pero en nuestro país también existen ciertas restricciones, que se deben superar para alcanzar competitividad en el ámbito internacional. Entre las principales limitaciones se encuentran la baja productividad del sector agroindustrial debido a la obsolescencia de su tecnología y el bajo nivel de capacitación de su mano de obra; la falta de organización y capacidad empresarial, siendo notoria la ausencia de un gremio de productores de berries, y, finalmente, la fragmentación de las tierras: numerosas parcelas de escasas hectáreas impiden alcanzar economías de escala a través de la producción industrial (Ramírez-Gastón, 2007).

5.2.1.3 Clasificación taxonómica

La clasificación de la frambuesa se muestra en la tabla 1, taxonómicamente se unifica así: (Lopez, 2000)

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la frambuesa

Reino	Plantas
Sub-reino	embryobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Rosacea
Subfamilia	Rosoideae
Tribu	Rubeae
Género	Rubus
Subgénero	R. subg. <i>Idaeobatus</i>
Especie	<i>Rubus idaeus</i> L.

(Callcaco, 2016)

5.2.1.4 Variedades

Existen un gran número de variedades cultivadas, pero la mayoría ya están en desuso para producción comercial por haber sido superadas por otras selecciones obtenidas en los últimos años. No obstante, en la mayoría de los casos, la referencia en cuanto a calidad de fruto sigue siendo la variedad no refrloreciente Tulameen.

Las variedades de frambueso se diferencian según las características del fruto, la época de producción, el hábito de crecimiento de la planta, la sensibilidad o tolerancia a plagas y enfermedades, el destino de la producción, etc. No obstante, se clasifican principal y tradicionalmente, en función del color de sus frutos o la forma de fructificar (Domínguez, 2008).

La variedad utilizada en la presente investigación es la *Heritage*; Arbusto con brotes vigorosos, muy erectos, que en algunos casos permite cultivarlo sin estructura de soporte, y con abundantes espinas. Fruto de tamaño pequeño- medio, muy firme incluso en la madurez, pero de poco sabor. Variedad de maduración tardía, muy productiva y largo periodo de cosecha que puede llegar a dos meses. Probablemente sea, hasta la actualidad la variedad remonte más cultivada a nivel mundial, fundamentalmente para producción otoñal y con

destino a la industria del congelado. Actualmente está en clara regresión por la aparición en el mercado de nuevas variedades.

5.2.1.5 Valor nutricional

La frambuesa es una baya aromática y jugosa. Las proporciones de sus nutrientes pueden variar según las diferentes variedades y el grado de madurez del fruto. En general, el principal elemento es el agua (85-90%). Aproximadamente, contienen un 5,0% de carbohidratos, como la fructosa y glucosa, que constituyen el componente mayoritario de la fracción soluble. El ácido cítrico (1,72%) es el segundo componente de esta fracción. Para la aceptación del fruto por el consumidor es preferible un sabor equilibrado entre ácido y azúcar. La climatología también afecta al sabor; de este modo, los frutos que maduran en veranos secos y templados son más dulces y menos ácidos que los que maduran en clima húmedo y en condiciones extremas de calor reducen su aroma. Son una fuente excelente de vitamina C y ricos en vitaminas A, E y K, así como en ácido fólico y diversos minerales como fósforo, calcio, magnesio, potasio, manganeso o hierro. La frambuesa se encuentra entre los alimentos bajos en sodio, ya que 100 g de este alimento solo contienen 1,0 mg. Aportan un considerable porcentaje de fibra soluble (6,5%), por ejemplo, pectinas: en las frambuesas rojas, aproximadamente el 0,1-1,0% de la fracción soluble está formado por este polímero. Y, si bien desde un punto de vista estricto la fibra no puede considerarse un nutriente al no asimilarse en el organismo, tiene muchos beneficios para la salud, como se muestra en la tabla 2; se le atribuye un destacado efecto protector del organismo, debido a un mecanismo de secuestro de sustancias potencialmente nocivas (colesterol, ácidos biliares etc.), que se eliminan junto con las heces.

Tabla 2*Valor nutricional y capacidad antioxidante por 100g de frambuesa en fresco*

Componentes por cada 100 g	
Valor energético (Kcal)	52,000
Agua (g)	85,700
Proteína (g)	1,200
Hidratos de carbono totales (g)	11,900
Fibra dietética (g)	6,500
Azúcares (g)	4,400
Lípidos totales (g)	0,700
Saturados(g)	0.019
Monoinsaturados(g)	0.064
Poliinsaturados (g)	0.375
Vitaminas	
Vitamina A (UI)	33,000
Vitamina C (mg)	26,200
Vitamina E (mg)	0,900
Vitamina K (ug)	7,800
Ácido fólico (ug)	21,000
Minerales	
Calcio (mg)	25, 000
Hierro (mg)	0,700
Magnesio(mg)	22,000
Fosforo (mg)	29, 000
Potasio (m g)	0,700
Sodio (mg)	1,000

Fuente: (Rubio, Lena, & Ara, 2014)

5.2.1.6 Propiedades y beneficios

Es una fruta que aporta una cantidad destacable de fibra, que mejora el tránsito intestinal. El fruto de la frambuesa suministra gran cantidad de vitaminas y minerales. Así, 125 gramos contienen el 50% de la vitamina C, el 10% de las vitaminas, el hierro, flavonoides y folatos, minerales como el potasio, el magnesio y calcio. El magnesio y el calcio, este último de menor aprovechamiento que el que procede de los lácteos u otros alimentos que son de buena fuente de dicho mineral. La vitamina C tiene acción antioxidante, al igual que el ácido elágico y los flavonoides (pigmentos vegetales). Dicha vitamina interviene en la formación de colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos y favorecen la absorción de hierro de los alimentos y resistencia a las infecciones. El ácido cítrico interviene en la producción de glóbulos rojos y blanco, en la síntesis de material genético y formación de anticuerpos del sistema inmunológico.

El potasio es necesario para la transmisión de generación del impulso nervioso, para la actividad muscular normal e interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula. El magnesio se relaciona con el funcionamiento del intestino, nervios y musculo. Forma parte de huesos y dientes, mejora la inmunidad posee un breve laxante. Y otros minerales que requiere la dieta de un adulto, pero proporcionan 70 calorías y pequeñas cantidades de sodio., lo que hace muy apto para personas que requieren una dieta con bajo contenido de este mineral (Rubio Len ; Ara 2014). En la tabla 3 se pueden apreciar algunos valores de estas características químicas de la frambuesa dependiendo a la variedad que se puede trabajar. La frambuesa tiene una gran habilidad para absorber radicales libres.

Tabla 3

Características químicas de la frambuesa (Rubus idaeus)

Acidez titulable	Solidos totales	Azúcares (mg.g ⁻¹)			Ácidos Orgánicos (mg/g)		Antocianinas	fenoles totales
0.35	7.9	fructosa	glucosa	sacarosa	málico	cítrico	57.9	46.7
		31.5	18.8	7.8	1.21	13.2		

Fuente: (ZHENG, 2005)

5.2.2 Vinagre

Según, (FAO & OMS) “el vinagre es un líquido ácido apto para el consumo humano, que es producido exclusivamente a partir de materias de origen agrícola que contengan almidones y/o azúcares, por doble proceso de fermentación alcohólica y acética”. Pueden contener cantidades determinadas de ácido acético, y otros ingredientes opcionales (hierbas, especias, sal), lo que será regulado por la comisión del Codex Alimentarius, según el tipo de ingrediente. Al objeto de obtener un aroma peculiar característico de cada tipo de vinagre.

El vinagre es uno de los condimentos y conservantes más antiguos que se conoce, que aporta aroma y sabor a los alimentos y mejora sus características de conservación. suele tener un 5-6 % de ácido acético (pH 2,5 -3,5) y presenta un aroma suave frutal, característico de la materia prima de partida. Se utiliza en la cocina domestica como aliño, en la fabricación de salsas (kétchup, mayonesa, dressings) y encurtidos (Zilioli, 2011).

La fermentación acética puede ser definida como un proceso bioquímico, por el cual las bacterias acéticas oxidan el etanol contenido en el sustrato alcohólico y ácido acético, bajo estrictas condiciones de aerobiosis.

Las condiciones óptimas de fermentación se refieren a la ventaja de conocer la información acerca de la cinética de crecimiento bacteriano y de los procesos automatizados de fermentación. Para que la fermentación acética ocurra deben cumplir una serie de requisitos que influyen de suministro de oxígeno, temperatura optima y las características de la materia prima (Zilioli, 2011).

5.2.2.1 Métodos de elaboración de vinagres

Desde el punto de vista tecnológico, existen distintos métodos para la elaboración de vinagres. Uno de ellos, el más antiguo, es el sistema de cultivo en superficie, también llamado método tradicional o método Orleans. El método Schützenbach fue el primer paso para transformar el método artesanal (Orleans) en el primer proceso industrial. Actualmente, el más utilizado es el sistema de cultivo sumergido (Tsfaye & Morales, 2002).

Método con cultivo sumergido

Este método se inició en los años cuarenta del siglo XX, mediante este método se logra conseguir entre un 95-98 % del rendimiento, ya que se da con mayor eficiencia la transferencia de materia. Se basa en la presencia de un cultivo de bacterias que se encuentra en suspensión dentro del acetificador y con un aporte continuo de aire por convección forzada (RIVERA, 2011).

Las ventajas por este método son: Mayor rendimiento y velocidad de acetificación, Se obtiene un producto de alta calidad uniforme, en las desventajas tenemos el elevado suministro de aire puede provocar sobre oxidación, El aire puede causar arrastre de componentes volátiles, lo que quita el aroma, Inversión alta para el equipo.

5.2.3 Las BAA en la producción de vinagres

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 (Ndoye B. C., 2009).

También se han llevado a cabo importantes estudios para examinar la microflora prevalente, con el fin de determinar el papel de BAA en la fermentación de vinagre. Estos estudios demuestran que la acidez del vinagre influye en el tipo de bacterias encontradas. En vinagres con alta acidez (ácido acético > 6% (w/v)) se favorece la prevalencia de especies *Gluconacetobacter spp*, cuya ADH muestra una mayor estabilidad en alto contenido en ácido acético; en vinagres de baja acidez (concentración de ácido acético <6% (w/v)) son dominantes las especies de *Acetobacter*, aunque también se ha encontrado *Gluconacetobacter* (Schuller, 2002).

5.2.4 Curva de crecimiento bacteriano

Es el incremento en el número de células o aumento de la masa microbiana (biomasa). Es decir, cómo se expande la población celular es útil para el diseño de métodos de control para el crecimiento microbiano. Tiene relevancia en el aumento de la biomasa y en los productos que se pueden llegar a obtener (Adriana & Infanzón, 2016).

Se define como crecimiento el aumento de la cantidad de constituyentes y estructuras celulares, cuando hay crecimiento en ausencia de división celular hay aumento en el tamaño y peso de la célula. Mientras que cuando el crecimiento es seguido de división de células hay un aumento en el número de células (Hylary, 2014).

El crecimiento de una población es el aumento del número de células como consecuencia de un crecimiento individual y posterior división. Esto ocurre de una manera exponencial. El crecimiento exponencial es una consecuencia del hecho de que cada célula se divide dando dos células.

La velocidad del crecimiento exponencial se expresa como el tiempo de generación “G”, y este se define como el tiempo que tarda una población en duplicarse, los tiempos de generación varían ampliamente entre los distintos microorganismos.

- **Fase de latencia**, la fase de latencia representa un periodo de transición para los microorganismos cuando son transferidos a una nueva condición. En esta fase se producen las enzimas necesarias para que ellos puedan crecer en un nuevo medio ambiente. En esta fase no hay incremento de células, pero hay gran actividad metabólica, aumento en el tamaño individual de las células, en el contenido proteico, ADN y peso seco de las células

- **Fase exponencial,** Es el periodo de la curva del crecimiento en el cual el microorganismo crece exponencialmente, es decir que cada vez que pasa un cierto tiempo de generación la población se duplica. Bajo condiciones apropiadas la velocidad de crecimiento es máxima. Las condiciones ambientales afectan la velocidad de crecimiento exponencial.
- **Fase estacionaria,** En cultivos en recipientes cerrados una población no puede crecer indefinidamente de forma exponencial. Las limitaciones de crecimiento ocurren ya sea por agotamiento de algún nutriente esencial, por acumulación de productos tóxicos, porque se alcance un número de células elevado para el espacio disponible o por combinación de las causas anteriores.
- **Fase de muerte,** Si la incubación continua después de que una población microbiana alcanza la fase estacionaria, las células pueden continuar vivas y seguir metabolizando, pero va a comenzar una disminución progresiva en el número de células viables, y cuando esto ocurre se dice que la población ha entrado en fase de muerte.

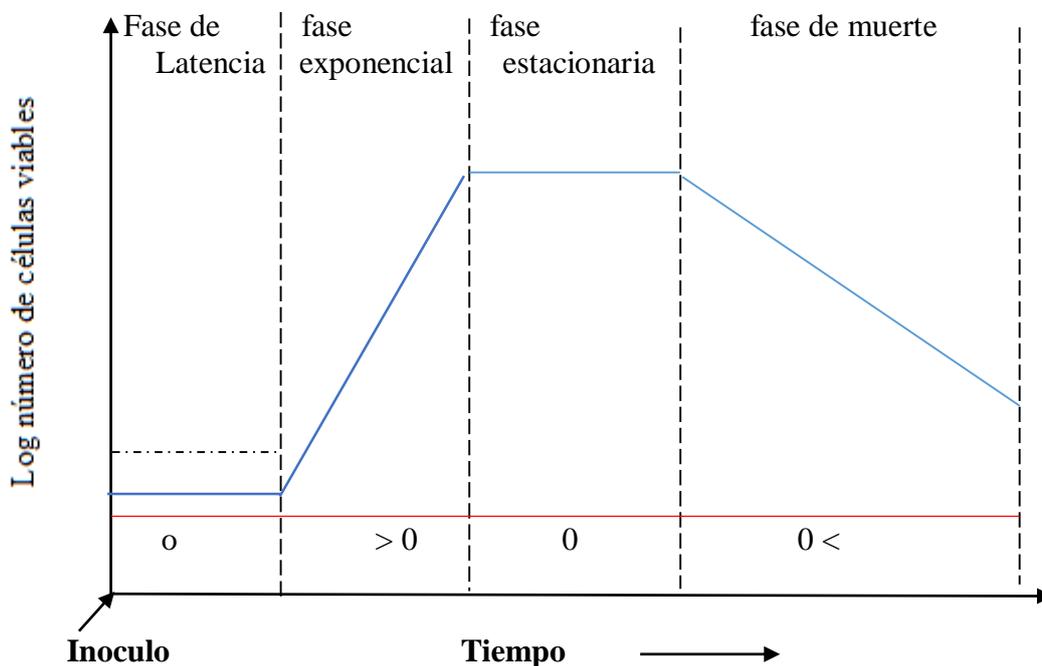


Figura 1. Se ilustra una curva de crecimiento de una población bacteriana. Esta curva se divide en cuatro fases denominadas fase de latencia, fase exponencial o fase logarítmica, fase estacionaria y fase de muerte.

Tiempo de incubación(días)	Ln células/mL
1	4.60517019
2	6.90775528
3	9.21034037
4	11.5129255
5	13.8155106
6	16.8112428
7	19.1138279

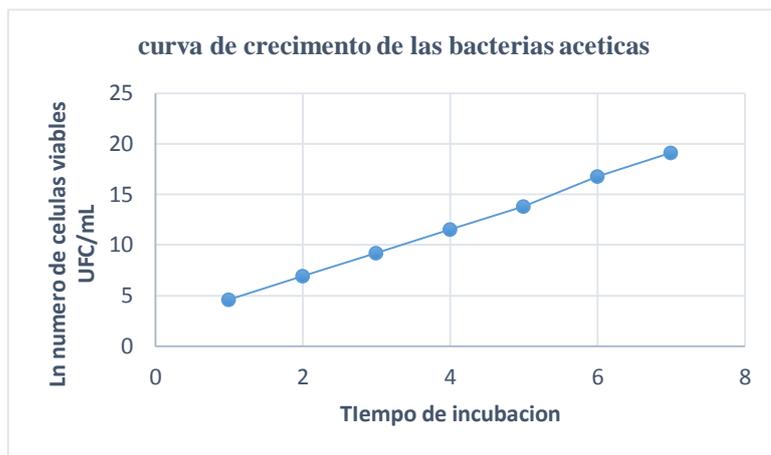


Figura 2. Población de células viables y velocidad de fermentación del vinagre

5.2.4.1 Características fisicoquímicas del vinagre

- **Acidez total**

El ácido acético es el principal componente de los vinagres cualquiera sea el sustrato alcohólico del que procedan. El estudio de la acidez total y fija permite conocer la naturaleza de los componentes ácidos del vinagre, es decir si solamente existen ácidos volátiles o si, además, hay presencia de ácidos fijos. De hecho, la acidez fija nula detectada en vinagres de alcohol se justifica por su procedencia de un sustrato destilado (Acosta Artiles A. H., 1993).

Mediante titulación con solución de hidróxido de sodio (NaOH) y fenolftaleína como indicador. El resultado se expresó como g/L de ácido acético. Se asumió que toda la acidez del medio se debe a este ácido.

- **Velocidad de acetificación (rA)**

Como indicador de velocidad de formación de ácido acético, se calculó la diferencia entre la acidez final e inicial en cada ciclo de fermentación. Se determinó según la siguiente expresión:

$$rA = \frac{AT_f - AT_i}{T_f - T_i} \dots \dots \dots (1)$$

donde: AT_f y AT_i = acidez total, expresada como ácido acético (g AcH/L) para los tiempos t_f y t_i , respectivamente (Krusong, 2014)

- **Grado alcohólico**

Destilación del sustrato alcohólico alcalinizado con una solución de hidróxido de calcio y posterior determinación del grado alcohólico en el destilado por areometría, expresado como % v/v.

- **pH**

Tanto la acidez como el pH influyen directamente en las características sensoriales de los vinagres. Si bien el pH no es un parámetro que esté especificado en la reglamentación de análisis para vinagres, su determinación reviste importancia como indicador de posibles adulteraciones con ácidos minerales. Por lo general, se han considerado valores normales para vinagres de vino españoles, aquellos comprendidos entre 2,8 y 3,3, con lo cual aquellos inferiores a 2,8 eran considerados sospechosos. No obstante, otras referencias bibliográficas informaron valores de pH en general menores (2,62-2,91) para muestras de vinagres de vino tinto, vino blanco, alcohol y arroz.

- **Acidez**

El ácido acético es el principal componente de los vinagres cualquiera sea el sustrato alcohólico del que procedan. El estudio de la acidez total y fija permite conocer la naturaleza de los componentes ácidos del vinagre, es decir si solamente existen ácidos volátiles o si, además, hay presencia de ácidos fijos. De hecho, la acidez fija nula detectada en vinagres de alcohol se justifica por su procedencia de un sustrato destilado

En un estudio en el que se caracterizaron vinagres de distintas materias primas de origen, comercializados en Brasil, se informaron valores de AV de $2,74 \pm 0,07$ %, muy inferiores a los exigidos en la legislación de ese país, en el que se estipula “un mínimo de 4,00 % de ácido (Peixoto Marques F. P., 2010).

- **Densidad**

El vinagre tiene una densidad de aproximadamente $1,0056 \text{g/cm}^3$. El nivel de la densidad depende de la acidez del vinagre (Labbe, 2007).

5.2.4.2 Tipos de vinagre

Existen muchos tipos de vinagre según el uso que se les vaya a dar y según la materia prima que se utilice para su elaboración. La principal diferencia entre uno y otro

está en la concentración de ácido acético, sustancia que determina el carácter del producto.

- **Vinagre blanco**

Este vinagre, de un tono casi transparente, se destila antes que todo el alcohol se haya convertido en ácido acético, y eso se debe el sabor fuerte y pronunciado. Se elaboran generalmente a partir de caña de azúcar, el maíz o la melaza, y son los más empleados en la elaboración de encurtidos, salsas envasadas, etc. Además de usarse en la limpieza del hogar.

- **Vinagre de frutas**

Vinagre hecho de frutas por la fermentación alcohólica y subsiguiente acetificación. Aunque el jugo de la manzana es el más usado para hacer vinagre en los Estados Unidos y otros países, hay muchos jugos de frutas satisfactorio como los de banano, naranjas, piñas, zarzamora, etc. Cualquier fruta o vegetal que contenga bastante azúcar sirve para este propósito.

- **Vinagre de malta**

El vinagre de malta es hecho de por la cebada el malteado, haciendo el almidón en el grano dar vuelta a la maltosa. Es típicamente marrón claro en color, sabor ligeramente amargo con fuerte aroma.

- **Vinagre de sidra o de manzana**

Se puede elaborar a partir de la pulpa de manzana o su zumo, cuyo azúcar se convierte primero en alcohol y posteriormente en ácido acético, o a partir de sidra o mosto de manzana fermentado, de suave y delicado sabor. Se lo emplea en ensaladas y vinagretas. En medicina para el mal olor de las axilas.

- **Vinagre de arroz**

De sabor suave y algo y con un color que oscila entre blanco, dorado pálido o rojizo. Típico de la gastronomía japonesa, en sushi.

- **Vinagre de jerez**

Se obtiene de vino de jerez, es fuerte y tiene color marrón caoba, requiere una maduración larga (12 años de en toneles). Es idea para consumirse en vinagretas y aliños de ensaladas, así como saborizante de diferentes alimentos.

- **Vinagre de miel**

El vinagre hecho de miel es raro, aunque los vinagres disponibles en el comercio de miel se producen en Italia y en Francia.

5.2.5 Beneficios del vinagre

- No contiene sal, no contiene grasa y tiene cero calorías.
- Eficaz desintoxicante y útil agente para purificar la sangre.
- Alivia dolores producidos por la artritis y osteoporosis.
- Ayuda a un adecuado balance de peso corporal.
- Estabiliza los niveles de azúcar en la sangre.
- Neutraliza el mal olor.
- Elimina la contaminación bacterial de los alimentos.
- Es un versátil producto para limpiar variados materiales y es usado como remedio casero para la prevención de enfermedades.

5.2.6 Tipos de fermentaciones

Según, (Vazquez, 2007) clasifica la fermentación como se muestra la tabla 3.

Tabla 4

Tipos de fermentación

Tipo de fermentación	Macroorganismo implicado	Sustrato	Producto	Alimento
Alcohólica	Levadura	Azúcar	Etanol y CO ₂	Vino, cerveza
Acética	Bacteria	Alcohol	Ácido acético	Vinagre

Fuente: (Vazquez, 2007).

5.2.6.1 Fermentación alcohólica

Es un proceso biológico de fermentación en ausencia de oxígeno, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, etc.) para obtener como productos finales un alcohol en forma de etanol. La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disociar las moléculas de glucosa y obtener la energía necesaria para sobrevivir, produciendo alcohol y CO₂ como desechos a consecuencia de la fermentación (Vazquez, 2007).

Existen muchas clases de fermentaciones, dependiendo del tipo de organismo que las produce, del sustrato, o incluso de las condiciones impuestas, tales como pH o el abastecimiento de oxígeno. Una de las más importantes y mejor conocidas es la fermentación alcohólica, la cual es una biorreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono mediante la siguiente reacción química:



Las principales responsables de esta degradación son las levaduras, *Sacharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con mayor frecuencia, pero existen diversos estudios que comprueban la producción de alcohol por otros tipos de levaduras y algunas bacterias como *Zymomona mobilis*, pero su explotación a nivel industrial es mínima (Adams & Moss, 2000).

A nivel estequiométrico, esta reacción parece ser sencilla, pero la secuencia de transformaciones para degradar la glucosa hasta dos moléculas de alcohol y dos de dióxido de carbono es un proceso muy complejo, puesto que al mismo tiempo la levadura debe utilizar la glucosa y otros nutrientes adicionales para poder reproducirse.

Todos los procesos fermentativos dependen de las condiciones ambientales a que se somete el microorganismo en presencia del sustrato, entre las condiciones están: contratación del azúcar, aeración, control de temperatura, formación de espuma.

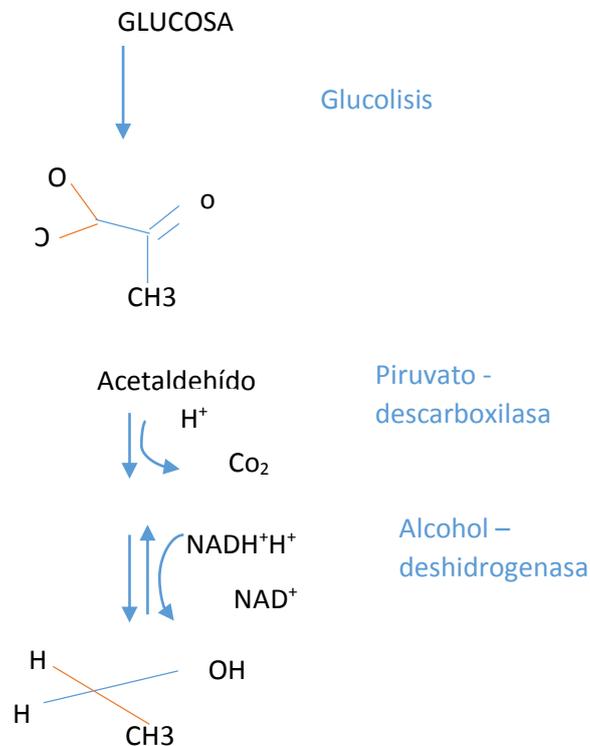
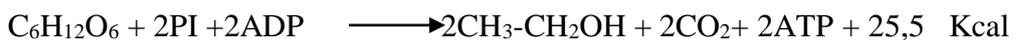


Figura 3. Reacción bioquímica de la fermentación alcohólica

La glucólisis es la primera etapa de la fermentación, lo mismo que en la respiración celular, y al igual que ésta se necesita de enzimas para su complejo funcionamiento; a pesar de la complejidad de procesos bioquímicos una forma esquemática de la reacción química de la fermentación alcohólica puede describirse como una glucólisis en la denominada vía Embden – Mererhof-Parnes. Figura N° 2 de tal forma que puede verse como participa inicialmente una molécula de hexosa:



Se puede ver que la fermentación alcohólica, desde un punto de vista energético es una reacción exotérmica, se libera una cierta cantidad de energía. La fermentación alcohólica produce una gran cantidad de CO₂, que es la que provoca que el cava (al igual que el

champagne y algunos vinos) tengan burbujas. Este CO_2 pesa más que el aire, y puede llegar a crear bolsas que desplazan el oxígeno a los recipientes donde se produce la fermentación.

La fermentación alcohólica se produce por regla general antes que la fermentación málica, láctica; aunque existen procesos de fermentación específicos en los ambos fermentación tienen lugar al mismo tiempo. La presencia de azúcares asimilables superiores a una concentración sobre los 0.16g/L produce invariablemente la forma de alcohol etílico en proceso de crecimiento de *sacharomyces cerevisiae* (levadura), incluso en presencia de oxígeno (aeróbico), este es el denominado efecto Crabtree, este efecto es tenido en cuenta a la hora de estudiar y tratar de modificar la producción de etanol durante la fermentación

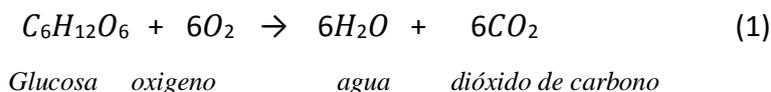
La reacción química se describe como la reducción de dos moléculas de Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) de NADH (forma reducida del NAD^+) con un balance final de dos moléculas de ADP que finalmente por la reacción general mostrada anteriormente se convierte en ATP. Otros compuestos trazados en menores proporciones que se encuentran presentes tras la fermentación son: el ácido succínico, el glicerol, el ácido fumárico (CORCHO, 2002).

En más detalle durante la fermentación etílica en el interior de las levaduras, la vía del glucolisis es idéntica a la producida en el eritrocito (con excepción del piruvato que se convierte finalmente en etanol). En primer lugar, el piruvato descarboxilasa para dar como producto final acetaldehído liberando por ello dióxido de carbono (CO_2) a partir de iones del hidrogeno (H^+) y electrones del Dinucleótido de Nicotinamida y adenosina (reducido) sintetizado en la reacción bioquímica catalizada por gliceraldehido 3-fosfato Deshidrogenasa (GADHP) se vuelve a oxidar por el alcohol deshidrogenasa, regenerando NAD^+ Nicotinamida Adenina dinucleótido para la continuación de la glucolisis y sintetizado al mismo tiempo etanol (CORCHO, 2002).

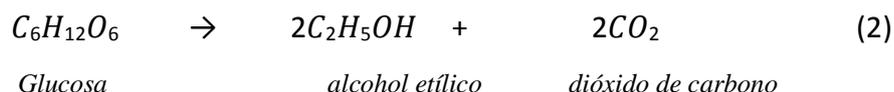
Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares de morfología simple. Su hábitat natural son ambientes ricos en nutrientes como néctar de plantas, frutas y fluidos corporales de animales. Las levaduras fermentan solo carbohidratos con seis átomos de carbono (hexosas) y prefieren sustratos ácidos, por lo que crecen de forma adecuada en medios que tienen un pH entre 3 y 5. La mayoría de las levaduras fermentativas se desarrollan más eficientemente de forma aeróbica ya que un ambiente anaeróbico exige requerimientos nutricionales adicionales (Adams & Moss, 2000).

En presencia de oxígeno, el metabolismo de azúcar sigue de acuerdo a la ecuación 1 (reacción de respiración):



En ausencia de oxígeno, el crecimiento de las levaduras es mucho más lento y el metabolismo se lleva a cabo de acuerdo a la ecuación 2 (fermentación):



Si la concentración de azúcar excede el 5% en el medio, se produce un efecto conocido como el “efecto Pasteur” en el cual la vía fermentativa prevalece por encima de la vía respiratoria (Rainieri & Zambonelli, 2009).

Aunque existen una gran variedad de levaduras, para fermentar alimentos se usan comúnmente las levaduras *Ascomycetous* o miembros del género *Candida*. La más frecuentemente usada para fermentar bebidas y alimentos basados en frutas y vegetales es la *Sacharomyces cerevisiae* (Adams & Moss, 2000).

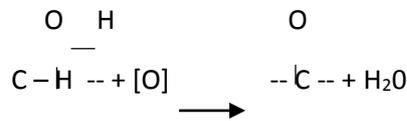
5.2.6.2 fermentación acética

Es la conversión de alcohol a través de una fermentación alcohólica en ácido acético y agua. Se lleva a cabo en presencia de oxígeno. Esta fermentación acética es la segunda que se realiza para obtener como producto final el vinagre, es de tipo oxidativa, en las soluciones diluidas de etanol es la oxidación mediante bacterias acéticas y oxígeno disuelto, a ácido y agua (Torres, 2007).

La fermentación acética es el proceso de transformación de etanol en ácido acético y agua de acuerdo con la ecuación 3. Puede ser llevada a cabo por algunas bacterias y otros microorganismos. Es un proceso exotérmico, es decir, libera energía en forma de calor. La velocidad de reacción en este proceso varía en función de la temperatura, razón por la cual el control de la temperatura es un factor de control muy importante; generalmente se debe mantener la temperatura constante entre 30 y 31 ° (Hernández, 2003).



El proceso químico orgánico se basa en la oxidación de los alcoholes primarios esto se lleva a cabo en dos procesos; la oxidación en aldehídos y posteriormente hasta ácidos. En estas oxidaciones ocurre la ruptura del enlace carbono-hidrógeno y del enlace oxígeno-hidrógeno (Tan, 2005).



La oxidación acética es un proceso bioquímico, por el cual las bacterias acéticas oxidan al etanol contenido en el sustrato alcohólico a ácido acético, bajo estrictas condiciones de aerobiosis. Las condiciones óptimas de fermentación se refieren a la ventaja de conocer la información acerca de la cinética de crecimiento bacteriano y de los procesos automatizados de fermentación (Llaguno P. , 2004).

En la obtención de una buena fermentación es fundamental la rapidez de esta transformación y en esto es muy importante la presencia de oxígeno durante todo el proceso y la siembra inicial de bacterias seleccionadas. La aireación se logra mediante la introducción por el fondo del tanque, de oxígeno el cual está constantemente burbujeando a través de todo el proceso. Es necesario realizar controles periódicos de la disminución del alcohol y aumento del ácido acético. Un pequeño porcentaje de alcohol no superior a 0,5% v/v queda como remanente al final del proceso. En un proceso bien llevado se pueden obtener rendimientos del orden de 0,8 partes de ácido acético por cada parte del alcohol según (Rivera, 2011).

La oxidación del etanol a ácido acético es la característica más conocida de estas bacterias, la realizan todos los géneros de BAA excepto *Asaia* y *Saccharibacter*. Este proceso bioquímico consta de dos etapas: en la primera el etanol es transformado en acetaldehído por la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) y posteriormente, el acetaldehído se transforma en ácido acético por el acetaldehído deshidrogenasa (Jara, 2009).

Los géneros *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* y *Komagataeibacter* pueden oxidar completamente el ácido acético a CO₂ y H₂O a través del ciclo de Krebs. Sin embargo, sólo sucede cuando no hay etanol, ya que esta oxidación es inhibida por la presencia de etanol en el medio y se cree que se trata de un cambio irreversible en su metabolismo, por tanto, una vez que lo realizan ya no son capaces de oxidar etanol. Debido a esto, es esencial durante la elaboración de vinagres, mantener una baja concentración de etanol (0,5 -1,0%) para evitar esta oxidación completa del ácido acético formado previamente. El género *Gluconobacter* no tiene funcional el ciclo de Krebs y, por lo tanto, no es capaz de llevar a cabo la oxidación completa de ácido acético (Goranovic, 2008)

Algunas bacterias pueden producir altas concentraciones de ácido acético, hasta 150 g/L; esta característica es muy importante para la industria del vinagre. La resistencia al ácido acético depende de la cepa. La enzima citrato sintasa desempeña un papel clave en esta resistencia, debido a que ayuda a remover el ácido acético mediante su incorporación en los ciclos tricarboxílicos o del glioxilato, sin embargo, este comportamiento sólo es posible cuando el etanol no está presente (Goranovic, 2008).

5.2.6.3 Las bacterias de *Acetobacter aceti* y su aplicación en vinagre

Las bacterias del ácido acético (BAA) pertenecen a la familia α -cetobacteraceae y están incluidas en el grupo de las α -Proteobacterias. Son microorganismos Gram-negativos o Gram-variables, de forma elipsoidal o cilíndrica que pueden encontrarse aislados, en parejas o formando cadenas. Su tamaño oscila entre 0,4 a 1 μ m de ancho y de 0,8 a 4,5 μ m de longitud. Son móviles por flagelación polar o peritrica. Presentan actividad catalasa positiva, oxidasa negativa y no forman endosporas. Poseen metabolismo aeróbico estricto, con el oxígeno como aceptor final de electrones (Mandigan, 2002).

La temperatura óptima de crecimiento es de 25 - 30 °C, aunque también pueden desarrollarse a temperaturas más altas; algunas especies lo hacen a 38 – 40 °C y otras, a temperaturas más bajas (10 °C), aunque su crecimiento es muy débil. El pH óptimo de crecimiento está entre 5 y 6; sin embargo, la mayoría de las cepas pueden crecer a pH inferiores a 5, incluso a pH 2 – 2,2 (Toit & Pretorius, 2002), pero la tolerancia a los bajos pH depende de otros parámetros, como la concentración de etanol y la disponibilidad de oxígeno (Gullo M. D., 2009).

El científico Christiaan Hendrik Persoon fue el primer taxónomo de este grupo de bacterias a las cuales, en el año 1822 denominó Mycoderma. Posteriormente, Pasteur en 1868, realizó un estudio sistemático de la fermentación acética, demostrando que el ácido acético se formaba a partir de la oxidación del etanol, y que si esta oxidación continuaba por más tiempo se convertía en CO₂ y H₂O. Además, reconoció que la “madre del vinagre” era una masa de microorganismos vivos que producían dicha fermentación y que ésta no era posible si no estaba presente el *Mycodema aceti* (También llamada “madre del vinagre” es una sustancia compuesta por una forma de celulosa y las bacterias del ácido acético que se desarrollan en la fermentación de líquidos alcohólicos, lo que convierte el alcohol en ácido acético con la ayuda del oxígeno del aire), confirmando las observaciones realizadas por Persoon. Más tarde, en el año 1879, Hansen observó que la flora microbiana responsable de convertir el etanol en ácido acético no es una sola especie; sino que estaba formada por varias especies de bacterias. Es por eso, que en el año 1894 las clasificó en función de la aparición de una película en los medios líquidos y su reacción con yodo (González Á. , 2005).

5.2.6.4 Las BAA en la producción de vinagres

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 (Ndoye B, 2006).

También se han llevado a cabo importantes estudios para examinar la microflora prevalente, con el fin de determinar el papel de BAA en la fermentación de vinagre. Estos estudios demuestran que la acidez del vinagre influye en el tipo de bacterias encontradas. En vinagres con alta acidez (ácido acético > 6% (w/v)) se favorece la prevalencia de especies *Gluconacetobacter*, cuya ADH muestra una mayor estabilidad en alto contenido en ácido acético (Hertel, Schuller, & P, 2002); en vinagres de baja acidez (concentración de ácido acético menor 6% (w/v)) son dominantes las especies de *Acetobacter*, aunque también se ha encontrado *Gluconacetobacter*.

5.2.6.5 Factor determinante de fermentación acética

Temperatura

La temperatura óptima de fermentación acética comprendida dentro del rango de 30 a 31°C; de esta forma, el proceso de fermentación es viable entre los 28 y 33°C. Sin embargo, cuando la temperatura es superior a 33°C o está por sobre la temperatura óptima,

ocurre un proceso de desactivación bacteriana, en el cual las enzimas son desnaturalizadas, la membrana dañada, causando que los constituyentes se dispersen y el organismo sea más sensible a los efectos tóxicos de la célula, además de aumentar las pérdidas de alcohol y productos volátiles (Taïpe, 2014).

Influencia de la aireación

El factor aireación, se considera fundamental, dado que las bacterias acéticas requieren de un suministro constante de oxígeno, además de una agitación orbital para homogenizar el contenido y garantizar la aireación. La concentración de oxígeno disuelto en el medio se debe mantener constante, en torno a 2 mg/L y la cantidad de aire suministrado debe ser aproximadamente de 50 ml/min para 100 ml de medio lo que equivale a 0,5 vvm que es el volumen de aire introducido, por unidad de volumen de fermentador por minuto. El proceso de fermentación acética es estrictamente dependiente sobre el oxígeno abastecido a la fase líquida y se requiere de un sistema de distribución gas - líquido para la transferencia de oxígeno, ya que afecta directamente sobre la productividad del proceso de fermentación (Taïpe, 2014).

pH

El pH tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y en el rendimiento. El pH óptimo para algunos organismos en especial para las levaduras se encuentra en un rango de 4,0 a 6,0. En cambio el valor de pH puede afectar su composición o su naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases. El pH tiene una gran influencia en los productos finales del metabolismo anaerobio (Taïpe, 2014).

Concentración de etanol

El etanol presente en el mosto destinado a la elaboración de vinagres puede causar efectos adversos. Altas concentraciones de etanol pueden provocar inhibición en el crecimiento de las BAA y valores superiores a 50 g/L influyen negativamente en la velocidad de acetificación. Por otro lado, valores muy bajos en la concentración de etanol puede tener

un efecto sobre la viabilidad celular, dependiendo de la acidez del medio. Esto es muy importante, cuando se va utilizar el vinagre obtenido como cultivo iniciador en posteriores procesos. Si el etanol baja a valores inferiores a 0,2% en volumen, se corre el riesgo que el ácido acético formado se oxide completamente a CO₂ y H₂O y consecuentemente habrá pérdidas en el rendimiento (García-García, 2009).

Concentración de ácido acético

La concentración de ácido acético es un importante factor de estrés fisiológico de las células. El ácido acético no disociado puede penetrar la membrana celular, lo que altera los procesos de transporte de dicha membrana y, a continuación, se disocia en el interior de la célula, dando lugar a niveles tóxicos del anión y consecuentemente, un aumento en la acidez

Aunque las BAA son tolerantes a ácido acético a concentraciones que son perjudiciales para la mayoría de los microorganismos, existe una variación significativa entre las especies BAA. Por otra parte, durante las diferentes fases de fermentación de SF, las cepas exhiben diferentes grados de resistencia al ácido acético. Esta resistencia se ve afectada por la densidad de población de BAA, las condiciones de cultivo y el tiempo transcurrido entre el aislamiento de la cepa y su aplicación industrial (Caggia & De Vero, 2006).

El efecto del ácido acético sobre el crecimiento BAA depende de las concentraciones de sustrato (etanol) y del producto (ácido acético) y de las condiciones de crecimiento. Por ejemplo, para cepas de *Acetobacter*, en cultivos agitados de etanol, se encontró que 10 g/L de ácido acético tiene un efecto activador sobre el crecimiento, y concentraciones más bajas una disminución significativa en la fase de crecimiento logarítmica. Las cepas de *Ga. europaeus* aisladas de los biorreactores de vinagre industriales toleran concentraciones de ácido acético hasta 100 g/L, esta adaptación a estas condiciones extremas podría ser la consecuencia de mutaciones y reordenamientos del genoma. *A. aceti* en cultivo continuo con etanol como sustrato crece a concentraciones de acetato superiores a 70 g/L (Andrés-Barrao & Falquet, 2011).

5.2.6.6 Metabolismo

Aunque las BAA tienen un metabolismo estrictamente aerobio, se ha observado que pueden sobrevivir en condiciones de anaerobiosis o con tensión de oxígeno muy baja, debido a la posibilidad de utilizar quinonas como aceptores finales de electrones en lugar del

oxígeno. No obstante, en estas condiciones, su crecimiento y desarrollo está muy restringido y cualquier proceso que involucre una aireación favorece en gran medida su desarrollo.

Según la fuente de carbono que dispongan en el medio de cultivo, las BAA pueden utilizar diferentes rutas metabólicas, con intermediarios y productos finales distintos. De forma general, se puede decir que realizan una oxidación incompleta de azúcares y alcoholes, produciendo una acumulación de ácidos orgánicos como productos finales.

La fuente de carbono (C) es también un factor importante para su desarrollo y dependiendo de ésta, las BAA utilizan diferentes rutas metabólicas, con intermediarios y productos finales distintos. Las BAA realizan una oxidación incompleta de los azúcares y los alcoholes, produciendo una acumulación de ácidos orgánicos como productos finales. Cuando el sustrato es el etanol, se produce ácido acético, de ahí deriva el nombre corriente con el que se conocen a estas bacterias (P. & Goranovic, 2008).

5.2.7 Aplicaciones y usos

El ácido acético es utilizado como conservante previniendo el crecimiento de las bacterias y los hongos, Así mismo, es agregado en la mayonesa para incrementar el efecto de la invasión de la salmonella. Muestra su mayor actividad a niveles bajos de pH. Adicionalmente puede ser utilizado como sustancia amortiguadora o buffer en los alimentos ácidos, o como un componente aromático en algunos productos.

En apicultura es utilizado para el control de larvas y huevos de las polillas de cera, enfermedad denominada Galleriosi, que destruyen los panales de cera de las abejas melíferas

obran para criar o acumular la miel. Sus aplicaciones en la industria química van muy ligadas a sus sales aniónicas, como son el acetato de vinilo o el acetato celulosa (base para la fabricación de rayón, celofán). Resultado de la oxidación del alcohol etílico a ácido o fermentación acética. Su fórmula $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$. junto con los ácidos propiónicos, butírico y sulfúrico compone la acidez volátil del vino.

No produce efectos colaterales, ya que es un compuesto natural de todas las células corporales. Solamente debe ser evitado por aquellas personas que sufren intolerancia al vinagre.

Tabla 5*Propiedades y beneficios del vinagre*

Sistema	Beneficios
Óseo	Elimina y ablanda el calcio formado en los huesos aliviando el dolor causado por artritis, reduciendo la progresión de la enfermedad.
Digestivo	Desintoxica el hígado debido a que ayuda a metabolizar las grasas del organismo y ayuda a mantener un buen funcionamiento del sistema digestivo, mejorando las digestiones lentas mediante el aumento de las enzimas del organismo, destruyendo las bacterias dañinas y regulando los ácidos del estómago.
Circulatorio	Promueve el pH sanguíneo mientras mejora la circulación, ayudando a limpiar la sangre del organismo de contaminantes o toxinas.
Cardiovascular	Estabiliza la presión arterial aumentándola o disminuyéndola, es decir, regulándola.
Nervioso	Contiene vitamina A y sales minerales que ayudan a mejorar el sistema nervioso del cuerpo.
Urinario	Reduce el riesgo de contraer infecciones urinarias, riñones u vaso mediante la limpieza del tracto urinario manteniendo la orina ácida. También ayuda a alcalinizar el pH sanguíneo del organismo debido a que contiene gran cantidad de potasio que complementa a la eliminación de líquidos del organismo.

Fuente: (Vallejos, 2016)

5.2.8 Definición de términos básicos

5.2.8.1 Bacterias *Acetobacter aceti*.

Son aerobias estrictas que dependen del oxígeno y cubren sus necesidades energéticas mediante la respiración, estas bacterias pueden utilizar como sustrato azúcar y también alcoholes sencillos. La especie más importante desde el punto de vista industrial es el *Acetobacter aceti*. A ella pertenecen como cepas de cultivo las ssp. Orleanse, las bacterias del vinagre del vino y de la acetificación rápida que tiene las tasas de conversión del etanol en ácido acético.

5.2.8.2 Concentración

La concentración es la medida de un soluto en una cantidad dada de solvente (Riaño Cabrera, 2007).

5.2.8.3 Evaluación fisicoquímica

Es el conjunto de métodos y técnicas que determinan la composición y características químicas y físicas de los alimentos, la aplicación de los análisis fisicoquímicos contribuye de manera crucial al desarrollo y a la comprensión del concepto de materia (Porras Atencia, 2018).

5.2.8.4 Fermentación acética

Las bacterias acéticas pertenecen a la familia *Acetobacteraceae*, dentro del cual existen dos géneros: *Acetobacter*, que son capaces de oxidar hasta el anhídrido carbónico, ácido láctico y ácido acético, dentro del cual se encuentran las especies: *Acetobacter aceti*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Acetobacter europeaus*, *Acetobacter malanolicus*, *Acetobacter pastorianus*, *Acetobacter liquefaciens* y *Acetobacter xylinum*.

Y el género *Gluconobacter*, que no oxida el ácido acético o láctico, comprendiendo: *Gluconobacter cerinus*, *Gluconobacter frateurii* y *Gluconobacter oxydan* (Togores, 2018).

5.2.8.5 Frambuesa.

Las frambuesas (*Rubus idaeus*) pertenecen al grupo de las frutas pequeñas (berries), son frutos de reducido tamaño, con coloración que va del rojo oscuro al amarillo, sabor agridulce y rápida perecibilidad. Son ricos en vitaminas C y E, carbohidratos, fibras y azúcares, siendo la Patagonia Argentina una de las zonas de producción más importante del país en este tipo de cultivares. Las formas de consumo más difundidos son en fresco, mermelada o conserva (Coria et al; 2019).

5.2.8.6 Temperatura

La temperatura es una magnitud física que mide la energía térmica de una sustancia. La energía térmica tiene que ver con el movimiento de las partículas que forman la materia. Así pues, cuando decimos que un cuerpo tiene más temperatura que otro nos referimos a que sus átomos o moléculas se mueven a mayor velocidad (Fernández, 2016).

5.2.8.7 Vinagre

El vinagre puede ser definido como un condimento hecho de materiales azucarados o amiláceos por fermentación alcohólica y subsecuentemente acética. Los otros constituyentes dependerán de la naturaleza que de la materia prima que ha sido sometida a fermentaciones. El valor de concentración mínima del ácido acético en vinagre está dado por regulaciones a 40 g/l a 20 °C. El ácido acético comestible o vinagre debe ser de origen biológico

VI. Materiales y Métodos

6.1 Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizará en el laboratorio de frutas y hortalizas de la escuela académico de la escuela académico profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de Universidad Nacional de Cajamarca.

Coordenadas: 7°10'01"S78°29'44"O/-7°166943,-78.495427.

Altitud: 2750 msnm

Temperatura: 15°C

Precipitación: 11%

Humedad: 73%

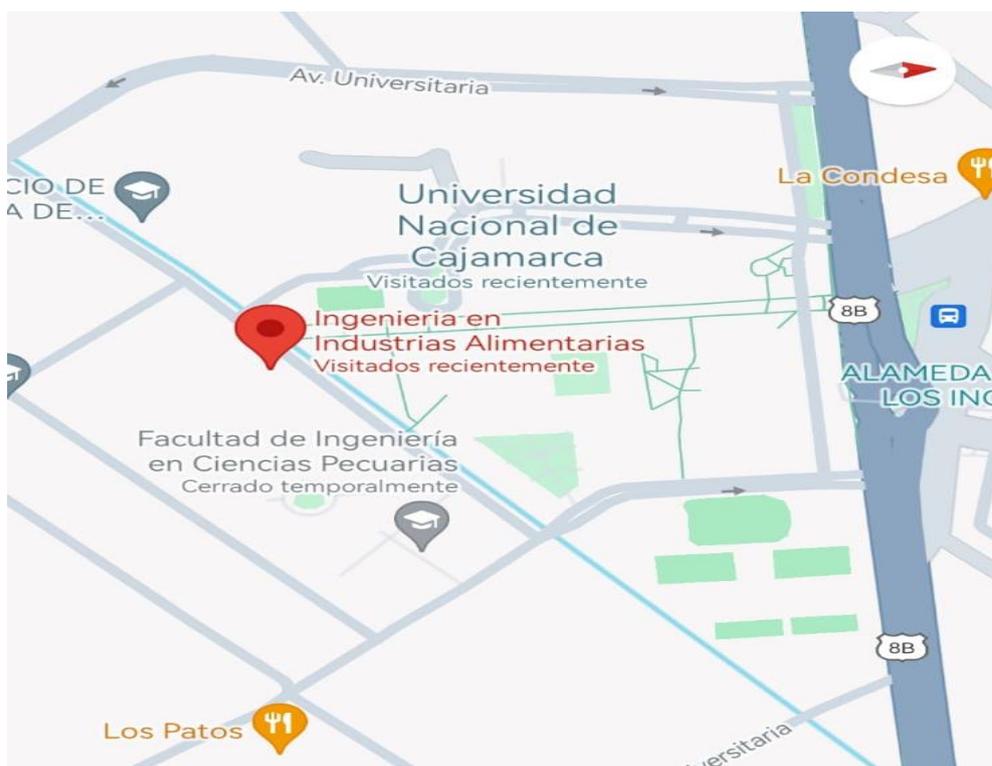


Figura 4. Ubicación geográfica donde se realizó la investigación

6.2 Materiales

6.2.1 Materia prima e Insumos

- La frambuesa (*Rubus idaeus*), tiene como lugar de procedencia del vivero Santa Fe ubicado frente a edificios las Praderas Park, Cajamarca
- Las bacterias del género *Acetobacter* (*Acetobacter aceti*) C 656 tiene como procedencia de la ciudad de Chiclayo.

6.2.2 Equipos

- pH-metro Mettler
- Refractómetro RHB -32ATC
- Alcoholímetro modelo YH184V
- Termómetro 63 fluke
- Equipo de oxigenación
- Incubadora

6.2.3 Materiales

- Cocina
- Mesa de acero inoxidable
- Envases de acero inoxidable, plástico y vidrio
- Balanza
- Agitador
- Filtros
- Lienzo
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Buretas
- Goteros
- Agua destilada

6.3 Tipo de investigación

Este estudio se ubica en el tipo de investigación aplicada. Puesto que examina diferentes fuentes de base teóricas científicas y /o enfoques relacionados con el objeto de estudio, de manera específica, referido a la temperatura, volumen de inóculo y a las características

fisicoquímicas, sensoriales del vinagre de frambuesa y al uso de bacterias *Acetobacter aceti*. buscando la aplicación y utilización de los conocimientos que obtengan de una manera práctica, según la relación de los niveles de investigación este estudio se posiciona en un nivel descriptivo puesto que se medirá y describe de manera sistematizada variables independientes y dependientes. (Lozano, 2018)

6.4 Diseño Experimental

Se hará uso del Diseño Completamente al Azar (DCA) donde se realizará nueve tratamientos con tres repeticiones como se muestra en la tabla 8, con una estructura factorial 3Ax3B. El primer factor (A) Temperatura ($a_0 = 20^\circ\text{C}$, $a_1 = 25^\circ\text{C}$, $a_2 = 30^\circ\text{C}$). El factor B corresponde al efecto del volumen de inóculo *Acetobacter aceti* ($b_0 = 2\% \text{ Vi}$, $b_1 = 3\% \text{ Vi}$ y $b_2 = 4\% \text{ Vi}$).

6.4.1 Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$i = 1, \dots, t$;

$t =$ número de tratamientos

$j = 1, \dots, n$;

$n =$ número de repeticiones por tratamiento

Dónde:

$\mu =$ es el efecto medio

$\tau_i =$ es el efecto de i -ésimo tratamiento

$\varepsilon_{ij} =$ error experimental

En la tabla 6 se describe el análisis de varianza de que corresponde al (DCA)

Tabla 6

Análisis de varianza

Fuente de variación	grados de libertad	suma de cuadrados	cuadrado medio	F
Factor A	a-1	$\sum \frac{(\sum y_i)^2}{br} - \frac{(\sum y)^2}{abr}$	$\frac{SCA}{GLA}$	$\frac{CMA}{CME}$
factor B	b-1	$\sum \frac{(\sum y.j)^2}{ar} - \frac{(\sum y...)^2}{abr}$	$\frac{SCB}{GLB}$	$\frac{CMB}{CME}$
Interacción A*B	(a-1) (b-1)	$\sum \frac{(\sum yij.)^2}{r} - \frac{(\sum y...)^2}{abr} - scA - scB$	$\frac{SCAB}{GLAB}$	$\frac{CMAB}{CME}$
Error	por diferencia	por diferencia	$\frac{SCE}{GLE}$	
Total	Abr-01	$\sum y^2 - \frac{(\sum y...)^2}{abr}$		

Fuente: (ZARE, 2014)

En la tabla 7 se muestra factores, variables, niveles y tratamientos que se utilizan en el estudio de la investigación.

Tabla 7

factores, variables (independientes y dependientes), niveles y tratamientos en estudio

Factor	Variables			Niveles	
	Independientes	Dependientes			
A: $a_0 = 22^\circ\text{C}$ $a_1 = 25^\circ\text{C}$ $a_2 = 30^\circ\text{C}$	Temperatura	Concentración de vinagre de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i>)	Dimensiones	Indicadores - pH - °Brix (sólidos solubles) - Acidez (Acido acético)	T₀
			Físicoquímicos		T ₁ T ₂
B: $b_0 = 2\%$ $b_1 = 3\%$ $b_2 = 4\%$	Volumen de inocular				Vi₁ Vi ₂ Vi ₃

Tabla 8

Tratamientos combinación de niveles y número de repeticiones

Tratamientos	combinación de niveles	Repeticiones		
		n ₁	n ₂	n ₃
T1	a ₀ b ₀	---	---	---
T2	a ₀ b ₁	---	---	---
T3	a ₀ b ₂	---	---	---
T4	a ₁ b ₀	---	---	---
T5	a ₁ b ₁	---	---	---
T6	a ₁ b ₂	---	---	---
T7	A ₂ b ₀	---	---	---
T8	a ₂ b ₁	---	---	---
T9	a ₂ b ₂	---	---	---

En la tabla 9, se detalla el arreglo de tratamiento de la investigación a desarrollar

Tabla 9

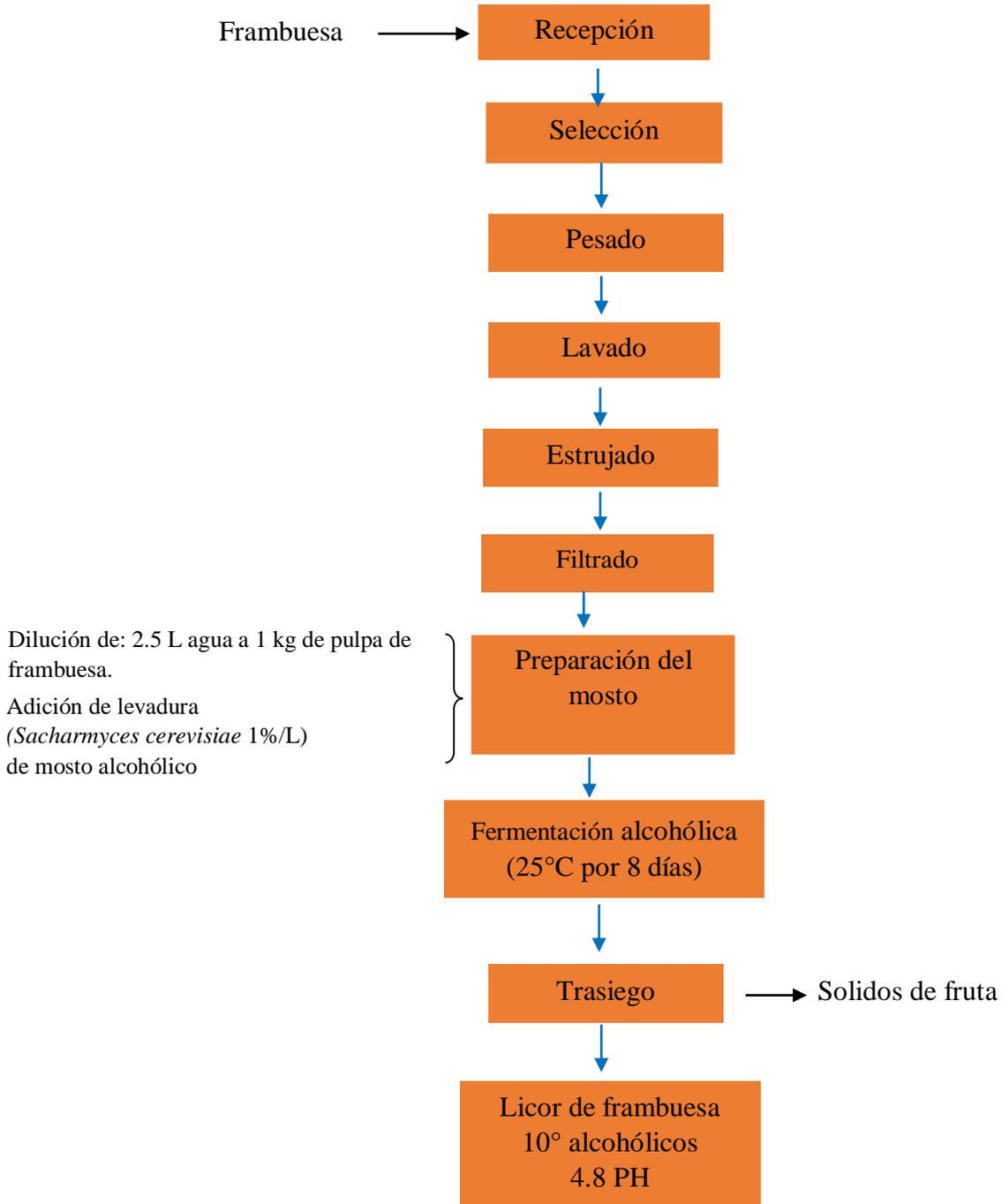
Arreglo de tratamientos

Tratamientos	Descripción de los tratamientos	N° de repeticiones
T1	Volumen de Inoculo al 2%, a una temperatura de 22°C	3
T2	Volumen de Inoculo al 3%, a una temperatura de 22°C	3
T3	Volumen de Inoculo al 4%, a una temperatura de 22°C	3
T4	Volumen de Inoculo al 2%, a una temperatura de 25°C	3
T5	Volumen de Inoculo al 3%, a una temperatura de 25°C	3
T6	Volumen de Inoculo al 4%, a una temperatura de 25°C	3
T7	Volumen de Inoculo al 2%, a una temperatura de 30°C	3
T8	Volumen de Inoculo al 3%, a una temperatura de 30°C	3
T9	Volumen de Inoculo al 4%, a una temperatura de 30°C	3

6.5 Metodología

Se describe a continuación la metodología para la elaboración de licor de frambuesa.

Figura 5. Diagrama de bloques para la elaboración de licor de pulpa de frambuesa.



Fuente: (Amanda & Lisbeth, 2014)

6.5.1 Etapa 1 Obtención de licor de frambuesa

1. **Recepción:** La recepción de materias primas se establece como la primera etapa en la elaboración de los alimentos, y en este paso es fundamental observar ciertas características de color, olor, textura, temperatura de llegada, empaque y etiquetado del producto.

la frambuesa es recogida del vivero san fe en cajas de plástico blanco por un peso menor a tres kg, hay que tener en cuenta que se cumpla con todas condiciones de cosecha para evitar pérdidas, daños en la fruta, etc.

2. **Selección:** consiste en verificar que los frutos sean de calidad, que no tengan ningún daño físico, mecánico ni morfológico que este apto para el consumo.
3. **Pesado:** Se utilizará una balanza mecánica de capacidad de 20 kg, con el objetivo de determinar la cantidad de masa para la investigación.
4. **Lavado:** El lavado se efectúa con agua clorada, para esto se utiliza una solución de hipoclorito de sodio al 5% con la finalidad de eliminar microorganismos que están presentes en los frutos de frambuesa, se enjuga con abundante limpia para evitar que haya restos de hipoclorito de sodio.
5. **Estrujado:** consiste en ablandar la pulpa de frambuesa, hasta obtener pulpa concentrada.
6. **Preparación del mosto alcohólico**

En esta etapa se realizó una dilución de 1 kg de pulpa estrujada de frambuesa en 2.5 L de agua pasteurizada con el fin de estandarizar los °Brix y aumentar el rendimiento del licor de frambuesa.

Activación de la levadura

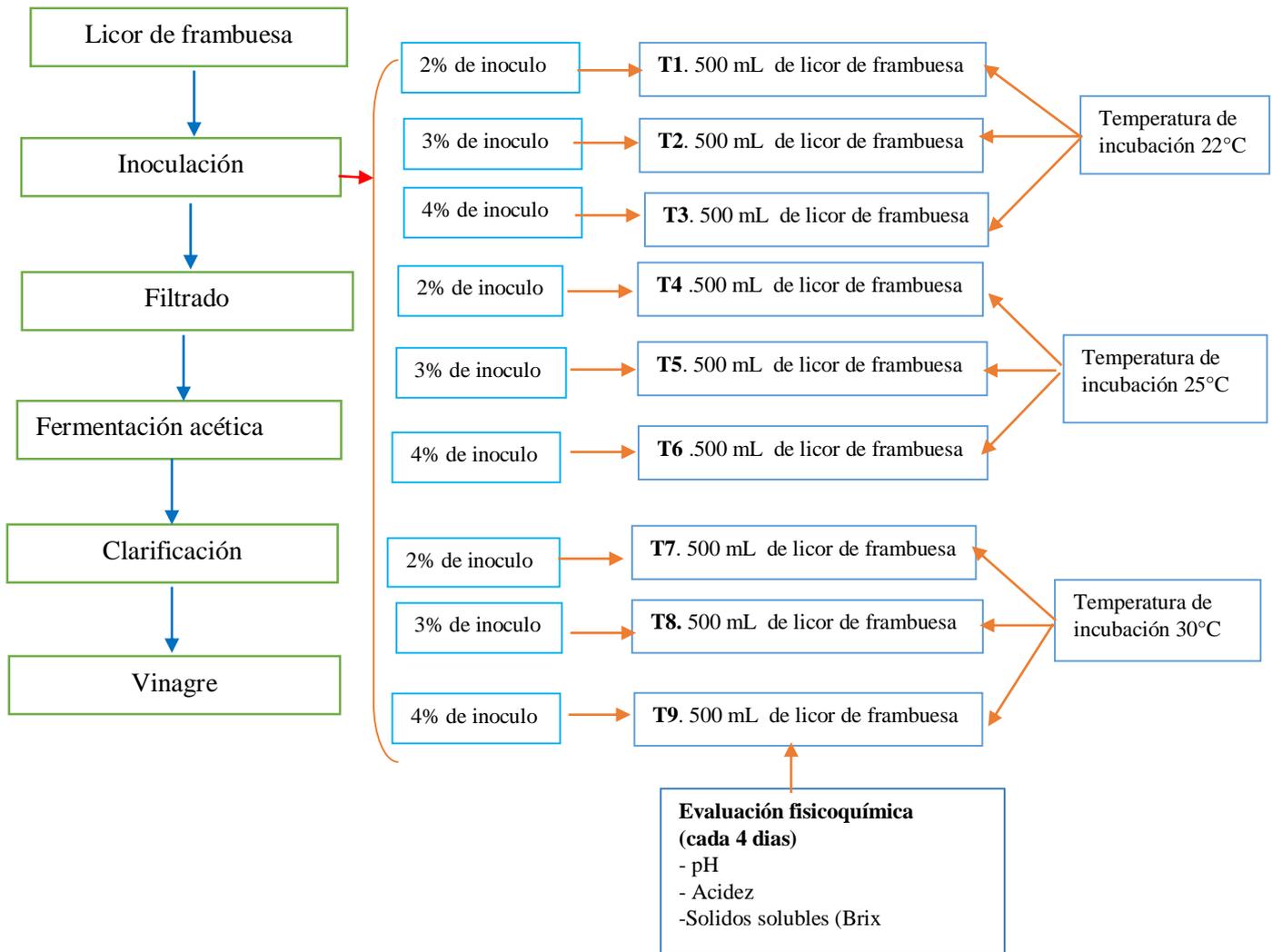
Para la activación de la levadura (*Sacharmyces cerevisiae*) en un vaso de precipitación de 250 ml, seguido se toma 200 ml mosto, 50 ml de agua hervida a 35°C y 15 gramos de azúcar, a ello se adiciona la levadura (un gramo/litro de mosto). Agitando suavemente con una cuchara y cubrimos la mezcla, la cual reposo por 15 a 20 minutos. La activación se notará por la formación de burbujas en la superficie.

7. **Fermentación alcohólica:** Para iniciar la fermentación alcohólica, agitamos con una paleta, cerramos el envase herméticamente, dejamos en reposo durante 8 días con el fin de que se transforme el azúcar en licor de frambuesa a una temperatura de 25°C, durante este periodo se controló los °Brix, grado alcohólico y pH

8. Trasiego: Transcurrido los ocho días de fermentación alcohólica y obtenido los parámetros de referencia de grado alcohólico y pH, se procede al trasiego mediante el uso de una manguera como sifón un lienzo y otro recipiente esterilizado, con el propósito de separar el mosto alcohólico de los residuos de la levadura y los sólidos de la fruta precipitada que quedan al fondo del recipiente.

El mosto alcohólico ya sin residuos de levadura ni sólidos de frutas, regresó a su envase original, debidamente limpio y esterilizado para proceder a la fermentación acética.

Figura 6. Diagrama de bloques para obtención de vinagre de frambuesa



Fuente: Adaptado de (Amanda & Lisbeth, 2014)

6.5.2 Etapa 2 elaboración de vinagre

Acondicionamiento del mosto alcohólico.

1. Inoculación

Para la inoculación del vinagre se activan las BAA con 10% de alcohol etílico para estandarizar del pH de 3 a 4. Para lo cual se incorpora en relación de (500 ml de mosto alcohólico y 2% de (*Acetobacter aceti*), (500 ml mosto alcohólico al 3% (*Acetobacter aceti*) y (500 ml de mosto alcohólico corregido al 4% (*Acetobacter aceti*), se realizó de acuerdo a los factores en estudio que se muestran en la tabla 7, donde se indica las dimensiones, indicadores y niveles de la investigación.

Una vez acondicionado el mosto alcohólico se coloca en envases con capacidad 500 mL previamente esterilizados. Para iniciar el proceso de fermentación alcohólica a la fermentación acética.

2. Fermentación acética

Una vez inoculado el mosto se realiza una oxigenación para luego colocar las muestras en la incubadora a temperatura de 22°C, 25°C y 30°C; cada temperatura por un periodo de tiempo de 30 días como se muestra en el estudio de variables en la tabla 6 en donde se describe todos los tratamientos que se han realizado con el estudio científico de variables; en los cuales cada 4 días se ha controlado cada una de las variables: °Brix, pH, y acidez, con el fin de alcanzar los requisitos según la Norma Técnica Peruana 209.020 para la elaboración de vinagres. Durante este lapso de tiempo los tratamientos están cubiertos con un lienzo que evita el contacto con insectos que podrían perjudicar a las muestras en estudio, el lienzo facilita el paso del oxígeno del medio ambiente a la muestra.

3. Filtrado

Una vez terminado la fermentación acética, se procede a filtrar el vinagre con el fin de eliminar toda cantidad de sedimentos, impurezas, para ello se utiliza lienzo para filtrar el vinagre terminado, con el fin objetivo de obtener un producto libre de impurezas, mejorando las características organolépticas del vinagre como es el sabor, color, olor y apariencia líquida.

4. Clarificación

Todos los vinagres requieren una clarificación que va a contribuir a la estabilidad del producto durante su posterior vida comercial. Las cantidades añadir oscilan entre los 2 y los 20 g/L. La gelatina precipita los polifenoles (sustancias tánicas) oxidados y condensados y de este modo tiene un efecto de mejoramiento del sabor y del color.

5. Envasado – almacenado

El envasado del vinagre se realiza en botellas plásticas previamente esterilizadas de capacidad de 250 ml, el envasado se realiza según los tratamientos propuestos en la investigación. Finalmente se realizan análisis físico-químicos (°Brix, pH, grado y acidez) a todos los tratamientos y se determina así, los mejores tratamientos.

6.6 Metodología

6.6.1 Evaluación de las características fisicoquímicas para el vinagre de frambuesa

6.6.1.1 Determinación de la acidez titulable (ácido acético)

Titulación volumétrica

cuando un ácido y una base reaccionan, se produce una reacción; reacción que se puede observar con un colorante. Un ejemplo de colorante, y el más común, es la fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), que varía (cambia) de color a rosa cuando se encuentra presente una reacción ácido-base. El agente titulante es una base, y el agente titulado es el ácido o la sustancia que contiene el ácido.

Procedimiento.

- Se realiza con un equipo de titulación que consiste en una bureta, un vaso de precipitado, un soporte universal y un anillo de sostén
- se coloca 10 mL de vinagre en un vaso de precipitación de 250 mL que contenga 50 mL de agua destilada, agregar 1 mL de solución de NaOH 0,1 N titular el gasto
- Se adicionan dos o tres gotas de fenolftaleína (o colorante) y se comienza a titular (dejar caer gota a gota del agente titilante sobre el titulado) hasta obtener un ligero color a rosa (en el caso de la fenolftaleína) que dure 30 segundos cuando mínimo.
- Si es muy oscuro, la titulación ha fracasado.
- Se mide la cantidad de agente titulante gastado (o gasto de bureta) y se utiliza la normalidad de la sustancia.

$$\% \text{ Acido acetico} = \frac{(mLNaOH)(N NaOH)(meq Ac actico)(100)}{Muestra(mL)} * FD$$

Donde:

N NaOH: Normalidad del NaOH (0.0975)

Meq Ácido acético: 0.06

FD: factor de dilución (10)

6.6.1.2 Determinación de °Brix

Se ajusta la circulación del agua del refractómetro para operar a la temperatura requerida (entre 15 a 20 grados). Se coloca 2 o 3 gotas de la muestra preparada en el prisma fijo del refractómetro. Se ajusta inmediatamente el prisma movable luego se acciona los tornillos macro y micrométricos hasta lograr el entrecruzamiento de la zona oscura con el punto de intersección de las dos líneas del campo y luego se hace la lectura en la escala respectiva. (Briceño Prado, 2014).

6.6.1.3 Determinación del pH

Se coloca en un vaso de precipitado 10 g de la muestra y se agita suavemente, se determina el PH introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que estos no toquen las paredes del recipiente, ni las partículas sólidas.

El seguimiento del ajuste del pH se puede llevar a cabo en varias etapas de la fermentación, por ejemplo, durante el encubado de vinos, después de la fermentación alcohólica, después de la fermentación acética y en el embotellado (Marisela, 11).

VII. Resultados y Discusiones

De acuerdo con los resultados de los análisis fisicoquímicos, el ácido acético es el parámetro que se notó un mayor cambio durante los 30 días de fermentación, el Ácido acético es el principal componente de los vinagres cual sea el sustrato alcohólico del que procedan. El estudio de la acidez total y fija permite conocer la naturaleza de los componentes ácidos del vinagre, la acidez se incrementó de 2 % a 4.99%, la acidez de los vinagres está en rango comprendido de 2.7% a 6,6% para ello influye factores como el tiempo de maduración y la microflora del vinagre madre, la fermentación puede continuar con el proceso metabólico del etanol remanente y su transformación en ácido acético. Este comportamiento se ha justificado en varias oportunidades por el hecho que estas bacterias no mueren necesariamente con la ausencia de oxígeno. Específicamente, *Acetobacter* puede ingresar en un estado “viable pero no cultivable” bajo privación de oxígeno (Edwards, 2007). para la elaboración de vinagre de frambuesa se utilizó este para parámetro como “parámetro indicador”

7.1 Análisis de la varianza de las características fisicoquímicas

Se hizo el análisis de los parámetros fisicoquímicos de todas las muestras mosto de alcohólico, considerando los siguiente: pH, °Brix y % de ácido acético. Durante un mes, con una frecuencia de 4 días. Los valores de estos parámetros en todas las muestras de estudio en el día 0 se encuentran dentro del rango óptimo (°Brix = 5, pH =4.8 y % de ácido acético = 2.01), Tabla 10.

Tabla 10

pH, Acidez (% de ácido acético), °Brix y grado alcohólico inicial de las muestras de mosto alcohólico de frambuesa utilizadas para el estudio.

Temperatura	22°C			25°C			30°C		
Porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>	2%	3%	4%	2%	3%	4%	2%	3%	4%
pH	4.8	4.8	4.8	4.79	4.81	4.83	4.8	4.84	4.7
Acidez	2	2	1.99	2	1.99	2	2	2	2
°Brix	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Grado Alcohólico	10	10	10	10	10	10	10	10	10

7.1.1 Parámetro fisicoquímico de acidez (ácido acético)

La acidez del vinagre de frambuesa expresada en ácido acético del mosto alcohólico, se muestra en la tabla 11 la acidez inicial 2 %, por efecto de la fermentación de 30 días a diferente concentración de *Acetobacter aceti* la acidez del vinagre va aumentar hasta 4.99%.

la Norma Técnica Peruana 209.020 la acidez total en gramos de ácido acético por 100 ml, mínimo es 4. En la investigación la acidez es 4.99% de ácido acético, ésta dentro del rango óptimo de acidez para la producción de vinagres.

En la figura 6 aumento la acidez de 2% hasta 4.99%, luego del período de maduración de 6 meses, la acidez total aumentó un 6,6 % (Fugelsang, 2007). No se registraron cambios significativos en la acidez fija, aunque el incremento de las BAA continuó con el proceso metabólico del etanol remanente y su transformación en ácido acético. Este comportamiento se ha justificado en varias oportunidades por el hecho que estas bacterias no mueren necesariamente con la ausencia de oxígeno. Específicamente, *Acetobacter* puede ingresar en un estado “viable pero no cultivable” bajo privación de oxígeno.

El efecto del ácido acético sobre el crecimiento BAA depende de las concentraciones de sustrato (etanol) y del producto (ácido acético) y de las condiciones de crecimiento. Por ejemplo, para cepas de *Acetobacter*, en cultivos agitados de etanol, se encontró que 10 g/L de ácido acético tiene un efecto activador sobre el crecimiento de los microorganismos a concentraciones más bajas una disminución significativa en la fase de crecimiento logarítmica (Trček, 2007). las BAA en cultivo continuo con etanol como sustrato crece a concentraciones de acetato superiores a 70 g/L (Andrés-Barrao & Falquet, 2011). En la investigación se utilizó 3% de *Acetobacter aceti* en ½ L de mosto alcohólico haciendo un valor de 15 g/L de ácido acético como el mejor tratamiento(T8), obteniendo 4,99% de ácido acético, con una concentración de 1% de alcohol, la concentración de *Acetobacter aceti* está en el rango optimo que menciona el autor (Trček, 2007).

La temperatura es una variable que influye directamente para el desarrollo de las Bacterias de *Acetobacter aceti*, en rango de (20 a 30) °C (Ferreya et al 2012), en la presente investigación de la obtención de vinagre se ha demostrado que a una temperatura menor a 22°C el crecimiento de los microorganismos es desacelerado, en consecuencia, los periodos de fermentación se alargan, con el riesgo de tener perdidas en la producción del vinagre. El la figura 6 se demuestra que la mejor temperatura es de 30°C en el T8, los microorganismos se desarrollan exponencialmente, aprovechando los nutrientes de modo eficiente. Logrando

las mejores características del vinagre olor, sabor y aroma. Habitualmente, la producción de vinagre industrial se realiza a 30°C con un control estricto de esta variable. (Ndoye et al, 2006) incrementos de 2 a 3 °C pueden causar serios inconvenientes tanto en la velocidad del proceso como en el rendimiento. Este resulta afectado debido a la evaporación de compuestos volátiles entre los que influyen el sustrato (estanol), el producto intermedio (acetaldehído) y producto final (ácido acético)

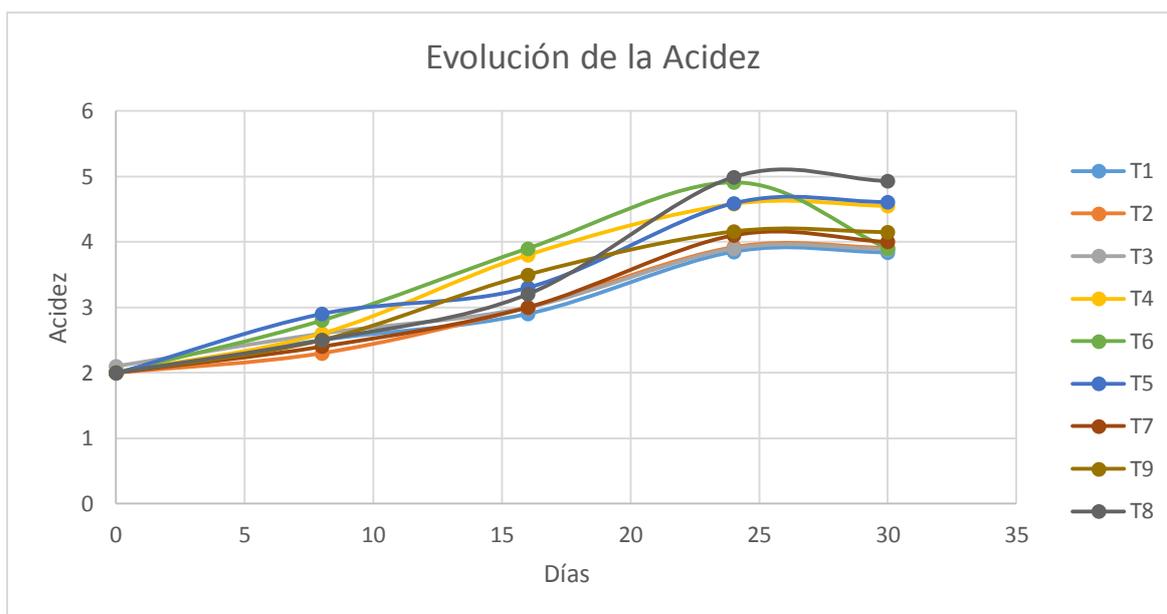


Figura 7. Representación gráfica de la evolución de la acidez en 30 días de fermentación.

Tabla 11

Datos promedios del parámetro Físicoquímico acidez (ácido acético), obtenidos durante un mes de experimentación.

Días	Acidez (ácido acético)								
	Temperatura: 22°C			Temperatura: 25°C			Temperatura: 30°C		
	porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>			porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>			porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>		
	2%	3%	4%	2%	3%	4%	2%	3%	4%
0	2	2	1	2	1.99	2	2	2	2
8	2.5	2.3	2.6	2.6	2.9	2.8	2.4	2.5	2.5
16	2.9	3	3	3.8	3.6	3.9	3	3.2	3.5
24	3.8	3.92	3.9	4.58	4.99	4.91	4.1	4.11	4.16
30	3.84	3.91	3.89	4.55	4.95	3.9	4	4.3	4.15

Tabla 12*Análisis de Varianza para la variable acidez*

Fuente	G L	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Temperatura de incubación	2	1.6864	0.84320	14.55	0.000
Porcentaje de inóculo	2	0.2136	0.10680	1.84	0.175
Temperatura de incubación*Porcentaje de inóculo	4	0.1667	0.04167	0.72	0.585
Bloques (Días de almacenamiento)	4	35.1356	8.78391	151.55	0.000
Error	32	1.8547	0.05796		
Total	44	39.0570			

R- cuadrado 95.25%

R- cuadrado ajustado 93.47%

Los resultados de la tabla 12 ANOVA para la variable acidez muestra una alta significación estadística para el factor temperatura de incubación puesto que $p < 0.05$, lo cual indica que este factor influye en la acidez de vinagre de frambuesa. Por otro lado, los días de almacenamiento presentan diferencias significativas puesto que el valor de $p < 0.05$. mientras, la interacción de los factores no influye ya que el valor de $p > 0.05$ lo cual significa que estos factores en conjunto no producen efectos en las muestras y se afirma que las variables están asociadas o correlacionadas.

Tabla 13

Pruebas de HSD tukey para el factor temperatura de incubación, confianza de 95%

Temperatura de incubación	N	Media	Agrupación
30	15	3.51133	A
25	15	3.19467	B
22	15	3.04733	B

La tabla 13 muestra los resultados la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias estadísticas entre los promedios del factor temperatura de incubación en la acidez de vinagre de frambuesa, para determinar la mejor temperatura de incubación, se le grupo en dos grupos A y B, en donde el grupo A está conformado por los tratamientos

(30 °C) y el grupo B está conformado por los tratamientos a (25 y 22 °C). cómo se observa los tratamientos de (25 y 22 °C) comparten el mismo grupo, esto quiere decir que no existe diferencias significativas entre estos tratamientos. Siendo el tratamiento con 30 °C el que tiene mayor contenido de acidez con una media de 3.51 y es estadísticamente diferente a los demás tratamientos, mientras que el tratamiento a 22 °C es estadísticamente menor que de los otros tratamientos con una media de acidez de 3.05.

Tabla 14

*Pruebas de HSD tukey para la interacción (temperatura de incubación * porcentaje de acetobacter aceti) confianza de 95%*

Bloques (Días de almacenamiento)	N	Media	Agrupación
30	9	4.28000	A
24	9	4.16556	A
16	9	3.23333	B
8	9	2.56667	C
0	9	2.01000	D

En la Tabla 14 se muestra los resultados de la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias entre los bloques, y determinar los días de almacenamiento con mejores resultados con respecto a la acidez del vinagre de frambuesa. Para ello se agrupo en tres grupos A, B, y C, de los cuales el día 24 y 30 comparte un solo grupo (A), esto indica que entre estos bloques no existe diferencias significativas, mientras que el día 0, 8 y 16 no comparten grupos y además pertenecen a grupos diferentes entre sí, esto significa que estos bloques presentan diferencias significativas entre los bloques. Siendo el día 30 en el que las muestras presentaron mayor acidez 4.99, y el día 0 las muestras presentaron menor acidez 2.01.

7.1.2 Parámetro fisicoquímico de pH

El rango de pH óptimo para el desarrollo se ubica entre 5 - 6, sin embargo, pueden multiplicarse fácilmente en medio ácido hasta un pH 3,5 e incluso se lograron aislar BAA a pHs tan bajos como 2,0 - 2,3 (Du Toit, 2002). El presente estudio realizado se llegó a un pH de 2.51 como se muestra en la tabla 15, Este parámetro resulta influido por la materia prima, composición de ácidos, maduración del vinagre, temperatura de incubación, así como

también la cantidad de bacterias que se desarrollan en el medio. Estas características hacen referencia el autor (Peixoto Marques F. P., 2010) en la investigación de vinagre de naranja.

En la figura 7 se observa que el pH decrece de 4.8 hasta 2.5, la tolerancia a los bajos pH depende de otros parámetros, disponibilidad de oxígeno y la concentración de etanol (Gullo M. D., 2009). Es esencial durante la elaboración de vinagres, mantener una baja concentración de etanol (0.5-1%) para evitar la oxidación completa del ácido acético (Mas, 2014). En la obtención de vinagre de frambuesa, la concentración de etanol al iniciar la fermentación acética es de 10g/L; al terminó de la fermentación se obtuvo 1g/L de etanol, esta característica fisicoquímica está dentro del rango optimo, por ende, no causa daño al producto. Si el etanol baja a valores inferiores a 1g/L, se corre el riesgo que el ácido acético formado se oxide completamente a CO₂ y H₂O y consecuentemente habrá perdidas en el rendimiento. (Wai-Ho & C., 2017) afirman que el pH comprendido entre 2.0-3.5 es óptimo para un vinagre comercializable, mencionan que en este es óptimo para la proliferación de las bacterias acéticas.

la Norma Técnica Peruana 209.020 indica que el pH mínimo es 2.8. En la investigación el pH mínimo es 2.51, el parámetro está aproximada a la Norma técnica; esta variación influye de acuerdo a diferentes factores como: materia prima, grado alcohólico del licor de frambuesa, tiempo de fermentación, temperatura de fermentación, circulación de oxígeno en la incubadora y la calibración correcta de los equipos de laboratorio.

Tabla 15

Datos promedios del parámetro Fisicoquímico pH, obtenidos durante un mes de experimentación

Días	pH								
	Temperatura: 22°C			Temperatura: 25°C			Temperatura: 30°C		
	porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>			porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>			porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>		
	2%	3%	4%	2%	3%	4%	2%	3%	4%
0	4.8	4.8	4.8	4.79	4.81	4.83	4.8	4.84	4.79
8	3.9	3.85	3.81	4.1	3.9	4.1	4.4	4.1	4.2
16	3.89	3.8	3.8	3.9	3.3	3.9	4.1	3.87	3.93
24	3.88	3.8	3.8	2.89	2.51	3.45	3.93	3.81	3.49
30	3.88	3.92	3.8	2.88	2.49	3.41	3.91	3.8	3.55

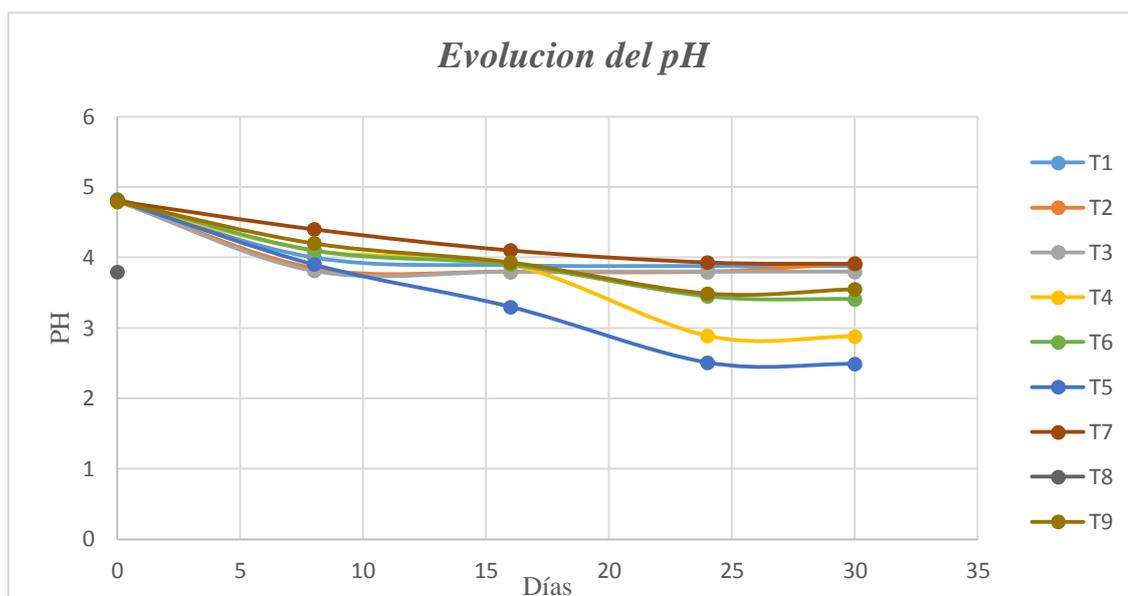


Figura 8. Representación gráfica de la evolución del pH en 30 días de fermentación.

Tabla 16

Análisis de Varianza para la variable pH

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Temperatura de incubación	2	0.9059	0.45296	6.82	0.003
Porcentaje de inóculo	2	0.0504	0.02522	0.38	0.687
Temperatura*porcentaje de inóculo	4	0.4098	0.10245	1.54	0.214
Bloques (Días de almacenamiento)	4	9.1135	2.27839	34.28	0.000
Error	32	2.1266	0.06646		
Total	44	12.6063			

R- cuadrado 83.13%

R- cuadrado ajustado 76.80%

Los resultados de la tabla 16 ANOVA para la variable pH muestra una alta significación estadística para el factor en estudio temperatura de incubación $p < 0.05$, lo cual indica que este factor produce efectos en la muestra, por otro lado, los días de almacenamiento presentan diferencias significativas puesto que el valor de $p < 0.05$. Mientras que la interacción de los factores no influye ya que el valor de $p > 0.05$ lo cual significa que

estos factores en conjunto no producen efectos en las muestras y se afirma que las variables no están asociadas o correlacionadas.

Tabla 17

Pruebas de HSD tukey para el factor temperatura de incubación, confianza de 95%

Temperatura de incubación (°C)	N	Media	Agrupación
30	15	4.10933	A
22	15	4.03667	A
25	15	3.77867	B

La tabla 17 muestra los resultados la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias estadísticas entre los promedios del factor temperatura de incubación en el pH, para determinar la mejor temperatura de incubación, se divide en dos grupos A y B, en donde el grupo A está conformado por los tratamientos (30 y 22 °C) y el grupo B está conformado por el tratamiento a 25 °C. cómo se observa los tratamientos de (30 y 22 °C) comparten el mismo grupo, esto quiere decir que no existe diferencias significativas entre estos tratamientos. Siendo el tratamiento con 30 °C el que tiene mayor media 4.1093, mientras que el tratamiento de 25 °C es estadísticamente diferente de los otros tratamientos con una media de pH 3. 7787.

Tabla 18

Pruebas de HSD tukey para bloques (días de almacenamiento) confianza de 95%

Bloques (Días de almacenamiento)	de N	Media	Agrupación
0	9	4.81333	A
8	9	4.01556	B
16	9	3.82667	B C
24	9	3.70667	B C
30	9	3.51222	C

En la tabla 18 se muestra los resultados de la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias entre los bloques, y determinar los días de almacenamiento con mejores resultados con respecto al pH del vinagre de frambuesa. Para ello se agrupó en tres grupos A, B y C, de los cuales los días de evaluación 16 y 24 comparten dos grupos B y C, esto indica que entre estos bloques no existe diferencias significativas, mientras que el día 0 y el día 30 no comparten grupos y además pertenecen a grupos diferentes entre sí, esto significa que estos bloques presentan diferencias significativas entre sí. Siendo el día 0 en el que las muestras presentaron mayor pH 4.8133, y el día 30 las muestras presentaron menor pH 3.5122.

7.1.3 Parámetro fisicoquímico de °Brix

Los sólidos totales expresados en °Brix de vinagre de frambuesa por cada tratamiento, Durante los 30 días de fermentación, se muestra en la tabla 23. Se observa que el mejor tratamiento es el 5, con una concentración de *Acetobacter aceti* de 3% a una temperatura de fermentación de 25°C el resultado es de 2 °Brix en 30 días de fermentación, a una concentración de *Acetobacter aceti* de 2% se observa que el °Brix final es de 2 a y a un 4% de *Acetobacter aceti* el resultado es de 3 °Brix por el mismo tiempo de fermentación, el autor Ochoa (2015), menciona que el rango mínimo 1,3% en vinagres de vino; en el estudio realizado el tratamiento 5 fisicoquímico se ajusta mejor a la norma INEN.

En la figura 9 se observa que los solidos solubles deciendoen de 5°Brix hasta 2 °Brix para el mejor tratamiento (T5), en comparacion con (T4) los solidos solubles deciede hasta 2.5 en el dia 24 de fermentacion acetica hay cierta similitud con el (T%) . Se sabe que el ácido del vinagre es de origen biológico porque deriva de la fermentación del alcohol etílico, llamada precisamente fermentación acética y se descompone hasta agua y anhídrido carbónico (Rúben, 2008). Según las NTP 209.020 (1970), no hay exigencia para el contenido de °Brix.

Tabla 19

Datos promedios del parámetro Fisicoquímico °Brix, obtenidos durante un mes de experimentación

Días	Brix								
	Temperatura: 22°C			Temperatura: 25°C			Temperatura: 30°C		
	porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>			porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>			porcentaje de <i>Acetobacter aceti</i>		
	2%	3%	4%	2%	3%	4%	2%	3%	4%
0	5	5	5	5	5	5	5	5	5
8	4	4	3.6	4.1	3.2	3.5	3.9	4	4.1
16	3	3.2	3.2	3.3	2.9	4	3.7	4	3.2
24	2.7	2	3	2.5	2	3	3	3.2	3
30	3.85	3.92	3.9	4.58	4.99	4.91	4.1	4.11	4.16

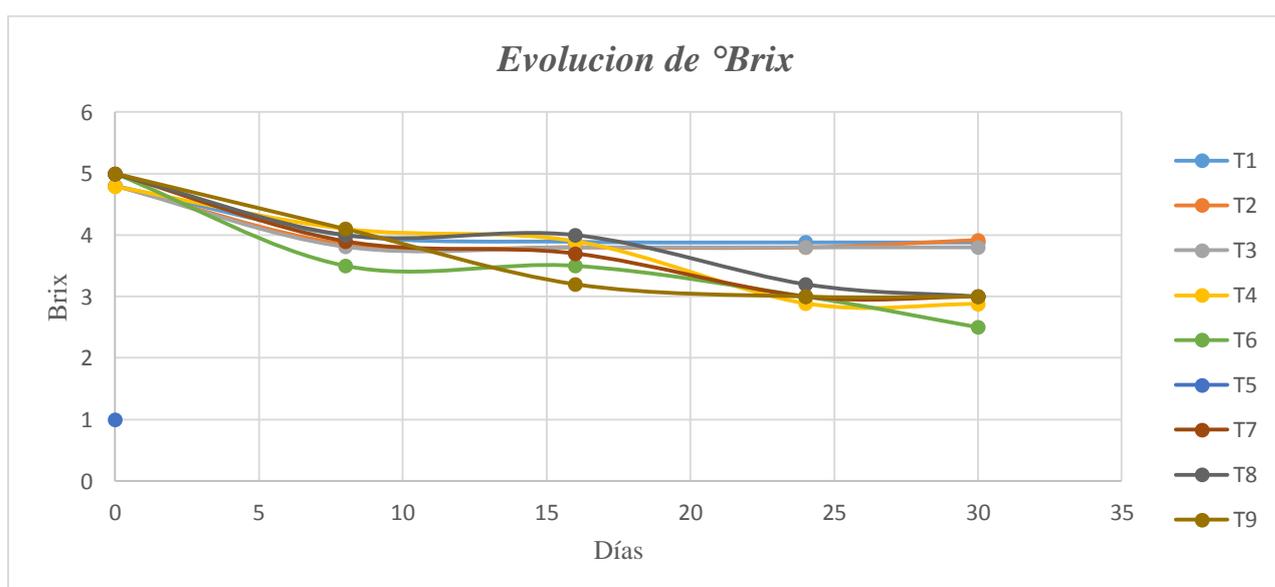


Figura 9. Evolución de los °Brix en los diferentes tratamientos realizados, en treinta días de fermentación.

Tabla 20*Análisis de Varianza para la variable grados Brix*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Temperatura de incubación	2	3.022	1.5112	8.20	0.001
Porcentaje de acetobacter aceti	2	1.159	0.5795	3.14	0.057
Temperatura de incubación*Porcentaje de acetobacter aceti	de 4	2.714	0.6786	3.68	0.014
Bloques (Días de almacenamiento)	de 4	47.861	11.9653	64.93	0.000
Error	32	5.897	0.1843		
Total	44	60.654			

R- cuadrado 90.28%

R- cuadrado ajustado 86.68%

Los resultados de la tabla 20 ANOVA para la variable °Brix muestra una alta significación estadística para el factor en estudio temperatura de incubación puesto que $p < 0.05$, lo cual indica que este factor influye en los ° Brix de vinagre de frambuesa. Por otro lado, los días de almacenamiento presentan diferencias significativas puesto que el valor de $p < 0.05$. asimismo, la interacción de los factores influye ya que el valor de $p < 0.05$ lo cual significa que estos factores en conjunto producen efectos en las muestras y se afirma que las variables están asociadas o correlacionadas.

Tabla 21*Pruebas de HSD tukey para el factor temperatura de incubación, confianza de 95%*

Temperatura de incubación (°C)	N	Media	Agrupación
---------------------------------------	----------	--------------	-------------------

30	15	3.49000	A
22	15	3.35933	A
25	15	2.88667	B

La tabla 21 muestra los resultados la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias estadísticas entre los promedios del factor temperatura de incubación en los °Brix de vinagre de frambuesa, para determinar la mejor temperatura de incubación, se le agrupo en dos grupos A y B, en donde el grupo A está conformado por los tratamientos (30 y 22 °C) y el grupo B está conformado por el tratamiento a 25 °C. cómo se observa los tratamientos de (30 y 22 °C) comparten el mismo grupo, esto quiere decir que no existe diferencias significativas entre estos tratamientos. Siendo el tratamiento con 30 °C el que tiene mayor contenido de solidos solubles con una media de 3.4900, mientras que el tratamiento de 25 °C es estadísticamente diferente de los otros tratamientos con una media 2.8867 de °Brix.

Tabla 22

*Pruebas de HSD tukey para la interacción (temperatura de incubación * porcentaje de Acetobacter aceti) confianza de 95%*

Temperatura de incubación*Porcentaje de Acetobacter aceti	N	Media	Agrupación		
T8: 30*3	5	3.780	A		
T6: 25*4	5	3.500	A	B	
T9: 30*4	5	3.490	A	B	
T1: 22*2	5	3.480	A	B	
T3: 22*4	5	3.398	A	B	C
T7: 30*2	5	3.200	A	B	C
T2: 22*3	5	3.200	A	B	C
T5: 25*3	5	2.600		B	C
T4: 25*2	5	2.560			C

En la tabla 22 se muestra los resultados de la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias estadísticas entre los promedios de la variable °Brix, y determinar la mejor combinación de los niveles de los factores en estudio. Para ello se agrupó en tres grupos A, B y C, de los cuales los tratamientos (T2, T3 y T7) comparten los tres grupos, por otro lado, los tratamientos (T1, T6 y T9) comparten los grupos A y B y también se observa que el T5 comparte los grupos B y C, en tanto, no existe diferencias entre estos grupos. Siendo la mejor combinación T8 para la variable °Brix 3.780 estadísticamente superior a los demás tratamientos. El T4 es el que obtuvo el menor valor 2.560 °Brix.

Tabla 23

Pruebas de HSD tukey para bloques (días de almacenamiento) confianza de 95%

Bloques (Días de almacenamiento)	N	Media	Agrupación
0	9	5.00000	A
8	9	3.64444	B
16	9	3.03222	C
24	9	2.55000	C D
30	9	2.00000	D

En la Tabla 23 se muestra los resultados de la prueba de Tukey realizada con la finalidad de encontrar diferencias entre los bloques, y determinar los días de almacenamiento con mejores resultados con respecto °Brix del vinagre de frambuesa. Para ello se agrupó en cuatro grupos A, B, C y D, de los cuales el día 24 comparte dos grupos C y D, esto indica que entre estos bloques no existe diferencias significativas, mientras que el día 0, 8, 16 y 30 no comparten grupos y además pertenecen a grupos diferentes entre sí, esto significa que estos bloques presentan diferencias significativas entre sí. Siendo el día 0 en el que las muestras presentaron mayor °Brix 5.000, y el día 30 las muestras presentaron menor °Brix 2.000.

VIII. Conclusiones

La mejor concentración de *Acetobacter aceti* en la producción de vinagre de frambuesa (*Rubus idaeus*) es de 3% con un valor equivalente a 15g/L de ácido acético por cada 500 ml de mosto alcohólico, siendo el mejor tratamiento(T8) para la acidez, mientras que para el pH y °Brix el mejor tratamiento (T5).

Según los resultados obtenidos estadísticamente la mejor temperatura en la obtención de vinagre de frambuesa es 30°C con una acidez de 4.99% de ácido acético en el (T8), para las otras características fisicoquímicas un pH de 2,51 y 2 solidos solubles (brix) (T5) la mejor temperatura es 25°C.

IX. Recomendaciones

En futuras investigaciones se recomienda tener buen control de temperatura; las bacterias del género *Acetobacter aceti* son exigentes para su desarrollo y crecimiento en el medio de cultivo. No se logra obtener vinagre a temperatura ambiente los microorganismos inhiben su desarrollo y crecimiento.

Es importante tener calibrados los equipos para realizar los diferentes análisis del vinagre, es importante tener el control del tiempo de fermentación, el suministro constante de oxígeno y la concentración de Bacterias acéticas. Para la elaboración de vinagre se puede utilizar diferentes berries, como arándanos, cerezas, etc.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS (Normas APA)

(s.f.).

Acosta Artilles, A. H. (1993). *Caracterización fisico-química de distintos tipos de vinagr : Acidez extracto seco y cenizas. Tecnología e Higiene de Los Alimentos*, 245, 99-104.

Acosta Artilles, A. H. (1993). *Caracterización fisico-química de distintos tipos de vinagre. I: Acidez, extracto seco y cenizas. Tecnología e Higiene de Los Alimentos*, 245,99-104.

Acosta Artilles, A. R. (2010). *Caracterización fisico-química de distintos tipos de vinagre II: Determinación de algunos parámetros de naturaleza volátil. Tecnología e Higiene de Los Alimentos*, 105-108.

Adams, M. R. (1997). *Microbiología de los Alimentos*. Zaragoza, España.: Acribia,.

Adams, M., & Moss, M. (2000). *Fermented and Microbial Foods*. En *Food Microbiology*. University of Surrey, Cuilford, UK: Royal Society of Chemistry.

Adriana, V., & Infanzón, B. (2016). *Curva de crecimiento bacteriano en la producción de proteínas recombinantes*. Mexico: CONACYT. Obtenido de https://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/Transferencia_de_conocimientos_Liz_Lopez_2015.pdf

Aguiar, A. d. (2005). *Determinação de ácidos orgânicos e etanol em vinagres comerciais* . *Brazilian Journal of Food Technology*,, 51-56.

ALVA, & ROMERO. (2001). *Obtención de vino y vinagre de banana*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

Amanda, L. A., & Lisbeth, K. V. (2014). "Elaboración de vinagre a partir de chirimoya (*Annona cherimola mill*) que se produce en la zona de Urcuquí". Ecuador. Recuperado el 22 de Junio de 2022

- AMERINE. (1197). "Análisis de vinos y mostos ". Zaragoza España: Acribia, S.A.
Recuperado el 22 de Junio de 2022
- Andina. (2018). andina, Agencia Aeruana de noticias. Obtenido de
<https://andina.pe/agencia/noticia-cajamarca-se-perfila-como-primer-productor-frambuesas-el-peru-602058.aspx>
- Andrés-Barrao, & Falquet. (2011). Genome sequences of the high-acetic acid - resistant bacteria *Gluconacetobacter europaeus* LMG 18890T and G. *Journal of Bacteriology*.
- Andrés-Barrao, C. B. (2013). Rapid identification of acetic acid bacteria using MALDITOF mass spectrometry fingerprinting. *Systematic and Applied Microbiology*, 75-81.
- Andrés-Barrao, C., & Falquet, L. C.-C. (2011). Genome sequences of the high-acetic acid resistant bacteria *Gluconacetobacter europaeus*. *Journal of Bacteriology*.
- Avilán, L., Leal, F., & Bautista, D. (1989). *Manual de fruticultura cultivo y producción*. Maracay.
- BADUI, S. (2006). *Química de los alimentos*. Mexico: Editorial Pearson Educación.
- Beltran, R. (2012). *La elaboración del vino*. Recuperado el 20 de junio de 2022, de <http://www.lapalmadelcondado.org/documents/14409/231664/Tema+3+++y+5.+El+aboraci%C3%B3n+de+vinos.pdf>
- Bengochea, & Torres, I. M. (2017). *Matrias primas en la Industria Alimentria. sintesis*. Obtenido de <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773727.pdf>
- Bengochea, N. F., & Torres, I. M. (2017). *Materias Primas en la Industria Alimentaria. Sintesis*. Obtenido de <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773727.pdf>
- Briceño Prado, K. E. (2014). *Influencia del tiempo de cocción en las características fisicoquímicas de la chica de jora*. Universidad Nacional de Trujillo. Obtenido de <https://ilibrary.co/article/comparaciones-grado-alcoh%C3%B3lico-pruebas-significancia-tukey-caracter%C3%ADsticas.y96p6jdy>
- Caggia, G. M., & De Vero, L. y. (2006). *Characterization of acetic acid bacteria in "traditional balsamic vinegar*. *International Journal of Food Microbiology*.

- Calccaco. (2016). *Estandarización de un medio de cultivo para la propagación clonal in vitro de Rubus idaeus var. Heritage frambuesa roja de importancia comercial*. Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú.
- Carpenter, P. (1978). *Microbiología*. Mexico : Interamericana.
- Cherrez, M. y. (2005). *Proyecto de inversión para la Elaboración y Comercialización del Vinagre de Guineo en la ciudad de Guayaquil*. Guayaquil. Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Chile, A. d. (2006). *Exportación de bayas*.
- CORCHO, R. (2002). *evaluación de las cepas de la levadura para producir alcohol a partir de las cepas de la levadura para producir alcohol a partir de*.
- Coria1, M. I., Kleinjan1, V., & Ochoa1, M. R. (2019). *Ensayos de simulación de digestión gástrica de pulpa de frambuesa fermentada con diferentes cepas de Lactobacillus plantarum*. Universidad Nacional del Comahue. Villa Regina, Río Negro. Argentina. Obtenido de <http://www.publitec.com.ar/contenido/objetos/Frambuesa.pdf>
- De la Rosa, T. (1998). *Tecnología de los vinos blancos*. Barcelona-España: Mundy prensa. Obtenido de <https://www.iberlibro.com/buscar-libro/titulo/tecnolog%EDa-vinos-blancos/autor/tullio-rosa/>
- Diana, C. P. (2015). *Obtención de vinagre tipo gourmet a partir de fermentación de Uchuva (Physalis peruviana l)*. Universidad Nacional de Colombia. doi:<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55382>
- Domínguez, F. (2008). *Frambuesas todo el año desde la costa de Huelva*. *Horticultura*, 26-29. Obtenido de <http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf>
- Du Toit, W. J. (2002). *The occurrence, control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking*. *Annals of Microbiology*, 155-179.
- Edwards, F. K. (2007). *Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures*. (2° edition) Springer.
- FAO, & OMS. (s.f.). *Recuperado el 21 de Junio de 2022, de <http://www.fao.org/inphoarchive/conten/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/Inseguridadalimentaria.htm>*

- Fernández, R. R. (2016). *Calor y Temperatura*. licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Obtenido de https://www.apuntesmareaverde.org.es/grupos/cn/Temas_2/T9_2ESO_Calor_Temperaturatura_v2016.pdf
- Ferreyra, M. (2012). *Influencia del caudal de aire, temperatura y velocidad de agitación en el proceso discontinuo de acetificación para la obtención de vinagre de naranja (Citrus sinensis var.W. Navel)*. Universidad Nacional de Cajamarca. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633701008.pdf>
- Fugelsang, K. &. (2007). *Wine Microbiology Practical Applications and Procedures*. Springer.
- García, J. C., González, L. G., & Ciordia, A. M. (2014). *El cultivo del frambueso*. España. Obtenido de <http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf>
- García-García, I. S.-D.-O.-H.-V. (2009). *Vinegars Engineering*. In L. Solieri y P. Vinegars of the World., 97-120.
- González, Á. (2005). *Application of molecular techniques for identification and enumeration of acetic acid bacteria*. Universitat Rovira I Virgili.
- González, S. (1978). *Microbiología de la Bedidas*. Habana-Cuba: Pueblo y Educación Ediciones.
- Goranovic, R. P. (2008). *Biotechnological applications of acetic acid bacteria*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28.
- Gullo, M. D. (2009). *Succession of selected strains of Acetobacter pasteurianus and other acetic acid bacteria in traditional balsamic vinega*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Gullo, M. D. (2009). *Succession of selected strains of Acetobacter pasteurianus and other acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Hernández, A. (2003). *Microbiología Industrial*. Universidad Nacional a Distancia, de Costa Rica.

- Hertel, Schuller, & P, H. W. (2002). *Gluconacetobacter entanii* sp nov., isolated from submerged high-acid industrial vinegar fermentations. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Hough, J. (2002). *Biología de la cerveza y la malta*. Zaragoza-España: Acribia, S.A. Recuperado el 21 de Junio de 2022
- Howard Lea, J. R. (2003). *Fermented Beverage Production*. Springer Verlag. Obtenido de https://banner9.icesi.edu.co/ic_contenidos_pdf/adjuntos/202210/202210_11047_13052.pdf
- https://static.websguru.com.ar/var/m_6/65/65e/100190/1374415-clasificacionaceros.pdf. (s.f.). Recuperado el 14 de Agosto de 2021, de https://static.websguru.com.ar/var/m_6/65/65e/100190/1374415-clasificacionaceros.pdf:
- https://static.websguru.com.ar/var/m_6/65/65e/100190/1374415-clasificacionaceros.pdf
- Hylary, Q. G. (2014). *Microbiología, curva de crecimiento*. Obtenido de <https://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/curva-del-crecimiento.html>
- Indecopi. (1970). *NORMA TECNICA PERUANA, PARA LA ELABORACION DE VINAGRES. LIMA -PERÚ: COMISIÓN DE REGLAMENTOS - INDECOPI*.
- INIA. (2012). *agraria.pe*. Obtenido de <https://agraria.pe/noticias/cajamarca-reiniciara-produccion-de-frambuesas-21517>
- Instituto nacional de defensa del consumidor. (2009). *Para Néctares. Norma Técnica Peruana, 110,203*.
- Intagri. (2017). *El Cultivo De La Frambuesa. Serie Frutillas Núm. 13. Artículos Técnicos De Intagri. México*.
- Jara, C. I. (2009). *Desarrollo de métodos de Biología Molecular para el análisis directo de bacterias acéticas de vinagre. Universitat Rovira I Virgili: Departament de Bioquímica I Biotecnologia*.
- Juárez, M. y. (2006). *El mercado mundial de la frambuesa y la zarzamora*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337460076010.pdf>

- Krusong, W. Y. (2014). *Impact of high initial concentrations of acetic acid and ethanol on acetification rate in an internal Venturi injector bioreactor. Journal of Applied Microbiology*, 629-640.
- Labbe, M. (2007). *Tratamientos post fermentativos del vinagre: conservación en botella: envejecimiento acelerado y eliminación de plomo. Barcelona-España: Universidad Rovira i Virgili. Recuperado el 21 de Junio de 2022, de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8665/TesisDoctoral.pdf?sequence=1>*
- Llaguno. (1991). *Obtenido de Obtenido de <http://bdnhome.com/tecnologia/temas/vinagre.pdf>*
- Llaguno, P. (2004). *El vinagre de vino. Madrid. España: Investigaciones Científicas.*
- Lopez, E. A. (2000). *Respuesta dos variedades de frambuesa a cuatro densidades de siembra y cinco relaciones de N-P-K en el rendimiento y la calidad del fruto en San Andres Itzapata. Guatemala.*
- López, I. M. (2003). *Estudio de la calidad de los vinagres de la provincia de Córdoba. En: García, I. (Ed.). Segundas Jornadas de I+D+I en la Elaboración de Vinagre. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. España: Córdoba, España.*
- LÓPEZ, M. R. (2004). *Estandarización del proceso de clarificación del vino de feijoa (feijoa sellowiana berg) en el Municipio de Tibasosa. Tuitama: Universidad Nacional abierta y a distancia Ingeniería de Alimentos. Obtenido de <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/20122/mrojasl.pdf?sequence=1&isAllowed=y>*
- Lucía, A. A., & Katerine, V. O. (2014). *“Elaboración de vinagre a partir de chirimoya (Annona cherimola mill) que se produce en la zona de Urcuquí”. Ibarra – Ecuador. Recuperado el 8 de Abril de 2022, de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/2686>*
- M. Villar, N. A. (2019). *Determinación del grado de acidez de Se mide la cantidad de agente titulante gastado (o gasto de bureta) y se utiliza la prima. Artículo científico, Sevilla. Recuperado el 13 de Julio de 2023, de <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/95638/Determinaci%C3%B3n%20del%20Ogrado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>*

- Mandigan, M. M. (2002). *Brock, Biología de Los Microorganismos. P. Hall, Ed. 12° Edición. Madrid, España.*
- Marisela, H. P. (11). “Estudio de la influencia de los grados brix del chaguar mishque para la obtención de una bebida carbonatada tipo champagne”. *AMBATO – ECUADOR. Recuperado el 18 de Julio de 2023, de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3105/1/PAL259.pdf>*
- Mas, A. (2014). *Acetic acid bacteria and the production and quality of Wine Vinegar. The Scientific World Journal.*
- NAVARRO, Y. C. (2019). “Obtención y caracterización de vinagre a partir de banano de descarte de la Cooperativa Agraria de bananeros organicos Huayquiquira ubicada en el Valle del Chira – Cullana. Sullana-Perú. Recuperado el 1 de Diciembre de 2022, de <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12676/2622/IAIA-RAY-NAV-2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ndoye B, L. S.-D. (2006). *Thermoresistant properties of acetic acids bacteria isolated from tropical products of Sub-Saharan Africa and destined to industrial vinegar. Enzyme and Microbial Technology.*
- Ndoye, B. C. (2006). *Preservation of Vinegar Acetic Acid Bacteria. In L. Solieri y P. Giudicci. Milán, Italia: Vinegars of the World pp.*
- Ndoye, B. C. (2009). *Preservation of Vinegar Acetic Acid Bacteria. Vinegars of the World. Milan: Italia: Springer- Verlag.*
- Ndoye, B., S, L., & Dubois-Dauphin, R. T. (s.f.).
- Ochoa, S. (2015). *Producción de vinagre a partir de Mortiño (Vaccinium meridionale) mediante procesos fermentativos y seguimiento de su actividad antioxidante. Escuela de Biociencias. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/52087>*
- OCTAVE, L. (1993). *Ingeniería de las reacciones químicas. Mexico : Rverte S.A.*
- P., R., & Goranovic, D. (2008). *Biotechnological applications of acetic acid bacteria. Critical Reviews in Biotechnology.*
- Palacio, H. (1999). *Fabricación del Alcohol. Barcelona-España: Salvat Editores S.A. Recuperado el 21 de Junio de 2022*

- Park, Y. S. (1989). *Effects of Dissolved Oxygen and Acetic Acid Concentrations on Acetic Acid Production in Continuous Culture of Acetobacter aceti*. *Journa of Fermentation and Bioengineering*.
- Peixoto Marques, F. P. (2010). *Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais*. *Food Science and Technology* , 30.
- Peixoto Marques, F. P. (2010). *Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais*. *Food Science and Technology*, 31.
- Peixoto Marques, F. P. (2010). *Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais*. *Food Science and Technology (Campinas)*, 30.
- Pizarro. (2005). *Tesis, obtención de condiciones de elaboración de vinagre de arándanos (Vaccinium corymbosum) utilizando torta de prensa. valdivia – chile*. Obtenido de <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/55547>
- Porras Atencia, O. O. (2018). *Técnicas de Análisis Físicoquímico. I. U. de la P.- UNIPAZ*. Obtenido de <https://unipaz.edu.co/assets/14.manual-de-analisis-fisico-tomo-ii.pdf>
- Prada Gaitán, D. C. (2015). *Obtención de vinagre tipo gourmet a partir de la fermentación de uchuva (Physalis peruviana. Chile*. Obtenido de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55382>
- Quevedo, M. (2002). *Validación de un método potenciométrico para la determinación de nitrógeno amínico en hidrolizados proteicos de microalgas*.
- Rainieri, S., & Zambonelli, C. (2009). *Organisms Associated with Acetic Acid Bacteria in Vinegar Production*. *Vinegars of the World*. Milan: Milan: Springer.
- Ramírez-Gastón, R. A. (2007). *La frambuesa peruana: Una oportunidad prometedora Ingeniería Industria*. Lima - Peru.
- Riaño Cabrera, N. (2007). *Fundamentos de Química Analítica Básica*. (U. de Caldas (ed.)). Obtenido de <https://books.google.com.pe/books?id=CfxqMXYfu7wC&printsec=frontcover&dq=Fun>
- RIVERA, S. (2011). *obtención de vinagre a partir de biofermentacion de residuos* . Quito - Ecuador.

- Rivera, S. (2011). *Obtención de vinagre a partir de la biofermentación de residuos de banano y otras frutas para su industrialización*. Quito : Universidad de las Américas.
- Rúben, O. S. (2008). "Evaluación de la calidad del vinagre comercializado en la ciudad de Tingo María". Tingo María .. Perú. Obtenido de <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14292/244/FIA-166.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rubio, J. C., Lena, G. G., & Ara, M. C. (2014). *El cultivo de frambuesa*. España: Coordinación editorial: M^a del Pilar Oro García. Obtenido de <http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf>
- Schuller, G. H. (2002). *Gluconacetobacter entanii* sp nov., isolated from submerged high-acid industrial vinegar fermentations. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56.
- Silva, O. R. (2008). *Evaluación de la calidad del vinagre comercializado en la ciudad de Tingo María*. Perú. Obtenido de <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/244/FIA-166.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Taipe Escobar, K. M. (2014). *Tesis, Efecto de la levadura (Saccharomyces cerevisiae) y los grados brix en las características del vinagre de (Ananas comosus l.)*. descarté en río negro – Satipo. Junín, Perú. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12894/1891>
- Taipe, K. (2014). "Efecto de la Levadura (*Saccharomyces Cerevisiae*) y los Grados Brix en las Características del Vinagre de *Ananas Comosus L.* Descarte en el Río Negro_ SATIPO. Universidad Nacional del Centro del Perú: Facultad de Ciencias Agrarias/Escuela Académica Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias.
- Tan, C. (2005). *Vinegar fermentation*. University of Louisiana at Lafayette.
- Tesfaye, & Morales, M. (2002). *Technology, authenticity and quality evaluation*. *Trends in Food Science y Technology*.
- Tesfaye, W. M. (2002). *wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation*. *Trends in Food Science y Technology*.

- Tesfaye, W. M.-P. (2009). *Improvement of wine vinegar elaboration and quality analysis: instrumental and human sensory evaluation. Food Reviews International*, 142-156.
- Togores, H. (2018). *Enología I "Tratado de enología". Mundial -prensa.*
- Toit, D., & Pretorius. (2002). *The occurrence , control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking. Annals of Microbiology.*
- Torres, M. (2007). *Fermentación acética. Obtenido de limentos.blogia.com/2007/112901-fermentacion-acetica.php.*
- Trček, J. J. (2007). *The highly tolerant acetic acid bacterium Gluconacetobacter europaeus adapts to the presence of acetic acid by changes in lipid composition. Extremophiles*, 627-235.
- Vallejos. (2016). *Diseño de procedimientos operacionales Estandarizado de sanitización (poes) para la producción de vinagre de manzana "VINATU" . Quito.*
- Vazques, c. (2015). *Aprender sobre Vino: Trasiago del Vino. Obtenido de <https://devinosconcarla.vinopremier.com/aprender-sobre-vino-trasiago-del-vino/>*
- Vazquez, H. y. (2007). *Fermentacion alcoholica. Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícola. Obtenido de <http://www.ejournal.unam.mx/ict/vol0804/ICT000800404.pdf>*
- Vicente. (1994). *Manual de industrias alimetarias. Recuperado el 21 de Junio de 2022, de http://hackmitin.espora.org/free_beer_as_in_freedom/Manua_Cerveza_Casera.odt.*
- Wai-Ho, & C., L. (2017). *Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. Food Chemistry.*
- Wine., I. O. (2009). *Compendium of international methods of wine and must analysis, O.I.V. (International organisation of)- Francia .*
- ZARE, E. J. (2014). *Efecto de los niveles de bencilaminopurina en el establecimiento in vitro a partir de nudos de frambuesa (rubus idaeus L.). TRUJILLO – PERÚ. Obtenido de <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3917/TESIS%20MAESTRIA%20-%20ELMIS%20GARC%C3%8DA%20ZARE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>*

ZHENG, S. Y. (2005). *Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. International Journal of Food Science and Technology.*

Zilioli, E. (2011). *Composición química y propiedades funcionales en el procesamiento de vinagres. Obtenido de <https://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/reposip/256617>.*

XI. Anexos

Anexo 1. Vivero santa Fe de Cajamarca, como Gerente general el Ing. Edgardo auspiciador de la materia prima.



Anexo 2. Análisis fisicoquímico



Anexo 3. Fermentación del mosto alcohólico de frambuesa por 30 días.



Anexo 4. Evolución fisicoquímica cada cuatro días



Anexo 5. Ficha técnica de *Acetobacter aceti*,

Ingredientes: Bacterias (*Acetobacter aceti*) y alcohol medicinal de 70°

La temperatura óptima de crecimiento es de 25 - 30 °C, aunque también pueden desarrollarse a temperaturas más altas; algunas especies lo hacen a 38 – 40 ° y otras, a temperaturas más bajas (10 °C), aunque su crecimiento es muy débil. El pH óptimo de crecimiento está entre 5 y 6; sin embargo, la mayoría de las cepas pueden crecer a pH inferiores a 5, incluso a pH 2 – 2,2 (Du Toit y Pretorius 2002), pero la tolerancia a los bajos pH depende de otros parámetros, como la concentración de etanol y la disponibilidad de oxígeno (Gullo M. D., 2009).

Anexo 6. Ficha técnica de la gelatina

Según, (LÓPEZ, 2004)

Generalidades Descripción:

gelatina polvo calidad para alimentos ph Eur, BP, NIF Usos: Se utiliza en productos alimentación cuya fase era la gelatina.

Características: Físico químicas

Aspecto: Polvo granular sin color hasta amarillento castaño.

Aspecto de la solución (1% de agua): no más intenso el coloreado que la solución de referencia G4 y no más intensa en apariencia que la solución de referencia IV (pH Eur)

Identidad:

A: colorido Pasa la prueba

B: Sedimento: Pasa la prueba

C: Precipitación radiactiva:

pasa la prueba Fragancia y agua - sustancias insolubles: pasa a prueba

Ph valor (1%; agua) 3.8 - 7.6

Dióxido de azufre $\leq 0.004\%$

Metales pesados (como plomo Pb) $\leq 0.001\%$

Arsénico (As) ≤ 0.000085

Peroxido (como H₂O₂) $\leq 0.01\%$

Acido ascórbico, P ácido

hidroxidofenzoico (P ester ácido hidroxidofenzoico) no detectable

Capacidad de gelatinización pasa la prueba

Ceniza (600°C) $\leq 2.0\%$

Pérdida en secado (105 °C) $\leq 15.0\%$

Tamaño de la partícula (< 800 μm) $\leq 99\%$

Especies de salmonera (ausencia en 1g) pasa la prueba E. Coli (ausencia en 0.1 g) pasa la prueba.

Anexo 7. Norma técnica peruana para vinagres



COMISION DE REGLAMENTOS TECNICOS Y COMERCIALES

NORMA TECNICA PERUANA

VINAGRE

1. OBJETO

1.1 La presente Norma establece las definiciones, clasificación y métodos de ensayo y los requisitos del vinagre.

1.2 Los vinagres importados también deben cumplir los requisitos señalados en la presente Norma.

2. DEFINICIONES Y CLASIFICACIÓN

2.1 **Vinagre:** Es el producto obtenido por la fermentación acética de bebidas alcohólicas o de diluciones de alcohol etílico.

2.2 Por su origen los vinagres se clasifican en:

2.2.1 **Vinagre de vino:** Es el obtenido por la fermentación acética del vino.

2.2.2 **Vinagre de alcohol:** Es el obtenido por la fermentación acética de la dilución de alcohol etílico rectificado.

2.2.3 **Otros vinagres:** Son los obtenidos por la fermentación acética de bebidas alcohólicas de cereales, de frutas o de hidromiel.

3. ELABORACIÓN

3.1 Para la elaboración de vinagre se permiten las operaciones y adiciones siguientes:

- 3.1.1 La coloración del vinagre con colorantes vegetales naturales.
- 3.1.2 El empleo de sustancias aromáticas no nocivas a la salud, admitidas por la Autoridad competente.
- 3.1.3 La pasterización.
- 3.1.4 El empleo de sustancias debidamente autorizadas con fines de decoloración o de clarificación.
- 3.1.5 El empleo de anhídrido sulfuroso a la dosis máxima de 450 miligramos por litro como SO₂ total y 50 miligramos por litro como SO₂ libre.
- 3.1.6 La adición de no más de 200 mg por litro de fosfatos y sulfatos alcalinos o alcalinos-terreos.
- 3.1.7 La adición de cloruro de sodio en tal cantidad que el producto final no contenga más de 1 gramo por litro.
- 3.2 En la elaboración de vinagre no se permiten las operaciones y adiciones siguientes:
- 3.2.1 El empleo de ácido acético u otros ácidos sean minerales u orgánicos.
- 3.2.2 La adición de materias colorantes naturales o artificiales excepto la permitida en 3.1.1.
- 3.2.3 La mezcla de vinagres de distinto origen.
- 3.2.4 El empleo de conservadores a excepción del anhídrido sulfuroso.

3.2.5 El empleo de esencias, productos sintéticos u otras sustancias extrañas no autorizadas.

4. REQUISITOS

El vinagre de vino debe cumplir los siguientes requisitos:

4.1.1 Caracteres organolépticos

- Aspecto : Limpido.
- Olor : Característico.
- Sabor : Característico.
- Color : Característico del vino de procedencia.

4.1.2 Caracteres fisico-químicos

Densidad a 20 °C	1,010 a 1,023
pH potenciométrico, mínimo	2,8
Acidez total en gramos de ácido acético por 100 ml, mínimo	4
Acidez fija en gramos de ácido tartárico por 100 ml	0,1 a 0,3
Alcohol en volumen a 20 °C, máximo	1 %
Extracto seco a 100 °C, mínimo	1,2 %
Extracto libre de azúcares reductores, mínimo	0,7 %
Cenizas totales, mínimo	0,1 %

Alcalinidad de las cenizas en mililitros de ácido normal, mínimo	2,1 %
Cloruro de sodio, máximo	0,1 %
Sulfatos expresados en KHSO_4 , máximo	0,1%

4.1.3 Caracteres microbiológicos

- Estar libre de gérmenes y bacterias patógenas.
- Estar libre de anguilulas, vegetales criptógamicos y otros parásitos o insectos.

4.2 El vinagre de alcohol debe cumplir los siguientes requisitos.

4.2.1 Caracteres organolépticos

- Aspecto : Límpido.
- Olor : Característico.
- Sabor : Característico.
- Color : Incoloro o amarillento.

4.2.2 Caracteres físico-químicos

Densidad a 20 °C	1,005 a 1,013
pH potenciométrico, mínimo	2,8
Acidez total en gramos de ácido acético por 100 ml, mínimo	4
Alcohol en volumen a 20 °C, máximo	1 %

Extracto seco a 100 °C	0.06 % a 0.30 %
Cenizas, mínimo	0.02 %
Reacción de cenizas	Neutra
Furfural	Exento

5. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

5.1 Las muestras se extraerán de conformidad con la Norma: Bebidas Alcohólicas. Extracción de muestras..

6. MÉTODOS DE ENSAYO

6.1 Los ensayos se efectuarán conforme a las siguientes Normas:

6.1.1 Bebidas Alcohólicas. Método de arbitraje para determinar la densidad y la densidad relativa.

6.1.2 Bebidas Alcohólicas. Método usual por picnometría para determinar la densidad y la densidad relativa.

6.1.3 Bebidas Alcohólicas. Método usual por aerometría para determinar la densidad y la densidad relativa.

6.1.4 Bebidas Alcohólicas. Método usual empleando balanza hidrostática para determinar la densidad relativa.

6.1.5 Vinagre. Método para determinar el extracto seco total.

6.1.6 Vinagre. Método para determinar las cenizas.

Extracto seco a 100 °C	0.06 % a 0.30 %
Cenizas, mínimo	0.02 %
Reacción de cenizas	Neutra
Furfural	Exento

5. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

5.1 Las muestras se extraerán de conformidad con la Norma: Bebidas Alcohólicas. Extracción de muestras..

6. MÉTODOS DE ENSAYO

6.1 Los ensayos se efectuarán conforme a las siguientes Normas:

6.1.1 Bebidas Alcohólicas. Método de arbitraje para determinar la densidad y la densidad relativa.

6.1.2 Bebidas Alcohólicas. Método usual por picnometría para determinar la densidad y la densidad relativa.

6.1.3 Bebidas Alcohólicas. Método usual por aerometría para determinar la densidad y la densidad relativa.

6.1.4 Bebidas Alcohólicas. Método usual empleando balanza hidrostática para determinar la densidad relativa.

6.1.5 Vinagre. Método para determinar el extracto seco total.

6.1.6 Vinagre. Método para determinar las cenizas.

- 6.1.7 Vinagre. Método para determinar la alcalinidad de las cenizas.
- 6.1.8 Bebidas Alcohólicas. Método usual para determinar el grado alcohólico volumétrico.
- 6.1.9 Bebidas Alcohólicas. Método de arbitraje para determinar la acidez total.
 - 6.1.9.1 Los resultados se expresarán en miliequivalentes y en gramos de ácido acético por ciento.
- 6.1.10 Bebidas Alcohólicas. Método usual para determinar la acidez total.
 - 6.1.10.1 Los resultados se expresarán en miliequivalentes y en gramos de ácido acético por ciento.
- 6.1.11 Vinagre. Método para determinar la acidez fija.
- 6.1.12 Vinagre. Método para determinar por cálculo la acidez volátil.
- 6.1.13 Vinagre. Método para determinar las sustancias reductores totales.
- 6.1.14 Vinos. Método rápido para determinar el anhídrido sulfuroso libre y total.
- 6.1.15 Vinagre. Método para identificación de colorantes.
- 6.1.16 Vinagre. Método para determinar la presencia de furfural.
- 6.1.17 Vinagre. Método para determinar la presencia de ácidos minerales u orgánicos diferentes del acético.

7. ENVASE Y ROTULADO

7.1 **Envase:** Deberá estar de acuerdo con la Norma: Bebidas Alcohólicas. Capacidad de envases.

- a) Nombre y dirección del productor o del embotellador.
- b) Su origen de conformidad con 2.2.
- c) Si ha sido coloreado artificialmente, en el caso del vinagre de alcohol.
- d) Cualquier otro dato exigido por las disposiciones legales.
