

Estudio de tres proporciones de vino/vinagre madre en un modelo de  
generación por percolación continua de vinagre en Zamorano

Mauricio Guerra Funes

ZAMORANO

Carrera de Agroindustria

Diciembre 2001

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Estudio de tres proporciones de vino/vinagre madre en un modelo de generación por percolación continua de vinagre en Zamorano

Tesis presentada como requisito parcial  
para optar al título de Ingeniero Agrónomo  
en el Grado académico de Licenciatura.

Por:

Mauricio Guerra Funes

Honduras: Diciembre, 2001

El autor concede a Zamorano permiso  
para reproducir y distribuir copias de este  
trabajo para fines educativos. Para otras personas  
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor

---

Mauricio Guerra

Zamorano, Honduras  
Diciembre, 2001

## Dedicatoria

- Le dedico este trabajo a Dios siempre misericordioso, que inspire a nosotros los hombre que trabajamos la tierra para así sembrar nuestro propio desarrollo.
- A mis padres Emilio Guerra y Leticia Funes de Guerra.
- A mis hermanos: Leticia, Franco e Irene.

## Agradecimientos

Agradezco a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

Al profesor Rodolfo Cojulún por sus consejos oportunos y concretos, por el tiempo invertido, su paciencia y su gran ayuda.

Agradezco por su tiempo y ayuda a Cástula Cerrato, Raúl Espinal, Magdalena, Susana Sierra, Dra. Claudia García.

Estudio de tres proporciones de vino/vinagre madre en un modelo de  
generación por percolación continua de vinagre en Zamorano

Presentado por:

Mauricio Guerra Funes

Aprobada:

\_\_\_\_\_  
Rodolfo Cojulún, M.Sc.  
Asesor Principal

\_\_\_\_\_  
Claudia García, Ph.D  
Coordinadora de la Carrera  
AGROINDUSTRIA

—  
\_\_\_\_\_  
Cástula Cerrato, Ing.  
Asesor.

\_\_\_\_\_  
Antonio Flores, Ph.D  
Decano

\_\_\_\_\_  
Raúl Espinal, Ph.D  
Asesor

\_\_\_\_\_  
Keith L. Andrews, Ph.D  
Director General

\_\_\_\_\_  
Aurelio Revilla, M.S.A.  
Coordinador PIA

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro**

1.	Producción promedio de ácido acético.....	17
2.	Porcentaje de alcohol utilizado por tratamiento.....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

### **Figura**

1.	Dibujo de generador empleado en este experimento.....	8
2.	Promedio de acidez del tratamiento 50% vino / 50% vinagre madre.....	12
3.	Promedio de acidez del tratamiento 25% vino/ 75% vinagre madre.....	13
4.	Promedio de acidez del tratamiento 75% vino / 25% vinagre madre.....	14
5.	Comparación de acidez titulable entre tratamientos.....	15
6.	Promedio de producción acumulada de ácido acético.....	16

## ÍNDICE DE ANEXOS

### **Anexos**

1.	Fotografías del sistema de percolación continua.....	23
2.	Dibujo de diseño de un sistema de generación por percolación.....	25
3.	Gráfica de diseño de sistema Frings®.....	26
4.	Datos primer tratamiento.....	27
5.	Datos segundo tratamiento.....	28
6.	Datos tercer tratamiento.....	29
7.	Salida “S.A.S.”® (promedio de producción por hora).....	30

**Anexo 1.****Sistema completo**

Sistema diseñado y  
construido para este  
experimento.

Capacidad de sistema 227  
litros por hora

Tina de Viruta con inyección de aire forzado



Tina de viruta con tubería de cristal (plástico) donde ingresa aire fresco al sistema.

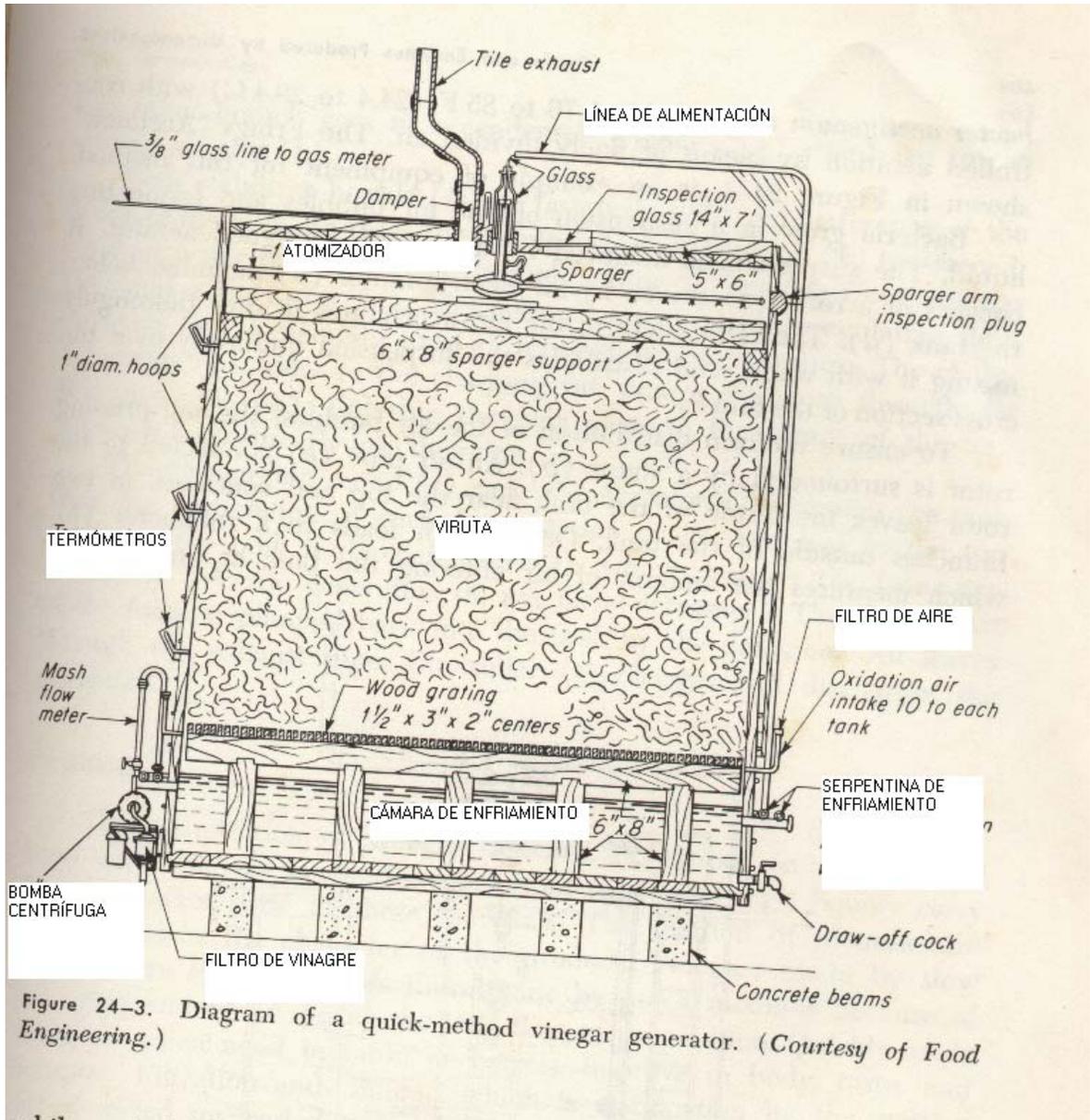
Cont. Anexo 1. Sistema "Orleans"



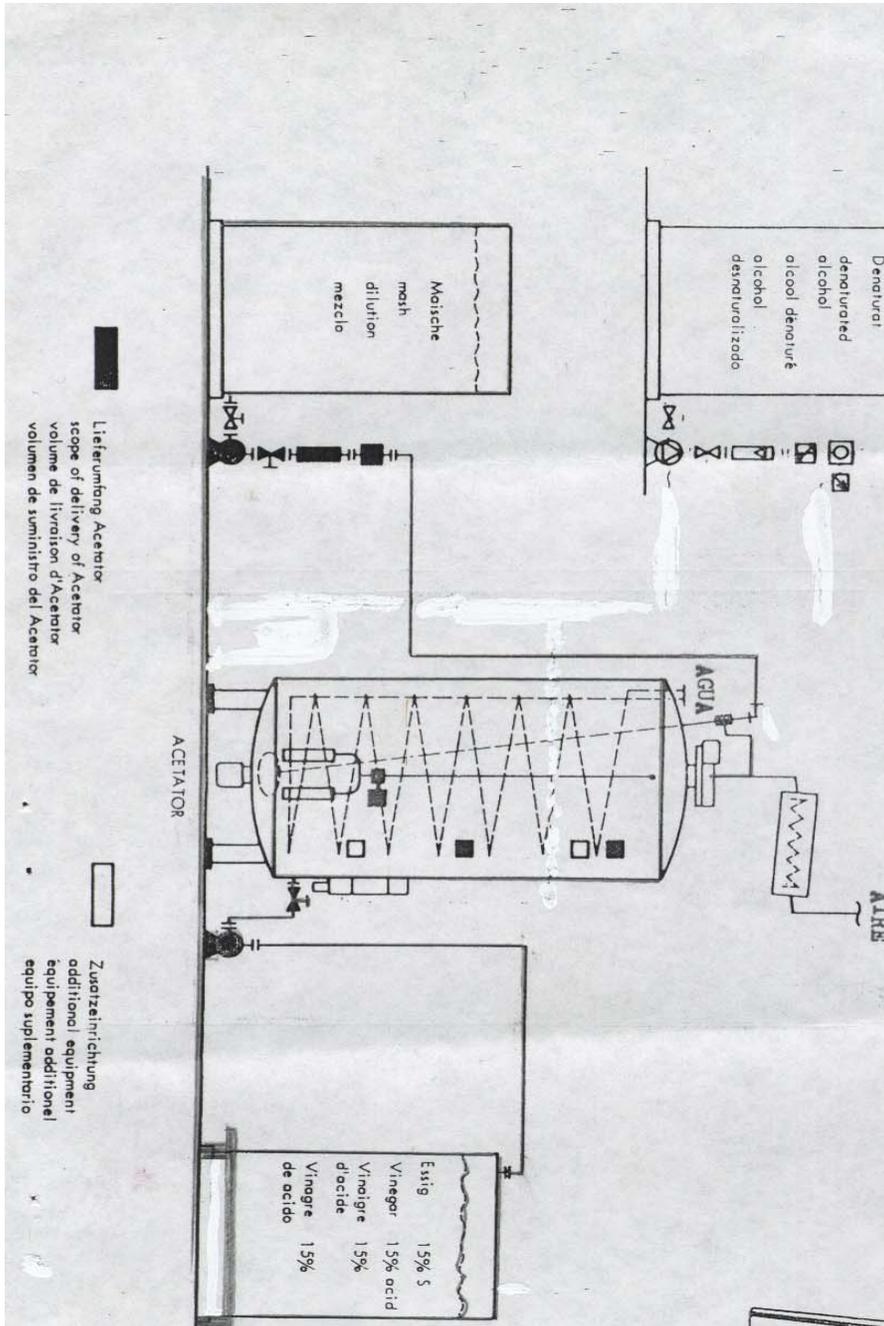
Este es el cuarto de fermentación acética en la planta hortofrutícola, aquí se lleva a cabo la producción de vinagre natural por medio del sistema "Orleans". Se emplean varios barriles para producir la cantidad de vinagre deseada.

## **Anexo 2.**

### **Típico diseño de un generador por percolación comercial**



Fuente: Frazier, W. (1967)



**Anexo 4.****Datos primer Tratamiento: 50%vino/50% vinagre madre.**

<b>1era. Repet</b>	<b>2nda.</b>	<b>3era.</b>	<b>promedio hora</b>	<b>incremento</b>	<b>incremento en prod.</b>
4.96	4.53	4.21	4.57	0	0
4.96	4.54	4.21	4.57	6	0
4.91	4.53	4.22	4.55	12	0
4.968	4.54	4.21	4.57	18	0
4.96	4.54	4.22	4.57	24	0
4.968	4.54	4.23	4.58	28	0.001
4.968	4.53	4.21	4.57	32	-0.0011
4.968	4.53	4.22	4.57	36	0
4.914	4.53	4.22	4.55	40	-0.00227
4.968	4.68	4.21	4.62	44	0.032
4.964	4.75	4.31	4.67	45	0.025
4.968	4.84	4.33	4.71	46	0.017
4.962	5.05	4.45	4.82	47	0.049
4.962	5.34	4.63	4.98	48	0.071
4.964	5.7	4.81	5.16	49	0.082
4.962	5.85	4.95	5.25	50	0.044
4.968	5.987	4.98	5.31	51	0.026
5.2	6.1	4.99	5.43	52	0.054
5.765	6.27	5.23	5.76	53	0.148
6.002	6.587	5.52	6.04	54	0.128
6.6	6.786	5.61	6.33	55	0.134
6.9	6.91	5.87	6.56	56	0.104
7.15	7.05	5.91	6.70	57	0.065
7.26	7.15	6.01	6.81	58	0.047
7.41	7.22	6.56	7.06	59	0.117
7.82	7.35	6.84	7.34	60	0.124
7.82	7.48	7.1	7.47	61	0.059
7.8	7.48	7.21	7.50	62	0.014
		7.21			
		7.21			
		7.21			

**Anexo 5.**

Datos segundo tratamiento: 25% vino/ 75% vinagre madre

<b>Hora</b>	<b>1 era. Repet</b>	<b>2nda.</b>	<b>3 era</b>	<b>Promedio</b>	<b>crecimiento</b>	<b>promedio de producción</b>
0	5.94	5.5	5.46	5.63	0	0
6	5.94	5.5	5.46	5.63	0	0
10	5.94	5.6	5.46	5.67	0.01515	0.01515
15	6.03	5.8	5.54	5.79	0.056055	0.071205
18	6.264	6.01	5.75	6.01	0.099081	0.170286
20	6.31	6.24	5.94	6.16	0.070599	0.240885
22	6.54	6.37	6.09	6.33	0.077265	0.31815
24	6.89	6.48	6.22	6.53	0.089385	0.407535
26	6.98	6.6	6.35	6.64	0.05151	0.459045
28	7.002	6.79	6.44	6.74	0.045753	0.504798
30	7.1	6.9	6.72	6.91	0.073932	0.57873
31	7.19	7.07	6.83	7.03	0.056055	0.634785
32	7.33	7.17	6.99	7.16	0.0606	0.695385
33	7.44	7.23	7.15	7.27	0.049995	0.74538
34	7.48	7.28	7.18	7.31	0.01818	0.76356
35	7.48	7.28	7.18	7.31	0	0.76356

**Anexo 6.**

Datos Tercer Tratamiento : 75% vino/ 25% vinagre madre

<b>horas</b>	<b>repet 1</b>	<b>repet 2</b>	<b>Repet 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>crecimiento</b>	<b>creci acumulado</b>
0	2.5	1.61	1.48	1.86	0	0
6	2.5	1.61	1.48	1.86	0	0
12	2.5	1.63	1.53	1.89	0.0106	0.010605
18	2.58	1.71	1.78	2.02	0.0621	0.07272
24	2.66	1.77	1.93	2.12	0.0439	0.116655
28	2.71	1.94	2.09	2.25	0.0576	0.174225
32	2.78	2.02	2.15	2.32	0.0318	0.20604
36	2.9	2.17	2.33	2.47	0.0682	0.274215
40	3.1	2.22	2.51	2.61	0.0651	0.33936
44	3.2	2.55	2.6	2.78	0.0788	0.41814
48	3.28	2.63	2.78	2.90	0.0515	0.46965
52	3.33	2.81	2.86	3.00	0.0470	0.516615
56	3.54	3.02	3.09	3.22	0.0985	0.61509
60	3.78	3.11	3.15	3.35	0.0591	0.674175
64	3.81	3.28	3.21	3.43	0.0394	0.713565
68	4.09	3.56	3.32	3.66	0.1015	0.81507
70	4.23	3.81	3.57	3.87	0.0970	0.91203
72	4.57	3.98	3.79	4.11	0.1106	1.022625
74	4.82	4.12	4.05	4.33	0.0985	1.1211
76	5.11	4.27	4.15	4.51	0.0818	1.20291
77	5.19	4.51	4.26	4.65	0.0651	1.268055
78	5.33	4.79	4.49	4.87	0.0985	1.36653
79	5.56	4.97	4.69	5.07	0.0924	1.458945
80	5.81	5.11	4.8	5.24	0.0757	1.534695
81	5.94	5.33	4.99	5.42	0.0818	1.616505
82	6	5.39	5.19	5.53	0.0485	1.664985
83	6.09	5.44	5.26	5.60	0.0318	1.6968
84	6.09	5.44	5.26	5.60	0.0000	1.6968

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Página de firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Resumen.....	vi
Nota de Prensa.....	vii
Contenido.....	viii
Índice de Cuadros.....	ix
Índice de Figuras.....	x
Índice de Anexos.....	xi
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>1.1 ANTECEDENTES.....</b>	<b>18</b>
<b>1.2 JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>19</b>
<b>1.3 LÍMITES DEL ESTUDIO.....</b>	<b>19</b>
<b>1.4 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 BACTERIAS ACÉTICAS.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2 MÉTODO “ORLEANS”.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3 FERMENTACIÓN SUMERGIDA.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4 MÉTODO DE GENERACIÓN POR PERCOLACIÓN CONTINUA.....</b>	<b>21</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 LUGAR DE REALIZACIÓN.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2 ETAPAS DEL ESTUDIO.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 DISEÑO Y FABRICACIÓN DEL SISTEMA.....</b>	<b>24</b>
<b>3.4 METODOLOGÍA.....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Características del vino usado.....	26
3.4.2 Características del vinagre madre.....	26
<b>3.5 ESTABLECIMIENTO DE TRATAMIENTOS.....</b>	<b>26</b>
3.5.1 Preparación de la materia prima.....	26
3.5.2 Establecimiento de primer tratamiento: (50:50) vinagre madre/vino.....	27
3.5.3 Establecimiento de segundo tratamiento: (75:25) vinagre madre/vino.....	27
3.5.4 Establecimiento de tercer tratamiento: (25:75) vinagre madre/vino.....	27
3.5.5 Medición de la evolución de acidez.....	27
<b>3.6 VARIABLES A MEDIR.....</b>	<b>27</b>
<b>3.7 DISEÑO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>28</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>36</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>37</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>38</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

Según el Codex Alimentarius (1994), el vinagre es un líquido de sabor ácido preparado por dos procesos fermentativos sucesivos, que puede ser consumido por humanos y que sirve como condimento y preservante ácido.

El vinagre es un ingrediente muy frecuente en la cocina hondureña, sin embargo, en Honduras más del 95% del vinagre usado en los alimentos es de origen artificial (síntesis de petróleo)<sup>1</sup>. Según Guzmán (1993), se sabe que el vinagre de origen artificial es potencialmente cancerígeno y a pesar de esto es consumido por la población por no tener otra alternativa a su alcance. El vinagre artificial es actualmente prohibido por el Codex Alimentarius y también por el ministerio de Salud Pública de Honduras. Según la Secretaría de salud de Honduras (1997), el vinagre será únicamente el resultado de la fermentación acética de frutas u hortalizas. La simple presencia de ácido acético en estas fábricas de vinagre se considerará una infracción a las normas sanitarias.

En Honduras existe una cláusula de excepción a esta ley en la cual especifica que hasta comprobar la existencia suficiente de vinagre natural de frutas para abastecer la demanda nacional, entrará en vigencia dicha ley. No existe en Honduras una producción significativa de vinagre natural de frutas y es por eso que dependemos de la importación de una fuerte cantidad de ácido acético glacial-artificial.

### 1.1 ANTECEDENTES

La compañía Lever de Honduras actualmente posee un sistema de producción continua de vinagre natural del método marca Frings® basado en la fermentación sumergida. Su producción actual es destinada solamente para consumo interno dentro de la misma empresa, debido a que anteriormente no pudo competir en el mercado nacional contra los vinagres artificiales porque el ministerio de Salud Pública no aprobó su fuente de ethanol como “natural”<sup>2</sup>. Para lograr que la ley prohibitiva del vinagre artificial entre en vigencia se necesita una fuente de etanol “natural” a base de fermentación de frutas y una capacidad de más de 1.5 millones de litros de vinagre natural por año.

---

<sup>1</sup> Sabillón, R. 2001 Venta de Vinagre (entrevista). San Pedro Sula, Honduras, Especies Don Julio. Comunicación Personal.

<sup>2</sup> Castro, M. 2001. Producción de vinagre (teléfono). Comayagua.

Hasta hoy en día no se había probado en la Escuela Agrícola Panamericana un prototipo para producir vinagre natural por medio de generación por percolación continua.

## **1.2 JUSTIFICACIÓN**

En Honduras no existe una producción de vinagre natural a escala comercial grande y es por eso que el lograr una generación de vinagre por percolación continua significa satisfacer un mercado potencial grande.

El sistema de generación por percolación requiere de una inversión relativamente baja, por lo que representa una oportunidad para muchos pequeños y medianos empresarios en diversas comunidades del país.

El determinar la mejor proporción vino / vinagre madre permitirá avanzar en el diseño de un sistema Zamorano de generación de vinagre natural, factible de construir, eficiente y fácilmente operable.

## **1.3 LÍMITES DEL ESTUDIO**

- El área expuesta de la matriz en donde ocurre la oxidación del etanol es invariable.
- No se dispone de una cepa de bacterias acetificantes desarrollada específicamente para ser usada en éste sistema.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Establecer un sistema de generación de vinagre natural por percolación continua.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Construir un aparato funcional para la generación de vinagre natural por precolación continua.
2. Determinar si existe diferencia significativa entre las siguientes proporciones de vino / vinagre madre: 50:50, 75:25 y 25:75.
3. Lograr una eficiencia de conversión de por lo menos 50% de etanol a ácido acético.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 BACTERIAS ACÉTICAS

Las bacterias utilizadas para la producción de vinagre son las *Acetobacter aceti*. Estas bacterias son aeróbicas, gram–negativas, elipsoidales o rectas. Estas bacterias se especializan en convertir acetato o lactato en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Banwart,1989).

Desroiser (1970), afirma que estas bacterias acéticas requieren una sustanciosa cantidad de oxígeno para sus actividades y crecimiento. El cambio ocurrido es descrito en la siguiente ecuación:



La oxidación de etanol a ácido acético tiene la particularidad de ser una reacción exotérmica, con una entalpía de 118 kcal/mol. Por lo tanto puede ser necesario la instalación de mecanismos de disipación de calor en el fermentador, como serpentines de enfriamiento por agua (Garibay et al.,1993).

Según Banwart (1989), teóricamente, 1.0% de alcohol debería convertirse en 1.3% ácido acético. Sin embargo, la industria actualmente esta obteniendo una eficiencia de conversión alrededor de 0.8%.

### 2.2 MÉTODO “ORLEANS”

El proceso para producir vinagre natural de frutas actualmente usado en el Zamorano es el llamado “Orleans”, el cual dura entre cuatro y seis semanas para producir vinagre. Dicho proceso es lento, demanda bastante espacio y recipientes de fermentación como para ser atractivo para una producción masiva. El método “Orleans” ha sido el más usado mundialmente durante varios siglos para la producción de vinagre natural. Dicho sistema es relativamente la manera más barata y natural de producir vinagre a pequeña escala<sup>1</sup>.

Este sistema consiste en la fermentación de vinos en barriles de madera o plástico. Un cultivo de inicio o vinagre madre es alimentado con vino, el proceso se mantiene hasta que se complete la acetificación. Una vez alcanzada la acidez deseada, se cosechará aproximadamente un tercio del vinagre y se reemplaza con vino fresco. Este proceso

---

<sup>1</sup> Cojulún, R. 2001. Producción de vinagre natural. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Comunicación personal.

continuará repitiéndose siempre y cuando se obtenga un vinagre de la calidad deseada en un tiempo normal. No es fácil obtener un cultivo madre de óptimas características, es por eso que cuando se obtiene uno el operador va a cuidar mucho de él. Se puede presentar un problema con este método debido a la caída de la capa gelatinosa. La caída de dicha capa puede prolongar más el proceso de acetificación. Para evitar este problema estos sistemas “Orleans” han sido equipados con una estructura flotante que mantenga al cultivo flotando y así asegurar su exposición al oxígeno (Frazier, 1967).

### 2.3 FERMENTACIÓN SUMERGIDA

El sistema de fermentación sumergida es el método moderno para la producción comercial de vinagre natural, fue ideado por Frings®, quien sigue siendo el principal fabricante de equipos y suministros para la elaboración de vinagre natural. Este es un sistema práctico y eficiente en cuanto a tiempo, espacio de planta de procesamiento y mano de obra para lograr una producción a gran escala de vinagre natural (ver anexo 3). Las acetobacterias, son responsables de la conversión de alcohol a ácido acético y son mantenidas suspendidas en la mezcla de alcohol, vinagre madre y aire debido al efecto de una turbina de aireación especialmente diseñada por Frings® para este fin. Antes que apareciera el sistema Frings®, el proceso de elaboración de vinagre mediante fermentación sumergida había sido atrasada debido a que no se lograba mantener en la solución una concentración suficiente de oxígeno (Shiun Lu y Woodroof, 1988).

### 2.4 MÉTODO DE GENERACIÓN POR PERCOLACIÓN CONTINUA

Según Boerhaave (1966), en el proceso de elaboración de vinagre, la tasa de producción de ácido acético es directamente proporcional a la cantidad de superficie expuesta al aire. Shiun Lu y Woodroof (1988), afirman que ésta es la razón por la cual los métodos subsiguientes al “Orleans” tratan de introducir más aire a la mezcla.

El método de generación por percolación continua “*quick vinegar process*” consiste en una oxigenación forzada, lo que disminuye el tiempo de producción si se le compara al método “Orleans”. Debe usarse un material, como viruta de madera sin color ni resinas, como medio en el cual se mantienen las acetobacterias, a través de él se percola la mezcla de vino / vinagre madre mientras se inyecta aire fresco al sistema. La fermentación es usualmente llevada a cabo en un recipiente que consiste de dos cámaras. La cámara superior esta llena casi completamente de algún material sólido. El material sólido usado puede consistir en viruta. La cámara superior es dividida de la inferior por una tela que permite que pase el líquido y el aire. El aire es inyectado cerca de ésta tela divisoria, luego pasa entre la viruta y escapa por la parte superior de la cámara. Los líquidos fermentables son uniformemente distribuidos sobre el material superior y es dejado percolar entre el material sólido. El líquido resultante es luego bombeado de nuevo hacia la parte superior y re-circulado hasta que el contenido de alcohol es reducido a un nivel de entre 0.5 y 0.3%, en ése momento se alcanza el máximo de acidez posible para un sistema continuo(ver anexo 2). Al llegar a obtener una acidez máxima parte del vinagre es cosechado y terminado como producto comercial, mientras la otra parte se constituye

como el nuevo “vinagre madre” al que se le mezcla con vino fresco para reiniciar el ciclo de acetificación (Frazier, 1967).

Según Potter (1986) las operaciones con generadores de vinagre demandan de un cuidado intensivo debido a que las condiciones aeróbicas pueden estimular desarrollo de moho que puede desdoblarse el ácido acético en dióxido de carbono y agua.

El sistema que se empleó en este experimento se basa en éste método (quick vinegar process). Este proceso de generación continua (por percolación) parece ser el más adecuado para la IHF de la Zamoempresa de cultivos intensivos en dado caso se intentara un nivel masivo de producción. La razón es debido a su mayor eficiencia con respecto al tiempo, espacio físico y exposición superficial de la mezcla al aire comparado al método “Orleans”. Siendo el tiempo un factor muy importante en la producción continua del vinagre natural, es importante establecer que proporciones de vino/ vinagre madre nos ayudaría a la producción de un vinagre natural en menos tiempo.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

1. Una bomba sumergible para líquido con una capacidad mínima de 227 litros por hora.
2. Un compresor de aire de por lo menos 1 HP que ingrese aprox.  $9.16 \text{ kg/cm}^2$ .
3. Vino de frutas o tomate con aproximadamente 10% alcohol.
4. Vinagre madre con un mínimo de 8% ácido acético.
5. Viruta de madera sin colores y olores impregnables.
6. Un recipiente o barril de plástico con capacidad de 190 litros.
7. Dos tinas con capacidad de 40 litros.
8. Mangueras tipo cristal para líquidos.
9. Un destilador pequeño o trampa "Bidwell"
10. Termómetro.
11. Tina de plástico para viruta.
12. Refractómetro para determinar sólidos solubles.
13. Hidróxido de sodio al 0.09 Normal.
14. Fenofaleína 1%
15. Agua destilada

#### **3.1 LUGAR DE REALIZACIÓN**

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la unidad de Industrias Hortofrutícola a cargo de la Zamoempresa de cultivos intensivos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Dentro de la planta el experimento se ubicó dentro del cuarto de fermentación acética.

### **3.2 ETAPAS DEL ESTUDIO**

**Para la realización del estudio se establecieron las siguientes etapas:**

1. Diseño y fabricación del sistema.
2. Corrida de pruebas pre-eliminarias.
3. Corrida de tratamientos.
4. Análisis y interpretación de datos.

### **3.3 DISEÑO Y FABRICACIÓN DEL SISTEMA**

Se procedió a ensamblar el sistema compuesto de tres recipientes puestos uno sobre el otro. El recipiente de 190 litros se colocó como el sostén y base del sistema completo. En este recipiente estuvo sumergida la bomba que recirculó la mezcla de vino- vinagre madre. La bomba utilizada es una bomba sumergible pequeña con capacidad para 227 litros por hora y con una cobertura resistente a oxidación. Cabe mencionar que esta bomba no fue diseñada para estas aplicaciones pero debido a la pequeñez del sistema y al limitado presupuesto, se procedió a usarla.

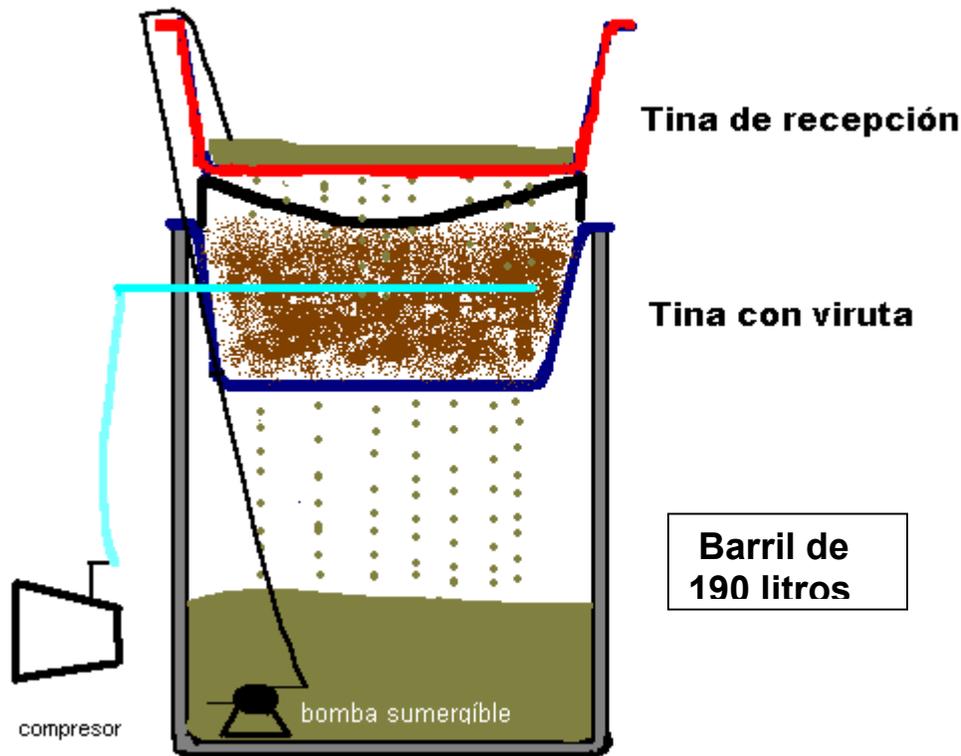


Figura 1. Dibujo de generador empleado en este experimento.

El segundo recipiente colocado sobre el recipiente base (tina de 40 litros), es donde va colocada toda la viruta, esta viruta sirvió como el medio en donde se percoló la mezcla de vino-vinagre madre. Al fondo de este recipiente se le perforó orificios con un diámetro de un centímetro y medio (aproximadamente 400 orificios/ m<sup>2</sup>, con el fin de dejar percolar la mezcla. Se colocó 6 kilogramos de viruta con una profundidad de 50 cm (ver anexo 1.).

El tercer recipiente (tina de 40 litros) es el que recibía el líquido impulsado por la bomba y lo distribuía uniformemente sobre la viruta al recipiente inferior. Se colocó un plástico que envolviera todo el sistema para protegerlo de los insectos, del polvo y de la excesiva pérdida de etanol por volatilización (ver anexo 1) (Figura1).

### 3.4 METODOLOGÍA

Antes de cada prueba o tratamiento se procedió a verificar las condiciones de la materia prima a usar. La viruta se calentó en una marmita hasta 95°C antes de ser colocada en el sistema para así minimizar cualquier contaminación.

### 3.4.1 Características del vino usado

1. Se usó vino con grados Brix menor a 1.
  2. Acidez menor a 0.5%.
  3. Porcentaje aproximado de alcohol mayor que 10.
- Los grados Brix se midieron utilizando un refractómetro. Cabe indicar que un grado Brix es equivalente a un gramo de azúcar en 100 gramos de jugo.
  - La acidez se midió por titulación (acidez titulable); el método utilizado consistió en:
    1. Medir 1 mililitro del líquido.
    2. Agregarle treinta mililitros de agua destilada.
    3. Agregar 3 gotas de fenofaleína al 1%.
    4. Titular con una base de hidróxido de sodio al 0.09 de normalidad.
    5. El resultado se multiplicó por 0.09 (normalidad de la base) y luego multiplicado por seis ( estándar de ácido acético).
  - EL porcentaje aproximado de alcohol se midió utilizando un destilador pequeño o trampa “Bidwell”. Primero se calibró una hornilla “hot plate” a exactamente 78°C. Luego se dejó destilar aproximadamente 50 mililitros por una hora o hasta que dejara de gotear. Por último, se midió la cantidad de alcohol y se relacionó en base a proporción. Se buscaba un vino con una cantidad aproximada de alcohol mayor que 10%.

### 3.4.2 Características del vinagre madre

- Apariencia física del cultivo.
- Grado de acidez titulable.

En apariencia física del cultivo, se buscó que tuviera las siguientes características: gruesas colonias flotantes, colonias gelatinosas de color claro y que cubrieran por completo la superficie expuesta al oxígeno. La acidez titulable se midió bajo el mismo sistema que del vino.

## 3.5 ESTABLECIMIENTO DE TRATAMIENTOS

### 3.5.1 Preparación de la materia prima

1. Se verificó la calidad de la materia prima (vino y vinagre madre).
2. Se midió en kg cada cantidad de materia prima, teniendo en cuenta el tratamiento a usar (50:50, 25:75 y 75:25 de vino/vinagre madre). La cantidad total de mezcla usada fue de 45.45 kg.

### 3.5.2 Establecimiento de primer tratamiento: (50:50) vinagre madre/vino

1. Se utilizó 22.72 kg de un vinagre madre con una acidez aproximada de 10.9%.
2. El vino tenía aproximadamente más de 10 % alcohol y una acidez de 0.43%; debido al tratamiento se utilizó 22.72 kg de vino.
3. Se agregó 0.6 kg de cultivo o nata licuada de *Acetobacter acetis*.
4. Al mezclarse quedó una mezcla de 45.45 kg con 4.96% acidez.

### 3.5.3 Establecimiento de segundo tratamiento: (75:25) vinagre madre/vino

1. Se utilizó 34 kg de vinagre madre con una acidez inicial aproximadamente de 8%.
2. Se agregó 11.45 kg de vino con una acidez de 0.4% y aproximadamente 10% alcohol.
3. La acidez de la mezcla al inició quedó en 5.9% .

### 3.5.4 Establecimiento de tercer tratamiento: (25:75) vinagre madre/vino

1. Se utilizó 34 kg de vino con una acidez aproximada de 0.4% y con mínimo 10% alcohol.
2. Se agregó 11.45 kg de vinagre madre con una acidez de 8.5%.
3. La mezcla quedó en 45.45 kg con una acidez de 2.5%.

Al terminar de acetificarse cada repetición, el producto (vinagre natural) era pesado. Luego se volvió a pesar la cantidad de producto que sería utilizado como vinagre madre de la siguiente repetición.

### 3.5.5 Medición de la evolución de acidez

Se procedió a medir el incremento en acidez titulable de la mezcla hasta que se estableciera una acidez estable luego de la fase logarítmica de crecimiento. Durante las primeras 24 horas se midió la acidez cada 6 horas. Luego se medía las siguientes 18 horas en intervalos de 4 horas y por último las finales horas se medía aproximadamente cada hora, dependiendo del incremento en las lecturas.

## 3.6 VARIABLES A MEDIR

- **Tiempo de acetificación (horas).** : Se midió el tiempo total que tomó cada repetición en llegar a su fase estable de la curva de acetificación.
- **Porcentaje inicial, intermedios y final de ácido acético en las mezclas (acidez titulable):** Se determinó la acidez titulable de la mezcla en intervalos de tiempo previamente establecidos para cada tratamiento.

### **3.7 DISEÑO EXPERIMENTAL**

- Bloques completos al azar.
- Tres repeticiones por tratamiento.
- Análisis de varianza, prueba de medias SNK,  $\alpha=0.05$ .

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El primer tratamiento conteniendo 50% vinagre madre / 50% vino tardó en promedio 62 horas en llegar a su fase estable en su curva de acetificación. Su acidez inicial y final fue de 4.57 y 7.50%, respectivamente. El incremento en acidez fue 2.93%. Se notó una prolongada fase de arranque o establecimiento en las primeras 40 horas (Figura 2).

Este comportamiento inicial se debió a que durante las primeras 40 horas de acetificación, las bacterias todavía se estaban multiplicando y adaptando a su medio de viruta con oxígeno forzado. Una vez ya establecidas las bacterias, comenzaron su fase de producción de ácido acético hasta consumir el etanol disponible (ver anexo 4).

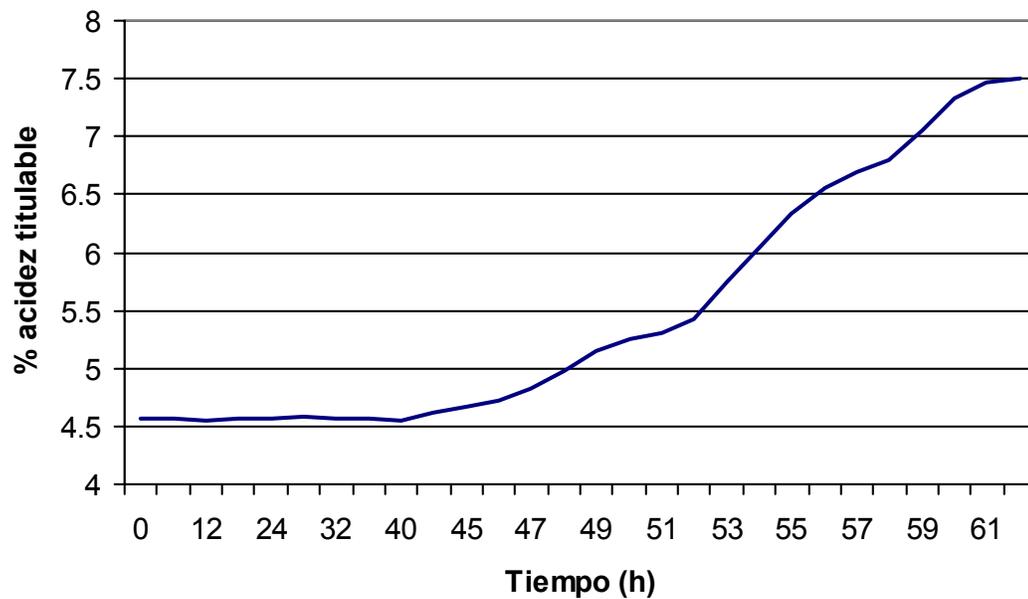


Figura 2. Promedio de acidez del tratamiento 50% vino / 50% vinagre madre.  
Zamorano, 2001.

La mezcla de vino y vinagre conteniendo 75% vinagre madre, tardó en promedio 34 horas en llegar a su acidez máxima. Comenzó con una acidez promedio de 5.63% y culminó con una acidez de 7.31%, su incremento en acidez fue de 1.68% (Figura 3).

Este tratamiento tardó menos en alcanzar su acidez máxima debido a la menor cantidad de alimento (vino o etanol) disponible. Su arranque fue rápido debido a una mayor cantidad de vinagre madre presente con relación al vino. Las bacterias acéticas rápidamente consumieron el poco etanol disponible comparado al tratamiento anterior (ver anexo 5).

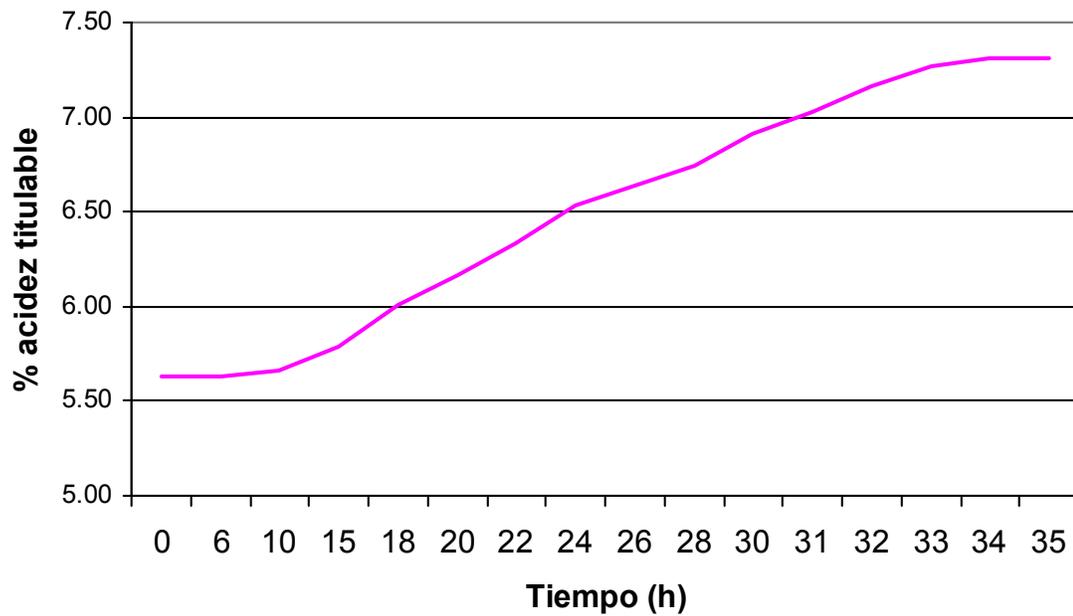


Figura 3. Promedio de acidez del tratamiento 25% vino/ 75% vinagre madre Zamorano, 2001.

El tratamiento con 25% vinagre madre le tomó en promedio 84 horas para alcanzar su máxima acidez de 5.60%. Su incremento en acidez fue de 3.74%. La curva muestra un ascenso moderado(Figura 4).

Las bacterias acéticas tardaron aproximadamente ochenta y cuatro horas en consumir el etanol presente debido a que la población bacteriana al inicio era más baja con relación a la cantidad de vino. A medida que fueron multiplicándose fueron produciendo más ácido acético hasta agotar el etanol presente (ver anexo 6).

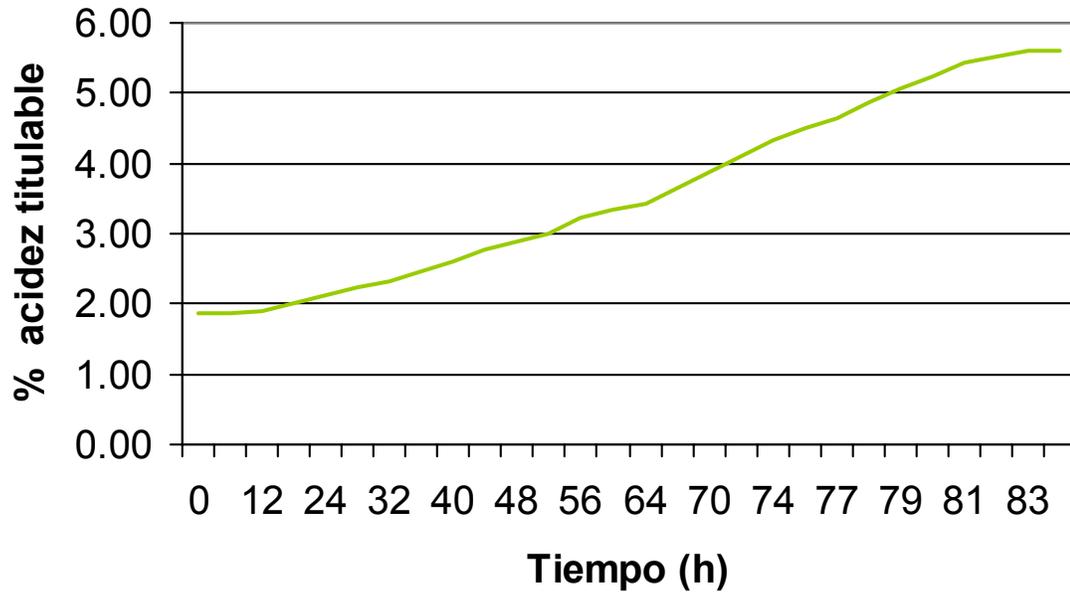


Figura 4. Promedio de acidez del tratamiento 75% vino / 25% vinagre madre. Zamorano, 2001.

La figura 5 muestra la diferencia de comportamiento entre los tres tratamientos. El tratamiento 75% vinagre madre/25% vino llegó a su fase estable en la mitad del tiempo que el tratamiento 50% vinagre madre/ 50% vino. Éste último, a su vez, se tomó un tercio del tiempo que el tratamiento 25% vinagre madre/75% vino. El tratamiento 50% vinagre madre/50% vino tiene una fase inicial o “lag” más prolongada.

El comportamiento de estas curvas se debe a la proporción de vinagre madre / vino de cada tratamiento. Entre más vinagre madre presente al inicio menos es el tiempo que se tardan las bacterias en consumir el etanol presente hasta llegar a su fase estable, debido a la mayor población bacteriana y menor cantidad de etanol. El tratamiento 75%vino/25% vinagre madre obtuvo el incremento mas alto de acidez debido a que las bacterias tuvieron más etanol disponible para su consumo (Figura 5).

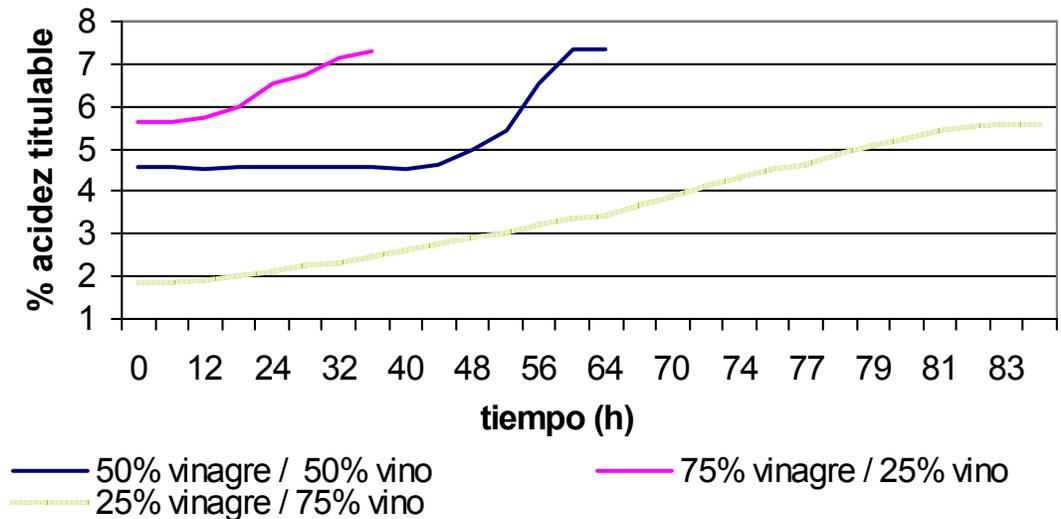


Figura 5. Comparación de acidez titulable entre tratamientos. Zamorano, 2001.

El tratamiento 75% vinagre madre/25% vino produce cerca de la mitad del ácido acético del tratamiento 50% vinagre madre y produce un poco más de un tercio de lo producido por el tratamiento 25% vinagre madre/ 75% vino. El tratamiento 75% vinagre madre/25% vino también es el tratamiento que menos tiempo se tomó en producir su máximo de ácido acético. Este tratamiento se tomó un tercio del tiempo que el tratamiento 25% vinagre madre/75% vino.

La producción de ácido acético está muy relacionada a la cantidad de etanol presente en la mezcla de cada tratamiento. El tratamiento 25% vinagre madre / 75% vino produjo casi el triple de ácido acético que el tratamiento 75% vinagre madre debido a que inició con exactamente el triple de vino o etanol (Figura 6).

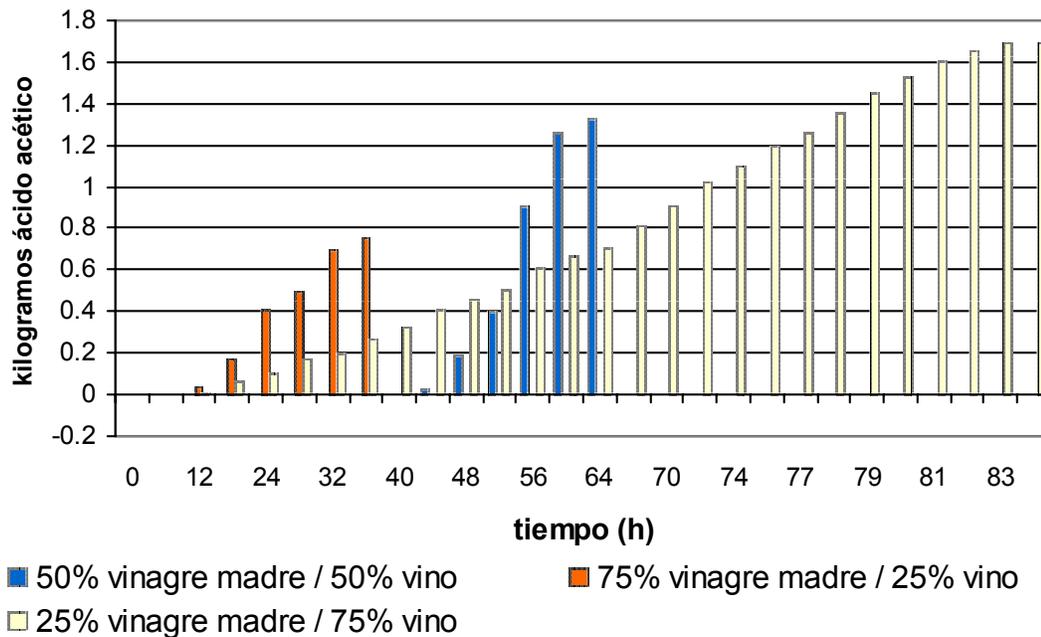


Figura 6. Promedio de producción acumulada de ácido acético. Zamorano, 2001.

El tratamiento 25 % vinagre madre / 75% vino produjo la mayor cantidad de ácido acético es decir casi tres veces más que el tratamiento 75% vinagre / 25 vino. La producción neta por hora se obtuvo dividiendo la cantidad neta producida entre la cantidad de horas que tardó en promedio cada tratamiento en alcanzar a su fase estable. Bajo las condiciones de este experimento, los tres tratamientos tienen en promedio la misma producción por hora de ácido acético(cuadro 1).

La producción por hora de los tratamientos es igual debido a que la respuesta de las bacterias entre diferentes niveles de alimento (etanol) es proporcional a la cantidad de vinagre madre y vino en la mezcla . Al agregarle más vino se produce más ácido acético en más tiempo. La prueba estadística de medias (Student-Newman-Keuls) concluye que 95% de las veces no existe diferencia significativa entre los tres tratamientos. El coeficiente de variación del experimento es 3.48%, lo que asegura que el experimento fue bien llevado (ver anexo 7).

Lo anterior probablemente se debe a que el área de oxidación, es decir el área expuesta de la viruta a la cual estaban adheridas las colonias de bacterias acetificantes, era la misma para los tres tratamientos. Si un tratamiento tenía más etanol que acetificar, simplemente tardaba más tiempo el proceso; en este caso el exceso de tiempo resultó ser directamente proporcional al exceso de etanol.

**Cuadro1. Producción promedio de ácido acético**

<b>Tratamientos (vinagre madre / vino)</b>	<b>Producción Neta (kg)</b>	<b>Producción (kg/h)</b>
50:50	1.21	0.019
75:25	0.65	0.019
25:75	1.61	0.019

Dos de tres tratamientos lograron una eficiencia de convertir al menos 50% del alcohol ingresado al sistema a ácido acético. En promedio el porcentaje utilizado de alcohol fue de 52.33% (Cuadro 2).

Esta es una manera de evaluar lo apropiado del equipo de generación en cuanto a pérdidas de etanol por volatilización. La meta planteada de lograr una eficiencia del 50% se logró. Sin embargo, la próxima meta deberá ser subir la eficiencia a un 80% mediante la mejora en el diseño tendiente a evitar fugas del etanol.

**Cuadro 2. Porcentaje de alcohol utilizado por tratamiento.**

<b>Tratamientos (vinagre madre / vino)</b>	<b>Alcohol inicial (kg)</b>	<b>Ácido acético producido (kg)</b>	<b>% de alcohol utilizado</b>
50:50	2.27	1.21	53.0
75:25	1.13	0.65	57.0
25:75	3.41	1.69	49.5

## 5. CONCLUSIONES

1. Bajo las condiciones de este sistema, no existe diferencia significativa entre los tratamientos 25% vino / 75% vinagre madre, 50% vino / vinagre madre, 75% vino / 25% vinagre madre.
2. Entre más etanol presente al inicio, más será la producción de ácido acético y más es el tiempo para llegar a la fase estable de la curva de crecimiento.
3. El sistema diseñado logró una eficiencia de conversión promedio de etanol a ácido acético de 52.3%, cifra aceptable para un sistema en desarrollo, pero bajo una producción comercial.
4. El sistema diseñado para generar vinagre, aunque requiere ser mejorado en varios aspectos, ha logrado reducir el tiempo de producción de 40 días (método “Orleans” Zamorano) a 4 días.

## **6. RECOMENDACIONES**

1. Mejorar el diseño del acetificador para disminuir pérdidas de etanol por volatilización.
2. Aumentar área expuesta de la matriz de viruta para aumentar la cantidad de ácido acético producido por hora.
3. Hacer un estudio económico o de factibilidad para encontrar que tratamiento es el adecuado para una producción masiva.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Banwart, G. 1989. Basic Food Microbiology. 2 ed. New York, US. Avi Publishing Company. 773 p.

Boerhaave R, 1966. Vinegar production in Europe. Ed. rev. Milán, IT. Wichtig Publ. Co. 117 p.

Codex alimentarius, 1994. Codex stan162-1987 11:115-119.

Desroiser, N. 1970. The technology of food preservation. 3 ed. West Port, Conneticut, US. Avi Publishing Company, Inc. 493 p.

Frazier, W. 1967. Food Microbiology 2 ed. New York, US. McGRAW-HILL Book Company. 537 p.

Garibay,M; López,A; Quintero, R. 1993. Biotecnología alimentaria. 1 ed. México, D.F. Editorial Limusa, S.A. 636 p.

Guzmán G. 1993. El cáncer ronda en la comida. La Prensa, Managua, Nic. Mayo 20:11B.

Potter, N. 1986. Food Science 4 ed. New York, US. Avi Publishing Company. 735 p.

Secretaría de Salud, HN. 1997 Código de salud sus reglamentos en materia alimentaria. Tegucigalpa, HN. 161 p.

Shiun Lu, B; Woodroof, J. 1988. Comercial Vegetable Processing. 2 ed. New York, US. Avi Publishing Company Inc. 782 p.

## **8. ANEXOS**