

Escuela Superior Politécnica del Litoral

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

“Diseño de una planta de producción de vinagre a partir de desecho de puré de banano.”

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Químico.

Presentado por:

Cristhian Tomas Zambrano Peñafiel
Adriana Amabilia Asencio Rodríguez

Guayaquil - Ecuador

Año: 2023

Dedicatoria

A Dios por estar siempre conmigo en todo momento y guiándome en mis decisiones.

A mi familia, que sin su apoyo no fuera posible alcanzar este tan deseado sueño. A Solange que, sin ella saberlo, es una fuente de amor y fuerza en los momentos difíciles y felices.

A mis amigos por su apoyo, Julio, Joan, Josimar y Andrea.

A Arjen Anthony Lucassen cuya música es la mayor fuente de inspiración y me ha acompañado durante la mayor parte de mi vida.

Zambrano Peñafiel Cristhian Tomas

Dedicatoria

El presente proyecto lo dedico a mi mamita Esmilda, mis hermanas Lorena, Helen, Ingrid por su constante aliento, paciencia y apoyo incondicional a lo largo de este arduo camino. A compañero de vida Kevin, por compartir cada victoria y desafío conmigo.

Asencio Rodríguez Adriana Amabilia

Agradecimientos

Nuestro más sincero agradecimiento a nuestros tutores el PhD. Cesar Moreira y MSc. Carlos Bucaram, cuya guía y apoyo fueron fundamentales en cada etapa de este proyecto integrador. A quienes, en todo momento nos brindaron un valioso respaldo, equipos, materiales y conocimiento contribuyendo al desarrollo de este proyecto.

Cristhian Zambrano y Adriana Asencio

Declaración Expresa

Nosotros Cristhian Tomas Zambrano Peñafiel y Adriana Amabilia Asencio Rodriguez acordamos y reconocemos que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL® recibe una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores.

La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL® reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL® comunique a los autores que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.



Cristhian Tomas Zambrano
Peñafiel



Adriana Amabilia Asencio
Rodriguez

Evaluadores

PhD. Suanny Mosquera

Profesor de Materia

MSc. Carlos Bucaram

Tutor de proyecto

PhD. Cesar Moreira

Cotutor del proyecto

Resumen

Dentro de la industria bananera, el manejo del agua de lavado del proceso de corte de tajadas de banano para exportación representa un desafío significativo debido a la falta de un proceso para su gestión. Con el objetivo de valorizar este subproducto en un contexto de economía circular, se investigó la producción de vinagre estudiando el impacto de la aireación, pasteurización y concentración de azúcares en la conversión de los azúcares del puré de banano durante 8 días de fermentación comparando sus características con los requisitos establecidos por el INEN para vinagre de frutas.

A través de ensayos de laboratorio se estudia la acidez total y los azúcares por colorimetría DNS y la cinética de reacción por método de Michaelis-Menten durante la fermentación. Los resultados de los sistemas estudiados revelaron que el sistema con pasteurización térmica, aireado y con 15 °Brix de azúcares, presenta un vinagre de aroma frutal con características de 4.15% en acidez total y pH de 2.55 al finalizar el proceso de fermentación.

Finalmente, con las condiciones ideales se realiza una simulación en ASPEN PLUS para el escalamiento a nivel industrial del proceso junto a la cotización de equipos para su implementación.

Palabras Clave: Ácido acético, Aspen Plus, Economía circular, Vinagre, Puré de banano

Abstract

In the banana industry, management of water used to washdown banana slices for exports represents a significant challenge due to the lack of a management process. With the aim of valorizing this by-product in a circular economy context, vinegar production was investigated by studying the impact of aeration, pasteurization and sugar concentration on the conversion of sugars in banana puree during 8 days of fermentation, comparing their characteristics with the requirements established by the INEN for fruit vinegar.

Through laboratory tests, total acidity and sugars are studied by DNS colorimetry and reaction kinetics by the Michaelis-Menten method during fermentation. The results of the systems studied revealed that the system with thermal pasteurization, aerated and with 15 °Brix of sugars, presents a vinegar with a fruity aroma with characteristics of 4.15% in total acidity and pH of 2.55 at the end of the fermentation process.

Finally, with the ideal conditions, a simulation is carried out in ASPEN PLUS for the industrial scale-up of the process along with the quote of equipment for its implementation.

Keywords: Acetic Acid, Aspen Plus, Circular economy, Vinegar, Banana puree

Índice general

Resumen	I
Abstract	II
Índice general	III
Abreviaturas	V
Simbología	VI
Índice de ilustraciones.....	VII
Índice de ecuaciones	VII
Índice de tablas	VII
Índice de gráficas.....	VII
Capítulo 1	1
1. Introducción	2
1.1 Descripción del problema.....	3
1.2 Justificación del problema.....	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo general	5
1.3.2 Objetivos específicos	5
1.4 Marco teórico	5
Capítulo 2	10
2. Metodología.....	11
2.1 Obtención de materia prima (Población y muestra)	11
2.2 Diseño Metodológico	11
2.3 Preparación de la biomasa.....	11
2.3.1 Pasteurización.....	13
2.3.2 Neutralización.....	14
2.4 Inoculación	14
2.5 Diseño de Sistema de fermentación.....	15
2.5.1 Sistema de aireación.....	15
2.6 Toma de muestra.....	16
2.7 Tratamiento de muestras de fermentación	16
2.8 Análisis de muestras.....	17
2.8.1 Sólidos totales	Error! Bookmark not defined.
2.8.2 Sólidos volátiles	Error! Bookmark not defined.
2.8.3 Titulación	17
2.8.4 Azúcares reductores por método de DNS	18
2.8.5 Ensayos realizados por CIBE	19

2.9	Recolección de datos.....	20
2.10	Procesamiento de datos.....	20
2.10.1	Masa y volumen	20
2.10.2	Determinación de rendimientos.....	20
2.11	Simulación Aspen Plus.....	21
2.11.1	Compuestos seleccionados para la simulación de puré de banano.....	21
2.11.2	Selección de cinética química.....	22
2.11.3	Selección de equipos para la simulación.....	23
2.12	Especificaciones y criterios para la validación del proceso	23
Capítulo 3	25
3.	Resultados y análisis.....	26
3.1	Ensayos Realizados por el CIBE.....	26
3.2	Acidez Total.....	27
3.3	Azúcares Reductores	28
3.4	Análisis estadístico.....	29
3.4.1	Influencia de los parámetros sobre la acidez total.....	30
3.4.2	Influencia de los parámetros sobre la concentración de azúcares reductores	30
3.4.3	Selección de parámetros ideales para la simulación.....	31
3.5	Cinética química	32
3.6	Rendimiento	33
3.7	Simulación en Aspen Plus.....	34
3.8	Análisis de costos.....	38
3.8.1	Cotización de equipos.....	38
3.8.2	Coste unitario de producción	39
3.8.3	Rentabilidad de la planta.....	40
Capítulo 4	41
4.	Conclusiones y recomendaciones	42
4.1	Conclusiones.....	42
4.2	Recomendaciones	43
Referencias	45

Abreviaturas

ESPOL®	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
DNS	Ácido 3,5-Dinitrosalicílico
PT	Pasteurización térmica
PE	Pulsos eléctrico
ST	Sin tratamiento
TIR	Tasa Interna de Retorno
VAN	Valor Actual Neto

Simbología

°C	Grado centígrado
°Brix	Grados Brix
N	Normalidad
M	Molaridad
%m/v	Porcentaje masa-volumen
pH	Potencial de Hidrógeno
g	Gramo
L	Litro
C	Carbono
CH ₃ COOH	Ácido acético
V ₀	Velocidad inicial de la reacción
V _{max}	Velocidad máxima
K _m	Constante de Michaelis-Menten
[S]	Concentración de sustrato [Mol/L]

Índice de ilustraciones

Ilustración 2.1 Sistema de fermentación	16
Ilustración 2.2 Reactor Batch ASPEN PLUS	Error! Bookmark not defined.
Ilustración 3.1 Interfaz de Aspen Plus - Condiciones de operación Reactor Batch Aspen Plus.....	Error! Bookmark not defined.
Ilustración 3.2 Tabla de resultados fracción másica Aspen Plus.....	Error! Bookmark not defined.

Índice de ecuaciones

Ecuación 1.1: Reacción general de oxidación de glucosa a etanol	7
Ecuación 1.2: Reacción general de oxidación de etanol a ácido acético.....	7
Ecuación 2.1 Masa de sólidos totales.....	Error! Bookmark not defined.
Ecuación 2.2 Masa de sólidos volátiles	Error! Bookmark not defined.
Ecuación 2.3 Ecuación desviación estándar población	20
Ecuación 2.4 Velocidad de reacción	22

Índice de tablas

Tabla 2.1 Matriz de variación de parámetros de fermentación	15
Tabla 2.2 Lista de compuestos para la simulación de ASPEN PLUS	21
Tabla 2.3 Requisitos y criterios del INEN 2296 Vinagre.....	23
Tabla 3.1 Características del Puré de Banano.....	26
Tabla 3.2. Análisis de variación sobre acidez total	30
Tabla 3.3: Análisis de variación sobre azúcares reductores.....	30
Tabla 3.4 Cinética de la reacción	33
Tabla 3.5 Cotización de equipos	39
Tabla 3.6 Materiales utilizados	Error! Bookmark not defined.
Tabla 3.7 Equipos utilizados.....	Error! Bookmark not defined.

Índice de gráficas

Gráfica 3.1 % Acidez total vs Tiempo.....	28
Gráfica 3.2 Concentración Azúcares reductores vs Tiempo	29

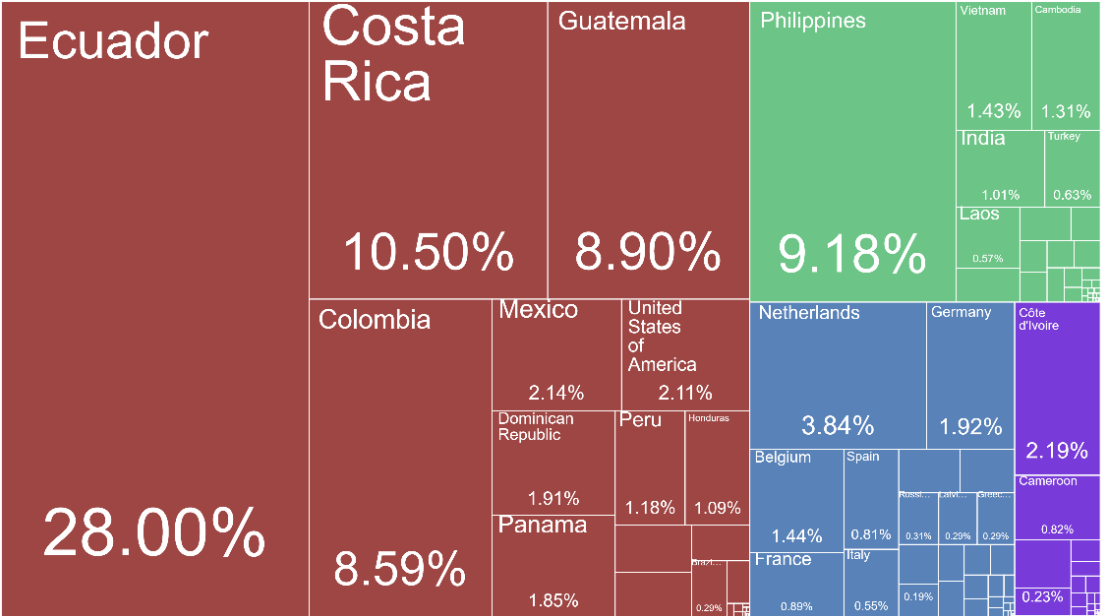
Gráfica 3.3 Acidez Total y Concentración de azúcar vs Tiempo en Tratamiento Térmico: Pasteurizado y sin azúcar	32
Gráfica 3.4 Cinética Química: Método Michaelis-Menten	33

Capítulo 1

1. INTRODUCCIÓN

El banano o *Musa Paradisiaca* es plantado en más de 130 países. El banano es el producto exportado del Ecuador que representa el 35% del PIB agrícola del país en el año 2017 y en 2021 representó el 28% del banano exportado a nivel mundial (The Growth Lab at Harvard University., 2021). Este producto ecuatoriano es reconocido por la calidad de su sabor y textura; características resultantes de las condiciones climáticas y de suelo que propician el desarrollo ideal del fruto siendo altamente consumido en países industrializados de Europa, Asia y Norteamérica.

Figura 1.1: Principales países exportadores de Banano en 2021.



Nota. Obtenido de (The Growth Lab at Harvard University., 2021)

Uno de los productos semielaborados a partir del banano es una mezcla denominada puré de banano, el cual es una mezcla en banano triturado, usado en una variedad de productos alimenticios como; comida para bebés, repostería, bebidas, etc. Además, debido a su versatilidad se puede utilizar en diversas industrias para crear productos útiles mediante el proceso de fermentación (Padam et al., 2014).

El proceso de fermentación es un proceso espontáneo en el que los microorganismos y las enzimas presentes en el alimento crudo descomponen los azúcares, sin embargo, para acelerar el

proceso de fermentación controlado o fermentación por inoculación se utilizan microorganismos denominados cultivos iniciadores siendo uno de estas especies *Komagataeibacter Xylinus* (Boonsupa, 2021).

1.1 Descripción del problema

Una empresa dedicada a la exportación de banano genera residuos durante el procesamiento de tajadas de banano para exportación, en forma de una mezcla de banano descartado durante la inspección visual para el control de calidad del banano apto para exportación. Esta mezcla es rociada con una solución ácida que cumple dos funciones clave, detener la actividad enzimática y preservar el subproducto. A partir del proceso descrito, se genera agua de lavado del procesos, una mezcla viscosa, a la cual denominaremos puré de banano (Padam et al., 2014).

El manejo de estos residuos genera un alto costo. El procesamiento para la descarga de esta agua de lavado plantea un desafío para la empresa en términos de sostenibilidad. Encontrar una alternativa para el manejo de estos residuos se vuelve una prioridad para la empresa para cumplir con las regulaciones de manejo de residuos. Para esto, es necesario destinar recursos financieros significativos pues una gestión inadecuada de los desechos puede dar lugar a multas y sanciones regulatorias e incluso dañar la percepción pública sobre la responsabilidad ambiental de la empresa.

En la actualidad, en un intento por abordar esta situación se han realizado diferentes gestiones. Inicialmente, la empresa distribuye de forma gratuita el pure generado al sector agrícola para ser utilizado como abono en las plantaciones; paralelamente se ha instalado una planta de tratamiento de aguas residuales industriales (PTARI) para la reducción de la carga biológica del residuo producido previo a su descarte como efluente al alcantarillado. Sin embargo, a pesar de esta medida el aumento de producción de puré representa un aumento de la carga residual a procesar por la planta de tratamiento y se prevé que exceda la capacidad de la planta.

Este problema cobra importancia ya que el banano es uno de los productos más vendidos a nivel mundial y la generación de desechos genera un costo significativo para la descarga de este subproducto

y representa un desafío de desarrollo sostenible. En consecuencia, encontrar soluciones efectivas se convierte en una prioridad para la empresa en términos de sostenibilidad.

1.2 Justificación del problema

Ecuador es uno de los mayores productores de banano del mundo y la exportación de este producto representa uno de los rubros más importantes del país (Veliz et al., 2022). Al ser un producto exportado, es sujeto a rigurosos criterios de control de calidad y esto implica que parte del producto es descartado por su apariencia visual sin contar si esta conserva su utilidad (León Serrano et al., 2021).

Este proyecto pretende establecer un proceso que permita valorizar el residuo de la industria bananera cumpliendo con los objetivos del desarrollo sostenible. Esta materia residual es generada en el proceso de rociar el banano rebanado con una solución ácida para detener la actividad enzimática, generando una mezcla viscosa al que se llamará desecho de puré de banano. En un estudio realizado por Rayo-Medez et al. en 2019 se cuantificó los azúcares fermentables de una muestra de puré de banano mediante la extracción por cromatografía líquida de alta eficacia HPLC dónde una muestra de 21.6 ° Brix contiene glucosa 2.38 ± 0.41 g/100 g banana; fructosa 2.22 ± 0.44 g/100 g banana, y sacarosa 14.0 ± 2.52 g/100 g banana (Rayo-Mendez et al., 2019).

Estudios previos han reportado diferentes formas de valorización de este residuo debido a su alta disponibilidad y características químicas las cuales pueden ser útiles para la síntesis de productos químicos. De estos estudios se ha destacado la elaboración de compost para el uso como abono en la industria agrícola (Kalemelawa et al., 2012), y la fermentación para la elaboración de alcoholes y ácido acético en forma de vinagre (Prisacaru et al., 2021; Tripathi et al., 2022)

Esto permitiría el aprovechamiento de la biomasa residual de uno de los productos más vendidos a nivel mundial (Ploetz & Evans, 2015), creando posibilidades de diversos usos del vinagre y permitiendo la comercialización del mismo generando una reducción costos de gestión de residuos. Además, el proceso propuesto permitiría establecer una economía circular al posibilitar la comercialización del ácido acético producido a partir de un desecho del proceso principal de la planta.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Diseñar una planta de procesamiento para la elaboración de vinagre mediante la fermentación de puré de banano residual mediante la valoración de este desecho en un contexto de economía circular.

1.3.2 Objetivos específicos

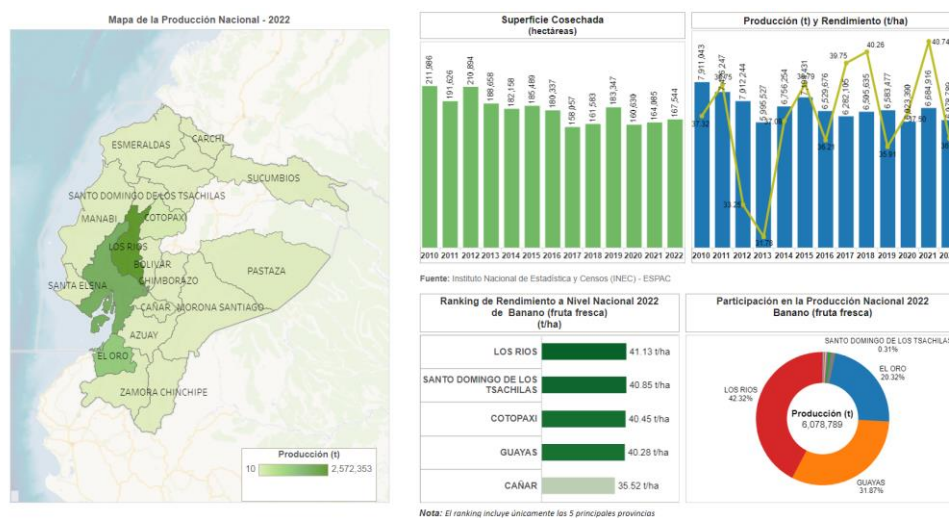
1. Evaluar cómo afectan los parámetros: aireación, tratamiento térmico y concentración de azúcares en el rendimiento promedio de síntesis de ácido acético.
2. Establecer las condiciones ideales para un proceso de conversión de desecho de puré de banano en ácido acético mediante experimentación a escala de laboratorio.
3. Analizar la factibilidad de implementación de la planta de procesamiento mediante la simulación del proceso en ASPEN PLUS y la cotización de los equipos necesarios.

1.4 Marco teórico

El banano, con una producción global aproximada de 145 millones de toneladas en más de 130 países (Ploetz & Evans, 2015) desempeña un papel esencial aportando a la seguridad alimentaria y sirviendo como una fuente de ingresos de exportación en algunas economías (Evans et al., 2020). Ecuador se posiciona como uno de los mayores exportadores de banano en el mundo (Panigrahi et al., 2021).

De acuerdo con las Ficha de Cultivo de Banano del Sistema de Información Pública Agropecuaria del Ecuador, SIPA, las tres principales regiones productoras de banano en Ecuador son: Los Ríos con un 43,32% siendo la provincia con mayor producción bananera, en segundo lugar está la provincia del Guayas con un 31,87%, y en tercera posición El Oro con 24,12% (Sistema de Información Pública Agropecuaria, 2022).

Figura 1.2: Ficha de Cultivo de Banano SIPA (2022)



Nota. Obtenido de: Sistema de Información Pública Agropecuaria. Ficha de Cultivo de Banano (2022)

Sin embargo, de la producción total se clasifica como rechazo de banano a aquel producto que no cumpla con los estándares para ser comercializado internacionalmente y se destina para la elaboración de subproductos como harina, tajadas y puré de banano.

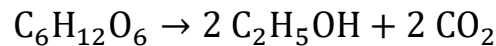
La producción de estos subproductos del banano genera desechos que pueden ser aprovechados como fuente de materia prima dentro de otras industrias, lo que permitiría evitar una pérdida final de biomasa sin explotar y a su vez posibles problemas medio ambientales. La innovación a una gestión de gran cantidad de biomasa presenta un desafío continuo (Padam et al., 2014).

En este contexto, la fermentación del rechazo de banano para la obtención de vinagre ha sido estudiada para la reducción del impacto ambiental del residuo de la producción de este valioso producto (Duque et al., 2015). Este acercamiento es importante debido a que la oxidación de etanol en un medio aeróbico produce ácido acético.

La fermentación acética es un proceso de oxidación orgánica de dos pasos. En el primero se realiza la conversión de las azúcares fermentables como glucosa y fructosa en alcohol. Los azúcares se descomponen por enzimas de microorganismos en ausencia de oxígeno. Primero, la glucosa se oxida

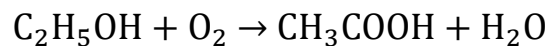
mediante glucólisis, produciendo dos moléculas de piruvato. En segundo lugar, cada piruvato libera dióxido de carbono para producir dos moléculas de acetaldehído (Wang et al., 2023). Y finalmente, el acetaldehído toma los iones de hidrógeno que por medio de la reducción de este compuesto se obtiene etanol (Muggironi et al., 2013). La ecuación general para esta reacción se describe:

Ecuación 1.1: Reacción general de oxidación de glucosa a etanol

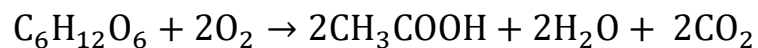


La oxidación del etanol se produce a través de intermediarios de acetaldehído que se convierten en ácido acético. El agua aumenta la selectividad del ácido acético al inhibir la síntesis de acetaldehído más fuertemente que su oxidación a ácido acético. Durante el proceso, el etanol se oxida a acetaldehído por la alcohol-deshidrogenasa (ADH), y el acetaldehído en presencia de oxígeno se oxida a ácido acético por la aldehído-deshidrogenasa (ALDH) (Tripathi et al., 2022).

Ecuación 1.2: Reacción general de oxidación de etanol a ácido acético.



Finalmente se puede expresar la ecuación general de la reacción como:



Posteriormente, una vez que el azúcar es convertido en etanol inicia una reacción de oxidación del etanol a ácido acético en una proporción estequiométrica de uno a uno, esta reacción de oxidación es dependiente de la disponibilidad de oxígeno en el medio, por lo que es necesario un medio aeróbico (Prisacaru et al., 2021). Este proceso de conversión es influenciado por las características de la materia prima como concentración de azúcares fermentables, carga microbiológica, el tiempo de fermentación, la disponibilidad de oxígeno en el sistema y la bacteria empleada para la fermentación (Ousaaid et al., 2021).

La bacteria empleada para el proceso de fermentación planteada es un consorcio microbiano compuesto por *Komagataeibacter Xylinus* para la fermentación a escala de laboratorio. Estas especies bacterianas pertenecen a un grupo de bacterias miembro de la familia *Acetobacteriaceae* que proliferan en medios aeróbicos, y son conocidas por su capacidad de convertir el alcohol etílico en ácido acético por medio de una reacción de oxidación durante la fermentación (Prisacaru et al., 2021).

Un factor de vital importancia para cualquier proceso de fermentación es acondicionar el sustrato para que este provea un medio idóneo para el crecimiento microbiano, principalmente factores como pH inicial del sustrato y grados Brix es crucial controlar para asegurar el desarrollo de la colonia microbiana (Bimmer et al., 2023). Colonias bacterianas de *K. Xylinus* crecen rápidamente en medios entre pH 5 y 6.5 por lo que sustratos en este rango de pH son idóneo para la fermentación acética (Augimeri & Strap, 2015).

El grado Brix es la medida más ampliamente utilizada en la industria alimentaria para expresar concentración de azúcares disueltos en una solución acuosa, esto es representado mediante 1 gramo de sacarosa en 100 gramos de solución acuosa (Luzón-Quintana et al., 2021). La relación entre los grados Brix y la fermentación acética es significativa, ya que los grados Brix reflejan el contenido de azúcares. Estos azúcares, a su vez, determinan la cantidad de alcohol que se puede obtener durante la fermentación. Por lo tanto, el rendimiento del proceso dependerá directamente de la disponibilidad de azúcares fermentables en el sustrato (Prisacaru et al., 2021).

El pKa del alcohol es de 16.0 lo cual es menor al pKa del ácido acético 4.76, esto sugiere que el pH de la mezcla disminuirá a medida que ocurre la oxidación del alcohol a ácido acético. Esto a su vez representa una limitante a la conversión de los azúcares disponibles en ácido acético debido que, al disminuir el pH de la mezcla, el ambiente del sustrato se vuelve estéril para las bacterias fermentadoras, y lentamente disminuye el crecimiento microbiano hasta alcanzar un valor máximo. Al llegar a este límite ya no será posible la conversión de alcohol en ácido acético por lo que de extenderse la fermentación por un mayor período de tiempo no tendrá influencia en la síntesis del producto deseado.

Este proceso ha sido estudiado para el aprovechamiento de materia residual de producción de frutos, específicamente la producción de vinagre a partir de banano. Así se ha logrado obtener rendimientos de conversión de etanol en ácido acético de hasta un 85% en procesos de fermentación llevados a cabo a condiciones ambientales (Jamaluddin et al., 2014). Sin embargo, poco se ha estudiado el impacto de variables como la carga microbiana, la manipulación de los azúcares presentes y la aireación del sistema para evaluar el rendimiento obtenido del proceso de fermentación a partir del desecho de puré de banano.

De acuerdo con el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) en la normativa INEN 2296: Vinagre. Requisitos, se establecen los requisitos que un producto debe cumplir como concentraciones de ácido acético entre 4% a 6% m/v, pH a 20 °C mínimo de 2.3 y máximo 2.8 para ser considerado como vinagre (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2003, p4).

Capítulo 2

2. METODOLOGÍA.

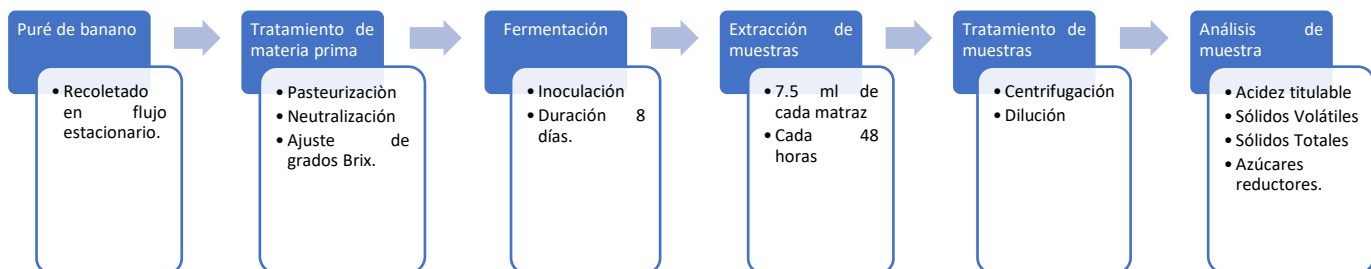
2.1 Obtención de materia prima (Población y muestra)

Se recolectaron muestras de puré de banano de una fábrica de banano rebanado congelado donde se extrae 15 litros de puré de banano proveniente de la producción. La materia prima fue tomada de una corriente de puré en estado estacionario para obtener una muestra con características promedio de una producción diaria. Esta muestra fue conservada en congeladores a -20 °C

2.2 Diseño Metodológico

En la Figura 2.1 se muestra el diseño metodológico utilizado para la experimentación a escala de laboratorio. Se recibió la materia prima del cliente, se realizó el tratamiento previo a la fermentación, se fermentó la muestra por un periodo de 8 días, posterior a esto se realizó el tratamiento de muestras y finalmente en análisis de las muestras tomadas de la fermentación.

Figura 2.1 Diseño metodológico de la experimentación a nivel de laboratorio.

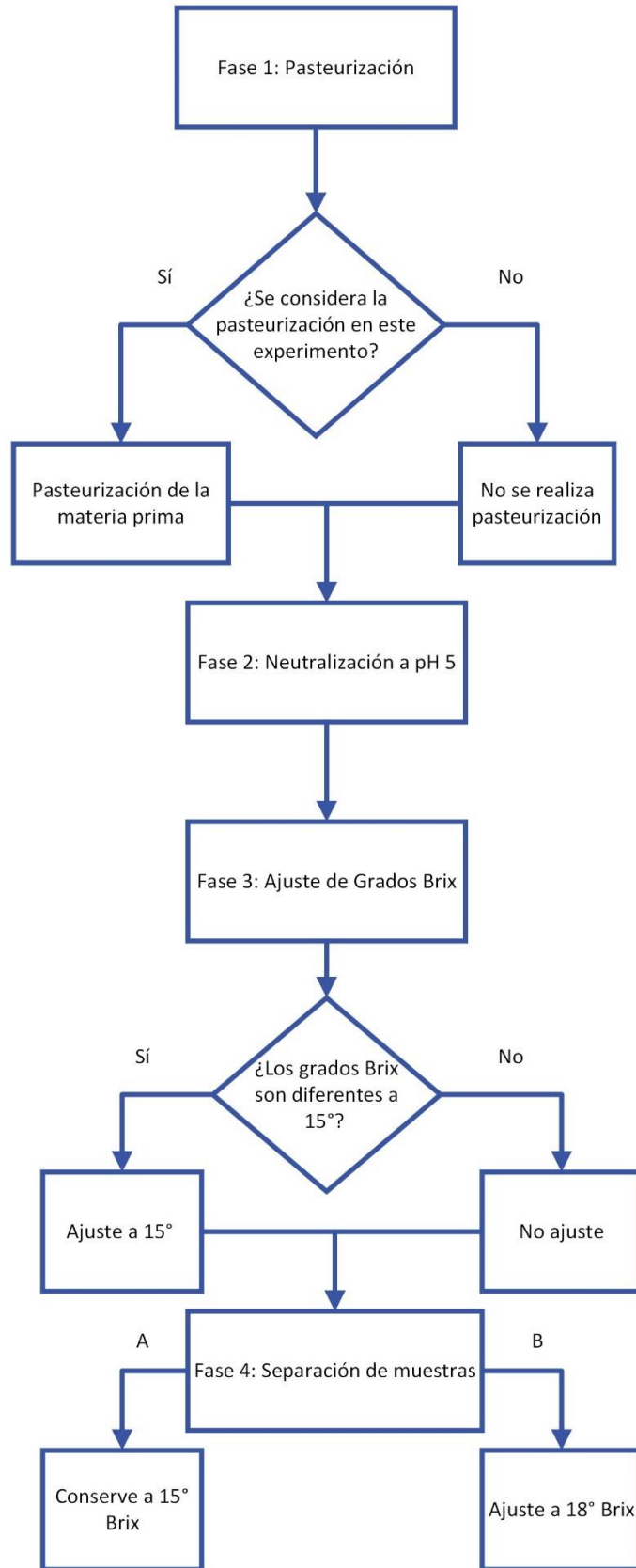


2.3 Preparación de la biomasa.

La materia prima fue tratada a temperatura ambiente, inicialmente se midió pH utilizando un potenciómetro portátil marca OAKTON modelo PCSTESTER 35. Se midió los grados Brix mediante el uso de un refractómetro portátil marca ATC modelo BOSS GR-100.

Para el tratamiento de la materia prima se consideró un algoritmo de la secuencia a seguir en el tratamiento que las muestras fueron sometidas previo a la fermentación. Este algoritmo se presenta en la Figura 2.2

Figura 2.2 Algoritmo de tratamiento de materia prima



Nota. Elaborado por autores.

Se llevaron a cabo tres experimentos consecutivos, cada uno con una duración de 8 días de fermentación. En el primer caso la materia prima no fue sometida a ningún tipo de tratamiento para mitigar la carga microbiológica. En el segundo y tercer experimental la materia prima se sometió a dos tratamientos específicos para reducir la carga microbiológica: pasteurización térmica, y aplicación de pulsos eléctricos, respectivamente.

2.3.1 Pasteurización

2.3.1.1 Pasteurización térmica

Para el proceso de pasteurización del segundo experimento, se empleó un equipo de baño de María como herramienta principal para la pasteurización térmica. Colocando la materia prima en un material hermético y luego introduciéndolo en el equipo asegurando que esté completamente sumergido en el agua. Ajustando la temperatura y manteniendo constante a 60 °C durante un periodo de 40 minutos.

2.3.1.2 Pulsos eléctricos

Para el tercer experimento, la pasteurización se realiza por medio de la aplicación de pulsos eléctricos, este es un método experimental que disminuye la carga microbiana al realizar descargas eléctricas al sustrato. Este método fue empleado principalmente por la posibilidad que al ser llevado a escala industrial podría reducir costos en comparación a métodos de pasteurización convencionales. Se configuró el equipo generador de los pulsos con las siguientes especificaciones:

Voltaje: 40 [kV]

Frecuencia: 1 [Hz]

Tiempo en alto y tiempo en bajo: 25000 [ns]

Número de Pulsos: 50

Repeticiones: 3

Tiempo total de pasteurización: 3 segundos.

2.3.2 Neutralización

Para los tres experimentos, luego del tratamiento de pasteurización, se considera que la producción de celulosa bacteriana por la bacteria *Komagataeibacter Xylinus* usada para la fermentación de los azúcares se lleva a cabo idealmente en un rango de pH entre 3.0 y 7.0. Para mantener el pH dentro rango del deseado durante el proceso de fermentación, que tiene una duración de 8 días, es necesario realizar ajustes de pH a un nivel aproximado de 5.0 a 5.25 realizando una neutralización con Hidróxido de Sodio previo a la fermentación, para garantizar una mayor producción de vinagre por actividad de la bacteria seleccionada. Para este paso se agrega de NaOH 2N hasta alcanzar un pH de 5.10 comprobando con un potenciómetro el pH de la biomasa.

2.3.2.1 Ajuste de grados Brix

Posteriormente, se dividió la muestra en dos partes de 1L cada una, destinando una de estas para el ajuste de la concentración de azúcar a un nivel específico de 18°Brix, preparando inicialmente una solución azucarada, mezclando 100 gramos de azúcar en 250 ml de agua destilada. Con el objetivo de alcanzar la concentración deseada, se agregó gradualmente la solución azucarada a la muestra realizando mediciones con ayuda de un refractómetro para permitir un seguimiento constante del progreso en el ajuste de la concentración de azúcar. Llevando este proceso a cabo hasta lograr la concentración deseada.

2.4 Inoculación

La fermentación fue realizada en matraces Erlenmeyer de 250 mL de volumen, estos matraces primeramente fueron esterilizados en la autoclave marca STURDY modelo SA-300VF, luego fueron pesados previo al añadido de puré de banano y etiquetados. Se calcula la densidad del puré mediante la medición del peso en un volumen de 20 mL, medido en una probeta de 50 mL de capacidad. Con el valor

de densidad calculado, se añade 165 gr de puré; equivalente a un volumen de 150 ml; a cada matraz y se registra el peso de este. La inoculación de cada matraz se lleva a cabo añadiendo 1 ml de una solución compuesta de un consorcio bacteriano donde predomina *Komagataeibacter Xylinus*.

2.5 Diseño de Sistema de fermentación

La fermentación fue realizada en un contenedor aislante térmico de poliestireno expandido para conservar la temperatura durante el período de 8 días de fermentación y los experimentos fueron realizados separando las muestras en 12 matraces de los cuáles se varió dos parámetros siendo estos variables: la aireación o grados brix de la muestra (Tabla 2.1)

Tabla 2.1 Matriz de variación de parámetros de fermentación

Sistema	Aireación	Ajuste a 18 °Brix
1	No	No
2	Sí	No
3	No	Sí
4	Sí	Sí

De esta forma por cada variación en el parámetro de experimentación se tiene tres matraces con las mismas condiciones, lo cual fue realizado para el análisis estadístico durante el análisis de resultados. Los matraces son tapados con un algodón y gasa para prevenir contaminación por agentes externos.

2.5.1 Sistema de aireación

El sistema de aireación propuesto está formado por una bomba de aire para generar el flujo de aire requerido para el proceso. La salida de aire de la bomba está conectada a un filtro diseñado para purificar el aire antes de su distribución a los matraces. Este filtro consta de capas de algodón y carbón activado que se encargaran de retener partículas y contaminantes presentes en el aire, lo que resulta esencial para mantener un entorno propicio para el crecimiento de los cultivos en los matraces. Se implementaron seis salidas del filtro conectadas individualmente a cada matraz mediante mangueras de

4 mm cada una de estas mangueras tiene un difusor en su extremo, con el objetivo de disminuir el tamaño de las partículas de aire que se liberan en cada matraz.

Ilustración 2.1 Sistema de fermentación



Nota. Elaborado por autores.

2.6 Toma de muestra

Para la toma de muestra se realiza la extracción del líquido sobrenadante a las 48, 96, 144 y 192 horas a partir del inicio de la fermentación obteniendo de esta forma 4 conjuntos de 12 muestras por cada experimento. Las muestras fueron tomadas extrayendo en un tubo Falcón de 7.5 mL del líquido sobrenadante de cada matraz, este frasco es posteriormente pesado y conservados en un congelador a -20°C para evitar la fermentación de la muestra extraída.

2.7 Tratamiento de muestras de fermentación

Previo a los análisis se realizó la centrifugación utilizando un equipo de grado laboratorio BIOBASE, ajustando los parámetros de centrifugación a 3000 rpm durante un período de 20 min manteniendo una temperatura constante de 4°C de las muestras para la separación de fases sólidas y

líquidas, el sobrenadante líquido de las muestras centrifugadas fue extraído y conservado en tubos Falcón. De estas muestras líquidas fue medido la masa y el volumen.

2.8 Análisis de muestras

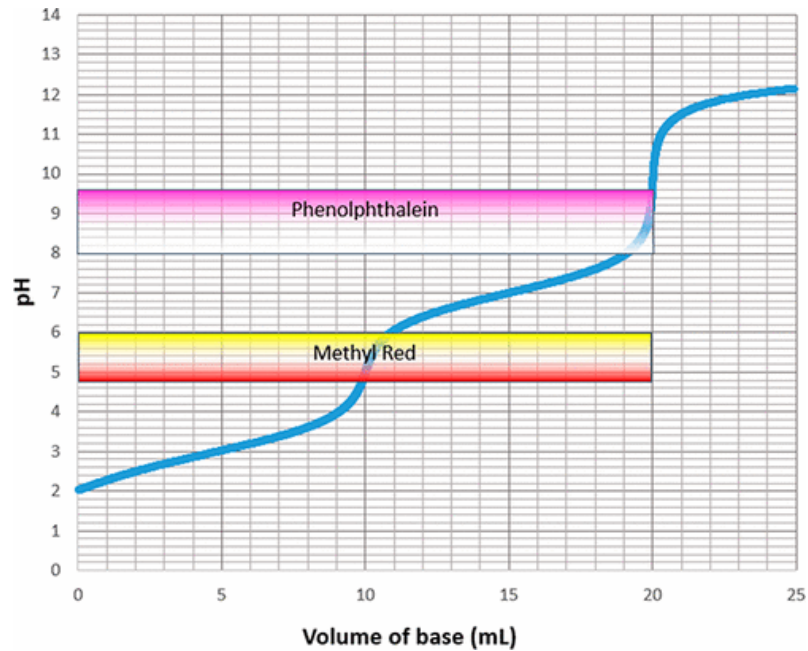
Los análisis realizados a la materia prima recibida son: sólidos totales, sólidos volátiles, acidez titulable y azúcares reductoras. De estos análisis los ensayos de sólidos totales y sólidos volátiles serán realizados a la materia prima previo a la fermentación y a la materia sólida residual luego de finalizar la fermentación.

2.8.1 Titulación

La acidez titulable se expresa como la cantidad de ácido necesaria para neutralizar una muestra hasta cierto punto de equilibrio. Comenzando por pesar una cantidad conocida de puré de banano y agregando unas gotas de fenolftaleína a la muestra. Este ensayo fue realizado tanto como a la materia prima como a las muestras extraídas durante la fermentación, en ambos casos las muestras fueron diluidas con un factor de dilución de 1:10 utilizando como solvente agua destilada.

A continuación, se titula lentamente la muestra con una solución de 0.5 N NaOH agitando constantemente hasta que se alcance el punto de equivalencia cuando el color rosado característico de la fenolftaleína permanezca, indicando que todo el ácido presente en la muestra ha reaccionado con la solución de NaOH y el pH de la solución es mayor a 9. Finalmente se registra el volumen de NaOH utilizado para realizar los cálculos de acidez titulable en términos de ácido acético (Moronta et al., 2017).

Gráfico 2.1 Curva de viraje de fenolftaleína y rojo de metilo



Nota. Fuente (K. Fernando & Perera, 2022)

2.8.2 Azúcares reductores por método de DNS

El método del ácido dinitrosalicílico (DNS) es utilizado para la determinación del grado de sacarificación midiendo la cantidad total de azúcares reductores en el hidrolizado (Prisacaru et al., 2021). En este proceso, los grupos funcionales aldehído de los azúcares reductores, específicamente aquellos de 6 carbonos, se oxidan a ácidos carboxílicos acompañando la reacción coloreada con el reactivo DNS (Başkan et al., 2016).

Siendo el proceso de fermentación una reacción de consumo de azúcares, se espera que a medida que avance la fermentación, la cantidad de azúcares reductores disminuya y de esta forma validar que efectivamente los azúcares reductores están reaccionando.

Este ensayo se realizó mediante la disolución de las muestras en un factor 1:10 usando agua de destilada como solvente para la disolución.

Previo a aplicar el método a las muestras extraídas durante la fermentación se realizó una curva de calibración a partir de una solución de glucosa. Preparando soluciones a diferentes concentraciones

conocidas y aplicando el método DNS. Luego de medir la observancia en cada solución, se construye la curva de calibración la cual relaciona la concentración de glucosa con la absorbancia medida, y de la cual tomaremos tanto la pendiente como el intercepto para determinar los g de azúcar reductor/L. De manera que:

$$\frac{g_{az\ reductores}}{L} = \left(\frac{Absorbancia\ muestra - intercepto}{pendiente} \right) * \frac{factor\ de\ dilución}{1000}$$

Para finalmente determinar los gramos de azúcar reductor/g de pure de banano al relacionar los L de muestra con la densidad de la materia prima previo a la fermentación:

$$\frac{g_{azúcares\ reductores}}{g_{puré\ de\ banano}} = \frac{g_{azúcares\ reductores}}{L_{solución}} * \frac{0,15\ L_{solución}}{165\ g_{puré\ de\ banano}}$$

2.8.3 Ensayos realizados por CIBE

Se destinó además una muestra de la materia prima para el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, CIBE, dónde se llevaron a cabo análisis de carga microbiana de aerobios totales y se analizó el perfil de azúcares de muestras semisólidas, mediante cromatografía de gases.

Para cuantificar la carga microbiana, se realizaron diluciones hasta alcanzar una dilución de 10^{-5} , seguido de la siembra en placas Petri con medio de cultivo TSA. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 48 horas y finalmente se procedió al recuento de las colonias bacterianas.

Por otro lado, el perfil de azúcares se determinó mediante cromatografía de gases, en este proceso como primer paso, se extrajeron los azúcares de la muestra, luego se llevó a cabo el proceso de derivatización, lo cual es esencial para convertir los azúcares en derivados más volátiles y detectables. Finalmente, se procedió a la detección y análisis de datos para obtener información detallada sobre la composición de azúcares en la muestra.

2.9 Recolección de datos

Los datos obtenidos durante la experimentación fueron registrados en una bitácora y posteriormente tabulados en tablas en el software Microsoft Excel 2016.

2.10 Procesamiento de datos

2.10.1 Masa y volumen

De los resultados obtenidos se realiza el cálculo de la masa y volumen obtenidos de cada toma de muestra para el balance de materia. Para este fin, a cada set de matraces descrito en la Tabla 2.1 se realizó el cálculo del promedio y desviación estándar para una población.

Ecuación 2.1 Ecuación desviación estándar población

$$S = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

2.10.2 Determinación de rendimientos.

Los datos obtenidos luego de la titulación tratados para posteriormente ser graficados para la visualización del cambio de acidez total a medida que transcurría la fermentación. Esto es realizado para la validación de la suposición inicial, a medida que avanza la fermentación y los azúcares reductores son consumidos, la acidez del sistema aumenta debido a la presencia de ácido acético. Estos cálculos son realizados con las siguientes ecuaciones:

Ecuación 2.2 Conversión

$$\text{Conversión} = \frac{g \text{ Ác. Acético obtenido}}{g \text{ Ác. Acético Teórico}} * 100\%$$

Ecuación 2.3 Rendimiento g Ác. Acético / g Azúcar Reductores

$$\text{Rendimiento} \left[\frac{g \text{ Ác. Acético}}{g \text{ Azúcar Reductores}} \right] = \frac{g \text{ Ác. Acético obtenido}}{g \text{ Azúcar Reductores inicial}}$$

Ecuación 2.4 Rendimiento g Ác. Acético / g Puré de Banano

$$\text{Rendimiento} \left[\frac{g \text{ Ác. Acético}}{g \text{ Puré de Banano}} \right] = \frac{g \text{ Ác. Acético obtenido}}{g \text{ Puré de Banano}}$$

Al finalizar con el experimento, se procedió a realizar los análisis estadísticos pertinentes para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos realizados, al momento de determinar rendimientos. Esto se realiza mediante el análisis de sumas de cuadrados del Tipo III, donde la contribución de cada factor se mide una vez eliminados los efectos de todos los demás factores del sistema (McPherson, 2013, p. 403).

2.11 Simulación Aspen Plus

2.11.1 Compuestos seleccionados para la simulación de puré de banano.

La simulación en Aspen es realizada para mejorar el rendimiento de gramos de puré de banano/ Litro de ácido acético puro obtenido de los resultados de la experimentación a escala de laboratorio.

La simulación de este proyecto se realizó utilizando el software de simulación ASPEN PLUS. Este programa cuenta con librerías de compuestos químicos para realizar los procesos que son esperados en la planta de procesamiento, dado que el puré de banano no es una mezcla en la librería del software, se simula la materia prima y los productos de la fermentación mediante los siguientes compuestos tabulados en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2 Lista de compuestos para la simulación de ASPEN PLUS

Compuesto	Símbolo
Carbón sólido	C
Dióxido de carbono	CO ₂

Oxígeno gas	O ₂
Agua	H ₂ O
Ácido acético	CH ₃ COOH
Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇
Glucosa	C ₆ H ₁₂ O ₆

Nota. Elaborado por autores.

2.11.2 Selección de cinética química

La cinética química del proceso de fermentación es simulada con un ajuste linealizado del modelo de Michaelis-Menten, este modelo permite caracterizar la tasa enzimática a diferentes concentraciones de sustrato en reacciones catalizadas por enzimas, esto es sustentado por una investigación donde se reporta el modelado de la cinética del proceso de fermentación alcohólica y acética mediante Michaelis-Menten (Nnaemeka et al., 2021). Las constantes de la cinética serán determinadas durante el análisis de datos siguiendo el modelo de:

Ecuación 2.5 Velocidad de reacción

$$V_o = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Donde:

V₀ es la velocidad inicial de la reacción

V_{max} Es la velocidad máxima

K_m es la constante de Michaelis-Menten

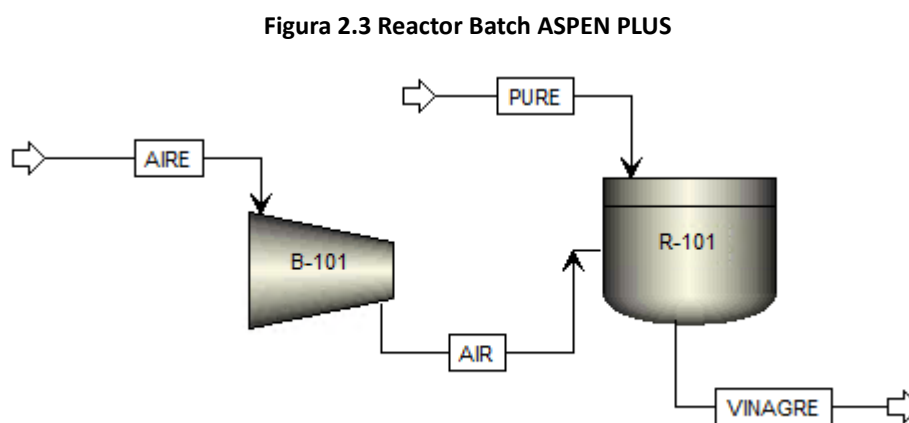
[S] es la concentración de sustrato

La constante de Michaelis-Menten representa la concentración de sustrato a la mitad de la velocidad máxima de la reacción enzimática (Kareem et al., 2011). En sistemas biológicos el valor K refleja también la afinidad relativa de una enzima por su sustrato, cuanto menor sea el valor de K, mayor

será la afinidad de la enzima por su sustrato, ya que indica que la enzima puede alcanzar una velocidad significativa incluso a concentraciones bajas de sustrato (Bellissimi et al., 2009).

2.11.3 Selección de equipos para la simulación.

Para la simulación de la fermentación se decide utilizar un reactor batch dado que es el modelo de reactor que mejor se ajusta al tipo de reacción que se está estudiando, esto es validado en un estudio por Barrera (2016) dónde se utiliza el Reactor Batch del software ASPEN PLUS para el modelado de la fermentación (Barrera, 2016), en este reactor se configura con las condiciones de presión y temperatura constante, la cinética química definido con el modelo de Power Law se configura con las constantes obtenidas durante el análisis de resultados.



Nota. Fuente (Aspen Plus Versión V 12.1)

2.12 Especificaciones y criterios para la validación del proceso

Para declarar que el proceso de fermentación implementado efectivamente dio como resultado la obtención de vinagre a partir de puré de banano es necesario que el producto final cumpla con las especificaciones y criterios establecidos por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) en la normativa INEN 2296: Vinagre. Requisitos, se establecen los requisitos que un producto debe cumplir para ser considerado vinagre, estos requerimientos son listados en tabla 2.3:

Tabla 2.3 Requisitos y criterios del INEN 2296 Vinagre.

Requisito	Mín.	Máx.	Método de ensayo
-----------	------	------	------------------

Acidez total (como ácido acético) %	4	6	AOAC 930.35
Acidez fija (como ácido acético) %	--	0.3	AOAC 930.35
Acidez volátil, (como ácido acético) %	3.7	--	AOAC 930.35
Alcohol etílico a 20 °C %	--	1.0	AOAC 930.35
pH a 20 °C	2.3	2.8	AOAC 981.12
Número de oxidación con permanganato	3	--	AOAC 944.10
Cenizas totales, en vinagres diferentes a los de alcohol g/l.	1	5	AOAC 930.35 (D)
Extracto seco g/l	1.2		AOAC 930.35 (C)
Metanol g/l		0.5	AOAC 958.04
% expresado como fracción de masa			

Fuente: Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2003, p4

2.13 Análisis de costo

El análisis de costo fue realizado mediante la cotización de los equipos necesarios y mediante el cálculo de los costos operativos mensuales, estos costos son contrastados con VAN formula financiera que indica el plazo estimado de recuperación de inversión y ganancia adicional por el tiempo de evaluación. Si es mayor a 0 indica que el proyecto es viable económicamente. TIR tasa indicativa de la recuperación del capital durante el tiempo de evaluación del proyecto (Mohammed et al., 2023), esta evaluado para un período de 5 años.

Capítulo 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

La materia prima recibida presenta características de 15 °Brix, pH de 3.5 y una densidad de 1.10 g/L.

Tabla 3.1 Características del Puré de Banano

Concentración de azúcar [° Brix]	Concentración de azúcar [g azúcares reductores/L]	Densidad [g/L]	Acidez total [g ácido/100 ml de solución]
15	11.78	1.10	0.30025
18	12.85	1.10	0.30025

Nota. Elaborado por autores.

3.1 Ensayos Realizados por el CIBE

Los ensayos realizados por CIBE para la carga microbiana y determinación del perfil de azúcares obtuvo que, en el ensayo de determinación de carga microbiana se realizó el recuento de la dilución 10^{-1} , seleccionándola como la más apropiada según el recuento de colonias.

Figura 3.1 Evaluación del crecimiento de colonias bacterianas en placas Petri

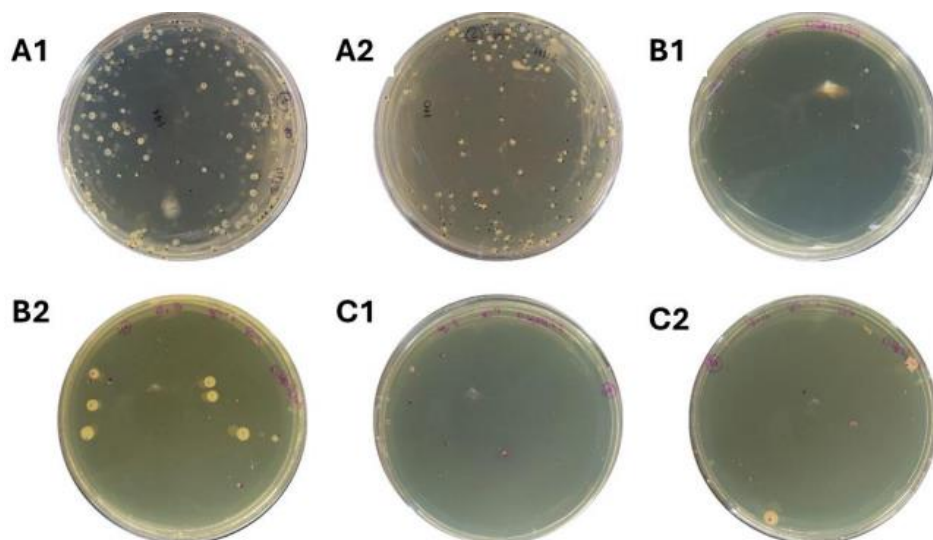


Tabla 3.2 . Resultados del conteo bacteriano en diluciones

ID muestra	Dilución	Concentración (UFC/ml)
A1	-1	1.41×10^4
A2	-1	1.1×10^4
B1	-1	4×10^2
B2	-1	1.1×10^3
C1	-1	5×10^2
C2	-1	4×10^2

En la determinación de azúcares se identificó que predominan la fructuosa, glucosa y sucrosa. Las muestras presentan pequeñas cantidades de manosa y galactosa, reportadas en % equivalente de glucosa. La presencia de estos azúcares es beneficiosa para llevar a cabo la fermentación acética, ya que proporciona sustratos para la producción de ácido acético.

Tabla 3.3 Resultados cuantificación de carga microbiana y perfil de azúcares.

Muestra	Concentraciones de Azúcares (%)			
	Fructuosa	Glucosa	Sucrosa	Otros azúcares (%eq de glucosa)
1	1,27	3,74	2,99	2,97
2	0,835	2,98	3,91	2,65
3	2,02	2,34	2,755	2,27

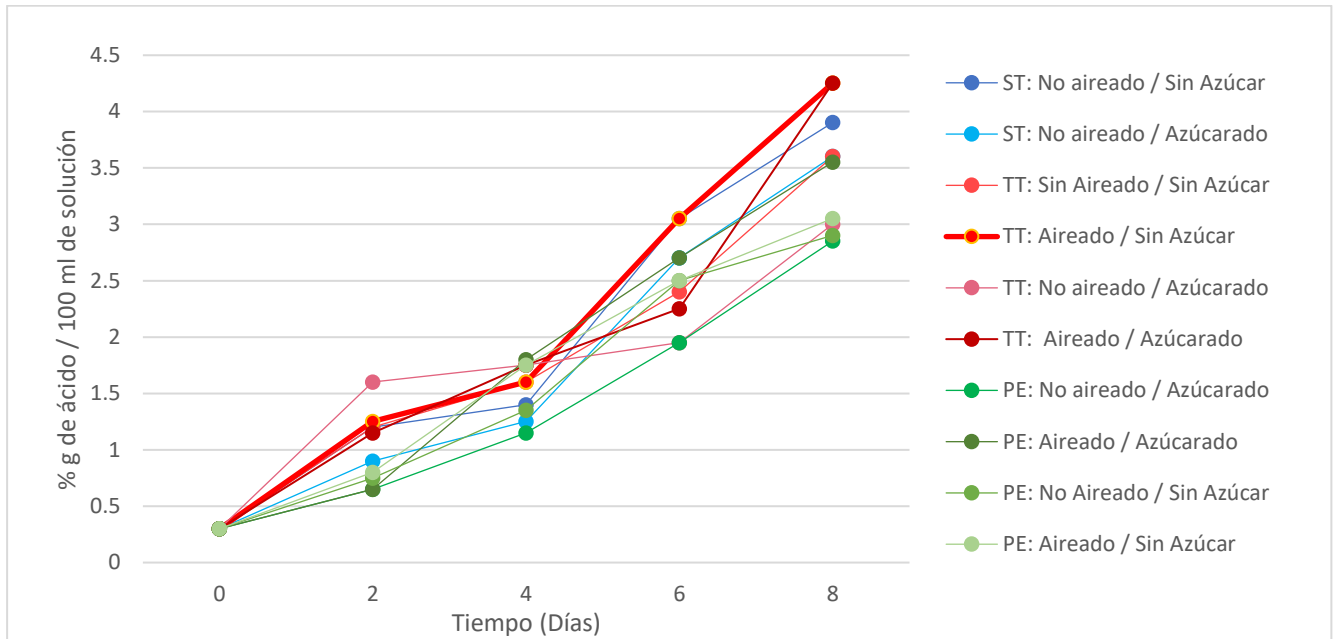
Nota. Elaborado por autores.

En general estos resultados, sugieren un crecimiento bacteriano significativo. Sin embargo, es recomendable reducir la concentración de bacterias asegurando condiciones favorables para la fermentación, evitando así la competencia con las bacterias acéticas.

3.2 Acidez Total

La determinación de la acidez total fue realizada por duplicado y posteriormente tabulado el promedio de las titulaciones, estos datos fueron graficados en Gráfica 3.1 proporcionando una visualización clara del cambio en acidez total durante el proceso de fermentación.

Gráfica 3.1 % Acidez total vs Tiempo



Nota. Elaborado por autores.

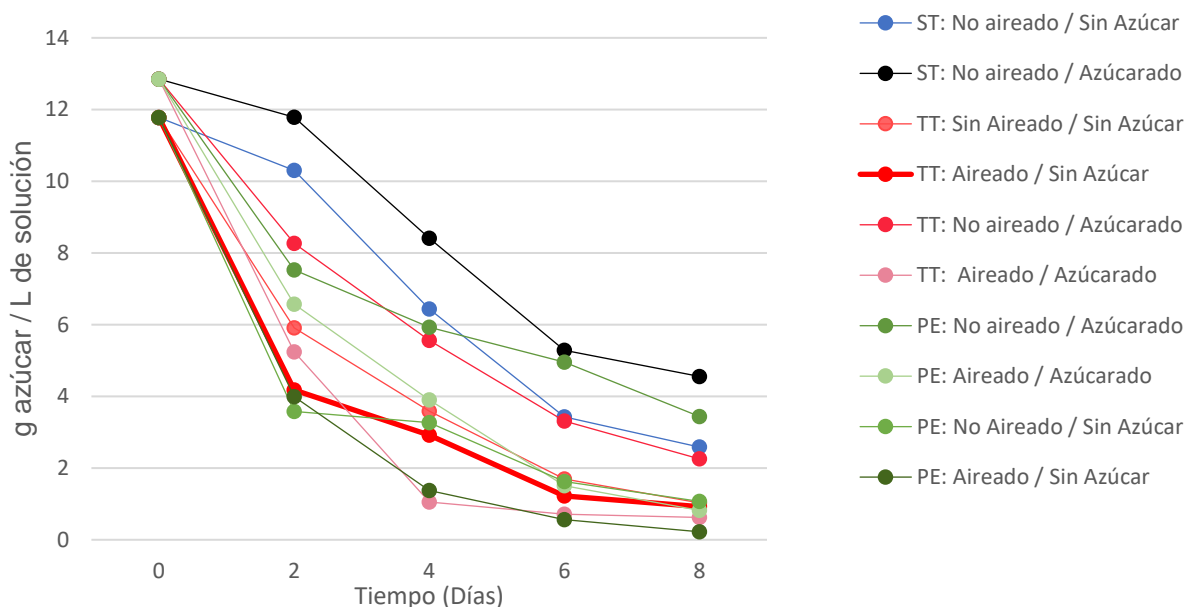
La tendencia de los datos en la Gráfica 3.1 evidencia un aumento en la medida de acidez total fermentación llegando a un valor máximo de 4.25% para sistemas de a) TT: Aireado y sin azúcar y b) TT: Aireado y azucarado. Esta tendencia comprueba la producción de ácido acético a medida que transcurre la fermentación, debido al aumento en la acidez en el sistema producto de la presencia del ácido producido.

3.3 Azúcares Reductores

La cuantificación de azúcares reductores se llevó a cabo mediante el método colorimétrico con DNS. La intensidad del color alcanzado, medida a través de la absorbancia, es directamente proporcional a la concentración de azúcares reductores presentes, permitiendo cuantificar los azúcares reductores (Dowerah et al., 2023).

En la Gráfica 3.2. se observa una disminución progresiva en la concentración de azúcares reductores a medida que avanza la fermentación. Esta tendencia se atribuye al consumo de los azúcares como fuente energía por parte del consorcio bacteriano (Islam et al., 2017).

Gráfica 3.2 Concentración Azúcares reductores vs Tiempo



Nota. Elaborado por autores.

Para los sistemas que al inicio de la fermentación tienen una concentración de 15 °Brix se aprecia una reducción significativa de azúcares reductores al finalizar los 8 días de fermentación, esta tendencia es beneficiosa debido a que muestra un consumo eficiente de los recursos disponibles en el tiempo de establecido de producción.

Los sistemas que comienzan con 18 °Brix tienen una mayor concentración de azúcares al final de la fermentación. Indicando la posibilidad de continuar produciendo ácido acético debido a la disponibilidad de azúcares. Esto afecta negativamente al sistema, aumentando el tiempo de residencia en un reactor Batch, aumentando el costo de almacenamiento.

3.4 Análisis estadístico

Una vez tabulado los resultados de los experimentos de acidez total y azúcar reductores se realizó el análisis estadístico para determinar la influencia de los parámetros estudiados sobre la acidez total y la concentración de azúcares reductores. La contribución de cada variable evaluada se calcula eliminando los efectos de todas las demás variables del sistema.

3.4.1 Influencia de los parámetros sobre la acidez total

Los valores de P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. De la Tabla 3.4 dado que 5 valores P mostrados en rojo son inferiores a 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo en la variación de la acidez total con un nivel de confianza del 95.0%. De este análisis se evidencia la influencia significativa de la aireación y el tratamiento de pasteurización sobre el aumento de la acidez a lo largo del tiempo. Se concluye que en la producción de ácido acético y etanol en procesos de fermentación, a mayor disponibilidad de oxígeno en el sistema, mayor será la conversión de etanol a ácido acético (Aguilar Uscanga et al., 2003).

Tabla 3.4. Análisis de variación sobre acidez total

	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	P-Prueba
Efecto principal				
A:TT	2.0314	1	2.0314	0.0000
B: Aireación	1.5897	1	1.5897	0.0000
C: Azúcares	0.0751	1	0.0751	0.3421
D: Tiempo	144.7150	4	36.1788	0.0000
Interacciones				
AB	0.0068	1	0.0068	0.7752
AC	0.1690	1	0.1690	0.1553
AD	2.8311	4	0.7078	0.0000
BC	0.0368	1	0.0368	0.5055
BD	2.1385	4	0.5346	0.0001
CD	0.7381	4	0.1845	0.0704
Residuo	7.9948	97	0.0824	
TOTAL (Corregido)	162.3270	119		

Nota. Elaborado por autores.

3.4.2 Influencia de los parámetros sobre la concentración de azúcares reductores

Se evidencia que existe influencia significativa en los parámetros de: Aireación, concentración de azúcares, tiempo de fermentación en la producción de CH₃COH con un nivel de confianza del 95.0% mostrados en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5: Análisis de variación sobre azúcares reductores.

	Suma de cuadrados	Df	Media cuadrática	P-Prueba
Efecto principal				

A:TT	0.0823	1	0.0823	0.6826
B: Aireación	44.3145	1	44.3145	0.0000
C: Azúcares	50.4113	1	50.4113	0.0000
D: Tiempo	1949.14	4	487.2860	0.0000
Interacciones				
AB	2.0370	1	2.0370	0.0441
AC	8.2911	1	8.2911	0.0001
AD	1.6272	4	0.4068	0.5086
BC	10.0486	1	10.0486	0.0000
BD	14.1325	4	3.5331	0.0000
CD	10.6014	4	2.6503	0.0006
Residuo	47.4770	97	0.4895	
TOTAL (Corregido)	2138.17	119		

Nota. Elaborado por autores.

3.4.3 Selección de parámetros ideales para la simulación

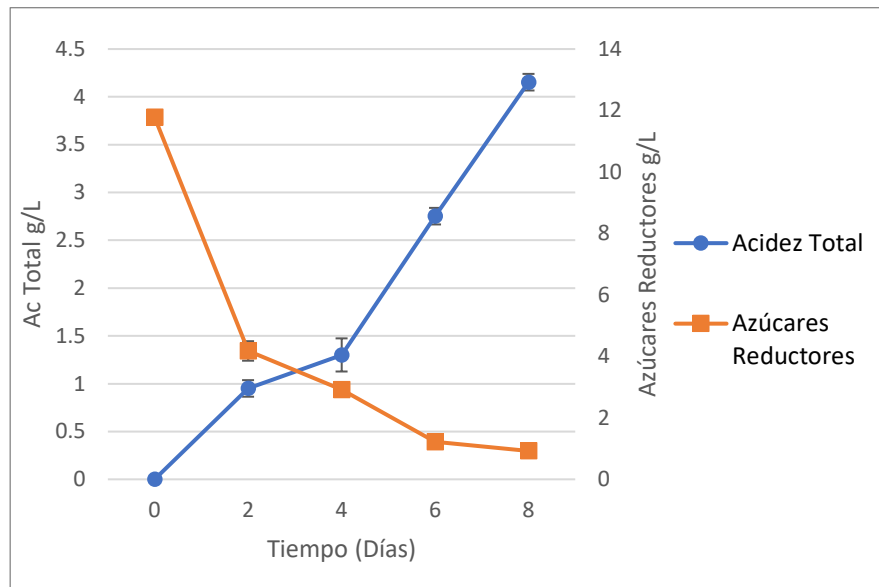
Este análisis revela que, según la comparación de los valores P de prueba, la variación de concentración de azúcar al inicio de la fermentación no afecta significativamente mientras que la aireación del sistema afecta significativamente en la producción de vinagre.

Se compara el valor de acidez total al final de la fermentación para la selección del sistema a simular, cumpliendo con los estándares del INEN, que establecen un límite inferior de mínimo del 4% m/v, según se detalla en la Tabla 2.3.

El sistema de pasteurización térmica con aireación y sin azúcar cumple con un promedio de acidez total al final de la fermentación de 4.15% con una desviación estándar de 0.086%. De esta forma se limita la selección del sistema para la simulación en ASPEN PLUS a este sistema.

Los valores de acidez total y concentración de azúcares reductores en función del tiempo son graficados en Gráfica 3.3 donde se calcula una correlación lineal de -0.8258 que evidencia un aumento en la acidez en total a medida que los azúcares en el medio son consumido producto de la actividad bacteriana.

Gráfica 3.3 Acidez Total y Concentración de azúcar vs Tiempo en Tratamiento Térmico: Pasteurizado y sin azúcar



3.5 Cinética química

Para el cálculo de la constante cinética se tabularon la concentración de ácido acético producido mediante la conversión estequiométrica de los azúcares consumidos utilizando la expresión linealizada de Michaelis-Menten para el modelado de cinética química, este resultado es tabulado en

Tabla 3.6, el valor de $V_{máx}$ de 0,0541 mol/día y una constante de Michaelis-Menten K de 0.0251 obtenidas mediante el ajuste de curvas.

El coeficiente de determinación (R^2) de 0.9107 indica el buen ajuste del modelo a los datos experimentales, lo que permite concluir que los valores obtenidos son apropiados para integrarlos en el modelado de la cinética de la reacción en el software ASPEN PLUS.

Gráfica 3.4 Cinética Química: Método Michaelis-Menten

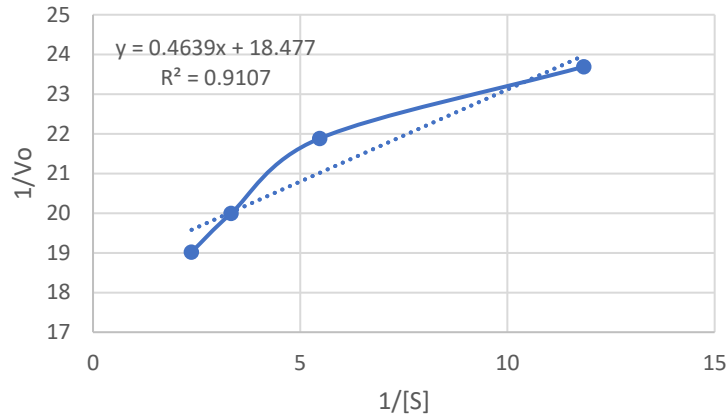


Tabla 3.6 Cinética de la reacción

Constantes Cinéticas	
V_{max}	0.0541 mol/Día
V_{max}	1.5625E-06 mol/s
K	0.0251

Nota. Elaborado por autores.

3.6 Rendimiento

Del sistema seleccionado, se calcula el rendimiento de producción:

Tabla 3.7 Rendimientos

Conversión Azúcar a Ác. Acético	52.87%
Porcentaje de vinagre obtenido [g de vinagre / g puré de banano]	34.37%
Rendimiento [g Ác. Acético / g Azúcar Reductores]	0.3526
Rendimiento [g Ác. Acético / g Puré de Banano]	2.96E-04

Nota. Elaborado por autores.

Finalmente se obtiene un vinagre con las siguientes características.

Tabla 3.8 Características vinagre de puré de Banano

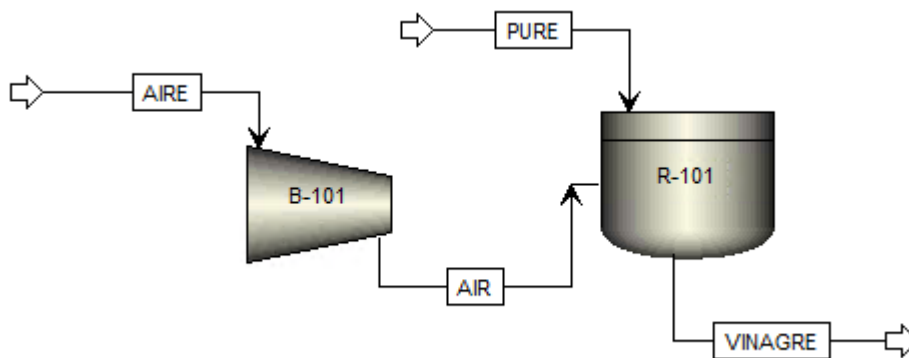
Densidad [g/L]	1,02
Acidez total %	4,15
pH	2,57

3.7 Simulación en Aspen Plus.

3.7.1 Condiciones de operación

La simulación en Aspen Plus se realizó utilizando como componentes de simulación los tabulados en la Tabla 2.2, y la cinética calculada en la sección 3.4 a partir del sistema de Pasteurización Térmica: Aireación y sin azúcar añadida. La Figura 3.2 proporciona una visión detallada de como los equipos interactúan en el proceso. Mientras que

Figura 3.2 Reactor Batch ASPEN PLUS



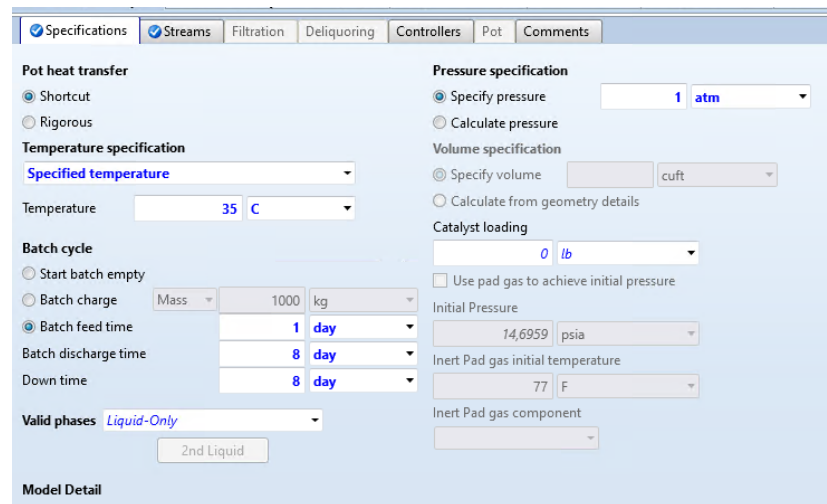
Nota. Fuente (Aspen Plus Versión V 12.1)

Tabla 3.9 Descripción de equipos simulados

Equipo	Código	Descripción	Condiciones de Operación
Reactor Batch	R-101	Usado durante la fermentación, donde ocurre la conversión de azúcares a ácido acético.	Temperatura: 35 °C Presión: 1 atm
Blower	B-101	Para la generación y suministro de un flujo constante de aire al sistema.	Temperatura: 35 °C Presión: 1 atm Flujo másico: 1.2 kg/h

En la **Error! Not a valid bookmark self-reference.Error! Reference source not found.** se muestra las condiciones de operación del reactor Batch.

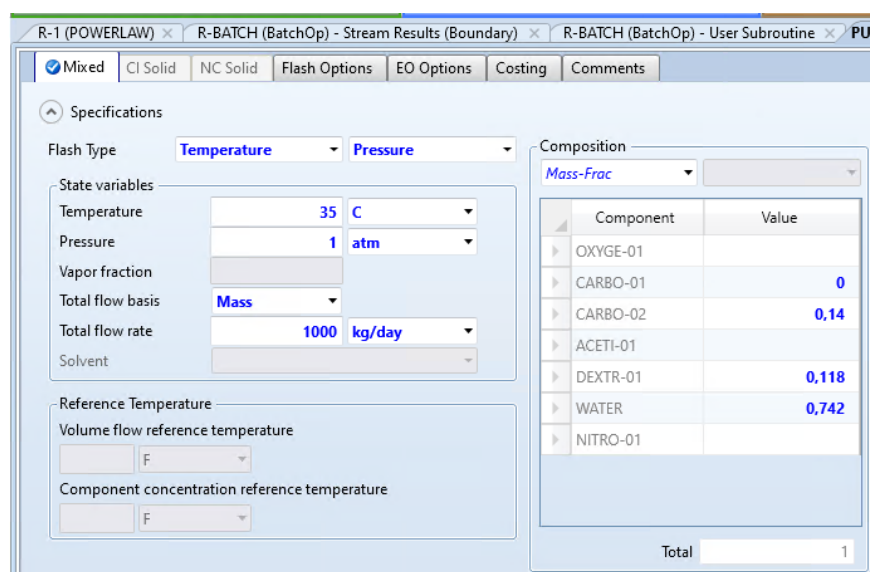
Figura 3.3 Interfaz de Aspen Plus - Condiciones de operación Reactor Batch Aspen Plus



Fuente: (Aspen Plus, versión 12.1, 2024)

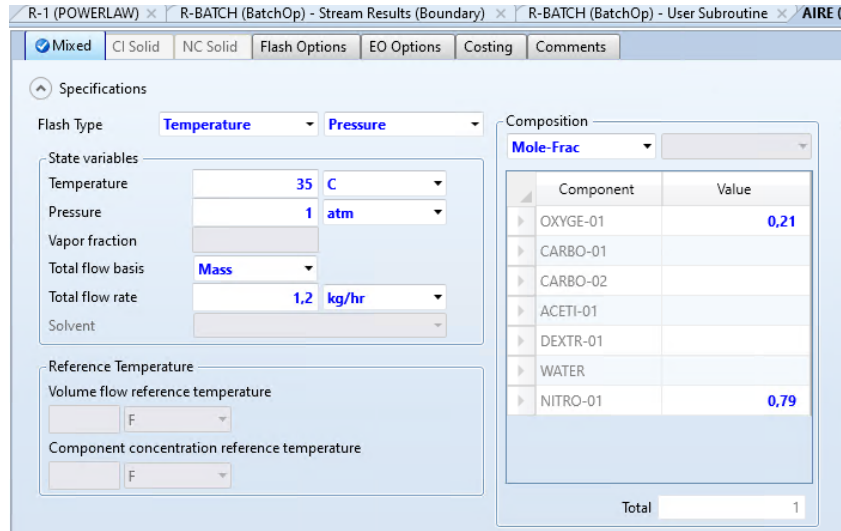
Las condiciones de entrada del puré y el flujo de aire fueron expresadas en términos de fracción másica como se muestra en la Figura 3.4 y Figura 3.5 respectivamente.

Figura 3.4 Condiciones de entrada Puré de banana Aspen Plus



Fuente: (Aspen Plus, versión 12.1, 2024)

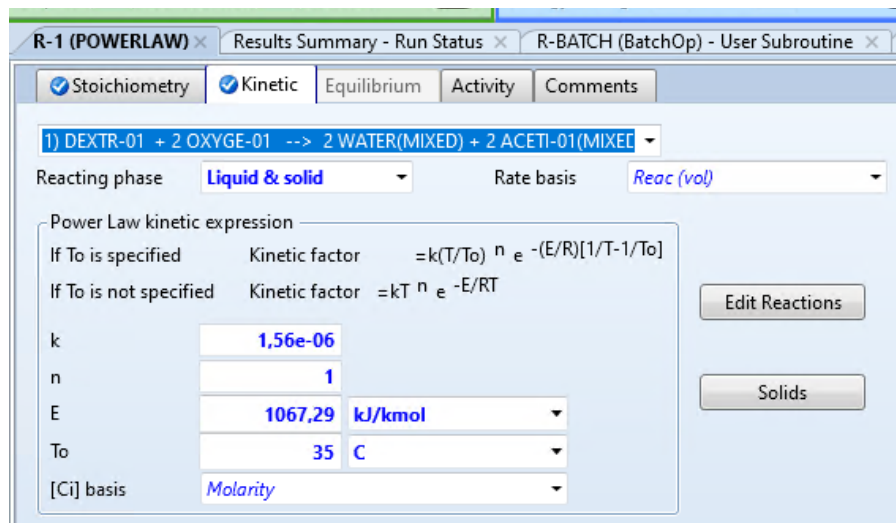
Figura 3.5 Condiciones de entrada flujo de aire Aspen Plus



Fuente: (Aspen Plus, versión 12.1, 2024)

En la sección de modelo cinético, se configura la expresión cinética junto con la reacción.

Figura 3.6 Cinética química Aspen Plus



Fuente: (Aspen Plus, versión 12.1, 2024)

Al ejecutar la simulación se evidencia la ejecución de la simulación sin errores ni advertencias mostrados en la Figura 3.7 exportado del software de simulación.

3.7.2 Resultados de la simulación

Figura 3.8 Resultados Flujo molar ASPEN PLUS

R-101 (BatchOp) - Stream Results (Boundary) × Results Summary × B-101 (Compr) - Results × B-101 (Compr) × Results S								
Material	Heat	Load	Vol.% Curves	Wt.% Curves	Petroleum	Polymers	Solids	Batch
			Units	AIRE	PURE	VINAGRE		
▶	Enthalpy Flow		J/sec	3,37137	-60096,7	-8133,14		
▶	Average MW			28,8504	18,6922	19,5984		
▶	- Mole Flows		kmol/hr	0,0415939	2,22909	0,326983		
▶	OXYGE-01		kmol/hr	0,00873472	0	0,00423299		
▶	CARBO-01		kmol/hr	0	0	0,00450172		
▶	CARBO-02		kmol/hr	0	0,485666	0,0607082		
▶	ACETI-01		kmol/hr	0	0	0,00450172		
▶	DEXTR-01		kmol/hr	0	0,0272909	0,0011605		
▶	WATER		kmol/hr	0	1,71614	0,219019		
▶	NITRO-01		kmol/hr	0,0328592	0	0,0328592		

Fuente: (Aspen Plus, versión 12.1, 2024)

Figura 3.9 Resultados en fracción másica Aspen Plus

R-1 (POWERLAW) × R-BATCH (BatchOp) - Stream Results (Boundary) × R-BATCH (BatchOp) - User Subroutine × AIRE (MA								
Material	Heat	Load	Vol.% Curves	Wt.% Curves	Petroleum	Polymers	Solids	Batch
			Units	AIRE	PURE	VINAGRE		
▶	Average MW			28,8504	18,6922	19,5984		
▶	+ Mole Flows		kmol/hr	0,0415939	2,22909	0,326983		
▶	+ Mole Fractions							
▶	+ Mass Flows		kg/hr	1,2	41,6667	6,40833		
▶	- Mass Fractions							
▶	OXYGE-01			0,232917	0	0,0211367		
▶	CARBO-01			0	0	0,030916		
▶	CARBO-02			0	0,14	0,113784		
▶	ACETI-01			0	0	0,0421857		
▶	DEXTR-01			0	0,118	0,0326252		
▶	WATER			0	0,742	0,615711		
▶	NITRO-01			0,767083	0	0,143641		
▶	Volume Flow		l/min	17,5288	0,540695	0,0935964		



Fuente: (Aspen Plus, versión 12.1, 2024)

3.8 Análisis de costos

3.8.1 Cotización de equipos

Basado en el análisis estadístico en la sección 3.4.3 se realiza la simulación para el escalamiento a nivel industrial, se contempla únicamente el costo de dos elementos esenciales del proceso, el tanque de fermentación y un blower para el flujo de aire hacia el tanque. Este enfoque selectivo, simplifica la estructura de costos.

Tabla 3.10 Cotización de equipos

Equipo	Marca/Modelo	Precio	Capacidad	Especificaciones	Imagen Referencial
Reactor	Quzhou	\$2500,00	1000 L – (25% de espacio excedente)	Sistema de Calentamiento Eléctrico	
Blower	Edon 2GH 210-H16	\$75.00	78 m3/min	400 w 50 Hz	

Fuente: (Grupo Alibaba, 2023)

3.8.2 Coste unitario de producción

En el lote de producción para la planta propuesta se estima obtener $3.36E+02$ L de vinagre por cada tonelada de materia prima, para el análisis económico se propone la venta del vinagre en botellas 330 ml estimando una producción de 4072 botellas mensuales, con el desglose de los costos mostrados en la Tabla 3.11

Tabla 3.11 Costos de producción mensual

Costo operativo mensual	\$ 1,200.00
Costo energía eléctrica mensual	\$ 100.00
Costo de botella individual	\$ 0.46
Costo de botella producción mensual	\$ 1,870.10
Sumatoria de Costos mensuales	\$ 3,170.10

De esta manera se calcula el costo unitario del producto y se propone un precio de venta 3 veces mayor al costo unitario generando un margen de utilidad mostrado en la **Error! Reference source not found.**

Tabla 3.12 Margen de utilidad

Costo unitario de botella de vinagre	\$ 0.78
--------------------------------------	---------

Precio de venta	\$ 2.34
Ganancia neta mensual	\$ 4,566.70
Margen de utilidad	67%

3.8.3 Rentabilidad de la propuesta

Para la determinación de la viabilidad del proyecto se evalúa el TIR y VAN

Tabla 3.13 Rentabilidad de la propuesta

VAN	\$ 76,177.78
TIR	345%

Estos valores nos indican que el proyecto tiene un retorno significativamente superior a la inversión inicial, además de generar beneficios económicos que superan los costos asociados. El TIR evidencia que es una oportunidad financiera atractiva, debido a que es superior a la tasa de rendimiento esperada (TMAR). El VAN refleja la viabilidad del proyecto ya que con la producción estimada se recuperaría la inversión inicial en el primer año operativo y se obtendría una ganancia durante los primeros 5 años de funcionamiento de \$76,177.78

Capítulo 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se evaluó la influencia de los parámetros de aireación, tratamiento térmico y concentración de azúcares en la conversión de azúcares presentes en la muestra de puré de banano para la producción de vinagre, mediante ensayos de laboratorio se estudia las características clave durante la fermentación como la acidez total y los azúcares reductores para evaluar la contribución de cada parámetro en la formación del producto final. Los resultados obtenidos revelaron la importancia de cada parámetro, y su impacto durante el proceso de fermentación. Estos hallazgos son fundamentales para tanto para el diseño del proceso de producción a escala industrial, como para el desarrollo de una estrategia sostenible de aprovechamiento de este desecho en un contexto de economía circular.
- Mediante el análisis estadístico de suma de cuadrados se evaluó la contribución de los parámetros de fermentación concluyendo que las condiciones ideales para la producción de vinagre incluyen Pasteurización Térmica, Aireación y con la concentración de azúcares presentes en la materia prima. Con las condiciones seleccionadas, partiendo de un puré de banano de 1.10 g/L de densidad y 15 °Brix, se obtiene un vinagre de aroma frutal con 4.25% de acidez total y un pH de 2.55. Estas características cumplen con los requerimientos establecidos por el INEN para vinagres de frutas. Estos resultados no solo respaldan la viabilidad de la implementación de estas condiciones a escala industrial, también sientan las bases para su reproducción y simulación en Aspen Plus.
- Con la simulación a escala industrial se proyecta la producción de ácido acético por gramo de puré de banano, proyectando los resultados obtenidos a partir de la experimentación. Esta proyección permite obtener una visión a una escala más representativa de las condiciones reales de una planta de procesamiento. En comparación con los resultados obtenidos, la simulación en ASPEN PLUS tuvo un error de 1.56%, este bajo porcentaje de error brinda seguridad en el escalamiento del proyecto, por lo tanto, sirve como puente estratégico entre los hallazgos de

laboratorio y su aplicación efectiva en la industria, contribuyendo a la viabilidad del proceso de producción de ácido acético a partir del agua de lavado del proceso de tajadas de banano, o puré de banano.

4.2 Recomendaciones

- Se sugiere utilizar el peso como unidad de medición de la materia prima en vez de volumen para la fermentación, a su vez, es importante tener en cuenta que la densidad de la materia prima puede variar entre lotes de muestra, dependiendo de la producción del día. En consecuencia, se insta a calcular la densidad en cada lote, asegurando así una adecuada correlación entre el peso y el volumen de la materia prima utilizada en la fermentación.
- Es importante cerrar herméticamente los contenedores donde se realice la fermentación para prevenir la contaminación por agentes externos, como insectos, que podrían afectar negativamente integridad del producto final, Sin embargo, es necesario abrir el contenedor de manera controlada para permitir la liberación de los gases generados durante la fermentación.
- Se recomienda aumentar el pH durante la neutralización a valores comprendidos entre 5.5 a 6 para proporcionar un ambiente químicamente favorable al consorcio bacteriano. Este ajuste controlado de pH favorecerá un aumento la producción de ácido acético en un menor tiempo.
- El flujo de aire de entrada al sistema de fermentación fue estudiado únicamente como un flujo constante durante la fermentación, sin embargo, se sugiere estudiar el comportamiento del sistema con un flujo periódico de aire, la evaluación de esta variable puede representar la disminuir el costo de consumo de energía del Blower, ofreciendo así una potencial mejora en la eficiencia del proceso.
- Si se requiere aumentar la acidez del producto final, se recomienda estudiar el efecto del tiempo de fermentación, este período de 8 días puede ser aumentado de 10 a 12 días para evaluar la producción de ácido acético y basándose en la comparación de los resultados escoger un tiempo conveniente de duración de la fermentación.

Referencias

- Aguilar Uscanga, M. G., Délia, M.-L., & Strehaiano, P. (2003). *Brettanomyces bruxellensis*: Effect of oxygen on growth and acetic acid production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *61*(2), 157–162. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1197-z>
- Augimeri, R., & Strap, J. (2015). The Phytohormone Ethylene Enhances Cellulose Production, Regulates CRP/FNRKx Transcription and Causes Differential Gene Expression within the Bacterial Cellulose Synthesis Operon of *Komagataeibacter (Gluconacetobacter) xylinus* ATCC 53582. *Frontiers in Microbiology*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01459>
- Barrera, R. (2016). Simulación y validación de modelos de destilación por lotes usando Aspen Batch Modeler: Recuperración de epóxido de limoneno. *Ingeniería y Desarrollo 0122-3461*, *34*, 204–224.
- Başkan, K. S., Tütem, E., Akyüz, E., Özen, S., & Apak, R. (2016). Spectrophotometric total reducing sugars assay based on cupric reduction. *Talanta*, *147*, 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.09.049>
- Bellissimi, E., van Dijken, J. P., Pronk, J. T., & van Maris, A. J. A. (2009). Effects of acetic acid on the kinetics of xylose fermentation by an engineered, xylose-isomerase-based *Saccharomyces cerevisiae* strain. *FEMS Yeast Research*, *9*(3), 358–364. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00487.x>
- Bimmer, M., Reimer, M., Klingl, A., Ludwig, C., Zollfrank, C., Liebl, W., & Ehrenreich, A. (2023). Analysis of cellulose synthesis in a high-producing acetic acid bacterium *Komagataeibacter hansenii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *107*, 1–21. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12461-z>
- Boonsupa, W. (2021). The Chemical Fermentation Process Properties, Bioactive Compounds, and Health Benefits of Fruit Vinegars in Pilot-Scale in Thailand. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, *18*(4), Article 4. <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.10402>
- Dowerah, S. S., Das, A., Singla, M., & Sit, N. (2023). Comparison of yield and properties of banana juice extracted by hot water extraction method and different enzymes and preparation of wine from the extracted juices. *Food Bioengineering*, *2*(4), 317–327. <https://doi.org/10.1002/fbe2.12071>
- Duque, S. H., Cardona, C., & Moncada, J. (2015). *Análisis tecnoeconómico y ambiental de la producción de etanol a partir de 10 residuos agroindustriales en Colombia | Energía y combustibles*. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ef5019274>
- Evans, E. A., Ballen, F. H., & Siddiq, M. (2020). *Banana Production, Global Trade, Consumption Trends, Postharvest Handling, and Processing—Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition—Wiley Online Library*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119528265.ch1>
- Grupo Alibaba. (2023). *Edon 2gh210-h16,400w, Blower,Ring Blowerc—Product on Alibaba.com* [Plataforma de Comercio Electrónico Global]. https://spanish.alibaba.com/p-detail/Blower-1600517804740.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.d_image.604a4028Telzu3&s=p
- Islam, T., Diba, F., Miah, R., Siddiqa, A., Azmuda, N., Nahar, S., Adnan, N., Dey, S. K., & Talukder, A. A. (2017). Optimization of Acetic Acid Production Rate by Thermotolerant *Acetobacter* spp. *Advances in Microbiology*, *7*(11), Article 11. <https://doi.org/10.4236/aim.2017.711060>

- Jamaluddin, M. F., Zainol, N., & Rahman, A. (2014). Kinetic study of acetic acid production from banana stem waste using wild strain bacillus thuringiensis BMB171. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, *16*, 529–538.
- K. Fernando, L. S. L., & Perera, L. H. R. (2022). Graphical Application to Assist Students Understand the Basic Concepts in Acid–Base Titrations. *Journal of Chemical Education*, *99*(4), 1547–1552. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.1c00881>
- Kalemelawa, F., Nishihara, E., Endo, T., Ahmad, Z., Yeasmin, R., Tenywa, M. M., & Yamamoto, S. (2012). An evaluation of aerobic and anaerobic composting of banana peels treated with different inoculums for soil nutrient replenishment. *Bioresource Technology*, *126*, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.030>
- Kareem, S. A., Kefas, H. M., Chior, T. J., & Latinwo, G. K. (2011). Kinetics of Fermentation by Enzymes: A Mathematical Approach. *AU Journal of Technology*, *15*(2), Article 2. <http://www.assumptionjournal.au.edu/index.php/aujournaltechnology/article/view/1405>
- León Serrano, L. A., Arcaya Sisalima, M. F., Barbotó Velásquez, N. A., & Bermeo Pineda, Y. L. (2021). *Ecuador: Análisis comparativo de las exportaciones de banano orgánico y convencional e incidencia en la balanza comercial, 2018*. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/7318>
- Luzón-Quintana, L., Castro-Mejías, R., & Durán-Guerrero, E. (2021). Biotechnological Processes in Fruit Vinegar Production. *Foods*, *10*, 945. <https://doi.org/10.3390/foods10050945>
- McPherson, G. (2013). *Applying and Interpreting Statistics: A Comprehensive Guide*. Springer Science & Business Media.
- Mohammed, M. Z. R., Ng, Z. W., Putranto, A., Kong, Z. Y., Sunarso, J., Aziz, M., Zein, S. H., Giwangkara, J., & Butar, I. (2023). Process design, simulation, and techno-economic analysis of integrated production of furfural and glucose derived from palm oil empty fruit bunches. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10098-022-02454-3>
- Moronta, H., Espaillat, Á., Escarramán, A., & Lagunes, S. (2017). Caracterización química de subproductos obtenidos del beneficiado del café. *APF*, *6*(1), Article 1.
- Muggironi, G., Fois, G. R., & Diana, M. (2013). Ethanol-derived acetaldehyde: Pleasure and pain of alcohol mechanism of action. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *7*, 87. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00087>
- Nnaemeka, I. C., Samuel O, E., Maxwell I, O., Christain, A. O., & Chinelo S, O. (2021). Optimization and kinetic studies for enzymatic hydrolysis and fermentation of colocynthis vulgaris Shrad seeds shell for bioethanol production. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, *6*(1), 45–64. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2021.02.004>
- Ousaaid, D., Mechchate, H., Laaroussi, H., Hano, C., Bakour, M., El Ghouzi, A., Conte, R., Lyoussi, B., & El Arabi, I. (2021). Fruits Vinegar: Quality Characteristics, Phytochemistry, and Functionality. *Molecules*, *27*(1), 222. <https://doi.org/10.3390/molecules27010222>
- Padam, B. S., Tin, H. S., Chye, F. Y., & Abdullah, M. I. (2014). Banana by-products: An under-utilized renewable food biomass with great potential. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(12), 3527–3545. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0861-2>

- Panigrahi, N., Thompson, A. J., Zubezu, S., & Knox, J. W. (2021). Identifying opportunities to improve management of water stress in banana production. *Scientia Horticulturae*, 276, 109735. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109735>
- Ploetz, R. C., & Evans, E. A. (2015). The Future of Global Banana Production. In *Horticultural Reviews: Volume 43* (pp. 311–352). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119107781.ch06>
- Prisacaru, A. E., Ghinea, C., Apostol, L. C., Ropciuc, S., & Ursachi, V. F. (2021). Physicochemical Characteristics of Vinegar from Banana Peels and Commercial Vinegars before and after In Vitro Digestion. *Processes*, 9(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/pr9071193>
- Rayo-Mendez, L. M., Gómez, A. V., & Tadini, C. C. (2019). Extraction of soluble sugars from banana puree to obtain a matrix rich in non-starch polysaccharides. *Food Chemistry*, 294, 539–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.079>
- Sistema de Información Pública Agropecuaria. (2022). *Cifras Agroproductivas*. Sistema de Información Pública Agropecuaria.
- The Growth Lab at Harvard University. (2021). *The Atlas of Economic Complexity*. <http://www.atlas.cid.harvard.edu>.
- Tripathi, N. M., Prinsi, Sharma, D., Ranga, P., Aseri, G. K., & Singh, D. (2022). Chapter 7—Microbial technologies for acetic acid production using fruit waste. In J. Singh & D. Sharma (Eds.), *Microbial Resource Technologies for Sustainable Development* (pp. 157–178). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90590-9.00006-7>
- Veliz, K., Chico-Santamarta, L., & Ramirez, A. D. (2022). The Environmental Profile of Ecuadorian Export Banana: A Life Cycle Assessment. *Foods*, 11(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/foods11203288>
- Wang, W., Zhang, F., Dai, X., Liu, Y., Mu, J., Wang, J., Ma, Q., & Sun, J. (2023). Changes in vinegar quality and microbial dynamics during fermentation using a self-designed drum-type bioreactor. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2023.1126562>
- Norma Técnica Ecuatoriana Inen 2:296. (2003). Vinagre. Requisitos. Apps.inen.gob.ec. Recuperado el 30 de 09 de 2015, de apps.inen.gob.ec: <http://apps.inen.gob.ec/descarga/>

